

Aus dem Department für Augenheilkunde Tübingen
Universitäts-Augenklinik

**Untersuchung von Faktoren, welche die
mikrobiologische Konjunktivalflora von
Hornhautspendern nach Desinfektion mit Povidon-Jod
und die Kontamination des Organkulturmediums
beeinflussen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Malinger, geb. Landenberger, Johanna

2020

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. T. Röck

2. Berichterstatter: Professor Dr. S. Kaufmann

Tag der Disputation: 07.08.2018

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	5
Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einleitung	8
1.1. Die humane Hornhaut	8
1.1.1. Aufbau	8
1.1.2. Funktion	9
1.2. Die humane Bindehaut	11
1.2.1. Aufbau	11
1.2.2. Funktion	11
1.3. Normalflora der Bindehaut	12
1.3.1. Entwicklung des Kenntnisstandes	12
1.3.2. Zusammensetzung der konjunktivalen Normalflora	13
1.3.3. Faktoren, die die Zusammensetzung der konjunktivalen Normalflora beeinflussen	14
1.4. Antisepsis mit Povidon-Jod	15
1.4.1. Historische Entwicklung	15
1.4.2. Klinische Praxis	16
1.5. Hornhauttransplantation	17
1.5.1. Historische Entwicklung und Transplantationsmethoden	17
1.5.2. Indikationen	20
1.5.3. Spendermangel	21
1.6. Studienziel	23
2. Material und Methoden	24
2.1. Gewinnung der Spenderhornhäute	24
2.2. Hornhautspender	25
2.3. Personalschulung	25
2.4. Einverständniserklärung zur Hornhautspende	26
2.5. Eukleation und Entnahme der Bindehautabstriche	26
2.6. Aufbewahrung der Bulbi	28

2.7. Präparation	29
2.8. Qualitätsprüfung	30
2.9. Lagerung	31
2.10. Mikrobiologische Bestimmungen.....	32
2.10.1. Organkulturmedium	32
2.10.2. Bindehautabstriche.....	32
2.10.3. Spezies- und Resistenzbestimmung	33
2.11. Ethikvotum.....	34
2.12. Auswertung.....	34
2.13. Datenverarbeitung und Statistik	35
3. Ergebnisse	36
3.1. Bindehautabstriche.....	36
3.1.1. Positivrate	36
3.1.2. Keimspektrum.....	38
3.1.3. Resistenzen.....	40
3.2. Kulturmedium	40
3.2.1. Kontaminationsrate.....	40
3.2.2. Keimspektrum.....	42
3.2.3. Resistenzen.....	43
3.3. Zusammenhang zwischen Bindehautabstrichen und Kontamination des Kulturmediums	44
3.4. Spenderabhängige Faktoren.....	45
3.4.1. Spenderalter	45
3.4.2. Geschlecht.....	46
3.4.3. Todesursache	48
3.4.4. Septischer vs. aseptischer Tod	51
3.4.5. Hospitalisationszeit.....	52
3.4.6. Diagnosen	54
3.4.7. Multiorganspender	58
3.5. Spenderunabhängige Faktoren.....	59

3.5.1.	Zeitspanne zwischen Tod und Entnahme der Bindehautabstriche	59
3.5.2.	Ort der Entnahme der Bindehautabstriche	60
3.5.3.	Enukleierender Arzt	63
3.5.4.	Zeitspanne zwischen Tod und Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe	64
3.5.5.	Präparator	66
3.5.6.	Durchschnittstemperatur im Monat der Spende	67
3.6.	Transplantationsrate	67
3.7.	Gründe für einen Ausschluss von der Transplantation	68
3.7.1.	Medizinische Kontraindikationen	68
3.7.2.	Qualität	68
3.7.3.	Kontamination	68
3.8.	Endothelzellichte	70
3.9.	Kosten im Rahmen der entnommenen Bindehautabstriche	71
4.	Diskussion	72
4.1.	Positivrate und Keimspektrum der Bindehautabstriche	72
4.2.	Kontaminationsrate und Keimspektrum der Organkulturmedien	73
4.3.	Antibiotika und Antimykotika im Kulturmedium	75
4.4.	Zusammenhang zwischen Bindehautabstrichen und Kontamination des Kulturmediums	76
4.5.	Zusammenhang zwischen Einflussfaktoren und Abstrichergebnis	77
4.6.	Zusammenhang zwischen Einflussfaktoren und Kulturbefund	79
4.7.	Reduktion des Mangels	80
4.7.1.	Verringerung der Verwerfungsraten	80
4.7.2.	Split-DMEK und Quarter-DMEK	81
4.7.3.	Zellenbasierter Ansatz	81
4.7.4.	DWEK	83
4.7.5.	ROCK-Inhibitoren	83
4.7.6.	Fischschuppen	83
4.8.	Ausblick	84
4.8.1.	Fortgeschriebene Richtlinie zum Führen einer Augenhornhautbank	84

4.8.2. Kostenersparnis.....	85
5. Zusammenfassung.....	86
6. Literaturverzeichnis	88
7. Erklärung zum Eigenanteil	95
Danksagung	96

Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1: Todesursachen.	51
Abbildung 1: Aufbau der Hornhaut.	9
Abbildung 2: Transplantationsmethoden.	19
Abbildung 3: Steriles Abwaschen mit Povidon-Jod.	27
Abbildung 4: Transport der Bulbi.	28
Abbildung 5: Präparation des entnommenen Bulbus.	29
Abbildung 6: Polymegatismen.	30
Abbildung 7: Kulturmediumflasche.	31
Abbildung 8: Verteilung der Abstrichergebnisse.	37
Abbildung 9: Verteilung der Erreger der positiven Bindehautabstriche.	39
Abbildung 10: Verteilung der mikrobiologischen Ergebnisse der Kulturmedien.	41
Abbildung 11: Verteilung der Erreger der kontaminierten Organkulturmedien.	43
Abbildung 12: Verteilung des Alters der untersuchten Hornhautspender.	45
Abbildung 13: Verteilung der Abstrichergebnisse nach Geschlecht.	47
Abbildung 14: Verteilung der Todesursachen.	49
Abbildung 15: Verteilung der Hospitalisationszeiten.	53
Abbildung 16: Verteilung der Abstrichergebnisse nach Karzinom-Diagnose.	56
Abbildung 17: Verteilung der Zeitspannen zwischen Tod und Entnahme der Bindehautabstriche.	59
Abbildung 18: Verteilung der Entnahmeorte.	62
Abbildung 19: Verteilung der Zeitspannen zwischen Tod und Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe.	65
Abbildung 20: Verteilung der Gründe, die zu einem Ausschluss von der Transplantation führten.	69
Abbildung 21: Verteilung von transplantierten und nicht transplantierten Hornhäuten.	70

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
§	Paragraph
°	Grad
µg	Mikrogramm
µm	Mikrometer
AG	Aktiengesellschaft
BSS	Balanced salt solution
ca.	circa
DALK	Deep Anterior Lamellar Keratoplasty
DGFG	Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation GmbH
DIN	Deutsches Institut für Normung
DMEK	Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty
DSAEK	Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty
DSO	Deutsche Stiftung Organtransplantation
DWD	Deutscher Wetterdienst
DWEK	Descemetorhexis Without Endothelial Keratoplasty
EN	Europäische Norm
et al.	et alii, et aliae
FEBO	Fellow of the European Board of Ophthalmology
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung

h	Stunde(n)
HIV	humanes Immundefizienz-Virus
ISO	International Organization for Standardization
KI	Konfidenzintervall
MALDI-TOF	Matrix-assisted laser desorption time-of-flight-Massenspektrometrie
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimol
MRSA	methicillinresistenter Staphylococcus aureus
n. Chr.	nach Christus
NaCl	Natriumchlorid
NY	New York
p	p-Wert
ROCK	Rho-associated coiled-coil containing kinases
SD	Standardabweichung
SPSS	Statistical Packages for the Social Science
TPG	Transplantationsgesetz
USA	United States of America
VRE	Vancomycinresistente Enterokokken
vs.	versus

1. Einleitung

1.1. Die humane Hornhaut

1.1.1. Aufbau

Die humane Hornhaut (Kornea) ist der vordere, lichtdurchlässige und lichtbrechende Abschnitt der äußeren Augenhaut und liegt vor der Pupille. Von der dicksten Stelle der Sklera, dem sogenannten Limbus, wird die durchschnittlich 0.6 mm dicke Hornhaut zirkulär umgeben. Die Hornhaut selbst ist aus 5 Schichten aufgebaut (siehe Abbildung 1) (Aumüller G., 2010).

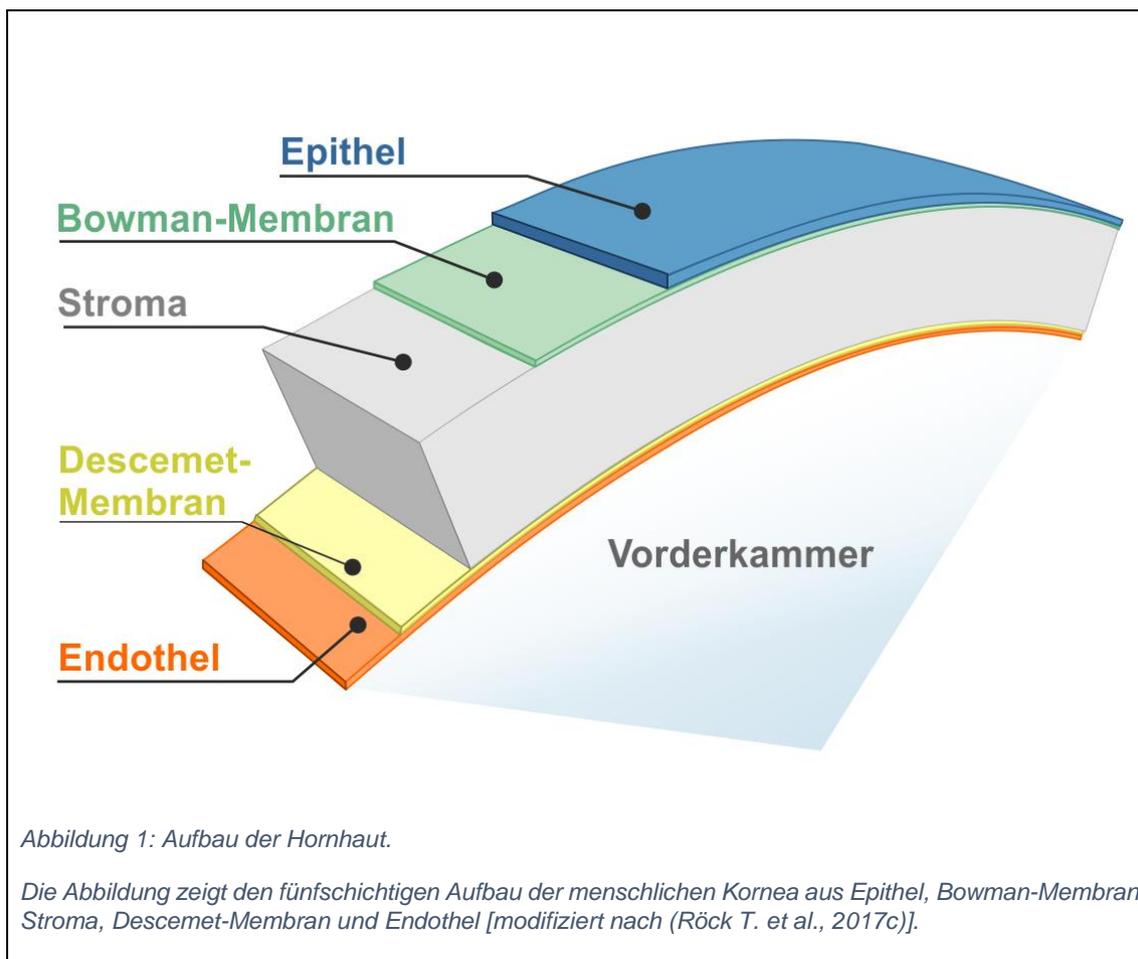
Die Vorderseite wird von einem sechsschichtigen unverhornten Plattenepithel mit 40 bis 60 µm Dicke bedeckt. Die oberflächlichste Zellschicht ist mit Mikrovilli besetzt und durch Tight junctions verbunden, sodass die Abgrenzung von Tränenflüssigkeit und die Aufnahme von Nährstoffen erfolgen kann. Die Aufgabe der Immunabwehr fällt den sich in der Epithelschicht nahe dem Limbus befindlichen Langerhans-Zellen zu.

Darauf folgt die zellfreie Bowman-Membran, die aus lamellär angeordneten Kollagenfibrillen und dazwischen gelagerten Proteoglykanen besteht. Sie bildet die Abgrenzung zum Stroma.

Das Stroma der Hornhaut besteht zu 80 % aus Wasser und trägt damit und mit seinen Fibroblasten, Proteoglykanen und Kollagenfibrillen neun Zehntel zur gesamten Hornhautdicke bei.

Die Descemet-Membran stellt mit 9 µm Dicke die dickste Basalmembran des menschlichen Körpers dar und wird aus Kollagen und Laminin gebildet. Mit hoher Widerstandsfähigkeit und Elastizität stellt sie einen Schutz für das Hornhautendothel dar.

An die Descemet-Membran haftet eine einzellige Endothelzellschicht an, die durch Tight junctions zwischen den Zellen eine Diffusionsbarriere gegenüber dem Kammerwasser der Augenvorderkammer darstellt. Durch Ionentransport aus dem Stroma erzeugt das Endothel einen osmotischen Gradienten, der dafür sorgt, dass Wasser aus dem Stroma in die Augenvorderkammer transportiert und so der Wassergehalt des Stromas aufrechterhalten wird.



1.1.2. Funktion

Die Hauptfunktion der Hornhaut besteht in der Brechung des einfallenden Lichts, an der zusätzlich Glaskörper, Linse und Kammerwasser beteiligt sind. Mit 42 Dioptrien trägt die Hornhaut den Hauptanteil an der Gesamtbrechkraft des Auges von 60 Dioptrien, die Voraussetzung für Bildfokussierung und scharfes Sehen ist (Ludwig und Dulebohn, 2017). Grund für diesen hohen Anteil an der Gesamtbrechkraft ist der Brechungsindex der Hornhaut von 1.38, der dank des günstigen Verhältnisses zum Brechungsindex von 1.0 der Luft zur stärksten Lichtbrechung innerhalb des menschlichen Auges führt. Da das angrenzende Kammerwasser jedoch durch einen geringeren Brechungsindex gekennzeichnet ist und die Hornhaut an ihrer Rückseite in gleicher Weise gewölbt ist wie an ihrer Vorderseite, geht ein Teil dieser Brechkraft anschließend wieder verloren.

Des Weiteren erforderlich für die adäquate Lichtbrechung ist die glatte Oberfläche der Kornea. Kleine Unebenheiten können durch den darüberliegenden Tränenfilm ausgeglichen werden. Die ellipsenförmige, mit einem Radius von 7.7 mm gewölbte Kornea ist in ihrer Dicke von der Mitte zum Rand hin abnehmend. Liegen Abweichungen zwischen horizontalem und vertikalem Krümmungsradius vor, werden die von einem betrachteten Gegenstand ausgehenden Lichtstrahlen auf der Netzhaut in einer Linie statt in einem Punkt gebündelt. Es liegt dann eine Hornhautverkrümmung, ein Astigmatismus, vor (Read et al., 2014).

Wie bereits erwähnt, ist das Hornhautendothel verantwortlich für die Aufrechterhaltung des Wassergehalts im Stroma durch Transportprozesse. Der Wassergehalt des Stromas wird durch zwei Faktoren beeinflusst: Ein Faktor ist der Wassertransport aus dem Stroma in die Augenvorderkammer, der einem osmotischen Gradienten folgt. Dieser osmotische Gradient wird aufrechterhalten, da das Hornhautendothel Ionen aus dem Stroma heraus in die Augenvorderkammer transportiert. Der andere Faktor ist der Wassereinstrom ins Stroma, verursacht durch Anziehung der Proteoglykane im Stroma. Nur wenn diese beiden Faktoren im Gleichgewicht stehen, ist der Quellungsstatus des Stromas ideal, um vollständige Transparenz zu erreichen. Ist der Wassergehalt des Stromas erhöht, kommt es zur Trübung der Hornhaut und zur Streuung des Lichts.

Die Innervation durch den Nervus ophthalmicus, den ersten Ast des fünften Hirnnervs Nervus trigeminus, sorgt für die Sensibilität der Hornhaut. Bei Berührung der Kornea können die taktilen Reize so diskriminiert und nach erfolgter Umschaltung im Gehirn zum Nucleus nervi facialis weitergeleitet werden, von dem aus efferente Fasern zur Kontraktion des Musculus orbicularis oculi führen. So trägt die Hornhaut einen Anteil an der Auslösung des Lidschlussreflexes, der das Auge vor Fremdkörpern, mechanischer Schädigung und Austrocknung schützt.

Zur Deckung des Energiebedarfs wird die Kornea von außen von Tränenflüssigkeit und von innen von Kammerwasser und limbusnahen Gefäßen

per Diffusion versorgt. Bei mangelnder Energieversorgung kommt es zu Ödemen und insuffizienter Regeneration der Hornhautepithelzellen.

1.2. Die humane Bindehaut

1.2.1. Aufbau

Die humane Bindehaut (Konjunktiva) fungiert als Verbindung zwischen Augenbulbus und Augenlid.

Mit ihrem ventralen Anteil, der Conjunctiva tarsi oder palpebrae, kleidet sie die Rückseite des Augenlids aus, während ihr dorsaler Anteil, die Conjunctiva bulbi, den vorderen Abschnitt des Bulbus bedeckt und in Verbindung zur Sklera steht. Am Fornix conjunctivae superior und inferior, welche den Wechsel von Conjunctiva tarsi auf Conjunctiva bulbi darstellen, bildet die Bindehaut zwei Taschen, die gemeinsam den Bindehautsack (Saccus conjunctivalis) begrenzen. Eine zusätzliche Falte, die Plica semilunaris conjunctivae, die beim Menschen gering äußerlich sichtbar ist, befindet sich am nasalen Augenwinkel (Aumüller G., 2010).

Die gut durchblutete, glatte, durchsichtige Schleimhaut der Konjunktiva besteht aus zwei Anteilen: einem mehrschichtig unverhornten Plattenepithel, in das einzelne Becherzellen eingelassen sind, und dem Stroma, der Tela subconjunctivalis, einem lockeren Bindegewebe mit Abwehrzellen, Mastzellen und Blutgefäßen (Lüllmann-Rauch, 2009).

1.2.2. Funktion

Als Auskleidung der Augenlider wirkt die humane Bindehaut dabei mit, bei jedem Lidschlag die Tränenflüssigkeit, die über zwei Tränenpunkte (Puncta lacrimalia) am nasenseitigen Augenwinkel aus dem Auge gelangt, auf der darunterliegenden Hornhaut zu verteilen. Durch die glatte Beschaffenheit der Schleimhaut der Konjunktiva ist dieses Verteilen ohne Verletzung der Kornea möglich.

Neben der Tränenflüssigkeit aus der Glandula lacrimalis tragen auch die in das Plattenepithel der Konjunktiva eingelassenen Becherzellen durch sezernierte Muzine einen Teil zum präkornealen Flüssigkeitsfilm bei (Takahashi et al., 2013).

Die zahlreichen Blutgefäße der Konjunktiva, die sich am Limbus corneae zu einem Randschlingennetz verdichten, wirken an der Versorgung der Kornea mit. Die Peripherie der Hornhaut kann so direkt mit Sauerstoff und Glukose versorgt werden, während die Versorgung der inneren Schichten durch Diffusion erfolgt.

In der klinischen Routine fällt der Konjunktiva eine weitere Eigenschaft zu: Aufgrund fehlender Pigmentierung und guter Durchblutung lässt eine Inspektion der Konjunktiva Rückschlüsse auf Veränderungen des Blutes wie beispielsweise Ikterus oder Anämie zu.

1.3. Normalflora der Bindehaut

1.3.1. Entwicklung des Kenntnisstandes

Bereits im 19. Jahrhundert etablierte sich die Erkenntnis, dass Mikroorganismen einen Bestandteil der normalen Konjunktivalflora bilden. So untersuchte beispielsweise 1898 Sir Arnold Lawson die Zusammensetzung der Konjunktivalflora von 200 Probanden mit subjektiv und objektiv normalen Bindehäuten aus dem Großraum London und identifizierte als häufigsten Keim *Bacillus xerosis*, der in 74.2 % der Fälle nachgewiesen werden konnte und zu den Corynebakterien zählt (Lawson, 1898).

Seit dieser Zeit war die Zusammensetzung der Besiedlung normaler humaner Bindehäute immer wieder Gegenstand verschiedener Studien in diversen Ländern.

Im indischen Manipal wurden bei einer Studie im Jahr 1972 in 20.9 % der untersuchten Konjunktiven Bakterien mit den Hauptvertretern koagulasenegative Staphylokokken, *Diphtheroides* und koagulasepositive Staphylokokken identifiziert; eine Besiedlung mit Pilzen, hauptsächlich durch *Aspergillus species*, erfolgte in 24.3 % der Fälle (Srinivasa Rao und Rao, 1972).

Während der Fokus anfangs auf aeroben Mikroorganismen lag, rückte dank verbesserter mikrobiologischer Techniken zunehmend auch die Untersuchung von Anaerobiern in den Mittelpunkt.

Die erste vergleichende Untersuchung der Normalflora von Kindern und Erwachsenen, die sowohl aerobe als auch anaerobe Mikroorganismen umfasste, wurde 1988 in Kalifornien veröffentlicht. Sie eruierte als Hauptvertreter der Normalflora *Staphylococcus epidermidis* (39.6 %), *Diphtheroides* (26.1 %) und *Propionibacterium acnes* (19.0 %), ferner *Corynebakterien* und *Staphylococcus aureus* (Singer et al., 1988).

Neuere Studien sind zahlreich vorhanden. In Sierra Leone konnten im Jahr 2009 bei gesunden Probanden koagulasenegative Staphylokokken als häufigster Keim der konjunktivalen Normalflora ausgemacht werden (28.6 %). Gefolgt in ihrer Häufigkeit wurden diese von Pilzen (26.0 %), *Staphylococcus aureus* (19.9 %) und gramnegativen Mikroorganismen (16.0 %) (Capriotti et al., 2009).

Neben koagulasenegativen Staphylokokken als Hauptvertreter der Normalflora wurden 2014 in Kathmandu unter anderem koagulasepositive Staphylokokken, grampositive *Bacillus* und *Micrococcus* in absteigender Häufigkeit als Florakeime identifiziert (Sthapit und Tuladhar, 2014).

Eine andere Häufigkeitsverteilung zeigt eine türkische Studie, die 2016 veröffentlicht wurde. Neben dem Hauptvertreter koagulasenegative Staphylokokken (56.4 %) wurden *Bacillus species* (12.7 %), *Staphylococcus aureus* (9.1 %) und *Corynebakterien* (3.6 %) nachgewiesen (Gunduz et al., 2016).

1.3.2. Zusammensetzung der konjunktivalen Normalflora

Zu den Keimen der konjunktivalen Normalflora zählen als Hauptvertreter koagulasenegative Staphylokokken wie beispielsweise *Staphylococcus epidermidis*, weiter auch koagulasepositive Staphylokokken wie beispielsweise *Staphylococcus aureus*, grampositive *Bacillus*, Streptokokken, *Corynebakterien*

und Enterokokken (Matsumoto et al., 2011; Sthapit und Tuladhar, 2014; Reddy und Paul, 2013; Fuest et al., 2016; Wilhelm et al., 2001).

1.3.3. Faktoren, die die Zusammensetzung der konjunktivalen Normalflora beeinflussen

Mehrere Studien konnten zeigen, dass sich die konjunktivale Flora in ihrer Zusammensetzung zwischen Lebenden und Toten unterscheidet. So zeigten Untersuchungen beispielsweise eine postmortale Zunahme des Anteils von *Pseudomonas* an der Gesam flora (Reddy und Paul, 2013).

Auch die Abhängigkeit der Flora von Geschlecht und Alter wurde bereits beschrieben. So hatten Männer in Untersuchungen häufiger eine sterile Konjunktiva als Frauen. Auch wenn bei beiden Geschlechtern Streptokokken die dominierende Spezies waren, wurde die Besiedlung bei Frauen signifikant häufiger durch Streptokokken verursacht, während bei Männern ein höherer Anteil an koagulasepositiven Staphylokokken beobachtet wurde als bei Frauen. Dagegen fanden sich sterile Bindehäute öfter bei jungen als bei Personen, die über 60 Jahre alt waren. Eine Besiedlung mit Streptokokken trat vor allem in der Altersgruppe der 15- bis 45-Jährigen auf, während koagulasenegative Staphylokokken besonders bei 45- bis 60-Jährigen zu finden waren (Sthapit und Tuladhar, 2014).

Die Erkenntnis, dass der Anteil steriler Abstriche bei Toten, die an malignen Erkrankungen verstarben, in Studien deutlich geringer war als bei Toten, bei denen eine kardiovaskuläre Todesursache identifiziert werden konnte (Matsumoto et al., 2011), lässt den Rückschluss zu, dass auch Erkrankungen Einfluss auf die physiologische Flora der Bindehaut nehmen.

Die Behandlung der Augen mit UVA-Strahlung, wie sie beispielsweise beim Crosslinking zur Therapie des progredienten Keratokonus zum Einsatz kommt, um eine Stabilisierung von Kollagen zu erzielen, verändert die Flora der Konjunktiva ebenfalls. In Studien war der Anteil an mit koagulasenegativen Staphylokokken besiedelten Bindehäuten nach der Behandlung signifikant

geringer als zuvor, während der beobachtete Anteil steriler Abstriche nach der Behandlung deutlich zunahm (Polat et al., 2017).

Der Kontakt zu Umweltkeimen hat ebenso Auswirkung auf die Zusammensetzung der Konjunktivalflora: Bei der Untersuchung Neugeborener konnte festgestellt werden, dass vaginal entbundene Säuglinge signifikant häufiger eine Keimbesiedlung der Konjunktiva aufwiesen und zudem die Anzahl unterschiedlicher Spezies pro Abstrich und das gesamte Keimspektrum deutlich größer war verglichen mit Neugeborenen, die per Sectio entbunden wurden (Eder et al., 2005).

Neuere Studien, die im Jahr 2016 veröffentlicht wurden, zeigten einen Effekt von chronischem Alkoholabusus auf die Zusammensetzung der Konjunktivalflora. Im Vergleich zur Kontrollgruppe mit Probanden ohne chronischen Alkoholabusus in der Vorgeschichte konnte in der Studiengruppe mit bekanntem chronischem Alkoholabusus signifikant häufiger eine Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* nachgewiesen werden. Seltene Mikroorganismen wie *Acinetobacter*, *Moraxella*, Streptokokken, Neisserien, *Candida*, *Haemophilus* und *Micrococcus species* konnten lediglich in der Studiengruppe, nicht aber in der Kontrollgruppe nachgewiesen werden (Gunduz et al., 2016).

1.4. Antisepsis mit Povidon-Jod

1.4.1. Historische Entwicklung

Die Entdeckung des Elements Jod geht auf den französischen Chemiker Bernard Courtois zurück, der zu Beginn des 19. Jahrhunderts bei der Gewinnung von Salpeter, das zur Herstellung von Schießpulver verwendet wurde, einen ungewöhnlichen, lilafarbenen Dampf beobachtete. Dieser Dampf stieg von Holzasche auf, die mit Schwefelsäure behandelt worden war. Nachdem Studien über diese bis dahin unbekannt Substanz von Joseph Louis Gay-Lussac, Sir Humphry Davy, André Ampère und anderen durchgeführt worden waren, erschien 1813 die erste Veröffentlichung von Gay-Lussac über das neu entdeckte Element, Jod (Rosenfeld, 2000).

1839 kam Jod erstmals in der Wundbehandlung zum Einsatz, um Infektionen zu verhindern oder zu behandeln (Hugo, 1991). Im amerikanischen Bürgerkrieg (1861-1865) wurden hierfür Naturmaterialien mit hohem Jodgehalt wie beispielsweise Seetang oder Austern verwendet (Flynn, 2003).

Die wasserunlösliche Substanz Jod war als Reinelement nicht zur Desinfektion zu gebrauchen, weshalb Alkohol in Kombination mit Jodsalzen verwendet wurde, um eine klinisch brauchbare Substanz herzustellen. Da der Gebrauch von Jodlösungen mit Alkohol aber auch mit Hautirritationen und starken Verfärbungen einherging, fiel der Einsatz von Jod zur Wundbehandlung in Ungnade.

Erst 1950 mit der Einführung von Polyvinylpyrrolidon-Jod (PVP-Jod, Povidon-Jod) erlebte Jod als Substanz zur Desinfektion seine Renaissance. PVP, ein wasserlösliches Polymer, das bereits zuvor als Plasmaexpander und zur Entgiftung eingesetzt worden war, fungiert als Trägermolekül für Jod in wässrigen Lösungen, verstärkt den antiseptischen Effekt und reduziert unerwünschte Lokalreaktionen (Garnes et al., 1959).

Seitdem kommt Povidon-Jod im klinischen Alltag im Rahmen der Antiseptik zum Einsatz und war immer wieder im Fokus verschiedener Studien.

1.4.2. Klinische Praxis

Im klinischen Alltag wird Povidon-Jod heute zur Händedesinfektion, zur lokalen Antiseptik vor chirurgischen Eingriffen und als antiseptische Spüllösung verwendet.

Konsens besteht über die Effektivität von Povidon-Jod gegen Pilze, Viren und ein breites Spektrum an Bakterien, das auch methicillinresistente Bakterien wie beispielsweise methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) miteinschließt (Mindrup et al., 1993; Matsumoto et al., 2011; Gopinathan et al., 1998; Laubichler et al., 2016).

Demgegenüber besteht weltweit Uneinigkeit darüber, wie Povidon-Jod am besten zur Antiseptik eingesetzt werden soll.

Sowohl verschiedene Möglichkeiten der Verdünnung (Berkelman et al., 1982; Pels und Vrensen, 1999; Ferguson et al., 2003) als auch unterschiedlich lange Einwirkzeiten werden diskutiert (Pels und Vrensen, 1999; Tandon et al., 2008).

Auch die Kombination von Povidon-Jod mit anderen antiseptisch wirkenden Substanzen war Gegenstand von Studien (van Luijk et al., 2012).

Die aktuelle Studienlage zu diesen Fragen ist aufgrund fehlender kontrollierter, randomisierter Studien unzureichend und die verwendete Verdünnung, die Kombination mit anderen Substanzen sowie die angewandte Einwirkzeit deshalb von persönlichen Präferenzen und lokaler Routine abhängig (Durani und Leaper, 2008).

1.5. Hornhauttransplantation

1.5.1. Historische Entwicklung und Transplantationsmethoden

Auch wenn keine Berichte über die Durchführung vorliegen, so gilt Galen (130-200 n. Chr.), der ein Abschaben der Hornhaut zur Wiederherstellung der Transparenz vorschlug, ein Vorläufer der oberflächlichen Keratektomie, als Erfinder der Idee der Hornhauttransplantation.

Erste Beschreibungen einer Keratoprothese werden dem französischen Chirurgen Guillaume Pellier zugeschrieben, der 1789 den Vorschlag machte, ein transparentes Material zu nutzen, um die Sehkraft einer getrübbten Hornhaut wiederherzustellen (Crawford et al., 2013).

Zu Beginn des 19. Jahrhunderts führte der Ire Samuel Bigger die ersten erfolgreichen penetrierenden Keratoplastiken (siehe Abbildung 2A) an Tieren durch, während es zur erfolgreichen Umsetzung dieser Technik am Menschen mit humaner Hornhautspende erst im Jahre 1905 durch Dr. Eduard Zirm kam (Zirm, 1989).

Neben diesen Versuchen, die gesamte Hornhaut zu transplantieren, war bereits im 18. und 19. Jahrhundert auch die Idee vertreten, stattdessen nur einzelne erkrankte Schichten der Hornhaut zu transplantieren. Zur routinemäßigen

klinischen Anwendung kamen diese Verfahren nach einer langen Zeit des Stillstands jedoch erst zu Beginn der 2000er mit Einführung der posterioren lamellären Keratoplastik.

Die **Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (DSAEK)**, bei der zusätzlich zu den Endothelzellen und der Descemet-Membran auch teilweise posteriores Stroma transplantiert wird (siehe Abbildung 2B), wurde zügig in ihrem klinischen Gebrauch von der **Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK)** überholt. Bei dieser, erstmals 2006 vom Niederländer Gerrit Melles beschriebenen Methode, wird eine lediglich ca. 10 µm dicke Schicht, aus Endothelzellen und der Descemet-Membran bestehend, transplantiert (siehe Abbildung 2C) (Melles et al., 2006). So wird die Methode der DMEK heute in der Mehrzahl der durchgeführten Keratoplastiken eingesetzt und gilt als Goldstandard für die Behandlung von Krankheiten, die isoliert das Hornhautendothel betreffen.

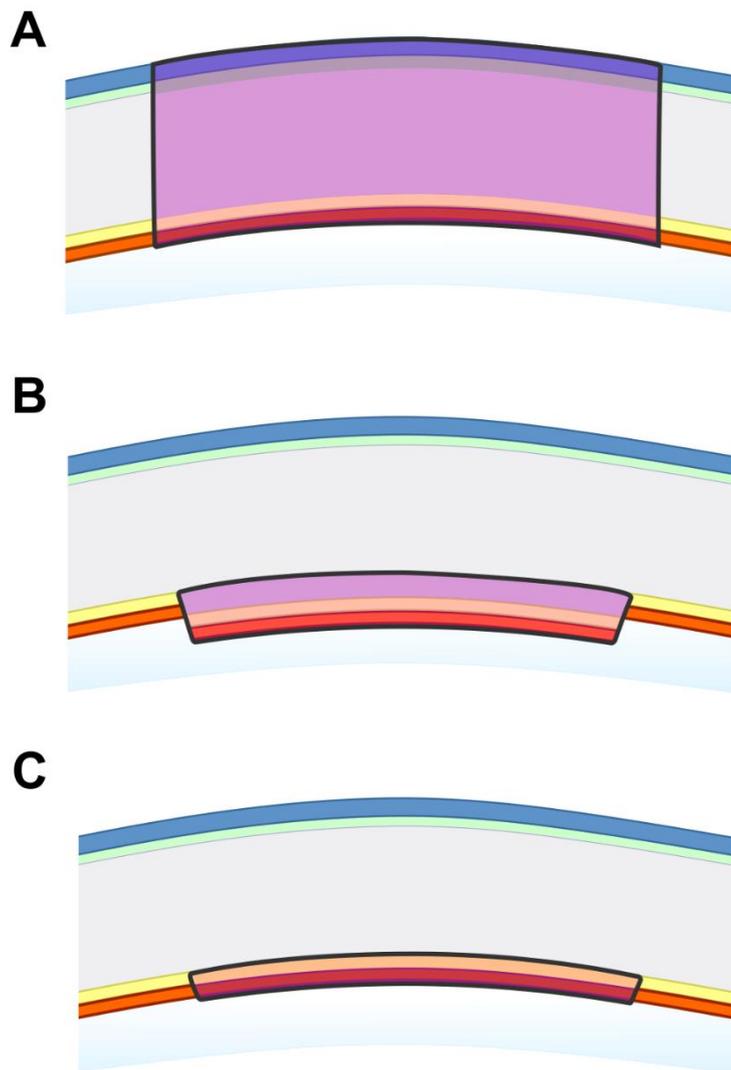


Abbildung 2: Transplantationsmethoden.

Die Abbildung zeigt verschiedene Transplantationsmethoden. Es wird die penetrierende Keratoplastik (A), die Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (DSAEK) (B) und die Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK) (C) dargestellt [modifiziert nach (Röck T. et al., 2017c)].

1.5.2. Indikationen

Zu den Hauptgründen für eine Hornhauttransplantation zählen die Fuchs'sche Endotheldystrophie, eine langsam fortschreitende Erkrankung der Endothelzellen, und der Keratokonus, eine kegelförmige Hornhautverformung (Röck T. et al., 2017c; Quigley et al., 2018). Weitere seltenere Indikationen sind das Trachom, eine durch den Erreger Chlamydia trachomatis hervorgerufene chronisch-follikuläre Konjunktivitis, und das Leukom, eine weiße Hornhautnarbe durch Verletzung oder Entzündung. Auch bullöse Keratopathien, Traumata, Ulcera und Verbrennungen oder Verätzungen können Gründe für eine Keratoplastik sein (Ayalew et al., 2017).

Alle dargestellten Gründe schränken das Sehvermögen der Betroffenen ein und können zur partiellen oder vollständigen Erblindung führen. Wie in Studien beschrieben, kann ein solch reduziertes Sehvermögen dazu führen, dass Betroffene eine Einschränkung im Ausführen von alltäglichen Aktivitäten und der Selbstversorgung haben (Haymes et al., 2002). Neben einer geringeren Lebensqualität als die der Durchschnittsbevölkerung (Kuyk et al., 2008) stellen auch Depressionen häufig eine Belastung für viele Betroffene dar (Toyoshima et al., 2018). Des Weiteren wird der Staatshaushalt durch Produktivitätsausfälle und erhöhte direkte Gesundheitsausgaben für die Betroffenen belastet (Rein et al., 2006).

Eine Keratoplastik kann helfen, das reduzierte Sehvermögen der Betroffenen zu verbessern oder vollständig wiederherzustellen und so auch zur Befreiung von beschriebenen Belastungen durch Folgeprobleme beitragen.

Nebenbei ist auch bereits seit mehr als zwei Jahrzehnten bekannt, dass eine Keratoplastik zur Schmerzreduktion verletzter, erkrankter Hornhäute beitragen kann (Kwartz et al., 1995).

So kann eine Hornhauttransplantation in vielen Fällen eine erhebliche Steigerung der Lebensqualität von Patienten mit eingeschränktem Sehvermögen zur Folge haben.

1.5.3. Spendermangel

Momentan ist die Hornhauttransplantation weltweit die am häufigsten durchgeführte Gewebetransplantation. In Deutschland, wo die Keratoplastik ebenfalls die am häufigsten durchgeführte Transplantation darstellt, werden jährlich ca. 7000 Eingriffe ihrer Art gezählt (Flockerzi et al., 2018), während noch im Jahr 1998 lediglich 2098 Hornhäute nach Langzeitkultivierung transplantiert wurden (Sundmacher und Reinhard, 2001).

Trotz der über die Jahre gestiegenen Anzahl von Eingriffen standen in Deutschland bereits 2011 eine geschätzte Gruppe von 2500 Patienten auf Wartelisten für eine Hornhauttransplantation (Sundmacher und Reinhard, 2001), was ein Anzeichen für den großen Bedarf ist, der das momentane Angebot an Spenderhornhäuten deutlich übersteigt (Heindl et al., 2011). So müssten laut DGFG (Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation GmbH) aktuell jährlich ca. 8000 Spenderhornhäute kultiviert werden, um nach Qualitätsprüfung und Verwerfen nicht geeigneter Spenden den Bedarf decken zu können (DGFG, 2016).

Als Gründe für die steigende Nachfrage nach Keratoplastiken in Deutschland werden das steigende Bevölkerungsalter sowie der besonders durch weiter verbreiteten Einsatz der lamellierenden Keratoplastik bedingte Anstieg an Hornhauttransplantationen gesehen (Eye Bank Association of America, 2016).

Neben diesen Punkten, die zu einem steigenden Bedarf an Spenderhornhäuten führen, spielt auch der Mangel an gespendeten Hornhäuten eine Rolle bei der aktuellen Diskrepanz zwischen Angebot und Nachfrage nach Spenderhornhäuten.

Da Ärzte auf Stationen im Arbeitsalltag einer hohen Belastung ausgesetzt sind und Gespräche mit Angehörigen Verstorbener über die Möglichkeit einer Hornhautspende oft als unangenehm und emotional aufreibend empfunden werden, findet die Befragung von Angehörigen potentieller Spender oft nicht statt.

Auch die Ablehnung einer möglichen Hornhautspende durch Angehörige, die auf eine mangelnde Aufklärung der Gesamtbevölkerung und auf Bedenken

bezüglich der optischen Unversehrtheit des Verstorbenen nach der Bulbusentnahme zurückzuführen ist, verschärfen die Differenz zwischen potentiellen und tatsächlich realisierten Hornhautspenden.

Nach den Organspendeskandalen in Deutschland in den Jahren 2012 und 2014 konnte in den Folgejahren 2013 und 2015 ebenfalls ein deutlicher Rückgang der Spendebereitschaft der Bevölkerung beobachtet werden (Röck T. et al., 2017b) (Röck D. et al., 2016a).

Außer der Ablehnung einer Spende durch Angehörige aus verschiedenen Gründen, was die Hauptursache für das Nicht-zustande-Kommen einer potentiellen Spende darstellt, führen in fast einem Viertel der Todesfälle auch medizinische Kontraindikationen des Verstorbenen wie die Zugehörigkeit zu Risikogruppen oder eine Infektion mit Hepatitis B oder C oder HIV oder das Vorliegen einer Leukämie, eines Lymphoms, einer neurologischen Erkrankung oder einer biologischen Herzklappe zum Ausschluss von der Hornhautspende (Röck D. et al., 2016b).

So lässt sich zusammenfassend feststellen, dass mangelnde Spendebereitschaft, unzureichende Aufklärung, medizinische Kontraindikationen, der demographische Wandel und der vermehrte Einsatz endothelialer Keratoplastik-Verfahren dazu führen, dass die Schere zwischen Angebot an Spenderhornhäuten und Nachfrage nach Transplantaten weiter auseinandergeht und so Einfluss auf den aktuellen Mangel an Spenderhornhäuten in Deutschland nehmen.

1.6. Studienziel

Ziel der hier vorliegenden pseudonymisierten, retrospektiven Studie ist es, die Frage zu klären, ob eine Korrelation zwischen der mikrobiellen Kontamination des Organkulturmediums und positiven Bindehautabstrichen der Hornhautspender nach Desinfektion mit 0.75 % Povidon-Jod besteht und ob es Faktoren gibt, die in Zusammenhang mit der Besiedlung stehen.

Um zu überprüfen, ob es Faktoren gibt, die diese Besiedlung beeinflussen, wurden in der Studie folgende Angaben analysiert: Angaben zum Spender wie Spenderalter, Geschlecht, Todesursache, ob der Spender septisch verstarb, ob der Spender ein Multiorganspender war, Vorerkrankungen (Tumor, Chemotherapie, Metastasen, Infektion, Diabetes mellitus), Hospitalisationszeit vor Todeseintritt und Angaben zur Hornhaut wie Endothelzellzahl, Ergebnis der Bindehautabstriche, Besiedlung des Organkulturmediums, Zeitspanne zwischen dem Versterben des Spenders und der Entnahme der Bindehautabstriche, Zeitspanne zwischen dem Versterben des Spenders und der Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe, Ort der Abstrichentnahme, durchführender Arzt der Bulbusentnahme, Präparator des entnommenen Bulbus sowie die Durchschnittstemperatur des Monats der Spende und die Angabe, ob eine Transplantation erfolgte oder ob und wenn ja welche Gründe vorlagen, die gegen eine Transplantation der Hornhaut sprachen.

Außerdem erfolgte die Bestimmung der Bakterienspezies oder Pilzspezies, die für positive Bindehautabstriche oder kontaminierte Organkulturmedien verantwortlich waren und, soweit vorliegend, die Auswertung der zugehörigen Antibiogramme, um eine Aussage über das Spektrum und die Antimykotikasensitivität beziehungsweise Antibiotikasensitivität der Mikroorganismen treffen zu können.

Darüber hinaus wird das Ziel angestrebt, basierend auf den vorliegenden Studienergebnissen Empfehlungen zu geben, wie die Kontamination von Hornhäuten und das daraus resultierende Verwerfen der Spenderhornhäute verringert werden kann, um so die Anzahl an Hornhäuten, die für eine Transplantation am Patienten zur Verfügung stehen, zu erhöhen.

2. Material und Methoden

2.1. Gewinnung der Spenderhornhäute

Es gibt aktuell zwei mögliche Wege im klinischen Alltag, um Gewebe für eine Keratoplastik zu gewinnen:

Zum einen kann Hornhaut vom nicht eingeschränkten Auge des Patienten entnommen werden, was als Autotransplantation bezeichnet wird. Dieses Verfahren kann eingesetzt werden, wenn lediglich ein Auge eine Schädigung der Hornhaut aufweist, während das andere, von der Krankheit nicht betroffene Auge, zwar intakte Hornhaut zeigt, aber beispielsweise traumatisch erblindet ist. Dann kann Hornhaut vom erblindeten Auge entnommen werden, um verbessertes Sehvermögen des erkrankten Auges zu ermöglichen (Yoeruek und Szurman, 2012).

Zum anderen gibt es die Möglichkeit, die Hornhaut eines Verstorbenen zu verwenden. Dieses Vorgehen wird als Alлотransplantation bezeichnet und in der Mehrzahl aller Fälle von Keratoplastiken eingesetzt.

Um alle Angehörigen der in Frage kommenden postmortalen Spender über die Möglichkeit einer Hornhautspende aufzuklären und um ihre Zustimmung zu bitten, wird das zuständige Personal des Tübinger Universitätsklinikums in regelmäßigen Abständen vom Team der Hornhautbank der Universitäts-Augenklinik Tübingen geschult und auf das Thema der Hornhautspende aufmerksam gemacht.

Neben dem Personal der Tübinger Hornhautbank und anderen Angestellten des Universitätsklinikums waren in einigen Fällen auch Ärzte anderer umliegender Krankenhäuser wie dem Tübinger Paul-Lechler-Krankenhaus, dem Stuttgarter Robert-Bosch-Krankenhaus, Katharinenhospital oder Karl-Olga-Krankenhaus sowie dem Reutlinger Klinikum am Steinenberg und ärztliche Angestellte der DSO (Deutsche Stiftung Organtransplantation) am Ablauf einer Spende beteiligt.

2.2. Hornhautspender

Im Studienzeitraum von Juli 2015 bis September 2017 wurden 504 Spenderhornhäute von 252 Hornhautspendern in die Hornhautdatenbank der Universitäts-Augenklinik Tübingen aufgenommen.

Ein Maximum von 72 Stunden vom Tod des Spenders bis zur Inkulturnahme der Spenderhornhäute durfte nicht überschritten werden. Spender ab einem Alter von 14 Jahren wurden akzeptiert, ohne eine Altersobergrenze.

Durch Gespräche mit Angehörigen, dem Hausarzt und zuletzt behandelnden Ärzten und mittels Durchsicht der Patientenakte wurde die detaillierte medizinische Geschichte jedes Spenders erfasst.

Blutproben für die Testungen auf Infektionskrankheiten wie HIV, Hepatitis B, Hepatitis C und Syphilis wurden bis 24 h postmortal abgenommen oder Proben verwendet, die bis zu 7 Tagen prä mortal abgenommen und asserviert worden waren.

Neben einem positiven Ergebnis dieser Bluttests zählten auch chronische, tumorbedingte oder infektiöse Erkrankungen der Augen, eine bestehende Leukämie oder ein Lymphom, Erkrankungen des zentralen Nervensystems unklarer Genese, ein Sepsis-Nachweis ohne Bestimmung des zugrundeliegenden Erregers oder verursacht durch einen multiresistenten Erreger und eine positive Familienanamnese auf Creutzfeldt-Jakob-Krankheit als mögliche Gründe, um potentielle Spender von einer Hornhautspende auszuschließen.

2.3. Personalschulung

Die Mitarbeiter der Hornhautbank der Universitäts-Augenklinik Tübingen bieten für ärztliches Personal der verschiedenen Abteilungen des Universitätsklinikums und umliegender Lehrkrankenhäuser in regelmäßigen Abständen Fortbildungen an, um darauf aufmerksam zu machen, dass mögliche Hornhautspender gemeldet werden. Außerdem wird über den Hornhautspendermangel, die

Durchführung einer Hornhautspende und über die spätere Transplantation mit anschaulichem Bildmaterial berichtet.

Ein großes Anliegen ist es den Beteiligten, den Ablauf einer Bulbusentnahme zu erklären und dass bei diesem sensiblen Thema dem Leichnam nach Entnahme der Bulbi und Einsetzen von Prothesen nichts anzusehen ist. Zusätzlich werden die Kontraindikationen einer Spende detailliert vermittelt.

An der Einholung des Einverständnisses zur Hornhautspende von Angehörigen der Verstorbenen war neben dem aktuell diensthabenden Arzt der Hornhautbank oft der zuletzt behandelnde Arzt des potentiellen Spenders beteiligt.

2.4. Einverständniserklärung zur Hornhautspende

Hatte der Verstorbene zu Lebzeiten keinen Organspendeausweis erstellt oder war dieser nicht vorliegend, wurden nach § 1a Absatz 5 TPG (Transplantationsgesetz) aus dem Jahr 2007 Ehegatten oder eingetragene Lebenspartner, volljährige Kinder, Eltern oder bei Minderjährigen der Sorgeinhaber zum Zeitpunkt des Todes, volljährige Geschwister oder Großeltern in absteigender Reihenfolge um das Einverständnis zur Hornhautspende gebeten.

2.5. Enukleation und Entnahme der Bindehautabstriche

Lagen die Einverständniserklärung und zum aktuellen Zeitpunkt keine Kontraindikationen für eine Spende vor, erfolgte die Entnahme der Bulbi am Leichnam unabhängig vom Ort.

Vor der Enukleation wurden beide Fornices mit 0.75 % Povidon-Jod [1 ml 7.5 % Braunol (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) verdünnt mit 10 ml NaCl 0.9 % steril (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)] gespült und nach 5-minütiger Wartezeit die periokuläre Region (Augenbraue, Wange



Abbildung 3: Steriles Abwaschen mit Povidon-Jod.

Die Abbildung zeigt das Reinigen von Augenoberfläche, Augenbraue, Wange und Lid mit 0.75 % Povidon-Jod für eine Einwirkzeit von mindestens 3 Minuten [modifiziert nach (Röck T., 2015)].

und Lid) sowie die Augenoberfläche ebenfalls mit 0.75 % Povidon-Jod für eine Einwirkzeit von mindestens 3 Minuten gereinigt (siehe Abbildung 3). Vom durchführenden Arzt, mit sterilen Handschuhen, sterilem Mantel, Mundschutz und Kopfhaube bekleidet, wurden von jedem Auge zwei Bindehautabstriche (BBL[®] CultureSwab Plus[™], Becton Dickinson) entnommen, jeweils einer aus dem oberen und einer aus dem unteren Bindehautsack.

Nach Auflegen des Lochtuchs über Kopf und Gesicht des Spenders, so dass der okuläre Bereich unbedeckt blieb, wurde die Bindehaut am Limbus zirkulär (360°) eröffnet.

Die Ansätze der Musculi recti superior, inferior und lateralis wurden dargestellt und am Ansatz abgesetzt. Der Musculus rectus medialis wurde ca. 3 mm vom Bulbus entfernt durchtrennt, um das Greifen des verbliebenen Muskelstumpfes mit der chirurgischen Pinzette zu ermöglichen. Am durch die Pinzette fixierten Bulbus wurden anschließend der Nervus opticus, die Musculi obliqui superior und inferior sowie das parabolbäre Gewebe durchtrennt, wodurch die vollständige Enukleation erfolgte.

Die enukleierten Bulbi wurden getrennt voneinander in sterile Urinbecher (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) mit 10 ml NaCl 0.9 % und 5 ml antibiotischen Augentropfen (Gentamicin) (Merck Pharma GmbH, Darmstadt, Deutschland) auf

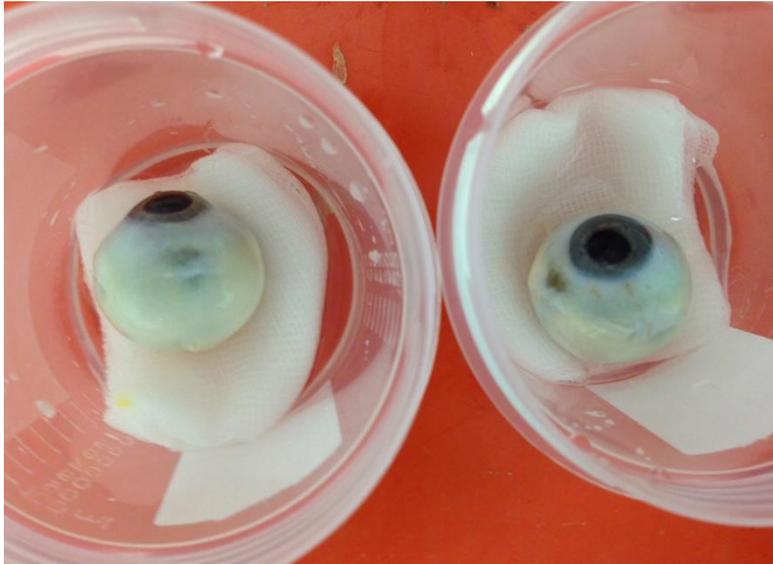


Abbildung 4: Transport der Bulbi.

Die Abbildung zeigt Bulbi auf einem sterilen Tupfer mit 10 ml NaCl 0.9 % und 5 ml antibiotischen Augentropfen (Gentamicin) in sterilen Urinbechern [modifiziert nach (Röck T., 2015)].

einen sterilen Tupfer überführt (siehe Abbildung 4) und in einer Kühlbox mit Kühlakkus, welche zuvor auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt worden waren, platziert. Während des Transports zur Hornhautbank lag die Temperatur in der Kühlbox bei $+1\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Um das Berühren von Urinbechern und Kühlakkus zu vermeiden, wurden die Urinbecher in der Kühlbox in einer Halterung befestigt.

2.6. Aufbewahrung der Bulbi

Die Bulbi wurden nach der Entnahme am Leichnam zügig in die Universitäts-Augenklinik gebracht. Konnte die Präparation nicht direkt erfolgen, so wurden die Bulbi im Zeitraum zwischen E nukleation und Präparation bei einer Temperatur von $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $+6\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Kühlschrank der Hornhautbank der Universitäts-Augenklinik aufbewahrt.

2.7. Präparation

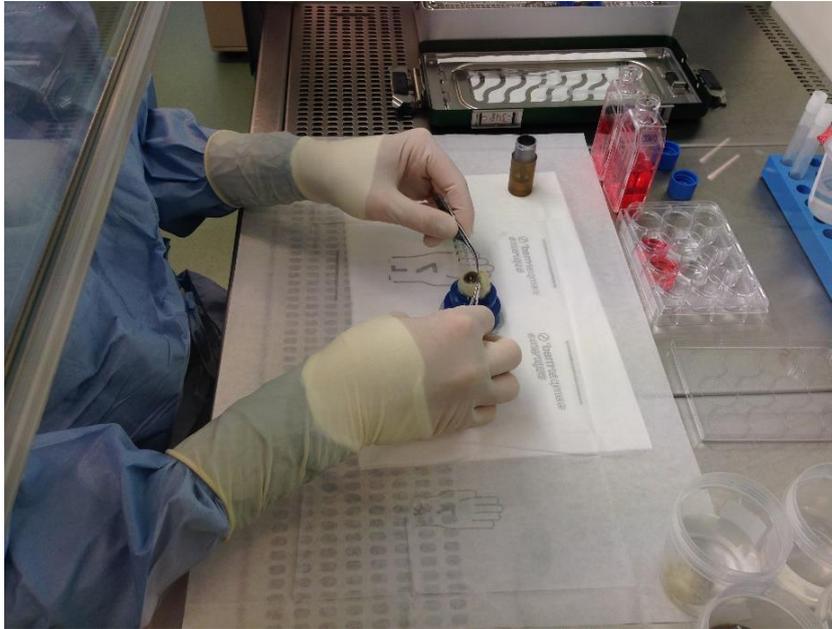


Abbildung 5: Präparation des entnommenen Bulbus.

Die Abbildung zeigt die Präparation der korneoskleralen Scheibe mit sterilen Instrumenten unter einer Sicherheitswerkbank Klasse II.

Die Präparation der Bulbi erfolgte unter sterilen Bedingungen unter einer Sicherheitswerkbank Klasse II (siehe Abbildung 5). Bevor die verbliebende Bindehaut von den Bulbi entfernt wurde, erfolgte die 5-minütige Desinfektion in 0.375 %

Povidon-Jod Lösung [2.5 ml 7.5 % Braunol verdünnt mit 50 ml 0.9 % NaCl steril (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)] und ein Abwaschen mit NaCl-Lösung.

Zur Fixierung wurde der Bulbus auf einen Bulbushalter gelegt. Um die korneosklerale Scheibe freizupräparieren, wurde ein 15 mm Trepan zentral auf den Bulbus aufgesetzt, der entstandene Schnitt mit einer Schere vollendet und die Scheibe unter Zuhilfenahme einer Pinzette von der Iris gelöst.

2.8. Qualitätsprüfung

Anschließend wurde die Descemet-Membran, die Transparenz des Hornhautstromas sowie die Qualität des Hornhautendothels mikroskopisch und makroskopisch unter der Spaltlampe auf Stromatrübungen, Stromaverdünnungen, Nekrosen, Polymegatismen (siehe Abbildung 6), Pleomorphismen, Vakuolisierung, Guttae und Ablösungen der Descemet-Membran überprüft.

Um die Endothelzellen sichtbar zu machen, wurde sterile Salzlösung (BSS, balanced salt solution, Universitätsapotheke Tübingen) verwendet.

Unter Zuhilfenahme eines Gitters ermittelte ein routinierter Biologe mittels „zone strategy“ die Endothelzelldichte (Thuret et al.,

2003). Durch die auf diese Weise überprüften Qualitätskriterien wurde entschieden, ob vorliegende Hornhäute zur Transplantation verwendet werden durften. So wurden beispielsweise nur Endothelzelldichten von 2000 Zellen / mm² oder mehr als ausreichend für eine Transplantation betrachtet.

Weitere Qualitätsprüfungen der Spenderhornhäute erfolgten beim Wechsel des Kulturmediums sowie am Tag vor einer geplanten Transplantation.

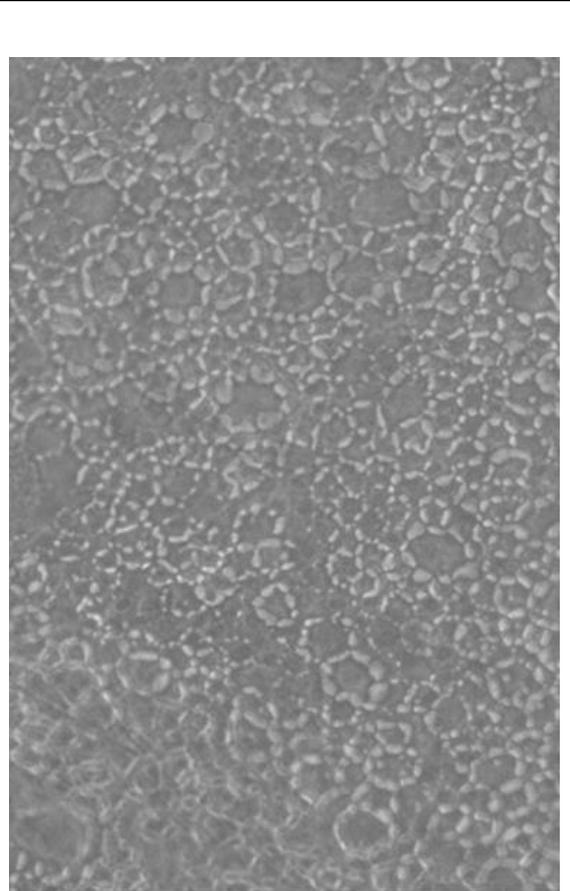


Abbildung 6: Polymegatismen.

Die Abbildung zeigt eine mikroskopische Aufnahme. Im Endothel sind Zellen unterschiedlicher Größe erkennbar.

2.9. Lagerung

Zur Lagerung wurden die entnommenen korneoskleralen Scheiben auf einen Hornhauthalter (Bausch & Lomb, Heidelberg, Deutschland) aufgezogen und in Kulturmediumflaschen (Corning Incorporated, New York, NY, USA), gefüllt mit Kulturmedium I (Biochrom AG, Berlin, Deutschland) eingebracht (siehe Abbildung 7).

Kulturmedium I bestand aus 0.2 % Natriumbicarbonat (NaHCO_3), HEPES Puffer 12.5 mM (1x), L-Glutamin 2 mM, Amphotericin B 2.5 $\mu\text{g/ml}$, Streptomycinsulfat 130 $\mu\text{g/ml}$, Penicillin-G-Na



Abbildung 7: Kulturmediumflasche.

Die Abbildung zeigt die Lagerung der korneoskleralen Scheibe in einer Kulturmediumflasche mit Kulturmedium I.

60 $\mu\text{g/ml}$, MEM mit Earl's Salzen 1x, mit zusätzlich 2.5 % fötalem Kälberserum (Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland).

In einem Brutschrank (Heraeus, Hanau, Deutschland) erfolgte die Kultivierung der Hornhäute für eine maximale Dauer von 34 Tagen in einem CO_2 -Inkubator (BBD, Heraeus) bei einer Temperatur von 37 °C, 95 % Luftfeuchtigkeit und 5 % CO_2 und unter ständigem Gasaustausch durch die Verschlusskappe der Kulturflaschen.

Sowohl zur Präparation als auch zur Qualitätsbeurteilung wurden sterile Instrumente verwendet. Durch die Zertifizierung gemäß DIN EN ISO 9001:2015 wurde der Tübinger Hornhautbank bestätigt, dass Qualitätsmanagement-Richtlinien bei der Organisation von Abläufen eingehalten wurden und sie den modernsten Ansprüchen gerecht wird.

2.10. Mikrobiologische Bestimmungen

2.10.1. Organkulturmedium

Um das Kulturmedium regelmäßig auf Kontamination zu testen, erfolgte der erste Mediumwechsel an Tag 3 bis 7 nach Kultivierung.

Die korneosklerale Scheibe wurde mit sterilen Instrumenten unter der Sicherheitswerkbank Klasse II auf dem Hornhauthalter in eine frische Kulturmediumflasche mit Kulturmedium überführt.

Die bisher verwendete Kulturmediumflasche mit Kulturmedium wurde fest verschlossen in sterilen Behältnissen zum Eingangslabor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie (Universitätsklinikum Tübingen) transportiert und innerhalb von 30 Minuten weiterverarbeitet. Es wurden zur Bestimmung der bakteriellen Kontamination Blutagarplatten (Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland) und Hirn-Herz-Agarplatten (Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Tübingen) bei 37 °C inkubiert und zur Bestimmung der Kontamination durch Pilze Hefe-Gentamicin-Platten (Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Tübingen) bei 30 °C inkubiert. Zur Testung auf bakterielle Kontamination wurde jeweils zusätzlich Leberbouillon verwendet, um ein geeignetes Milieu für Anaerobier zu schaffen.

Nach dem „Negative-to-date“-Prinzip durften Hornhäute bei negativen Befunden frühestens nach 3 Tagen Inkubationsdauer freigegeben werden und wurden insgesamt für 7 Tage bebrütet (Koopman et al., 2009). Das Ablesen der inkubierten Platten erfolgte 24 Stunden, 48 Stunden und 7 Tage nach Ansetzen der Platten. Im Falle des Befundes einer Kontamination wurden die betreffenden Hornhäute aus der Hornhautbank entfernt.

Einen bis 3 Tage präoperativ wurde das Medium ein weiteres Mal gewechselt und auf eine mögliche Kontamination kontrolliert.

2.10.2. Bindehautabstriche

Die 4 Bindehautabstriche (BBL® CultureSwab Plus™, Becton Dickinson) eines Hornhautspenders, jeweils einer aus dem unteren und einer aus dem oberen

Bindehautsack jedes Auges, wurden ebenfalls in die Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Tübingens transportiert. Dort wurden zur Testung auf Kontamination Endoagarplatten, Blutagarplatten (Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland) und Hirn-Herz-Agarplatten (Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Tübingen) bei 37 °C inkubiert. Zusätzlich wurde jeweils Leberbouillon verwendet. Die Ablesung erfolgte nach 24 und/oder 48 Stunden nach Ansetzen der Platte.

Kam es innerhalb der Kultivierungsdauer von 10 Tagen zum Nachweis eines Mikroorganismus, wurde dieser mit der Referenzliste des Paul-Ehrlich-Instituts abgeglichen, um festzustellen, ob der vorliegende Mikroorganismus zum Spektrum nicht-tolerabler Keime zählte. Als nicht tolerable Keime, die nach Desinfektion mit 0.75 % Povidon-Jod auf einem Abstrich nachgewiesen wurden, und somit zum Ausschluss von einer Spende und zum Verwerfen der betreffenden Hornhäute führten, zählten Schimmelpilze.

Für alle anderen nachgewiesenen Mikroorganismen wie beispielsweise multiresistente Keime wie etwa vancomycinresistente Enterokokken (VRE) oder methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas species*, *Acinetobacter species*, Enterokokken, Streptokokken der Lancefieldgruppe A, koagulasepositive Staphylokokken, *Haemophilus species*, anaerobe und aerobe Sporenbildner, Hefepilze sowie Mischkulturen, die aus mehr als zwei Keimarten bestanden, wurde eine spezifische Risikobewertung vorgenommen, um die Eignung als Transplantat festzustellen.

2.10.3. Spezies- und Resistenzbestimmung

Bei der Bewertung der Ergebnisse nach Anzucht der Platten von Abstrichen und Kulturmedien wurden koagulasenegative Staphylokokken, Corynebakterien und vergrünende Streptokokken mit Ausnahme von Pneumokokken der physiologischen Normalflora der humanen Bindehaut zugerechnet. Wurden einer oder mehrere dieser Keime identifiziert, wurde dies auf dem Befundbogen als Standortflora vermerkt. Bei Keimen der Standortflora wurde auf Speziesbestimmung und Resistenztestung verzichtet.

Erfolgte bei der Bebrütung der Platten von Abstrich oder Kulturmedium die Anzucht eines Keims, der nicht zur Standortflora der humanen Bindehaut gerechnet wurde, fand die Speziesbestimmung mittels MALDI-TOF (Bruker Corporation, Billerica, Massachusetts) statt. Je nach Risikoabschätzung der identifizierten Spezies wurde dann gegebenenfalls eine Resistenztestung mittels Vitek 2 oder Vitek 2 XL (bioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen, Deutschland), in seltenen Fällen auch mittels Agardiffusion, durchgeführt.

2.11. Ethikvotum

Das Erheben und Auswerten der Daten der vorliegenden Studie erfolgte nach positivem Votum der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Eberhard Karls Universität und des Universitätsklinikums Tübingen. Nach Stellen des Ethikantrags am 30.06.2017 wurde die Annahme des Antrags mit der Projekt-Nummer 426/2017BO2 am 23.08.2017 bestätigt.

2.12. Auswertung

Relevante Informationen über Spender wie Spenderalter, Geschlecht, Todesursache, ob der Spender septisch verstarb, ob der Spender ein Multiorganspender war, Vorerkrankungen (Tumor, Chemotherapie, Metastasen, Infektion, Diabetes mellitus), Hospitalisationszeit vor Todeseintritt und Angaben zur Hornhaut wie Endothelzellzahl, Ergebnis der Bindehautabstriche, Kontamination des Organkulturmediums, Zeitspanne zwischen dem Versterben des Spenders und der Entnahme der Bindehautabstriche, Zeitspanne zwischen dem Versterben des Spenders und der Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe, Ort der Abstrichentnahme, durchführender Arzt der Bulbusentnahme, Präparator des entnommenen Bulbus und die Angabe, ob eine Transplantation erfolgte oder ob und wenn ja welche Gründe vorlagen, die gegen eine Transplantation der Hornhaut sprachen, wurden gesammelt. Auch die Durchschnittstemperatur im Monat der Spende wurde erfasst.

Hospitalisationszeiten wurden in Tagen angegeben. Zeitspannen zwischen dem Versterben des Spenders und der Entnahme der Bindehautabstriche und der Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe wurden in Stunden gerundet auf die nächste Viertelstunde angegeben.

Als Durchschnittstemperatur des Monats, in dem der Spender verstarb, wurden Werte des Deutschen Wetterdiensts (DWD) verwendet, die an der nächstgelegenen Wetterstation in Stuttgart/ Echterdingen gemessen wurden (DWD, 2017).

2.13. Datenverarbeitung und Statistik

Erfasst wurden alle Daten der 1008 Bindehautabstriche und zugehöriger Spender im Programm Microsoft Excel 2016. Die pseudonymisierte Speicherung erfolgte gemäß aktueller Datenschutzrichtlinien.

Die folgende statistische Analyse erfolgte nach Übertragung in das Programm IBM SPSS (Statistical Packages for the Social Science) Statistics 24. Beide Augen eines Spenders wurden in die Analyse eingeschlossen und als unabhängige Proben betrachtet.

Zur Analyse der Zusammenhänge wurden Kreuztabellen erstellt. Für erwartete Häufigkeiten von weniger als 5 wurde der zweiseitige exakte Test nach Fisher verwendet, für erwartete Häufigkeiten von 5 oder mehr wurden Chi-Quadrat-Tests und Risikoanalysen verwendet.

Quantitative Variablen wurden mit Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) angegeben.

Odds Ratios (OR) wurden mit 95%-Konfidenzintervall (95 % KI) angegeben. $P < 0.05$ wurde als signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

3.1. Bindehautabstriche

3.1.1. Positivrate

Während des Untersuchungszeitraums von Juli 2015 bis September 2017 wurden bei weniger als einem Drittel (28.4 %) aller in diesem Zeitraum entnommenen Hornhäute positive Ergebnisse der zugehörigen Bindehautabstriche erbracht. Der Großteil der Befunde war negativ (67.7 %), während in 4.0 % der Fälle keine Abstrichergebnisse vorlagen (siehe Abbildung 8).

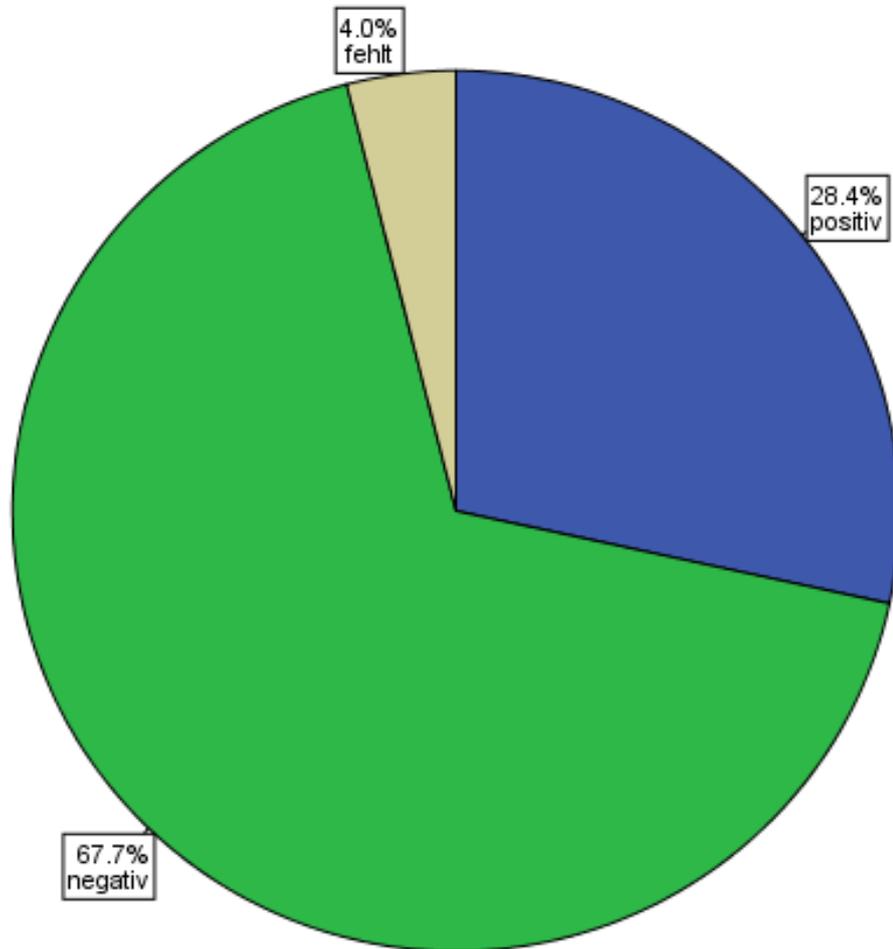


Abbildung 8: Verteilung der Abstrichergebnisse.

Die Abbildung zeigt die Verteilung der Ergebnisse der Bindehautabstriche von 1008 Abstrichen, die im Studienzeitraum von Juli 2015 bis September 2017 entnommen wurden. Den größten Anteil bildeten negative Abstrichergebnisse (67.7 %), gefolgt von positiven (28.4 %). Zu 4.0 % der Hornhäute lag kein Abstrichergebnis vor (fehlt).

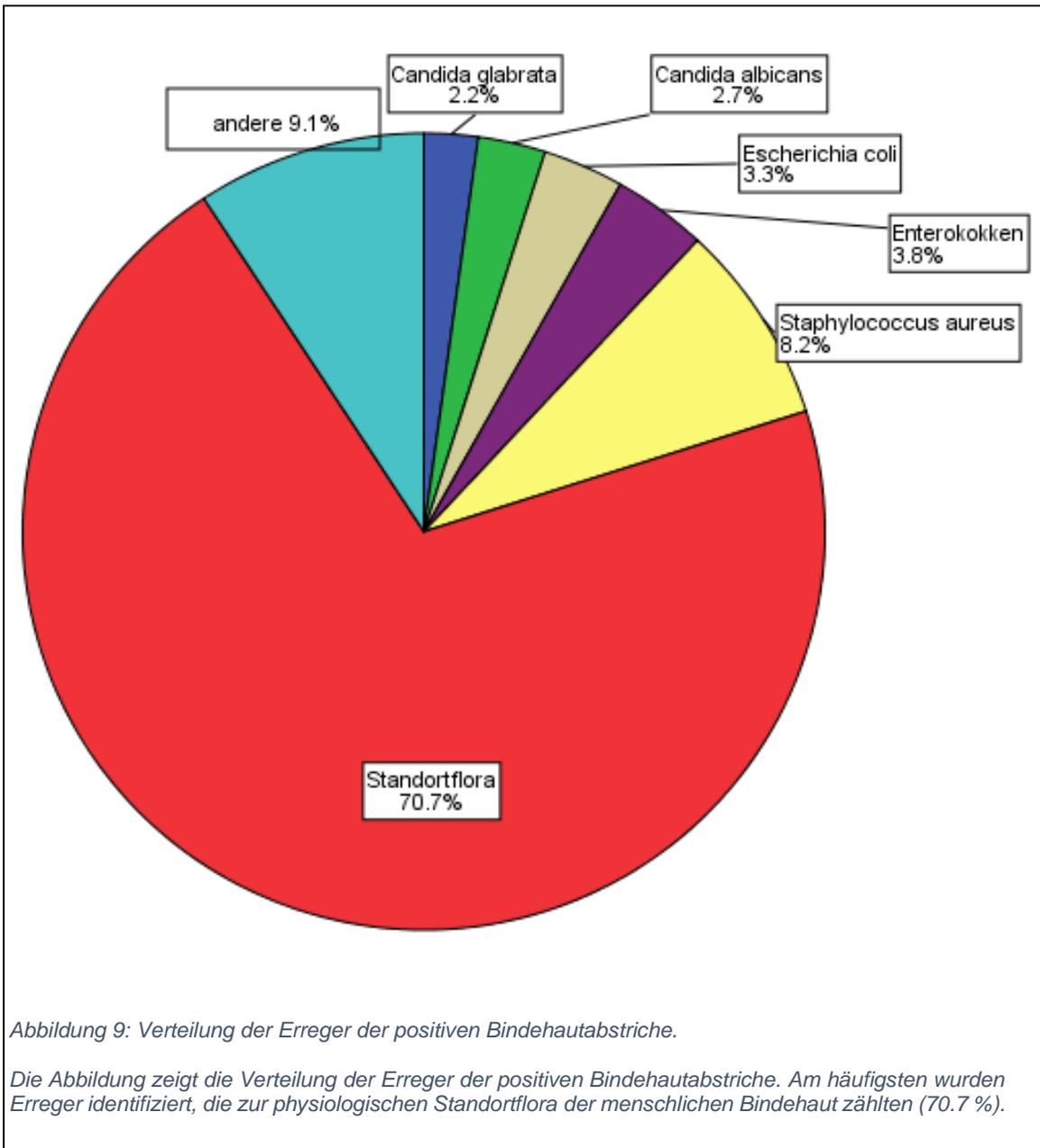
3.1.2. Keimspektrum

Insgesamt konnte der Großteil der auf Bindehautabstrichen nachgewiesenen Erreger der Gruppe der Bakterien zugeordnet werden (95.1 %), während lediglich in 4.9 % der Fälle Pilze identifiziert wurden.

70.7 % der auf Bindehautabstrichen identifizierten Erreger waren Teil der physiologischen Normalflora der menschlichen Bindehaut. Dazu wurden koagulasenegative Staphylokokken, Corynebakterien und vergrünende Streptokokken mit Ausnahme von Pneumokokken gezählt.

Der am häufigsten nachgewiesene Erreger, der nicht zur Standortflora gezählt wurde, war *Staphylococcus aureus* (8.2 %), gefolgt von Enterokokken (3.8 %), *Escherichia coli* (3.3 %), *Candida albicans* (2.7 %) und *Candida glabrata* (2.2 %).

Weitere seltenere Erreger auf Bindehautabstrichen waren *Klebsiella pneumoniae* (1.6 %), Streptokokken der Gruppe B (1.1 %), *Enterobacter* (1.1 %), *Propionibacterium* (1.1 %), *Acinetobacter* (0.5 %), *Bacillus* (0.5 %), *Pseudomonas aeruginosa* (0.5 %), *Buttiauxella gaviniae* (0.5 %), *Proteus mirabilis* (0.5 %) und *Stenotrophomonas maltophilia* (0.5 %) (siehe Abbildung 9).



3.1.3. Resistenzen

In 4 Fällen wurde eine Resistenztestung der identifizierten Pilze durchgeführt. Keiner der Pilze zeigte eine Resistenz gegen eines der getesteten Antimykotika, sodass jeder Pilz auf mindestens 6 Antimykotika sensibel reagierte.

Entsprechende Antibiogramme lagen zu 38 der identifizierten Bakterien vor.

In 2 Fällen wurden methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) nachgewiesen, in 3 Fällen methicillinresistente *Staphylococcus epidermidis*.

Vancomycinresistente Enterokokken (VRE) lagen in 2 Fällen vor.

Für jedes dieser 7 multiresistenten Bakterien konnte im Antibiogramm die Sensibilität für mindestens ein Antibiotikum gezeigt werden.

Alle übrigen Antibiogramme ergaben eine Sensibilität des analysierten Bakteriums gegenüber 3 oder mehr der überprüften Antibiotika.

3.2. Kulturmedium

3.2.1. Kontaminationsrate

Die Mehrzahl aller Organkulturmedien, die im Studienzeitraum auf eine mögliche Kontamination geprüft wurden, ergab einen negativen mikrobiellen Befund (82.1 %).

Lediglich zu 4 Organkulturmedien wurde ein positiver mikrobiologischer Befund erbracht. Damit lag die Kontaminationsrate bei 0.8 %, während in 17.1 % der Fälle keine mikrobiologischen Ergebnisse vorlagen (siehe Abbildung 10). Dies war dann der Fall, wenn die Serologie des Spenders reaktiv war oder Gespräche mit dem Hausarzt nach erfolgter Entnahme das Vorliegen von Kontraindikationen ergab. Dann wurde bei diesen für die Transplantation nicht verwendbaren Hornhäuten, um Kosten zu vermeiden, auf den Medienwechsel nach 3 Tagen verzichtet und keine mikrobiologischen Untersuchungen des Organkulturmediums durchgeführt. So lag die Rate an kontaminierten Organkulturmedien unter Einbeziehung aller Kulturmedien, zu denen ein mikrobiologisches Ergebnis vorlag, höher (1.0 %).

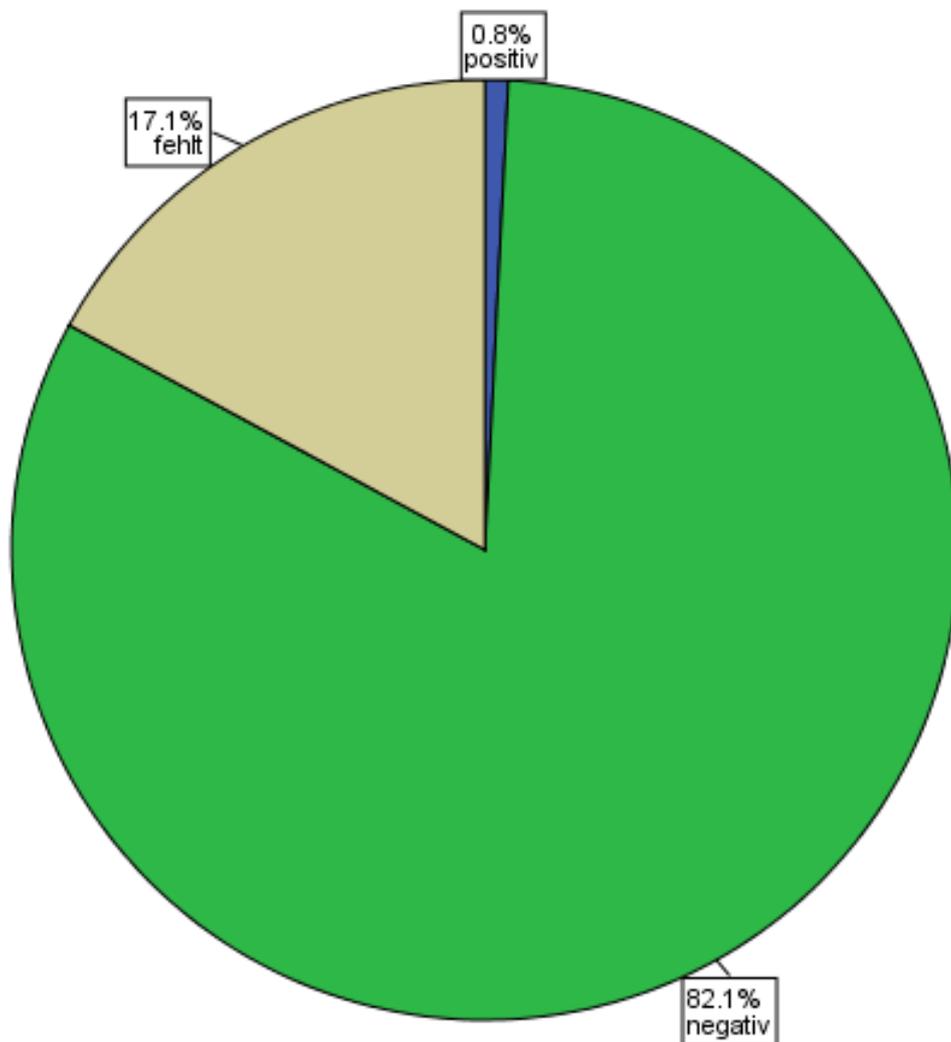


Abbildung 10: Verteilung der mikrobiologischen Ergebnisse der Kulturmedien.

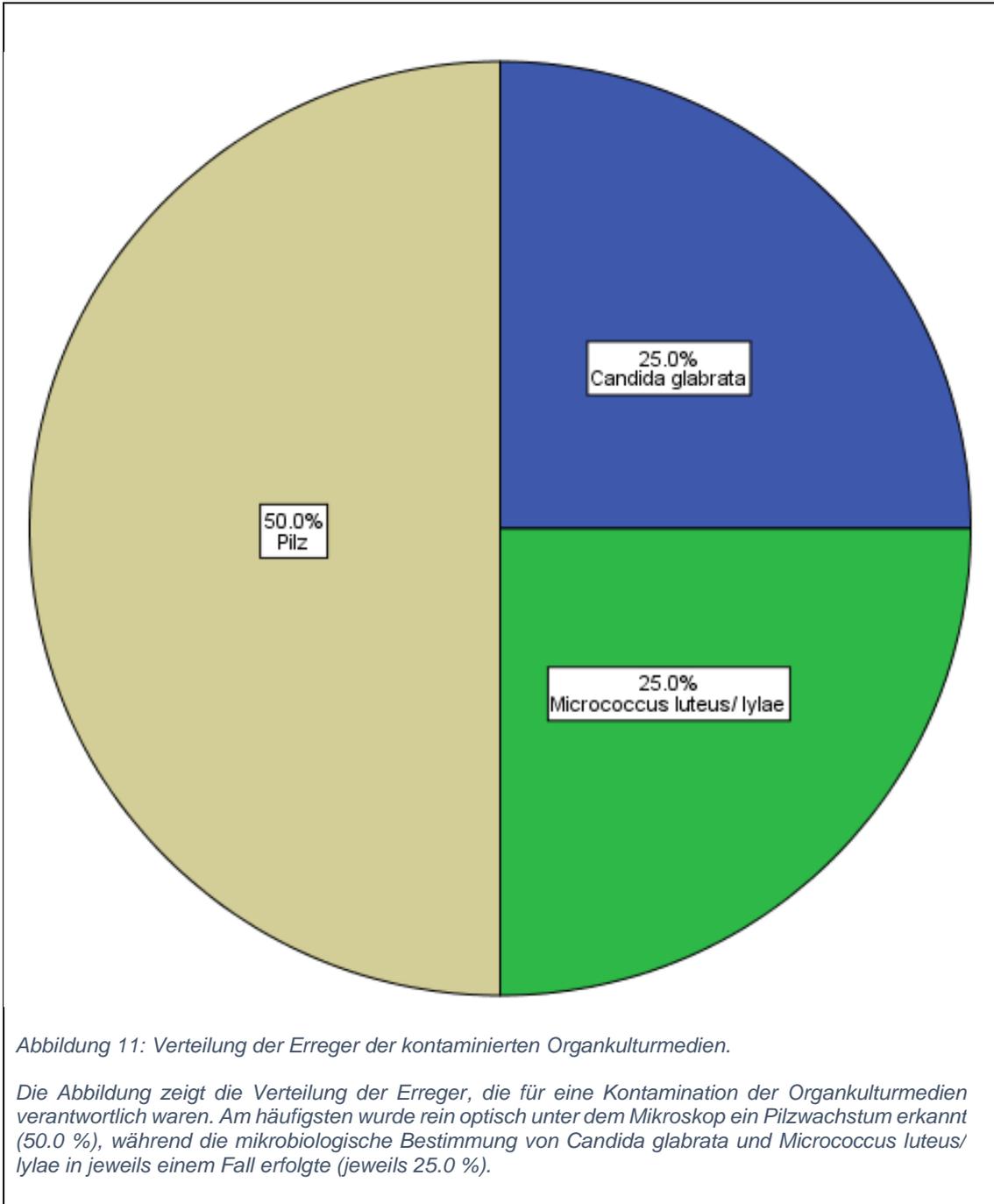
Die Abbildung zeigt die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Organkulturmedien. Während die Kontaminationsrate bei 0.8 % lag, erbrachte der Großteil der Untersuchungen negative Befunde (82.1 %). Zu den übrigen Kulturmedien lagen keine Ergebnisse vor (17.1 %).

3.2.2. Keimspektrum

In 3 der 4 Fälle mit positivem mikrobiologischem Ergebnis eines Organkulturmediums war die Kontamination auf das Wachstum eines Pilzes zurückzuführen (75.0 %), wohingegen Bakterien nur in einem Fall (25.0 %) nachgewiesen wurden.

Unter den Pilzen wurde in einem Fall *Candida glabrata* nachgewiesen, während die Kontamination durch einen Pilz in den anderen beiden Fällen rein optisch unter dem Mikroskop festgestellt wurde und keine weitere Speziesbestimmung erfolgte.

Die nachgewiesene bakterielle Kontamination war auf *Micrococcus luteus/ lylae* zurückzuführen (siehe Abbildung 11).



3.2.3. Resistenzen

Da in 2 der 4 Fälle das Erkennen einer Kontamination rein optisch unter dem Mikroskop erfolgte, lagen Ergebnisse einer Resistenztestung nur in den beiden anderen Fällen vor.

Bei *Candida glabrata* zeigte sich eine Sensibilität gegenüber allen zur Testung eingesetzten Antimykotika. Diese waren Amphotericin B, Voriconazol, Caspofungin, Anidulafungin, Micafungin und Flucytosin.

Das Bakterium *Micrococcus luteus/ lylae* zeigte eine Resistenz gegen Erythromycin und Sensibilität für 7 andere eingesetzte Antibiotika. Diese waren Gentamicin, Cefazolin, Tetrazyklin, Cotrimoxazol, Clindamycin, Ciprofloxacin und Vancomycin.

3.3. Zusammenhang zwischen Bindehautabstrichen und Kontamination des Kulturmediums

Bei positiven Bindehautabstrichen konnte in 2.1 % der Fälle eine Kontamination des Organkulturmediums nachgewiesen werden, während der Keimnachweis im Kulturmedium lediglich in 0.3 % der Fälle bei negativen Bindehautabstrichen erbracht wurde.

Positive Bindehautabstriche führten zu keinem signifikanten Anstieg des Kontaminationsrisikos des zugehörigen Organkulturmediums im Vergleich zum Kontaminationsrisiko bei negativen Bindehautabstrichen ($p = 0.08$).

Zu 2 der 4 Hornhäute, bei denen die mikrobiologische Untersuchung eine Kontamination des Organkulturmediums zeigte, konnte auch in korrespondierenden Bindehautabstrichen ein entsprechender Befund erbracht werden:

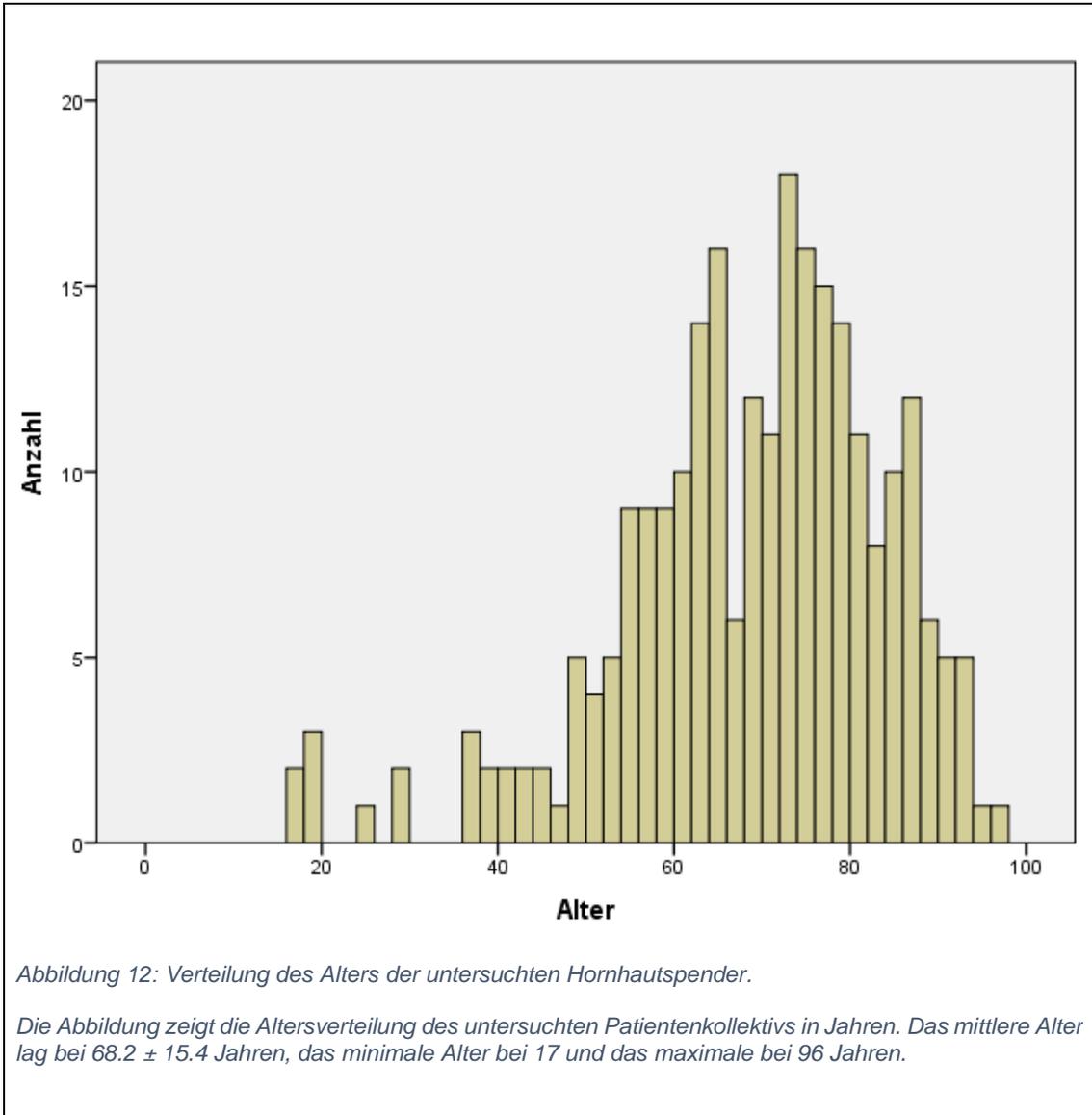
Candida glabrata wurde sowohl im Organkulturmedium als auch im Bindehautabstrich nachgewiesen. Bei einem der rein mikroskopisch identifizierten Pilze wurde im Bindehautabstrich *Candida albicans* nachgewiesen.

Zu den übrigen beiden kontaminierten Organkulturmedien, dem *Micrococcus luteus/ lylae* und dem anderen rein mikroskopisch identifizierten Pilz, lagen keine korrespondierenden mikrobiologischen Ergebnisse der Bindehautabstriche vor.

3.4. Spenderabhängige Faktoren

3.4.1. Spenderalter

Das mittlere Alter der Hornhautspender im Studienzeitraum betrug 68.2 ± 15.4 Jahre, wobei die Altersspanne von 17 bis 96 Jahren reichte (siehe Abbildung 12).



Zur weiteren Analyse wurden die Spender in 3 Altersgruppen eingeteilt: Gruppe 1 umfasste Spender mit einem Alter von < 50 Jahren, Gruppe 2 mit 50 bis 79 Jahren und Gruppe 3 Spender mit einem Alter ab 80 Jahren.

Mehr als die Hälfte aller Spender war Gruppe 2 zuzuordnen (66.7 %), während Gruppe 1 (9.9 %) und Gruppe 3 (23.4 %) jeweils kleinere Anteile bildeten.

Die Rate an positiven Bindehautabstrichen zeigte sich von Gruppe 1 bis hin zu Gruppe 3 zunehmend: Während in Gruppe 1 die Rate an positiven Bindehautabstrichen bei 19.6 % lag, zeigte sie sich in Gruppe 2 (29.6 %) und Gruppe 3 (33.3 %) höher.

Die Steigerung des Risikos für positive Bindehautabstriche bei Zugehörigkeit zu Gruppe 2 im Vergleich zur Zugehörigkeit zu Gruppe 1 erwies sich als nicht signifikant ($p = 0.16$), ebenso wie die Risikoerhöhung von Gruppe 3 im Vergleich zu Gruppe 1 ($p = 0.08$).

Der Anteil an kontaminierten Organkulturmedien nahm von Gruppe 1 bis hin zu Gruppe 3 zu: Während die Kontaminationsrate in Gruppe 1 bei 0.0 % und in Gruppe 2 bei 0.7 % lag, war sie in Gruppe 3 mit 2 kontaminierten von insgesamt 97 Organkulturmedien am höchsten (2.1 %).

Die Risikoerhöhung durch Zugehörigkeit zu Gruppe 2 im Vergleich zur Zugehörigkeit zu Gruppe 1 erwies sich als nicht signifikant ($p = 1.00$), ebenso wie die Zugehörigkeit zu Gruppe 3 im Vergleich zu Gruppe 1 ($p = 1.00$).

3.4.2. Geschlecht

Mit einem Anteil von 156 an 252 war die Mehrzahl der Spender im Untersuchungszeitraum männlich (61.9 %). Im gleichen Zeitraum wurden lediglich 96 weibliche Spenderinnen dokumentiert (38.1 %).

Auch wenn die mikrobiologische Untersuchung bei weiblichen Spenderinnen durchschnittlich häufiger ein positives Ergebnis der Bindehautabstriche ergab (31.9 %) als bei den männlichen Spendern (28.1 %) (siehe Abbildung 13), konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht eines

Hornhautspenders und dem Risiko für positive Bindehautabstriche gezeigt werden ($p = 0.39$).

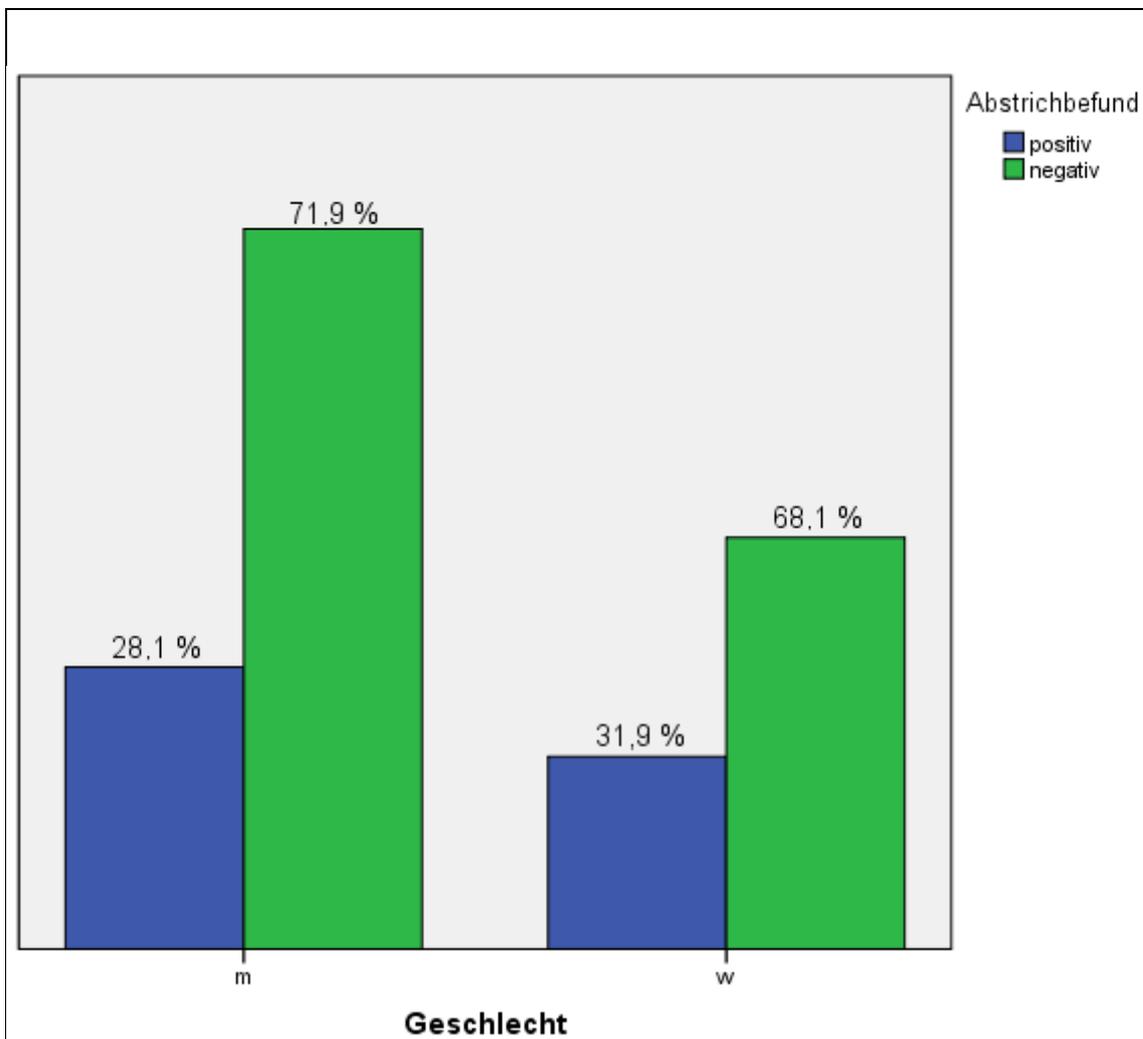


Abbildung 13: Verteilung der Abstrichergebnisse nach Geschlecht.

Die Abbildung zeigt den Anteil an positiven und negativen Bindehautabstrichen bei männlichen (m) und weiblichen (w) Hornhautspendern. Bei weiblichen Spenderinnen konnte eine höhere Rate (31.9 %) an positiven Bindehautabstrichen gezeigt werden als bei männlichen Spendern (28.1 %).

In Bezug auf die Kontaminationsrate der Organkulturmedien verhielt es sich umgekehrt. Hier konnte bei weiblichen Spenderinnen lediglich in einem Fall (0.7 %) eine Kontamination nachgewiesen werden, während 3 Fälle (1.1 %) bei männlichen Spendern auffielen. Auch auf die Kontaminationsrate der

Organkulturmedien nahm das Geschlecht des Spenders keinen signifikanten Einfluss ($p = 1.00$).

3.4.3. Todesursache

Als Haupttodesursache der Hornhautspender im untersuchten Zeitintervall lagen kardiovaskuläre Ereignisse vor (34.8 %). Gefolgt wurden diese in ihrer Häufigkeit von Infektionen wie beispielsweise Pneumonie, Endokarditis oder Sepsis (14.4 %) und Karzinomen sowie Multiorganversagen (jeweils 12.4 %) auf Platz 3 der Rangliste der häufigsten Todesursachen.

Einen weiteren Anteil an letalen Ursachen nahmen zerebrovaskuläre Ereignisse ein (12.0 %). Als weitere seltenere Todesursachen wurden Atemwegserkrankungen (4.8 %) und Traumata (2.8 %) eruiert. Alle in diesen Gruppen nicht erfassten, weniger häufigen Todesursachen wurden als gemeinsame Gruppe zusammengefasst (6.4 %) (siehe Abbildung 14).

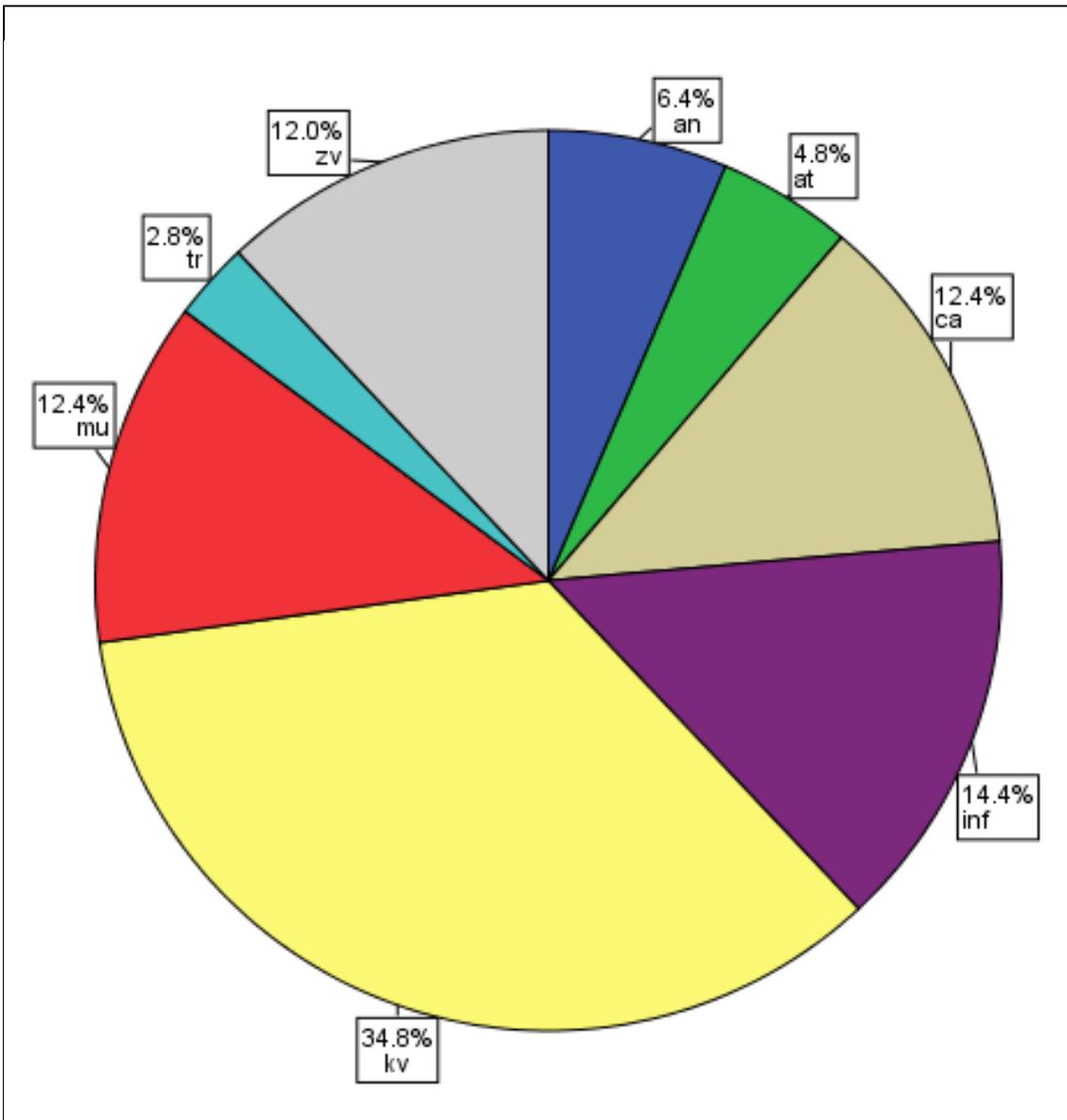


Abbildung 14: Verteilung der Todesursachen.

Die Abbildung zeigt die Verteilung der Ursachen, die zum Tod der Hornhautspender führten. Häufigste Ursache waren kardiovaskuläre Ereignisse (kv), Infektionen (inf), Multiorganversagen (mu) und zerebrovaskuläre Ereignisse (zv). Seltener Ursachen waren Atemwegserkrankungen (at), Traumata (tr) und andere Ursachen, die zu keiner der genannten Gruppen gehörten (an).

Unter allen differenzierten Gruppen der Todesursachen wurde die höchste Kontaminationsrate innerhalb der Gruppe der Hornhautspender beobachtet, die an einer Atemwegserkrankung verstarben. In dieser Gruppe waren mehr als ein Drittel (37.5 %) der angefertigten Bindehautabstriche positiv. Dagegen konnte in der Gruppe der Spender, die an einem traumatischen Ereignis verstarben

lediglich in 2 Fällen eine Kontamination der Bindehautabstriche gezeigt werden, was einer Kontaminationsrate von unter einem Sechstel (14.3 %) entspricht.

Die Kontaminationsraten der anderen Gruppen lagen zwischen der Gruppe der traumatisch Verstorbenen und derer, bei denen Atemwegserkrankungen zum Tode führten. Bei Spendern, die an einem kardiovaskulären Ereignis verstarben, lag die Kontaminationsrate bei über einem Drittel (33.5 %), gefolgt von den Patienten, die an einem Multiorganversagen (29.6 %), einem zerebrovaskulären Ereignis (29.3 %), einem Karzinomleiden (23.3 %) und an einer Infektion starben (20.6 %).

Atemwegserkrankungen oder kardiovaskuläre Ereignisse als Todesursache steigerten das Risiko für positive Bindehautabstriche im Vergleich zu Traumata nicht signifikant ($p = 0.16$ und $p = 0.23$).

Auch beim Vorliegen von Multiorganversagen, zerebrovaskulären Ereignissen, Karzinomen oder Infektionen als Todesursache konnte im Vergleich zur Gruppe, die an einem Trauma verstarb, kein signifikanter Anstieg des Risikos für positive Bindehautabstriche beobachtet werden ($p = 0.32$, $p = 0.33$, $p = 0.72$ und $p = 0.73$).

Die Hornhautspender, bei denen eine Kontamination des zugehörigen Organkulturmediums nachgewiesen werden konnte, verstarben in einem Fall an einer Infektion, in einem Fall an einem kardiovaskulären Ereignis, in einem an einem Karzinom und in einem Fall an einer Ursache, die keiner der Gruppen zugeordnet werden konnte. So ergab sich die höchste Rate an kontaminierten Organkulturmedien in der Gruppe derer, die an einer Infektion verstarben (2.1 %) (siehe Tabelle 1).

Das Vorliegen einer Infektion als Todesursache führte zu keiner signifikanten Erhöhung des Kontaminationsrisikos der Organkulturmedien im Vergleich zum Vorliegen eines Traumas als zum Tode führendes Ereignis ($p = 1.00$).

Tabelle 1: Todesursachen.

Die Tabelle zeigt die absolute und relative Verteilung der Todesursachen mit zugehörigen Positivraten der Bindehautabstriche und Kontaminationsraten der Organkulturmedien in %.

Todesursache	Anzahl absolut	Anteil in %	Positivrate Bindehaut-abstriche in %	Kontaminationsrate Organkulturmedien in %
Kardiovaskuläre Ereignisse	88	34.8	33.5	0.7
Infektionen	36	14.4	20.6	2.1
Karzinome	31	12.4	23.3	1.7
Multiorganversagen	31	12.4	29.6	0
Zerebrovaskuläre Ereignisse	30	12.0	29.3	0
Atemwegserkrankungen	12	4.8	37.5	0
Traumata	7	2.8	14.3	0
Andere	16	6.4	40.6	3.6

3.4.4. Septischer vs. aseptischer Tod

Weniger als ein Drittel aller Hornhautspender verstarb in einem Zustand der Sepsis (30.6 %). Während bei den meisten Spendern (67.9 %) kein Anhalt für eine Sepsis vorlag, konnte zu 1.6 % der Spender keine Angabe gemacht werden.

Die Rate an positiven Bindehautabstrichen lag bei Spendern, die septisch verstarben, bei 25.0 %, während sie bei Spendern, die nicht septisch verstarben, geringfügig höher lag (30.4 %).

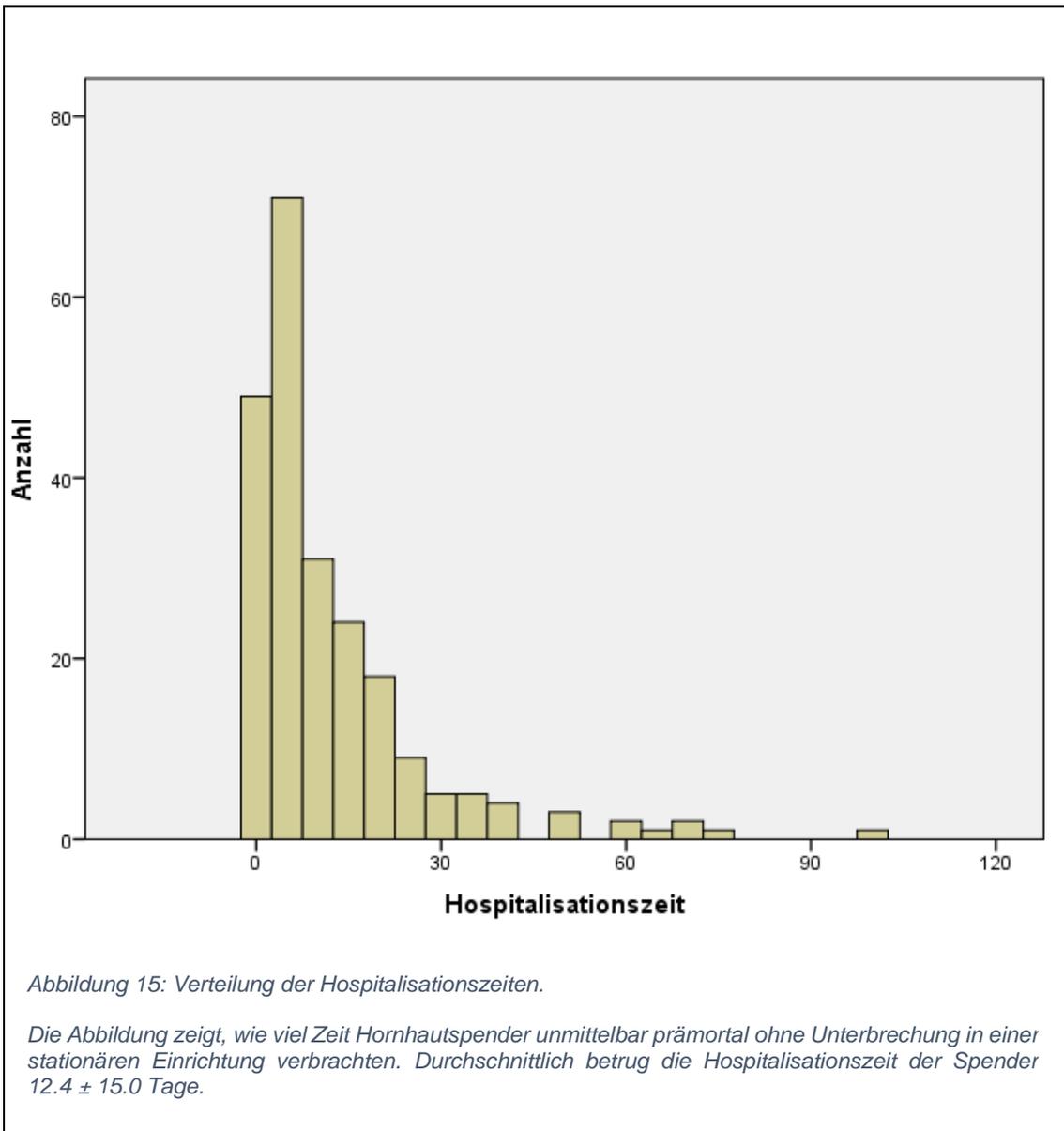
Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen septischem oder aseptischem Todeseintritt und Positivrate der Bindehautabstriche gezeigt werden ($p = 0.23$).

Auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen septischem oder aseptischem Todeseintritt und dem Risiko für eine Kontamination des Organkulturmediums wurde nicht gezeigt ($p = 0.58$).

Die Kontaminationsrate der Organkulturmedien lag bei septischem Todeseintritt mit 0.0 % unter der Rate bei aseptischem Versterben (1.3 %).

3.4.5. Hospitalisationszeit

Die durchschnittliche Zeit, die die untersuchten Hornhautspender unmittelbar prä mortal durchgehend in einer stationären Einrichtung verbrachten, belief sich auf 12.4 ± 15.0 Tage, wobei die Spanne von gar keinem stationären Aufenthalt bis zu 101 Tagen reichte (siehe Abbildung 15).



Um die unterschiedlichen Hospitalisationszeiten der Hornhautspender miteinander vergleichen zu können, wurden 3 Gruppen gebildet: Gruppe 1 umfasste Hospitalisationszeiten von < 2 Tagen, Gruppe 2 von 2 bis 7 Tagen und Gruppe 3 alle Zeiten von > 7 Tagen.

Die kleinste Gruppe bildete Gruppe 1 (9.9 %), gefolgt von Gruppe 2 (37.7 %), gefolgt von Gruppe 3 (42.1 %).

Die Kontaminationsraten der Bindehautabstriche lagen bei 16.7 % in Gruppe 1, 33.9 % in Gruppe 2 und 23.9 % in Gruppe 3.

Die Zugehörigkeit zu Gruppe 2, also eine Hospitalisationszeit von 2 bis 7 Tagen, erhöhte das Risiko für positive Bindehautabstrichergebnisse im Vergleich zur Zugehörigkeit zu Gruppe 1 mit einer Hospitalisationszeit von < 2 Tagen signifikant (OR = 2.56, 95 % KI = 1.13 – 5.81, p = 0.021).

Die Zugehörigkeit zu Gruppe 3 mit Hospitalisationszeiten von > 7 Tagen erhöhte das Risiko für positive Bindehautabstriche im Vergleich zur Zugehörigkeit zu Gruppe 1 mit Hospitalisationszeiten von < 2 Tagen nicht signifikant (p = 0.28).

Die Kontaminationsrate der Organkulturmedien variierte von 0.0 % in Gruppe 1 bis zu 1.3 % in Gruppe 2 und 1.1 % in Gruppe 3.

Die Zugehörigkeit zu den Gruppen 2 oder 3 erhöhte das Kontaminationsrisiko der Organkulturmedien jeweils im Vergleich zu Gruppe 1 nicht signifikant (p = 1.00 und p = 1.00).

3.4.6. Diagnosen

3.4.6.1. Diabetes mellitus

Die Durchsicht der Patientenakten ergab einen Spenderanteil von 27.5 % mit bekanntem Diabetes mellitus.

Mit Positivraten der Bindehautabstriche von mehr als einem Drittel (35.6 %) lag die Positivrate der Patienten mit Diabetes mellitus über der Positivrate von Spendern ohne Diabetes mellitus (27.4 %). Spender mit Diabetes mellitus zeigten kein signifikant erhöhtes Risiko für einen positiven Befund der Bindehautabstriche im Vergleich zu Spendern ohne Diabetes mellitus (p = 0.08).

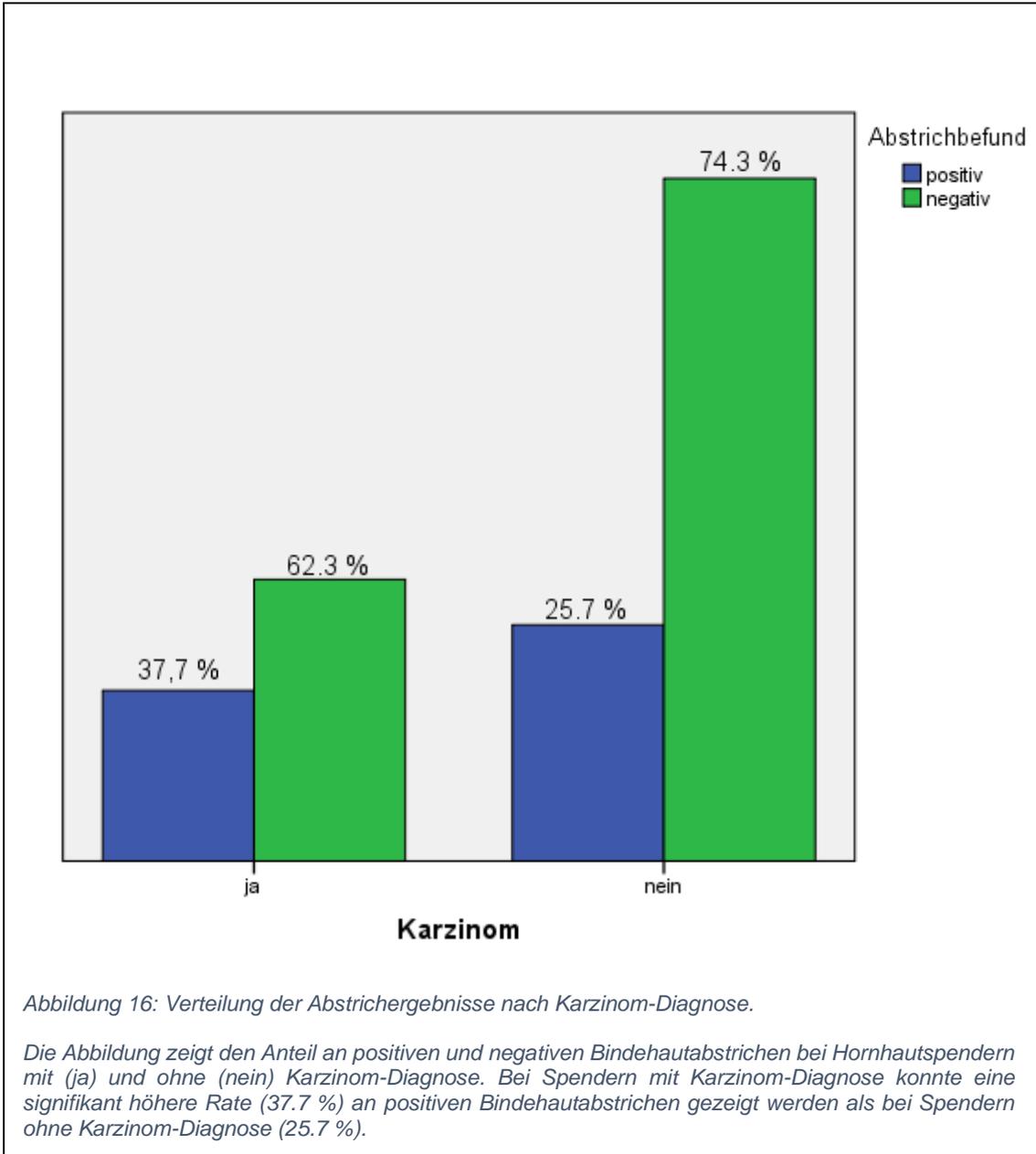
Die Diagnose Diabetes mellitus steigerte das Risiko für eine Kontamination des Organkulturmediums nicht signifikant (p = 0.58).

3.4.6.2. Karzinom

Bei gut einem Drittel (34.1 %) der Hornhautspender war bis zum Zeitpunkt des Todes die Diagnose eines Karzinoms gestellt worden.

Die Diagnose eines Karzinoms erhöhte das Risiko für kontaminierte Bindehautabstriche signifikant (OR = 1.75, 95 % KI = 1.17 – 2.63, p = 0.007).

So konnten bei Spendern ohne die Diagnose eines Karzinoms lediglich in 25.7 % der Fälle positive Bindehautabstriche nachgewiesen werden, während der Nachweis bei Spendern mit der Diagnose eines Karzinoms in 37.7 % der Fälle erbracht wurde (siehe Abbildung 16).



Der Unterschied zwischen Spendern mit und ohne Karzinom-Diagnose bezüglich des Risikos einer Kontamination des Organkulturmediums erwies sich als nicht signifikant ($p = 0.61$).

3.4.6.3. Metastasen

Metastasen waren bis zum Zeitpunkt des Todes bei 24.6 % der Hornhautspender diagnostiziert worden, was einem Anteil von mehr als zwei Dritteln (70.9 %) der Spender mit Karzinom-Diagnose entsprach.

Während positive Bindehautabstriche bei gut einem Drittel (38.3 %) der Spender mit diagnostizierten Metastasen auffielen, war dieser Anteil bei Hornhautspendern ohne die Diagnose von Metastasen geringer (26.8 %). Die Diagnose von Metastasen führte zu einem signifikanten Anstieg des Risikos für positive Bindehautabstriche (OR = 1.70, 95 % KI = 1.10 – 2.62, $p = 0.016$).

Der Einfluss von diagnostizierten Metastasen auf die Kontamination des Organkulturmediums zeigte sich als nicht signifikant ($p = 0.29$).

3.4.6.4. Chemotherapie

Der Anteil der Hornhautspender, bei denen die Durchführung einer Chemotherapie vor Todeseintritt dokumentiert worden war, betrug 17.9 %, was gut der Hälfte (51.2 %) der Spender mit Karzinom-Diagnose entsprach.

Bei Spendern, die nicht chemotherapiert wurden, lag die Positivrate der Bindehautabstriche mit 28.5 % unter der Positivrate derer, die eine Chemotherapie erhalten hatten (35.4 %). Die Dokumentation einer prä-mortale durchgeführten Chemotherapie steigerte das Risiko für das Vorliegen von positiven Bindehautabstrichen nicht signifikant ($p = 0.54$).

Auch der Zusammenhang zwischen einer Kontamination des Organkulturmediums und einer durchgeführten Chemotherapie erwies sich als nicht signifikant ($p = 0.70$).

3.4.6.5. Infektion

Bei Eintreffen des Todes lag bei mehr als der Hälfte (59.5 %) der Hornhautspender eine diagnostizierte Infektion wie beispielsweise Pneumonie, Weichteilinfektion oder Zystitis, vor.

Die Positivrate der Spender mit und ohne Infektion lag jeweils bei etwa einem Drittel (27.5 % und 31.1 %). Vorliegende Infektionen zum Zeitpunkt des Todes hatten keinen signifikanten Einfluss auf das Risiko für positive Befunde der entnommenen Bindehautabstriche ($p = 0.40$).

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Infektion und einer Kontamination des Organkulturmediums konnte nicht nachgewiesen werden ($p = 1.00$).

3.4.7. Multiorganspender

Unter allen Hornhautspendern befanden sich 11 Multiorganspender der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) (4.4 %).

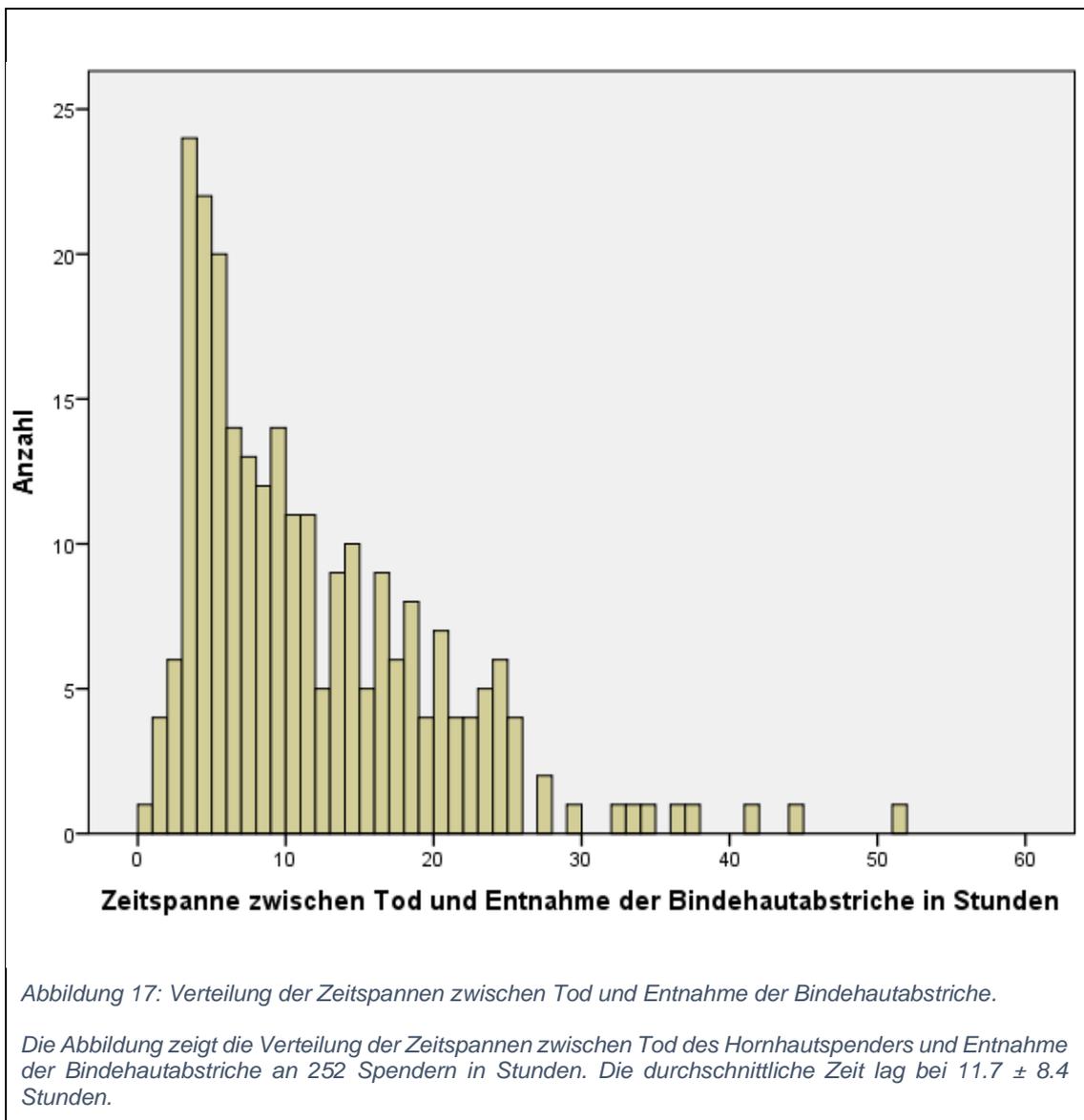
Während die Positivrate der Multiorganspender bei mehr als einem Drittel (36.4 %) lag, war sie bei Nicht-Multiorganspendern geringer (29.2 %). Die Zugehörigkeit zur Gruppe der Multiorganspender hatte keinen signifikanten Effekt auf das Risiko für positive Ergebnisse der Bindehautabstriche ($p = 0.47$).

Auch das Risiko für eine Kontamination des Organkulturmediums war bei Multiorganspendern im Vergleich zu allen anderen Hornhautspendern nicht signifikant erhöht ($p = 1.00$).

3.5. Spenderunabhängige Faktoren

3.5.1. Zeitspanne zwischen Tod und Entnahme der Bindehautabstriche

Die durchschnittliche Zeitspanne, die zwischen dem Tod des Hornhautspenders und der Entnahme der Bindehautabstriche verging, betrug 11.7 ± 8.4 Stunden. Das geringste Zeitintervall, das zwischen Tod und Entnahme der Bindehautabstriche verstrich, lag bei 0 Stunden, möglich bei Multiorganspendern mit Gehirntod, die maximale Zeit bei 51.5 Stunden (siehe Abbildung 17).



Die Zeitspannen wurden in 2 Gruppen unterteilt: Gruppe 1 umfasste Zeitspannen von < 6 Stunden, Gruppe 2 alle Zeiten von 6 bis 72 Stunden.

Gruppe 1 bildete mit 30.9 % einen kleineren Anteil als Gruppe 2 (69.1 %).

Die geringere Rate an positiven Bindehautabstrichen konnte in Gruppe 1 gezeigt werden (20.9 %). In Gruppe 2 lag die Rate an positiven Bindehautabstrichen höher (33.1 %).

Der Vergleich von Gruppe 1 mit Gruppe 2 ergab, dass die Zugehörigkeit zu Gruppe 2 mit einer Zeitspanne von 6 bis 72 Stunden zwischen Tod und Abstrichentnahme das Risiko für positive Bindehautabstriche signifikant auf nahezu das Doppelte erhöhte gegenüber der Zugehörigkeit zu Gruppe 1 mit Zeitspannen von < 6 Stunden (OR = 1.87, 95 % KI = 1.18 – 2.95, p = 0.007).

Die Kontaminationsrate der Organkulturmedien lag in Gruppe 1 mit 1,6 % höher als in Gruppe 2 mit 0.7 %.

Eine signifikante Veränderung des Risikos für kontaminierte Organkulturmedien im Vergleich von Gruppe 2 mit Gruppe 1 konnte nicht gezeigt werden (p = 0.58).

3.5.2. Ort der Entnahme der Bindehautabstriche

Die Orte, an denen die Entnahme der Bindehautabstriche am toten Hornhautspender erfolgte, wurden in Gruppen eingeteilt. Es wurde unterschieden zwischen 4 Gruppen:

Bei Gruppe 1 erfolgte die Entnahme in Kühlräumen oder in der Pathologie des Tübinger Universitätsklinikums, bei Gruppe 2 erfolgte die Entnahme auf einer der Intensivstationen des Tübinger Universitätsklinikums, bei Gruppe 3 auf anderen Stationen des Tübinger Universitätsklinikums, und in Gruppe 4 wurden alle externen Entnahmeorte wie beispielsweise das Kreiskrankenhaus Freudenstadt, das Klinikum am Steinenberg Reutlingen, das Paul-Lechler-Krankenhaus Tübingen oder die Entnahme in Räumlichkeiten von Bestattungsunternehmen zusammengefasst.

Mehr als die Hälfte aller Entnahmen (52.0 %) erfolgte in Kühlräumen und der Pathologie des Tübinger Universitätsklinikums. Gefolgt wurde diese Lokalisation in ihrer Häufigkeit von der Entnahme auf Intensivstationen des Tübinger Universitätsklinikums (19.4 %), auf anderen Stationen des Tübinger Universitätsklinikums (8.3 %) und an externen Entnahmeorten (6.7 %). In 13.5 % der Fälle wurde keine Angabe zum Entnahmeort gemacht (siehe Abbildung 18).

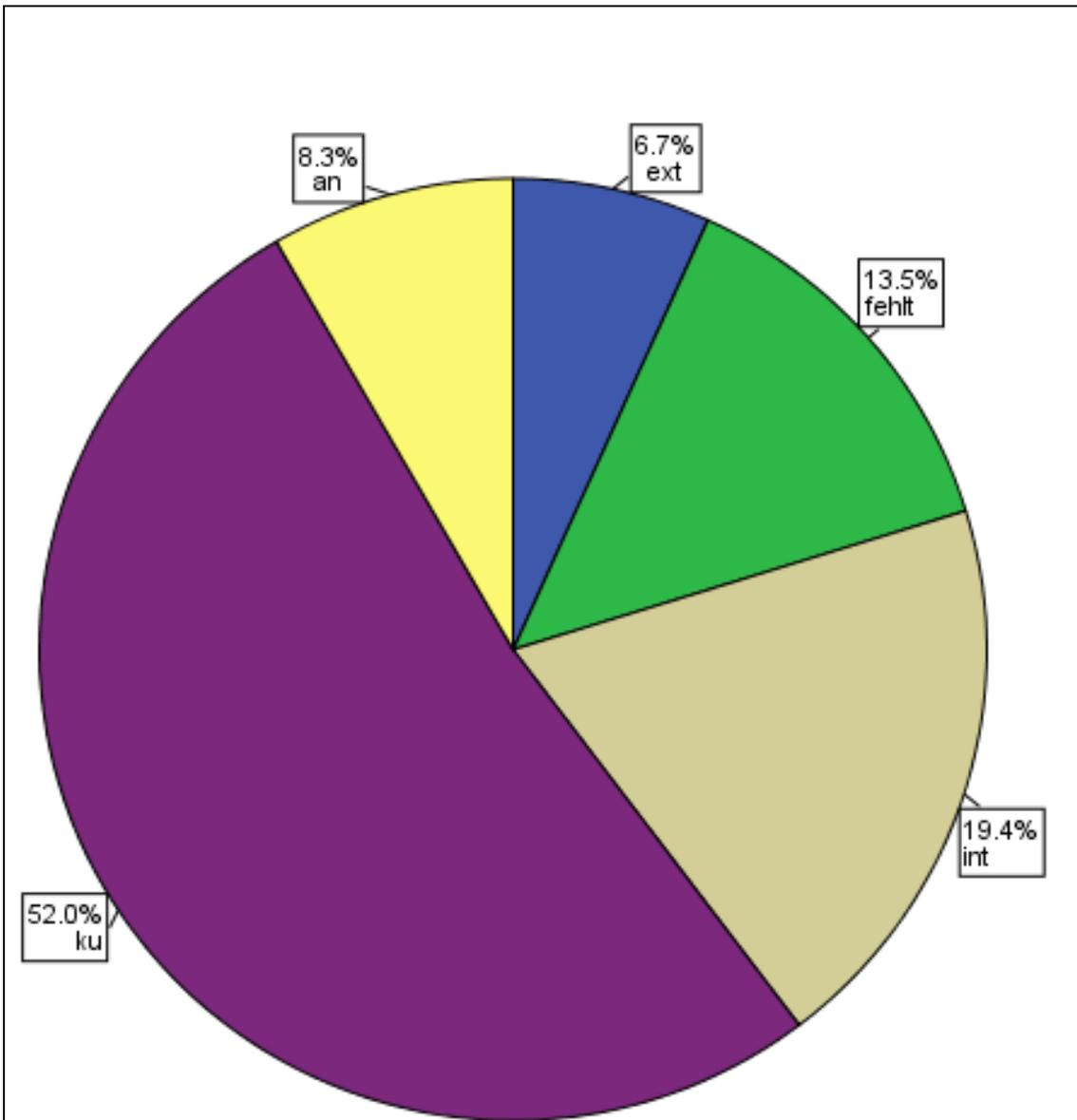


Abbildung 18: Verteilung der Entnahmeorte.

Die Abbildung zeigt die Verteilung der Orte, an denen die Entnahme der Bindehautabstriche erfolgte. Es wurde unterschieden zwischen Kühlräumen oder der Pathologie des Tübinger Universitätsklinikums (ku), Intensivstationen des Tübinger Universitätsklinikums (int), anderen Stationen des Tübinger Universitätsklinikums (an) und externen Entnahmeorten (ext). In 13.5 % der Fälle wurde keine Angabe zum Entnahmeort gemacht (fehlt).

Die höchste Rate an positiven Bindehautabstrichen zeigte sich bei Gruppe 4 der extern entnommenen Augen (44.1 %), während sie in Gruppe 1 (31.5 %), in Gruppe 2 (18.1 %) und in Gruppe 3 (31.0 %) darunter lag.

Der Vergleich von Gruppe 1 mit Gruppe 2 ergab, dass eine Entnahme in Kühlräumen oder der Pathologie des Tübinger Universitätsklinikums das Risiko für positive Bindehautabstriche signifikant auf mehr als das Doppelte im Vergleich zur Entnahme auf Intensivstationen des Tübinger Universitätsklinikums erhöhte (OR = 2.08, 95 % KI = 1.15 – 3.75, $p = 0.014$).

Der Vergleich von Gruppe 2 mit Gruppe 3 ergab, dass eine Entnahme auf anderen Stationen des Tübinger Universitätsklinikums das Risiko für positive Bindehautabstriche im Vergleich zur Entnahme auf Intensivstationen des Tübinger Universitätsklinikums nicht signifikant erhöhte ($p = 0.09$).

Der Vergleich von Gruppe 2 mit Gruppe 4 ergab, dass eine Entnahme in externen Räumlichkeiten das Risiko für positive Bindehautabstriche signifikant um mehr als das Dreifache im Vergleich zur Entnahme auf Intensivstationen des Tübinger Universitätsklinikums erhöhte (OR = 3.58, 95 % KI = 1.52 – 8.42, $p = 0.003$).

Die Kontaminationsraten der Organkulturmedien variierten zwischen 0.0 % bei Entnahmen extern und in anderen Räumlichkeiten des Tübinger Universitätsklinikums, 0.9 % in Kühlräumen oder der Pathologie des Tübinger Universitätsklinikums und 1.3 % auf Intensivstationen des Tübinger Universitätsklinikums.

Der Vergleich von Gruppe 2 mit Gruppe 3 ergab keinen signifikanten Anstieg des Risikos für die Kontamination des Organkulturmediums bei Zugehörigkeit zu Gruppe 2 ($p = 1.00$).

3.5.3. Eukleierender Arzt

Die Eukleation und Entnahme der Bindehautabstriche wurde in der Mehrzahl aller Fälle von einem einzelnen Arzt durchgeführt (95.6 %), lediglich 22 Augen (4.4 %) wurden von mehr als einem Arzt entnommen. Dies war dann der Fall,

wenn ein erfahrener Arzt einen unerfahrenen das Vorgehen und die Technik der E nukleation lehrte.

Die Rate an positiven Bindehautabstrichen lag bei Hornhäuten, die von einem einzelnen Arzt entnommen wurden, mit 20.0 % unter der Rate an positiven Bindehautabstrichen, wenn Augen von mehr als einem Arzt entnommen wurden (40.9 %).

Die Durchführung der E nukleation durch mehr als einen Arzt erhöhte das Risiko für positive Bindehautabstriche im Vergleich zur E nukleation durch einen Arzt nicht signifikant ($p = 0.23$).

Auch das Risiko für die Kontamination des Organkulturmediums stieg durch die Beteiligung mehrerer Ärzte an der E nukleation im Vergleich zur E nukleation durch einen Arzt nicht signifikant an ($p = 1.00$).

Während die Kontaminationsrate bei Entnahme durch einen Arzt bei 1.0 % lag, war sie bei Entnahme durch mehrere Ärzte geringer (0.0 %).

3.5.4. Zeitspanne zwischen Tod und Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe

Die durchschnittliche Zeitspanne, die zwischen dem Tod des Hornhautspenders und der Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe lag, betrug 27.3 ± 12.3 Stunden. Es wurden Werte von einem Minimum von 4.0 Stunden bis zu einem Maximum von 68.8 Stunden dokumentiert (siehe Abbildung 19).

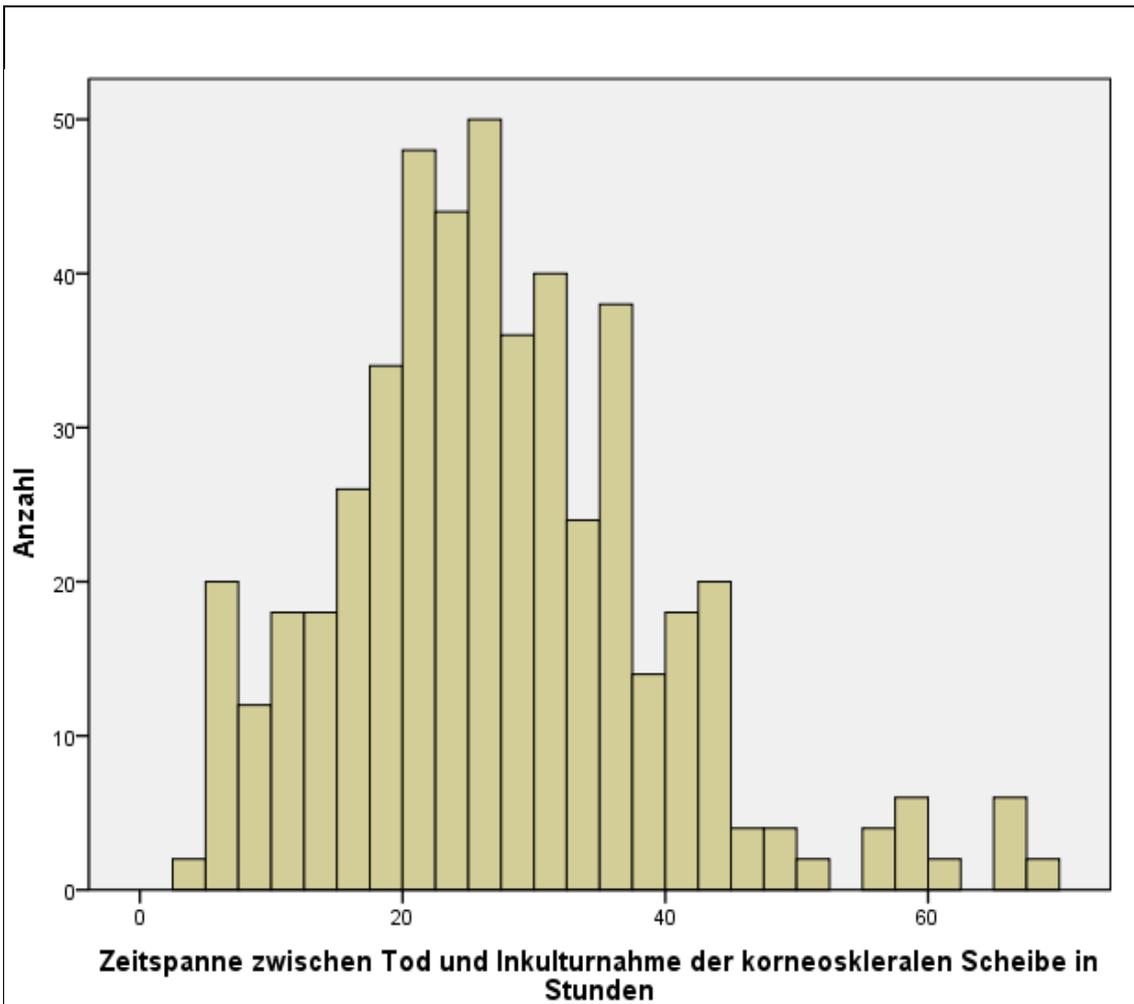


Abbildung 19: Verteilung der Zeitspannen zwischen Tod und Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe.

Die Abbildung zeigt die Verteilung der Zeitspannen zwischen Tod des Hornhautspenders und Inkulturnahme der 504 korneoskleralen Scheiben in Stunden. Die durchschnittliche Zeit lag bei 27.3 ± 12.3 Stunden.

Die Zeitspannen wurden in 3 Gruppen unterteilt:

Gruppe 1 umfasste Zeiten von < 24 Stunden, Gruppe 2 Zeiten von 24 bis 48 Stunden und Gruppe 3 Zeiten von > 48 bis 72 Stunden.

Mehr als die Hälfte aller Hornhäute konnte Gruppe 2 zugeordnet werden (51.2 %). Während Gruppe 1 mit 41.3 % einen weiteren großen Anteil bildete, waren Gruppe 3 die wenigsten Hornhäute zuzuordnen (5.2 %).

Da die Entnahme der Bindehautabstriche vor der Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe stattfand und somit die Zeitspanne zwischen Tod und Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe keinen Einfluss auf die Positivrate der Bindehautabstriche haben kann, wurde auf diese statistische Analyse verzichtet.

Die Kontaminationsrate der Organkulturmedien variierte zwischen 0.0 % in Gruppe 3, 0.5 % in Gruppe 2 und 1.7 % in Gruppe 1.

Der Vergleich von Gruppe 1 mit Gruppe 3 ergab keine signifikante Erhöhung des Risikos einer Kontamination des Organkulturmediums ($p = 1.00$).

3.5.5. Präparator

Die Präparation der korneoskleralen Scheibe wurde in der Mehrzahl der Fälle (91.3 %) von einem einzelnen Präparator durchgeführt, während lediglich an der Präparation von 44 korneoskleralen Scheiben (8.7 %) mehr als eine Person beteiligt war. Dies war dann der Fall, wenn ein erfahrener Präparator eine unerfahrene Person das Vorgehen und die Technik der Präparation der korneoskleralen Scheibe lehrte.

Da die Entnahme der Bindehautabstriche vor der Präparation der korneoskleralen Scheibe stattfand und somit der Präparator keinen Einfluss auf die Positivrate der Bindehautabstriche haben kann, wurde auf diese statistische Analyse verzichtet.

Auf die Kontaminationsrate der Organkulturmedien nahm die Anzahl der Präparatoren keinen signifikanten Einfluss ($p = 1.00$).

Die Kontaminationsrate der Organkulturmedien lag bei Hornhäuten, an deren Präparation mehrere Personen beteiligt waren, mit 0.0 % unter der Rate der Hornhäute, deren Präparation durch eine Person erfolgte (1.1 %).

3.5.6. Durchschnittstemperatur im Monat der Spende

Die Monate, in denen eine Spende erfolgte, wurden in 2 separate Gruppen eingeteilt:

Eine Zeitspanne von Mai bis September beinhaltete die wärmeren Monate, während eine weitere von Oktober bis April die kühleren Monate umfasste.

Etwas weniger als die Hälfte aller Spender (45.2 %) verstarb im Zeitraum von Mai bis September, etwas mehr als die Hälfte (54.8 %) im Zeitraum von Oktober bis April.

Während der Mittelwert der monatlichen Durchschnittstemperaturen von Mai bis September 17.4 ± 2.7 °C betrug, lag er mit 5.5 ± 3.9 °C in der Zeit von Oktober bis April niedriger.

Die Rate an positiven Bindehautabstrichen lag im Zeitraum von Mai bis September bei 29.4 %, während sie im Zeitraum von Oktober bis April darunter lag (27.5 %).

Der Vergleich der beiden Zeitspannen ergab keinen signifikanten Einfluss der Zugehörigkeit zu einer der beiden Gruppen auf das Risiko für positive Bindehautabstriche ($p = 0.92$).

Ein signifikant erhöhtes Risiko für kontaminierte Organkulturmedien in den Monaten von Mai bis September konnte ebenfalls nicht gezeigt werden ($p = 1.00$). Die Kontaminationsrate der Organkulturmedien betrug von Mai bis September 1.0 % und von Oktober bis April 0.9 %.

3.6. Transplantationsrate

Im Studienzeitraum wurden in der Universitäts-Augenklinik Tübingen 264 Hornhäute transplantiert, was einem Anteil von 52.4 % aller gespendeten Hornhäute entsprach.

47.6 % der Hornhäute wurden von der Transplantation ausgeschlossen und somit verworfen.

3.7. Gründe für einen Ausschluss von der Transplantation

3.7.1. Medizinische Kontraindikationen

Unter allen nicht transplantierten Hornhäuten bestand die Hauptursache, die zu einem Ausschluss von der Transplantation und somit zum Verwerfen der betreffenden Hornhäute führte, aus medizinischen Kontraindikationen des Hornhautspenders (55.0 %).

Dazu zählte beispielsweise wie in den meisten Fällen, dass die Serologie des Spenders nicht auswertbar oder reaktiv war oder es sich nach Entnahme der Bulbi im Gespräch mit dem behandelnden Hausarzt herausstellte, dass eine Kontraindikation wie etwa eine biologische Herzklappe vorlag. Auch Befunde der Bindehautabstriche, die gegen das Ausführen einer Transplantation sprachen, stellten eine medizinische Kontraindikation dar. Dazu zählten, wie bereits in Kapitel 2.10.2 beschrieben, Schimmelpilze.

3.7.2. Qualität

Etwas weniger häufig führte eine unzureichende Qualität der Spenderhornhäute wie beispielsweise eine zu geringe Endothelzelldichte, verminderte Transparenz des Hornhautstromas oder Ablösungen der Descemet-Membran zum Ausschluss von der Transplantation (35.0 %).

3.7.3. Kontamination

Eine weitere, weniger häufige Ursache war das Feststellen einer Kontamination des Organkulturmediums im Rahmen der mikrobiologischen Untersuchungen (1.7 %).

Zu 8.3 % der nicht transplantierten Spenderhornhäute wurde keine Angabe über den Grund der nicht erfolgten Transplantation gemacht (siehe Abbildung 20).

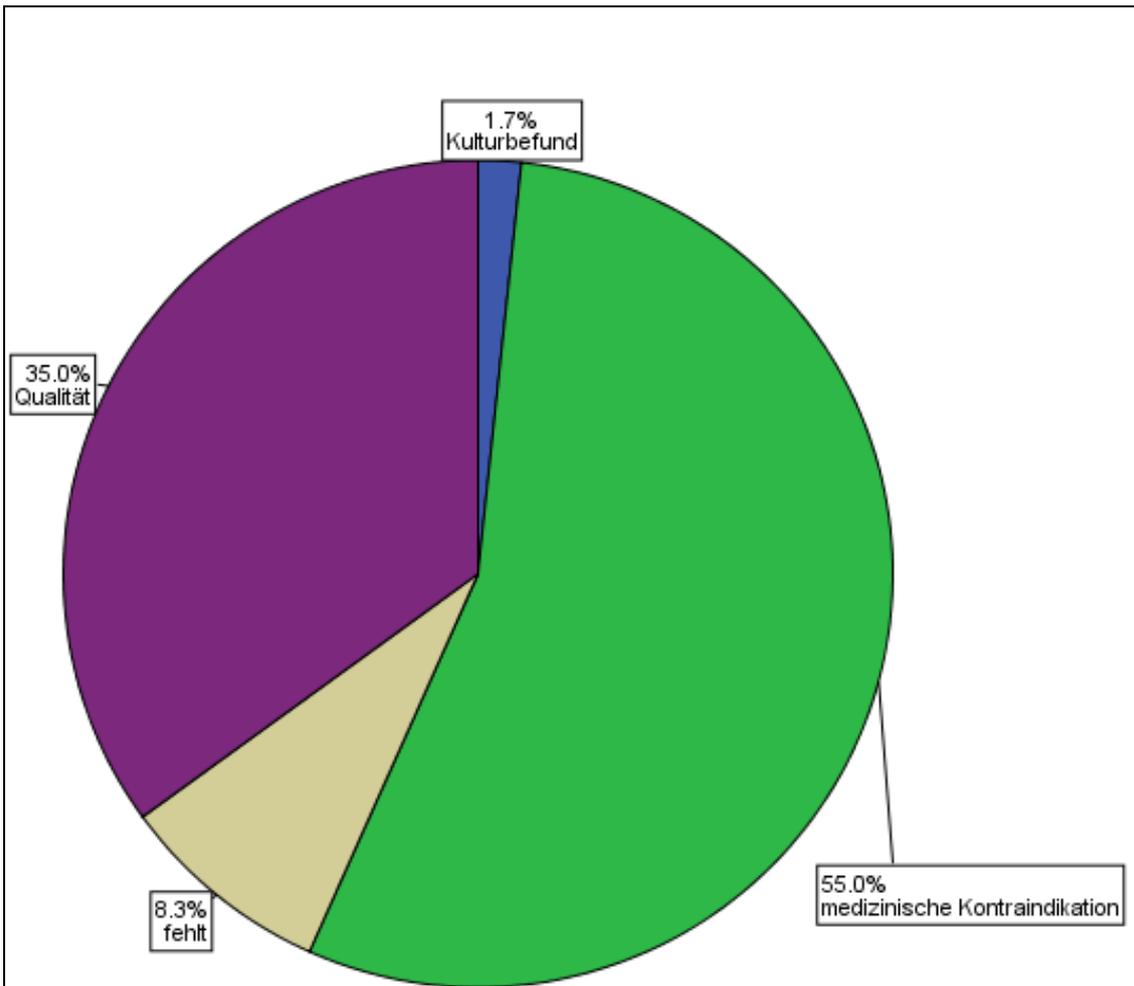
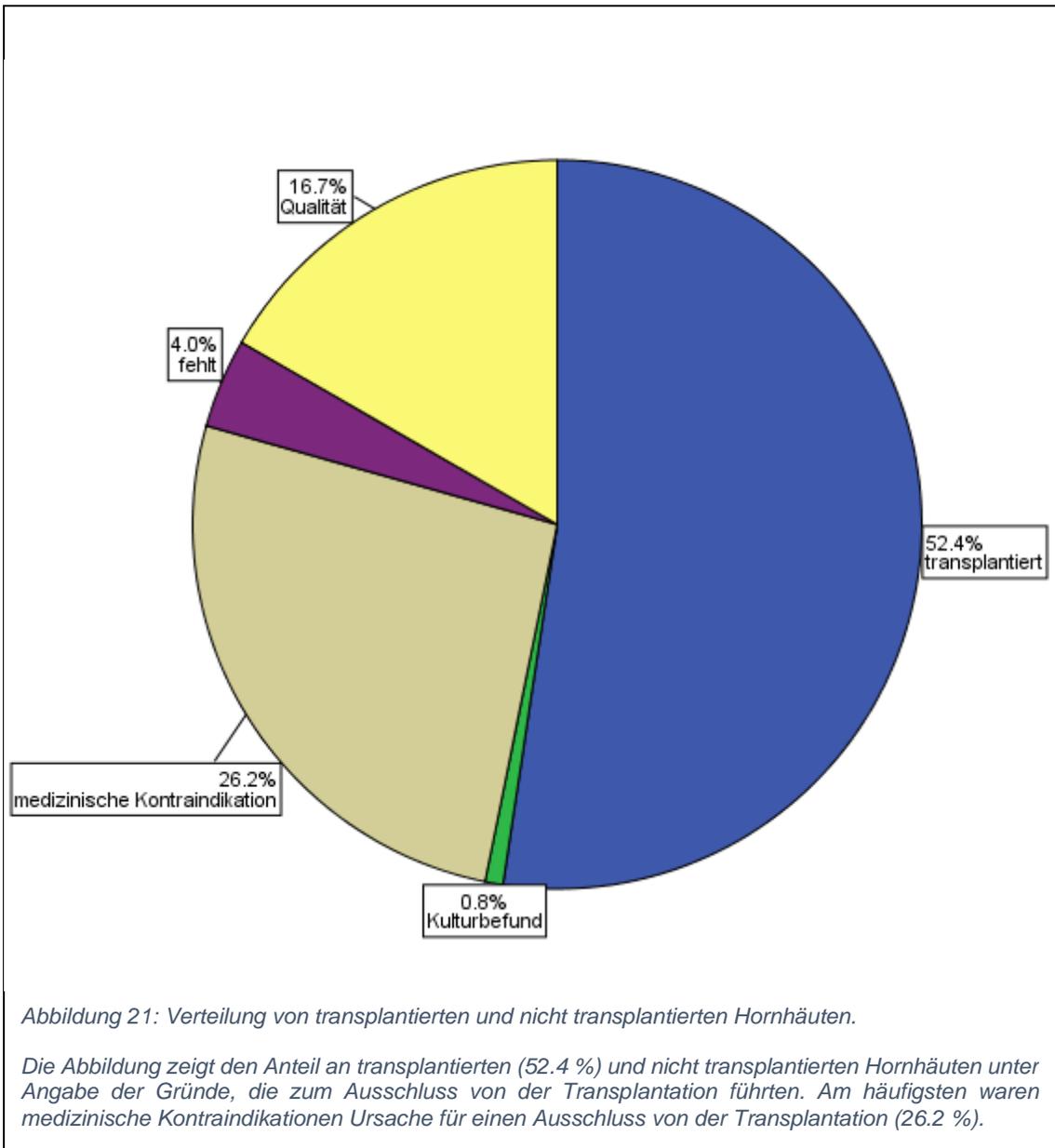


Abbildung 20: Verteilung der Gründe, die zu einem Ausschluss von der Transplantation führten.

Die Abbildung zeigt die Verteilung von Ursachen, die zum Ausschluss von der Transplantation führten. Unter allen Ausschlussursachen war die häufigste eine medizinische Kontraindikation des Spenders (55.0 %), gefolgt von mangelnder Qualität der Hornhäute (35.0 %). Kontaminierte Organkulturmedien stellten eine weniger häufige Ursache dar (1.7 %). Zu 8.3 % der nicht transplantierten Spenderhornhäute wurde keine Angabe über den Grund der nicht erfolgten Transplantation gemacht.

Wurden in die Gesamtbetrachtung der Ausschlussgründe auch alle Hornhäute mit eingeschlossen, bei denen keine Ausschlussursache vorlag und deren Transplantation erfolgte, ergab sich eine andere Häufigkeitsverteilung (siehe Abbildung 21).



3.8. Endothelzelldichte

Die durchschnittliche Endothelzelldichte der Hornhautspender lag bei 2261 ± 490 Zellen / mm^2 . Während transplantierte Hornhäute durchschnittlich eine Zelldichte von 2438 ± 364 Zellen / mm^2 aufwiesen, lag die Endothelzelldichte bei Hornhäuten, bei denen keine Transplantation erfolgte, mit 1994 ± 536 Zellen / mm^2 darunter.

3.9. Kosten im Rahmen der entnommenen Bindehautabstriche

Wird nach Rücksprache mit der Medizinischen Mikrobiologie des Universitätsklinikums Tübingen von Kosten von 0.50 € pro Abstrichtupfer, 13.25 € für die einfache mikrobiologische Aufbereitung eines Abstrichs (inklusive Blutagar, Endoagar, Brain Heart Infusion Agar, Leberbouillon), 30.00 € für die Identifizierung des Erregers und Erstellen eines Antibigramms bei positiven Abstrichen, 4 Abstrichen pro Spender und einer Positivrate von 28.4 % ausgegangen, entstehen pro Spender durchschnittlich Kosten von 72.04 €. Im analysierten Zeitraum mit 252 Spendern entstanden so Kosten von etwa 18150 €.

4. Diskussion

4.1. Positivrate und Keimspektrum der Bindehautabstriche

Mit Positivraten der Bindehautabstriche von weniger als einem Drittel (28.4 %) lässt sich das Ergebnis der vorliegenden Studie in Einklang bringen mit Raten ähnlicher Untersuchungen.

Singer et al. zeigten eine Rate an positiven Bindehautabstrichen von 77 bis 79 % in Abhängigkeit vom Alter der Probanden ohne vorherige Desinfektion (Singer et al., 1988).

Auch Capriotti et al. und Sthapit et al. fanden in Untersuchungen mit 86.2 % und 78.5 % ähnlich hohe Positivraten, ebenfalls nach Abstrichentnahme ohne vorherige Desinfektion (Capriotti et al., 2009; Sthapit und Tuladhar, 2014).

Niedere Positivraten fanden sich bei Li et al. (49.7 %) nach Abstrichentnahme vor nachfolgender Desinfektion (Li et al., 2014).

Bei postmortaler Entnahme der Bindehautabstriche nach Desinfektion mit Povidon-Jod zeigten Mindrup et al. eine Rate an positiven mikrobiologischen Ergebnissen von 28.9 % (Mindrup et al., 1993), Matsumoto et al. eine Positivrate von 36.7 % (Matsumoto et al., 2011) und Fuest et al. eine Positivrate von 22.8 % (Fuest et al., 2016).

Nach Einbringen eines Tropfens 0.5 % Proparacain in den Bindehautsack stießen Reddy und Paul in einer Kontrollgruppe aus Patienten mit bevorstehender Katarakt-Operation lediglich in 7.0 % der Fälle auf positive Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Bindehautabstriche (Reddy und Paul, 2013).

Abhängig vom zuvor durchgeführten Dekontaminationsprotokoll und vom untersuchten Patientenkollektiv zeigten andere Studien also eine Spanne von 7.0 % bis 86.2 % der Positivrate von Bindehautabstrichen. In Anbetracht der in dieser Studie angewandten Schritte zur Desinfektion lässt sich das Ergebnis von 28.4 % im unteren Mittelfeld dieser Spanne einordnen.

Andere Autoren beschrieben bereits koagulasenegative Staphylokokken, koagulasepositive Staphylokokken, grampositive Bacillus, Streptokokken, Corynebakterien und Enterokokken als Vertreter der physiologischen Normalflora der Konjunktiva (Matsumoto et al., 2011; Sthapit und Tuladhar, 2014; Reddy und Paul, 2013; Fuest et al., 2016; Wilhelm et al., 2001). In dieses Spektrum passen auch koagulasenegative Staphylokokken, Corynebakterien und vergrünende Streptokokken mit Ausnahme von Pneumokokken, die in dieser Untersuchung am häufigsten für positive Abstrichergebnisse verantwortlich waren (70.7 %).

4.2. Kontaminationsrate und Keimspektrum der Organkulturmedien

Im betrachteten Zeitraum von Juli 2015 bis September 2017 lag die Kontaminationsrate der Organkulturmedien aller Hornhäute bei 0.8 %, beziehungsweise bei 1.0 % in Bezug auf alle Organkulturmedien, zu denen ein Ergebnis der mikrobiologischen Untersuchungen vorlag.

Im Vergleich zu anderen Untersuchungen liegt die hier ermittelte Kontaminationsrate sehr niedrig.

Farrell et al. fanden bei Studien mit Einbeziehung von 446 Spenderhornhäuten eine Kontaminationsrate von 14.1 %. Streptokokken wurden am häufigsten in den betroffenen Medien nachgewiesen (Farrell et al., 1991).

Noch höhere Kontaminationsraten berichteten Mathers und Lemp aus Betrachtungen von 291 Spenderhornhäuten (39 %) mit *Staphylococcus epidermidis* als Hauptverursacher von Kontaminationen (Mathers und Lemp, 1987).

Ebenfalls hohe Kontaminationsraten zeigten Gopinathan et al. bei einer Untersuchung von 648 Hornhäuten (47.9 %) mit koagulasenegativen Staphylokokken als meist nachgewiesenem Erreger (Gopinathan et al., 1994).

In neueren Studien von Hermel et al. lag die Rate mit 2.4 % bei 762 Hornhäuten und *Staphylococcus haemolyticus* als häufigstem Keim deutlich darunter (Hermel et al., 2010).

Li et al. ermittelten Kontaminationsraten der Organkulturmedien von 10.8 %, 7.0 % und 4.5 % bei der Untersuchung von 1038 Hornhäuten in 3 aufeinander folgenden Jahren. *Candida albicans* lag am häufigsten einer Kontamination zugrunde (Li et al., 2014).

Als Grund für die im Vergleich zu ähnlichen Untersuchungen zur Kontamination von Kulturmedien kultivierter Spenderhornhäute auffallend geringe Kontaminationsrate kann das in dieser Studie angewandte ausgiebige Dekontaminationsprotokoll angesehen werden:

Hierzu zählen das Spülen der Fornices mit 0.75 % Povidon-Jod, das Reinigen der Augenoberfläche und der periokulären Region mit 0.75 % Povidon-Jod für eine Einwirkzeit von mindestens 3 Minuten vor Enukleation, das Verwenden steriler Instrumente, steriler Handschuhe, steriler OP-Kittel, von Mundschutz und OP-Haube, die Zugabe von Gentamicin-Augentropfen in Urinbecher zum Transport und die Präparation der korneoskleralen Scheibe unter einer Sicherheitswerkbank Klasse II nach erfolgter erneuter Dekontamination der Bulbi für je 5 Minuten in 0.375 % Povidon-Jod. Die erneute Dekontamination wurde durchgeführt, da bei der Entnahme des Bulbus aus der Augenhöhle nach Durchtrennen der Augenmuskeln und des Nervus opticus theoretisch eine Berührung mit Wimpern oder Lidern des Toten und damit eine Kontamination mit darauf noch befindlichen Keimen erfolgen könnte. Auch die Zugabe von Antibiotika und Antimykotika zum Organkulturmedium und das zeitnahe Entnehmen und Präparieren der Hornhäute trägt zur effektiveren Dekontamination bei.

Im Vergleich zu diesem Dekontaminationsprotokoll wurde beispielsweise bei Li et al. auf die Zugabe von Gentamicin verzichtet. Des Weiteren erfolgte hier die Entnahme der korneoskleralen Scheibe nicht unter einer Sicherheitswerkbank, sondern direkt am Spender und folglich keine zweimalige Dekontamination mit Povidon-Iod, sondern nur die einmalige (Li et al., 2014).

Andere Vorgehensweisen beschreiben das Einlegen von korneoskleralen Scheiben in eine 0.3 % Gentamicin-Lösung für eine Stunde vor der Umlagerung ins Organkulturmedium. Einziges zum Kulturmedium zugegebenes Antibiotikum

war in der Studie von Gopinathan et al. Gentamicin. Auf den Einsatz von Antimykotika wurde verzichtet (Gopinathan et al., 1994).

In einer weiteren Studie von Mathers und Lemp kam lediglich Gentamicin als antimikrobieller Zusatz zum Kulturmedium zum Einsatz. Auf das Spülen der Fornices wurde hier verzichtet und zur Desinfektion der periokulären Region wurde Alkohol verwendet (Mathers und Lemp, 1987).

So lässt sich trotz gemeinsamer Schritte in keiner der betrachteten Studien die vollständige Anwendung des in der vorliegenden Untersuchung verwendeten ausführlichen Dekontaminationsprotokolls erkennen.

Die Effektivität einzelner in der Studie angewandter Dekontaminationsschritte, wie beispielsweise das Spülen mit NaCl, das Reinigen mit Povidon-Jod oder der Einsatz von Antibiotika zur Behandlung von Spenderaugen, wurde in verschiedenen Studien bestätigt (Panda et al., 2006; Pels und Vrensen, 1999; Berkelman et al., 1982; Boberg-Ans et al., 1962).

Bereits 1995 wurden von Hagenah et al. *Micrococcus species* und Pilze als Verursacher von Kontaminationen der Organkulturmedien beschrieben (Hagenah et al., 1995) wie in den Ergebnissen unserer vorgelegten Studie.

4.3. Antibiotika und Antimykotika im Kulturmedium

Die in der vorliegenden Studie eingesetzten Antimykotika und Antibiotika als Zusatz zu Kulturmedium I waren Amphotericin B, Streptomycinsulfat und Penicillin G.

In Anbetracht der nachgewiesenen Erreger *Candida glabrata* und *Micrococcus luteus/lylae*, die eine Sensitivität für viele der zur mikrobiologischen Testung eingesetzten antimikrobiellen Substanzen zeigten, kann der Zusatz weiterer Antibiotika und Antimykotika diskutiert werden. Denkbar wäre beispielsweise der Zusatz von Voriconazol, das als Triazol über einen anderen Mechanismus wirkt als das bisher eingesetzte Amphotericin B, das zur Gruppe der Polyene zählt. Die Möglichkeit des Einsatzes und die Nichttoxizität von Voriconazol zur

Behandlung von Hornhautendothel im Tiermodell wurde bereits beschrieben (Han et al., 2012).

Als Antibiotikum wäre gemäß Antibiogramm für die Zukunft zum Beispiel der Einsatz des Fluorchinolons Ciprofloxacin zum bisher verwendeten Aminoglykosid Streptomycin und Betalaktam Penicillin denkbar. Aufgrund der von Bezwada et al. gezeigten Toxizität auf Hornhautendothel sollte stattdessen jedoch besser der Einsatz des in entsprechenden Dosen nicht toxisch wirkenden Levofloxacins in Betracht gezogen werden, das auch zur Gruppe der Fluorchinolone zählt (Bezwada et al., 2008).

4.4. Zusammenhang zwischen Bindehautabstrichen und Kontamination des Kulturmediums

Die statistische Analyse ergab in der hier vorliegenden Studie keinen signifikanten Anstieg des Kontaminationsrisikos des zugehörigen Organkulturmediums bei positiven Bindehautabstrichen im Vergleich zum Kontaminationsrisiko bei negativen Bindehautabstrichen ($p = 0.08$).

Jedoch konnte bei positiven Bindehautabstrichen häufiger (2.1 %) eine Kontamination des zugehörigen Organkulturmediums festgestellt werden als bei negativen Ergebnissen der Bindehautabstriche (0.3 %).

So kann aufgrund des nahezu signifikanten p-Werts und der beobachteten Häufigkeiten trotz des nicht signifikanten Ergebnisses der Trend beobachtet werden, dass positive Bindehautabstriche das Risiko für eine Kontamination des Organkulturmediums erhöhen. In Anbetracht der vorliegenden Ergebnisse kann vermutet werden, dass künftige Untersuchungen mit Einbeziehung größerer Mengen an Hornhäuten und zugehöriger Medien signifikante Ergebnisse liefern könnten.

Die Studie von Li et al. lieferte das Ergebnis, dass positive Bindehautabstriche das Risiko für eine Kontamination des Organkulturmediums signifikant erhöhten. Bei positiven Bindehautabstrichen wurde hier häufiger (16.5 %, 11.5 %, 7.6 % in 3 aufeinander folgenden Jahren) eine Kontamination des zugehörigen

Organkulturmediums beobachtet als bei negativen (7.2 %, 1.9 %, 0.6 % in 3 aufeinander folgenden Jahren).

Neben der im Vergleich zur vorliegenden Studie höheren Fallzahl von 1038 Hornhäuten besteht jedoch ein weiterer entscheidender Unterschied in der Entnahme der Bindehautabstriche, welche bereits vor der Desinfektion des Auges und der periokulären Region durchgeführt wurde, was zu einer höheren Rate an positiven Bindehautabstrichen führte (38.3 %, 53.7 %, 55.6 % in 3 aufeinander folgenden Jahren) (Li et al., 2014).

4.5. Zusammenhang zwischen Einflussfaktoren und Abstrichergebnis

Als Faktoren, die das Risiko für positive Ergebnisse der Bindehautabstriche signifikant erhöhten, wurden in der vorliegenden Studie die Diagnose eines Karzinoms oder Metastasen, eine Zeitspanne zwischen Tod und Entnahme der Bindehautabstriche von ≥ 6 bis 72 Stunden und die Entnahme der Bindehautabstriche in Kühlräumen oder in der Pathologie des Tübinger Universitätsklinikums oder in externen Räumlichkeiten identifiziert.

Es kann vermutet werden, dass während verlängerter Zeitspannen zwischen dem Tod eines Spenders und der Entnahme der Bindehautabstriche eine weitere Vermehrung von Hautkeimen bei Zimmertemperatur stattfindet, die die höhere Rate an positiven Bindehautabstrichen erklärt.

Die beobachtete Risikoerhöhung für positive Bindehautabstriche bei Entnahme in externen Räumlichkeiten lässt die Annahme zu, dass hier der Fokus weniger auf Hygiene liegt als in Krankenhäusern generell und speziell auf Intensivstationen. So werden im Tübinger Universitätsklinikum beispielsweise immungeschwächte Patienten in Zimmern untergebracht, die mit speziellen Luftfilteranlagen (Laminar-Airflow-Einheit) zur Senkung der Keimzahl ausgestattet sind (UKT, 2018).

In einer Studie von Matsumoto et al. wurden als Einflussfaktoren auf Abstrichergebnisse die Zeit zwischen Tod und Inkulturnahme der

korneoskleralen Scheibe, das Alter der Spender und, wie auch in der vorliegenden Arbeit, Krebserkrankungen ermittelt (Matsumoto et al., 2011).

Gründe für die signifikant höhere Rate an positiven Bindehautabstrichen von Krebspatienten können im reduzierten Allgemeinzustand und den herabgesetzten Fähigkeiten des Immunsystems dieser Patienten gesehen werden. Dadurch weisen Krebspatienten eine höhere Keimlast auf als Gesunde, welche mit schlechteren Überlebensraten vergesellschaftet ist (Laroumagne et al., 2013). Neben der Keimlast unterliegt auch das physiologische Keimspektrum krebsbedingten Änderungen (Bolz et al., 2014).

Das Alter als signifikante Einflussgröße auf die Positivrate von Bindehautabstrichen fiel in der Studie von Sthapit et al. auf (Sthapit und Tuladhar, 2014). In der vorliegenden Untersuchung ergab die statistische Analyse keinen signifikanten Anstieg des Risikos für positive Bindehautabstriche bei steigendem Spenderalter ($p = 0.16$ und $p = 0.08$). Jedoch konnten bei der Gruppe der ältesten Spender häufiger (33.3 %) positive Ergebnisse der Bindehautabstriche beobachtet werden als bei der Gruppe der jüngsten Spender (19.6 %). So kann aufgrund des nahezu signifikanten p-Werts ($p = 0.08$) und der berechneten Häufigkeiten der Trend beobachtet werden, dass ein steigendes Spenderalter das Risiko für positive Ergebnisse der Bindehautabstriche erhöht.

Wider Erwarten konnte in der vorliegenden Untersuchung zwar eine signifikante Erhöhung des Risikos für positive Bindehautabstriche bei Hospitalisationszeiten von 2 bis 7 Tagen gegenüber Zeiten von < 2 Tagen gezeigt werden, jedoch keine signifikante Erhöhung bei Zeiten von > 7 Tagen gegenüber Zeiten von < 2 Tagen. Ein Grund für das Abfallen des Risikos ab einem Krankenhausaufenthalt von > 7 Tagen, der in künftigen Untersuchungen mitberücksichtigt werden könnte, ist möglicherweise, dass Patienten mit längerer Aufenthaltsdauer häufiger eine intravenöse antibiotische beziehungsweise antimykotische Therapie erhielten als Patienten mit kürzerem Aufenthalt.

4.6. Zusammenhang zwischen Einflussfaktoren und Kulturbefund

In der vorliegenden Studie konnten keine Einflussfaktoren, die die Kontamination des Organkulturmediums signifikant beeinflussen, eruiert werden.

Eine Studie von Albon et al. konnte unter den Faktoren Todesursache, Zeit zwischen Tod und Entnahme oder Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die Kontamination des Mediums feststellen (Albon et al., 2001).

Demgegenüber identifizierten Gavrilov et al. hohe Zeitspannen zwischen Entnahme und Inkulturnahme der korneoskleralen Scheibe als signifikanten Risikofaktor für kontaminierte Medien (Gavrilov et al., 2010) und Armitage et al. die Todesursachen Krebs, Atemwegserkrankungen und Infektionen (Armitage et al., 2014). Die Todesursachen Infektion und Multiorganversagen, warme Temperaturen im Monat der Spende und septische Spender fielen in der Studie von Röck et al. auf (Röck D. et al., 2017).

Ein Unterschied zwischen den genannten Studien und der hier vorliegenden Untersuchung liegt in der Anzahl einbezogener Hornhäute: Während in die vorliegende Untersuchung Ergebnisse von 504 Hornhäuten einfließen, analysierten Armitage et al. 8317 (Armitage et al., 2014), Röck et al. 1340 (Röck D. et al., 2017) und Gavrilov et al. 2596 Hornhäute (Gavrilov et al., 2010).

Außerdem wurde in der vorliegenden Untersuchung mit 1.0 % unter Einbeziehung aller Hornhäute, zu denen ein mikrobiologisches Ergebnis vorlag, eine geringere Kontaminationsrate der Organkulturmedien beobachtet als bei Armitage et al. (5.7 %) (Armitage et al., 2014), Röck et al. (1.8 %) (Röck D. et al., 2017) und Gavrilov et al. (6.0 %) (Gavrilov et al., 2010).

Eine größere Fallzahl und höhere Kontaminationsraten führen insgesamt zu einer höheren Anzahl kontaminierter Medien. In Studien mit einer höheren Anzahl kontaminierter Medien ist der Nachweis statistisch signifikanter Einflussfaktoren bereits bei kleineren absoluten Unterschieden möglich als bei der vorliegenden Untersuchung mit einer geringeren Menge kontaminierter Medien.

4.7. Reduktion des Mangels

4.7.1. Verringerung der Verwerfungsraten

In der vorliegenden Untersuchung stellten mit 35.0 % eine reduzierte Spenderhornhautqualität und mit 55.0 % medizinische Kontraindikationen die Hauptursachen für das Verwerfen von bereits entnommenen Spenderhornhäuten dar. Dazu zählte neben dem Fall, dass sich nach Entnahme der Bulbi im Gespräch mit dem behandelnden Hausarzt herausstellte, dass eine Kontraindikation wie beispielsweise eine biologische Herzklappe vorlag, und Befunden der Bindehautabstriche, die gegen das Ausführen einer Transplantation sprachen, auch, dass in einer Vielzahl von Fällen die Serologie des Spenders nicht auswertbar oder reaktiv war.

Eine aktuelle Studie aus dem Jahr 2017 zeigte, dass reaktive oder nicht auswertbare Serologien jährlich in 14.8 % aller Hornhautspender vorlagen und so zum Ausschluss der zugehörigen Hornhäute von einer möglichen Transplantation führten. Signifikant erhöht wurde das Risiko für reaktive oder nicht auswertbare Serologien durch Krebs als Todesursache des Spenders oder verlängerte Zeitspannen zwischen dem Tod des Spenders und der Blutentnahme am Leichnam. Hier wird diskutiert und angenommen, dass die Qualität des postmortal entnommenen Spenderbluts durch hämolytische Prozesse nach Chemotherapie oder verlängerte Zeitspanne zwischen Tod und Blutentnahme deutlich abnimmt (Röck T. et al., 2017a).

Andere Studien zeigten Raten an reaktiven oder nicht auswertbaren Serologien zwischen 21.5 % (Challine et al., 2006) und 6.7 % (Raj et al., 2018). Raj et al. beschrieben ebenfalls einen Einfluss der Todesursache auf virologische Testergebnisse und empfehlen, die Blutentnahme zur mikrobiologischen Untersuchung innerhalb von 10 Stunden nach Eintritt des Todes durchzuführen (Raj et al., 2018).

Um zukünftig die Anzahl reaktiver oder nicht auswertbarer Serologien und damit die Anzahl verworfener Hornhäute zu reduzieren, sollte die Blutentnahme am Leichnam möglichst zeitnah nach der Feststellung des Todes erfolgen. Aus diesem Grund existiert an der Tübinger Universitäts-Augenklinik ein

Hornhautbankassistent, welcher bei vorliegendem Einverständnis zur Hornhautspende unmittelbar zur Entnahme aufbrechen kann, um möglichst keine Zeit zu verlieren. Nach dessen Dienstschluss um 17:15 Uhr sowie an Wochenenden übernimmt diese Tätigkeit der rufdiensthabende Kollege.

4.7.2. Split-DMEK und Quarter-DMEK

Ein weiterer Ansatz, das vorliegende Angebot an Spenderhornhäuten optimal zu nutzen, wurde bereits 2015 beschrieben: Anstatt eine Spenderhornhaut für die Therapie eines Patienten zu nutzen, zeigen Yoeruek und Bartz-Schmidt die Möglichkeit auf, ein Transplantat für 3 Patienten zu verwenden. Die Entnahme eines DMEK-Transplantats mit größerem Durchmesser und dessen Zerteilen in zwei Hälften ermöglicht die Versorgung von zwei Patienten mit einer DMEK (Split-DMEK). Die übrigen, für die DMEK nicht benötigten Schichten, können beispielsweise für die tiefe anteriore Keratoplastik (DALM) eines dritten Patienten mit Keratokonus genutzt werden (Yoeruek und Bartz-Schmidt, 2015).

Eine brandaktuelle Weiterentwicklung dieser Idee beschreibt das Zerteilen eines DMEK-Transplantats in Viertel (Quarter-DMEK). Folglich können 4 Patienten von einem DMEK-Transplantat profitieren (Zygoura et al., 2018; Muller et al., 2017).

4.7.3. Zellenbasierter Ansatz

Neben verschiedenen Ideen, dem aktuellen Mangel an Spenderhornhäuten mit einer Verringerung der Verwerfungsraten oder mit dem Aufteilen einer Spenderhornhaut für mehrere Empfänger zu begegnen und so das vorliegende Angebot an Hornhäuten bestmöglich zu nutzen, wird in der Forschung momentan auch der Ansatz verfolgt, *in vitro* kultivierte Zellschichten zur Wiederherstellung gestörter Augenoberflächen zu nutzen. So liegt hier der Schwerpunkt statt auf optimaler Nutzung der vorhandenen Spenden viel mehr darauf, den Bedarf an Spenderhornhäuten zu senken (Kinoshita et al., 2004).

Für die Entnahme zu kultivierender Zellen gibt es verschiedene Möglichkeiten:

Zum einen können Hornhautstammzellen vom Patienten selbst (autolog) oder von einem Spender (allogen) entnommen werden. Die autologe Entnahme kommt bei Patienten zum Einsatz, die von einer Schädigung des Hornhautepithels einseitig betroffen sind. Stammzellen werden am Limbus des gesunden Auges entnommen, auf Amnionmembranen kultiviert und nach oberflächlicher Keratektomie am erkrankten Auge transplantiert, um die vollständige Reepithelialisierung nach wenigen Tagen zu erreichen (Tsai et al., 2000).

Für Patienten, die an beiden Augen von Hornhautschädigungen, den Verlust von Limbusstammzellen miteingeschlossen, betroffen sind, kommt die allogene Spende von lebenden Angehörigen oder toten Spendern in Frage (Tsai und Tseng, 1994).

Um die lebenslange Immunsuppression des Patienten zum Erhalt der transplantierten Zellen auf dem erkrankten Auge, die bei der allogenen Transplantation vonnöten ist, zu umgehen, gibt es für beidseits erkrankte Patienten auch die Möglichkeit, autologe Mundschleimhaut-Epithelzellen zur Kultivierung und Rekonstruktion zu verwenden (Kinoshita et al., 2004).

Neueste wissenschaftliche Untersuchungen aus dem Jahr 2018 zeigen eine Weiterentwicklung bekannter Techniken zur Verwendung kultivierter menschlicher Hornhautendothelzellen: Während dieser Einsatz bisher lediglich auf isolierte Schädigungen des Endothels beschränkt war, gibt es nun Versuche, neben geschädigtem Endothel auch Teile einer pathologischen Descemet-Membran zu entnehmen. Da die Regeneration des Endothels nach Injektion kultivierter Zellen in die Augenvorderkammer sowohl auf der belassenen Descemet-Membran als auch auf dem freiliegenden Stroma erfolgt, liegt hier ein neuer Ansatz zur Therapie der Fuchs'schen Endotheldystrophie vor (Okumura et al., 2018).

4.7.4. DWEK

Eine aktuell viel diskutierte Möglichkeit, Erkrankungen des Hornhautendothels ohne Transplantation oder kultivierte Zellen zu therapieren, stellt die **Descemetorhexis Without Endothelial Keratoplasty (DWEK)** dar (Kaufman et al., 2018): Nach der Entnahme erkrankter Teile des Endothels und der Descemet-Membran wird lediglich durch die natürliche Fähigkeit der Hornhaut zur Regeneration und Zellmigration nach 3 Monaten die vollständige Reendothelialisierung des Stromas, eine Verbesserung der Sehschärfe und der Durchlässigkeit der Hornhaut erreicht. Dieser Ansatz wird in der Literatur aber lediglich bei zentralen Erkrankungen mit geringem Durchmesser in der optischen Achse empfohlen (Iovieno et al., 2017; Moloney et al., 2017).

4.7.5. ROCK-Inhibitoren

Gegenstand der Forschung ist auch die topische Anwendung von Rho-assoziierten Proteinkinase-Inhibitoren (ROCK-Inhibitoren), die im Tiermodell die Zellproliferation steigern und die Apoptose hemmen, wodurch die Wundheilung des Hornhautendothels gefördert wird. Ziel ist es, neue medikamentöse und weniger invasive Therapien für die Behandlung von Dysfunktionen des Hornhautendothels zu entwickeln (Okumura et al., 2011; Pipparelli et al., 2013; Koizumi et al., 2014).

4.7.6. Fischschuppen

Bereits seit einiger Zeit ist die Idee vertreten, zellarme oder zellfreie, künstlich hergestellte Hornhautkonstrukte zu verwenden, die körpereigenen Zellen als Gerüst dienen und so eine vollständige Regeneration der Hornhaut von Patienten mit Keratokonus oder zentraler Narbe durch bakterielle Keratitis ermöglichen (Griffith et al., 2009).

Da sich die künstliche Herstellung dieser Gerüste jedoch sehr kostenaufwändig zeigt, wird momentan das Ziel verfolgt, ähnliche Gerüste zu finden, die weltweit in der Natur zu finden sind. Seit 2013 wird im Rahmen des europaweiten Projekts

„COST BM 1302 Joining Forces in Corneal Regeneration Research“ an dieser Fragestellung geforscht (COST, 2013).

Hier liegt der aktuelle Fokus auf dem Einsatz von zellfreier Kollagenmatrix aus den Schuppen des Tilapia-Fischs (*Oreochromis mossambicus*). Nach Dezellularisierung, Reinigung und Dekontamination der Fischeschuppen wird das Gerüst, das überwiegend aus Kollagen Typ 1 besteht, in die Hornhaut eingebracht, wo es zunächst Stroma ersetzt und gleichzeitig als Leitstruktur für die Reepithelialisierung durch körpereigene Zellen dient. Neben einer großen Verfügbarkeit und einer Kostenreduktion bestehen weitere Vorteile der Biokornea, die bereits erfolgreich im Tiermodell gezeigt wurden, in geringer Immunogenität und hoher Durchlässigkeit für Sauerstoff und Licht. Trotz genannter Vorteile ist der Einsatz dieser Methode momentan ausschließlich für anteriore lamelläre Einsätze denkbar, da ihr Erfolg von der eingeschränkten Regenerationsfähigkeit der Hornhaut abhängt (Hos et al., 2014).

4.8. Ausblick

4.8.1. Fortgeschriebene Richtlinie zum Führen einer Augenhornhautbank

Die „Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank“, die im Jahr 2014 von der Bundesärztekammer veröffentlicht wurde und das Entnehmen von Bindehautabstrichen an allen Hornhautspendern festlegte (Bundesärztekammer, 2014), wurde im Januar 2018 novelliert:

Künftig sind Bindehautabstriche von Hornhautspendern nicht mehr obligat. Hornhautbanken haben nun die Möglichkeit, per Änderungsanzeige an das Paul-Ehrlich-Institut die Erlaubnis einzuholen, bei zukünftigen Spenden auf die Entnahme der Abstriche verzichten zu dürfen.

Eine weitere Änderung betrifft den Umgang mit Spenderhornhäuten mit Zelldichten von weniger als 2000 Zellen / mm²: Hornhäute mit Zelldichten

zwischen 1000 und 2000 Zellen / mm² dürfen künftig für Notfalltransplantationen verwendet werden (Richter-Kuhlmann, 2018).

4.8.2. Kostenersparnis

Auch die Hornhautbank der Tübinger Universitäts-Augenklinik stellte im Februar 2018 eine Änderungsanzeige an das Paul-Ehrlich-Institut, um künftig auf Bindehautabstriche verzichten zu dürfen. Wird die Erlaubnis vom Paul-Ehrlich-Institut erteilt, kann die Tübinger Hornhautbank in Zukunft erheblichen Kostenaufwand sparen:

Wird nach Rücksprache mit der Medizinischen Mikrobiologie Tübingen, wie in Kapitel 3.9. beschrieben, von durchschnittlichen Kosten von 72.04 € pro Spender ausgegangen, entstanden im analysierten Zeitraum mit 252 Spendern Kosten von etwa 18150 € für die Entnahme und mikrobiologische Aufarbeitung der Bindehautabstriche, die durch die Novellierung der Richtlinie möglicherweise bei künftigen Spenden eingespart werden können.

5. Zusammenfassung

Weltweit, so wie auch in Deutschland, ist die Hornhauttransplantation die meistdurchgeführte Gewebetransplantation am Menschen. Sie wird am häufigsten zur Behandlung von Patienten mit Fuchs'scher Endotheldystrophie oder Keratokonus verwendet und kann zu einer erheblichen Verbesserung des Sehvermögens und der Lebensqualität beitragen. Trotz 7000 Eingriffen pro Jahr in Deutschland besteht aktuell ein Mangel an Spenderhornhäuten.

Ziel der Studie war es, die Frage zu klären, ob eine Korrelation zwischen der mikrobiellen Kontamination des Organkulturmediums und positiven Bindehautabstrichen der Hornhautspender nach Desinfektion mit Povidon-Jod besteht und ob es Faktoren gibt, die in Zusammenhang mit der Besiedlung stehen.

Hierfür wurden retrospektiv Daten von 1008 Bindehautabstrichen von 252 Hornhautspendern analysiert, die zwischen Juli 2015 und September 2017 in die Hornhautdatenbank der Tübinger Universitäts-Augenklinik aufgenommen worden waren.

Die Positivrate der Bindehautabstriche lag bei 28.4 %, am häufigsten verursacht durch Keime der physiologischen Standortflora der Konjunktiva, während die Rate kontaminierter Organkulturmedien unter Einbeziehung aller Medien, zu denen ein mikrobiologisches Ergebnis vorlag, bei 1.0 % lag.

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Ergebnis der Bindehautabstriche und einer Kontamination des Kulturmediums festgestellt werden ($p = 0.08$).

Das Risiko für positive Bindehautabstriche wurde signifikant erhöht durch Hospitalisationszeiten von 2 bis 7 Tagen im Vergleich zu Zeiten von < 2 Tagen ($p = 0.021$), Karzinom ($p = 0.007$), Metastasen ($p = 0.016$), Zeitspannen zwischen Tod und Entnahme der Bindehautabstriche von ≥ 6 bis 72 Stunden ($p = 0.007$), die Entnahme in Kühlräumen oder der Pathologie des Tübinger Universitätsklinikums ($p = 0.014$) oder in externen Räumlichkeiten ($p = 0.003$) gegenüber der Entnahme auf Intensivstationen des Tübinger Universitätsklinikums.

Dem hingegen hatten die Faktoren Alter ($p = 0.16$ und $p = 0.08$), Geschlecht ($p = 0.39$), Todesursache ($0.16 \leq p \leq 0.73$), septischer Spender ($p = 0.23$), Diabetes mellitus ($p = 0.08$), Chemotherapie ($p = 0.54$), Infektionen ($p = 0.40$), Multiorganspender ($p = 0.47$), die Anzahl enukleierender Ärzte ($p = 0.23$) und die Temperatur im Monat der Spende ($p = 0.92$) keinen signifikanten Einfluss auf die Positivrate der Bindehautabstriche.

Keiner der untersuchten Faktoren übte einen signifikanten Einfluss auf die Kontaminationsrate der Organkulturmedien aus.

Während die Positivrate und das Erregerspektrum der Bindehautabstriche im Einklang mit Ergebnissen anderer Studien stehen, können Gründe für die im Vergleich zu anderen Studien geringe Kontaminationsrate der Kulturmedien im ausführlichen Dekontaminationsprotokoll gesehen werden.

Um künftig dem Mangel an Hornhäuten entgegenzuwirken, kann über den Einsatz weiterer antimikrobieller Substanzen zum Kulturmedium und Schritte zur zeitlichen Prozessoptimierung des Ablaufs einer Spende diskutiert werden. Darüber hinaus findet aktuell eine Weiterentwicklung von Methoden statt, die künftig durch zellbasierte Ansätze, Biokorneas und neue Therapien den Bedarf an Spenderhornhäuten verringern können.

6. Literaturverzeichnis

- ALBON, J., ARMSTRONG, M. & TULLO, A. B. 2001. Bacterial contamination of human organ-cultured corneas. *Cornea*, 20, 260-3.
- ARMITAGE, W. J., JONES, M. N., ZAMBRANO, I., CARLEY, F. & TOLE, D. M. 2014. The suitability of corneas stored by organ culture for penetrating keratoplasty and influence of donor and recipient factors on 5-year graft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 55, 784-91.
- AUMÜLLER G., A. G., DOLL A. ET AL. 2010. *Duale Reihe Anatomie*, Stuttgart, Georg Thieme Verlag KG, 959-64.
- AYALEW, M., TILAHUN, Y., HOLSCLAW, D., INDARAM, M., STOLLER, N. E., KEENAN, J. D. & ROSE-NUSSBAUMER, J. 2017. Penetrating Keratoplasty at a Tertiary Referral Center in Ethiopia: Indications and Outcomes. *Cornea*, 36, 665-8.
- BERKELMAN, R. L., HOLLAND, B. W. & ANDERSON, R. L. 1982. Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. *J Clin Microbiol*, 15, 635-9.
- BEZWADA, P., CLARK, L. A. & SCHNEIDER, S. 2008. Intrinsic cytotoxic effects of fluoroquinolones on human corneal keratocytes and endothelial cells. *Curr Med Res Opin*, 24, 419-24.
- BOBERG-ANS, J., BADSBERG, E. & RASMUSSEN, J. 1962. Frequency of infection in donor eyes post mortem: a method of obtaining sterile eyes for corneal grafting. *Br J Ophthalmol*, 46, 365-8.
- BOLZ, J., DOSA, E., SCHUBERT, J. & ECKERT, A. W. 2014. Bacterial colonization of microbial biofilms in oral squamous cell carcinoma. *Clin Oral Investig*, 18, 409-14.
- BUNDESÄRZTEKAMMER 2014. Beschluss der Bundesärztekammer über die Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank. *Dtsch Arztebl Int* 2014; 111:A-1386/B-1194/C-1138, 13, 431.
- CAPRIOTTI, J. A., PELLETIER, J. S., SHAH, M., CAIVANO, D. M. & RITTERBAND, D. C. 2009. Normal ocular flora in healthy eyes from a rural population in Sierra Leone. *Int Ophthalmol*, 29, 81-4.
- CHALLINE, D., ROUDOT-THORAVAL, F., SABATIER, P., DUBERNET, F., LARDERIE, P., RIGOT, P. & PAWLOTSKY, J. M. 2006. Serological viral testing of cadaveric cornea donors. *Transplantation*, 82, 788-93.
- COST. 2013. http://www.cost.eu/COST_Actions/bmbs/BM1302 [Online]. European Cooperation in the field of Scientific and Technical Research. [Accessed 21.02.2018].
- CRAWFORD, A. Z., PATEL, D. V. & MCGHEE, C. 2013. A brief history of corneal transplantation: From ancient to modern. *Oman J Ophthalmol*, 6, 12-7.
- DGFG 2016. Jahresbericht 2015. In: SCHAFT, T. (ed.). Hannover: Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation GmbH – Gemeinnützige Gesellschaft –
- DURANI, P. & LEAPER, D. 2008. Povidone-iodine: use in hand disinfection, skin preparation and antiseptic irrigation. *Int Wound J*, 5, 376-87.
- DWD. 2017. <http://www.dwd.de/DE/leistungen/klimadatendeutschland/klimadatendeut>

- [schland.html#buehneTop](#) [Online]. Deutscher Wetterdienst. [Accessed 12.12.2017].
- EDER, M., FARIÑA, N., SANABRIA, R. R., TA, C. N., KOSS, M., SAMUDIO, M., CUEVAS, C., GINES, A., SIMANCAS, M., KLAUß, V. & MIÑO DE KASPAR, H. 2005. Normal ocular flora in newborns delivered in two hospital centers in Argentina and Paraguay. *Arch Clin Exp Ophthalmol*, 243, 1098-107.
- FARRELL, P. L., FAN, J. T., SMITH, R. E. & TROUSDALE, M. D. 1991. Donor cornea bacterial contamination. *Cornea*, 10, 381-6.
- FERGUSON, A. W., SCOTT, J. A., MCGAVIGAN, J., ELTON, R. A., MCLEAN, J., SCHMIDT, U., KELKAR, R. & DHILLON, B. 2003. Comparison of 5% povidone-iodine solution against 1% povidone-iodine solution in preoperative cataract surgery antisepsis: a prospective randomised double blind study. *Br J Ophthalmol*, 87, 163-7.
- FLOCKERZI, E., MAIER, P., BOHRINGER, D., REINSHAGEN, H., KRUSE, F., CURSIEFEN, C., REINHARD, T., GEERLING, G., TORUN, N. & SEITZ, B. 2018. Trends in Corneal Transplantation from 2001 to 2016 in Germany: A Report of the DOG-Section Cornea and its Keratoplasty Registry. *Am J Ophthalmol*, 188, 91-8.
- FLYNN, J. 2003. Povidone-iodine as a topical antiseptic for treating and preventing wound infection: a literature review. *Br J Community Nurs*, 8, 36-42.
- FUEST, M., PLUM, W., SALLA, S., WALTER, P. & HERMEL, M. 2016. Conjunctival and intraocular swabs for the microbiological assessment of donor corneas. *Acta Ophthalmol*, 94, 70-5.
- GARNES, A. L., DAVIDSON, E., TAYLOR, L. E., FELIX, A. J., SHIDLOVSKY, B. A. & PRIGOT, A. 1959. Clinical evaluation of povidone-iodine aerosol spray in surgical practice. *Am J Surg*, 97, 49-53.
- GAVRILOV, J. C., BORDERIE, V. M., LAROCHE, L. & DELBOSC, B. 2010. Influencing factors on the suitability of organ-cultured corneas. *Eye (Lond)*, 24, 1227-33.
- GOPINATHAN, U., AGRAWAL, V., SHARMA, S. & RAO, G. N. 1994. Donor corneoscleral rim contamination by gentamicin-resistant organisms. *Indian J Ophthalmol*, 42, 71-4.
- GOPINATHAN, U., REDDY, M. K., NADKARNI, M. S., DASARI, S. & RAO, G. N. 1998. Antimicrobial effect of ciprofloxacin, povidone-iodine, and gentamicin in the decontamination of human donor globes. *Cornea*, 17, 57-61.
- GRIFFITH, M., JACKSON, W. B., LAGALI, N., MERRETT, K., LI, F. & FAGERHOLM, P. 2009. Artificial corneas: a regenerative medicine approach. *Eye (Lond)*, 23, 1985-9.
- GUNDUZ, G., GUNDUZ, A., POLAT, N., CUMURCU, B. E. & YAKUPOGULLARI, Y. 2016. The Effect of Chronic Alcoholism on the Conjunctival Flora. *Current Eye Research*, 41, 734-9.
- HAGENAH, M., BOHNKE, M., ENGELMANN, K. & WINTER, R. 1995. Incidence of bacterial and fungal contamination of donor corneas preserved by organ culture. *Cornea*, 14, 423-6.

- HAN, S. B., YANG, H. K., HYON, J. Y., SHIN, Y. J. & WEE, W. R. 2012. Toxicity of voriconazole on corneal endothelial cells in an animal model. *Br J Ophthalmol*, 96, 905-8.
- HAYMES, S. A., JOHNSTON, A. W. & HEYES, A. D. 2002. Relationship between vision impairment and ability to perform activities of daily living. *Ophthalmic Physiol Opt*, 22, 79-91.
- HEINDL, L. M., RISS, S., BACHMANN, B. O., LAASER, K., KRUSE, F. E. & CURSIEFEN, C. 2011. Split Cornea Transplantation for 2 Recipients: A New Strategy to Reduce Corneal Tissue Cost and Shortage. *Ophthalmology*, 118, 294-301.
- HERMEL, M., SALLA, S., HAMSLEY, N., STEINFELD, A. & WALTER, P. 2010. Detection of contamination during organ culture of the human cornea. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 248, 117-26.
- HOS, D., VAN ESSEN, T. H., BOCK, F., CHOU, C.-H., PAN, H.-A., LIN, C.-C., HUANG, M.-C., CHEN, S.-C., CURSIEFEN, C. & JAGER, M. J. 2014. Dezellularisierte Kollagenmatrix aus der Schuppe des Tilapia-Fisches als Hornhautersatz („BioCornea“). *Ophthalmologe*, 111, 1027-32.
- HUGO, W. B. 1991. A brief history of heat and chemical preservation and disinfection. *J Appl Bacteriol*, 71, 9-18.
- IOVIENO, A., NERI, A., SOLDANI, A. M., ADANI, C. & FONTANA, L. 2017. Descemetorhexis Without Graft Placement for the Treatment of Fuchs Endothelial Dystrophy: Preliminary Results and Review of the Literature. *Cornea*, 36, 637-41.
- KAUFMAN, A. R., NOSE, R. M. & PINEDA, R., 2ND 2018. Descemetorhexis Without Endothelial Keratoplasty (DWEK): Proposal for Nomenclature Standardization. *Cornea*, 37, 20-1.
- KINOSHITA, S., KOIZUMI, N., SOTOZONO, C., YAMADA, J., NAKAMURA, T. & INATOMI, T. 2004. Concept and clinical application of cultivated epithelial transplantation for ocular surface disorders. *Ocul Surf*, 2, 21-33.
- KOIZUMI, N., OKUMURA, N., UENO, M. & KINOSHITA, S. 2014. New therapeutic modality for corneal endothelial disease using Rho-associated kinase inhibitor eye drops. *Cornea*, 33 Suppl 11, 25-31.
- KOOPMAN, M. M., VAN'T ENDE, E., LIESHOUT-KRIKKE, R., MARCELIS, J., SMID, W. M. & DE KORTE, D. 2009. Bacterial screening of platelet concentrates: results of 2 years active surveillance of transfused positive cultured units released as negative to date. *Vox Sang*, 97, 355-7.
- KUYK, T., LIU, L., ELLIOTT, J. L., GRUBBS, H. E., OWSLEY, C., MCGWIN, G., JR., GRIFFIN, R. L. & FUHR, P. S. 2008. Health-related quality of life following blind rehabilitation. *Qual Life Res*, 17, 497-507.
- KWARTZ, J., LEATHERBARROW, B., DYER, P., RIDGWAY, A. E. & TULLO, A. B. 1995. Penetrating keratoplasty for pseudophakic corneal oedema. *Br J Ophthalmol*, 79, 435-8.
- LAROUMAGNE, S., LEPAGE, B., HERMANT, C., PLAT, G., PHELIPPEAU, M., BIGAY-GAME, L., LOZANO, S., GUIBERT, N., SEGONDS, C., MALLARD, V., AUGUSTIN, N., DIDIER, A. & MAZIERES, J. 2013. Bronchial colonisation in patients with lung cancer: a prospective study. *Eur Respir J*, 42, 220-9.

- LAUBICHLER, P., AREND, N., VOUNOTRYPIDIS, E., WERTHEIMER, C., MAYER, W. J., YU, A. L., REMY, M., DE KASPAR, H. M., KAMPIK, A. & KOOK, D. 2016. Comparing Different Decontamination Procedures in Harvesting Human Donor Cornea. *Curr Eye Res*, 41, 1173-7.
- LAWSON, A., SIR, 1867-1947; TWEEDY, JOHN, 1849-1924, FORMER OWNER; ROYAL COLLEGE OF SURGEONS OF ENGLAND 1898. The bacteriology of the normal conjunctival sac, from a report of 200 cases : and its practical bearing on the utility of antiseptics in ophthalmic surgery., 56-69.
- LI, S., BISCHOFF, M., SCHIRRA, F., LANGENBUCHER, A., ONG, M., HALFMANN, A., HERRMANN, M. & SEITZ, B. 2014. Korrelation zwischen mikrobiellem Wachstum in Bindehautabstrichen von Hornhautspendern und Kontamination des Organkulturmediums. *Ophthalmologe*, 111, 553-9.
- LUDWIG, P. E. & DULEBOHN, S. C. 2017. Anatomy, Head, Eye, Cornea. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC.
- LÜLLMANN-RAUCH, R. 2009. Taschenlehrbuch Histologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 578.
- MATHERS, W. D. & LEMP, M. A. 1987. Corneal rim cultures. *Cornea*, 6, 231-3.
- MATSUMOTO, M., SUZUMA, K., MIYAMURA, N., IMAMURA, N. & KITAOKA, T. 2011. Conjunctival swabs and corneoscleral rim cultures from corneal transplantation donors as possible early indicators for posttransplant endophthalmitis. *Jpn J Ophthalmol*, 55, 321-6.
- MELLES, G. R., ONG, T. S., VERVERS, B. & VAN DER WEES, J. 2006. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK). *Cornea*, 25, 987-90.
- MINDRUP, E. A., DUBBEL, P. A. & DOUGHMAN, D. J. 1993. Betadine decontamination of donor globes. *Cornea*, 12, 324-9.
- MOLONEY, G., PETSOGLU, C., BALL, M., KERDRAON, Y., HOLLHUMER, R., SPITERI, N., BEHEREGARAY, S., HAMPSON, J., D'SOUZA, M. & DEVASAHAYAM, R. N. 2017. Descemetorhexis Without Grafting for Fuchs Endothelial Dystrophy-Supplementation With Topical Ripasudil. *Cornea*, 36, 642-48.
- MULLER, T. M., LAVY, I., BAYDOUN, L., LIE, J. T., DAPENA, I. & MELLES, G. R. 2017. Case Report of Quarter-Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty for Fuchs Endothelial Dystrophy. *Cornea*, 36, 104-7.
- OKUMURA, N., KOIZUMI, N., UENO, M., SAKAMOTO, Y., TAKAHASHI, H., HAMURO, J. & KINOSHITA, S. 2011. The new therapeutic concept of using a rho kinase inhibitor for the treatment of corneal endothelial dysfunction. *Cornea*, 30 Suppl 1, 54-9.
- OKUMURA, N., MATSUMOTO, D., FUKUI, Y., TERAMOTO, M., IMAI, H., KUROSAWA, T., SHIMADA, T., KRUSE, F., SCHLOTZER-SCHREHARDT, U., KINOSHITA, S. & KOIZUMI, N. 2018. Feasibility of cell-based therapy combined with descemetorhexis for treating Fuchs endothelial corneal dystrophy in rabbit model. *PLoS One*, 13, e0191306.
- PANDA, A., SAXENA, R., VAJPAYEE, R. B., SATPATHY, G., ANGRA, S. K. & SETHI, H. S. 2006. The efficacy of postenucleation saline wash and the

- effect of different antimicrobial agents on microbial contamination of donor eyes. *Ophthalmic Res*, 38, 287-93.
- PELS, E. & VRENSEN, G. F. 1999. Microbial decontamination of human donor eyes with povidone-iodine: penetration, toxicity, and effectiveness. *Br J Ophthalmol*, 83, 1019-26.
- PIPPARELLI, A., ARSENIJEVIC, Y., THURET, G., GAIN, P., NICOLAS, M. & MAJO, F. 2013. ROCK inhibitor enhances adhesion and wound healing of human corneal endothelial cells. *PLoS One*, 8, e62095.
- POLAT, N., GUNDUZ, A., GUNDUZ, A., CUMURCU, T. & GUNDUZ, G. 2017. The Influence of Corneal Collagen Crosslinking on Conjunctival Flora. *Curr Eye Res*, 42, 364-7.
- QUIGLEY, C., MCELNEA, E. & FAHY, G. 2018. Trends in corneal transplant surgery in Ireland: indications and outcomes of corneal transplant surgery and intraocular lens opacification following Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. *Ir J Med Sci*, 187, 231-6.
- RAJ, A., MITTAL, G. & BAHADUR, H. 2018. Factors affecting the serological testing of cadaveric donor cornea. *Indian J Ophthalmol*, 66, 61-5.
- READ, S. A., VINCENT, S. J. & COLLINS, M. J. 2014. The visual and functional impacts of astigmatism and its clinical management. *Ophthalmic Physiol Opt*, 34, 267-94.
- REDDY, S. C. & PAUL, G. 2013. Bacterial flora of conjunctiva after death. *Int J Ophthalmol*, 6, 632-6.
- REIN, D. B., ZHANG, P., WIRTH, K. E., LEE, P. P., HOERGER, T. J., MCCALL, N., KLEIN, R., TIELSCH, J. M., VIJAN, S. & SAADDINE, J. 2006. The economic burden of major adult visual disorders in the United States. *Arch Ophthalmol*, 124, 1754-60.
- RICHTER-KUHLMANN, E. 2018. Spenderhornhäute: Verzicht auf die „Tupferprobe“. *Dtsch Arztebl Int*, 115, 242.
- RÖCK D., BARTZ-SCHMIDT, K. U. & RÖCK, T. 2016a. Rates of and Experiences with Corneal Donation at the University Hospital Tübingen From 2002 To 2015. *Ann Transplant*, 21, 433-8.
- RÖCK D., WUDE, J., BARTZ-SCHMIDT, K. U., YOERUEK, E., THALER, S. & RÖCK, T. 2017. Factors influencing the contamination rate of human organ-cultured corneas. *Acta Ophthalmol*, 95, e706-12.
- RÖCK D., WUDE, J., YOERUEK, E., BARTZ-SCHMIDT, K. U. & RÖCK, T. 2016b. Evaluation of Factors Limiting Corneal Donation. *Ann Transplant*, 21, 701-7.
- RÖCK T. 2015. Verwerfungsraten künftig verringern. *Ophthalmologische Nachrichten*, 11.2015, 18-9.
- RÖCK T., BECK, R., JÜRGENS, S., BARTZ-SCHMIDT, K. U., BRAMKAMP, M., THALER, S. & RÖCK, D. 2017a. Factors influencing the virological testing of cornea donors. *Medicine (Baltimore)*, 96, e8561.
- RÖCK T., BRAMKAMP, M., BARTZ-SCHMIDT, K. U. & RÖCK, D. 2017b. Organ transplantation scandal influencing corneal donation rate. *Int J Ophthalmol*, 10, 1001-3.
- RÖCK T., LANDENBERGER, J., BRAMKAMP, M., BARTZ-SCHMIDT, K. U. & RÖCK, D. 2017c. The Evolution of Corneal Transplantation. *Ann Transplant*, 22, 749-54.

- ROSENFELD, L. 2000. Discovery and Early Uses of Iodine. *J Chem Educ*, 77, 984.
- SINGER, T. R., ISENBERG, S. J. & APT, L. 1988. Conjunctival anaerobic and aerobic bacterial flora in paediatric versus adult subjects. *Br J Ophthalmol*, 72, 448-51.
- SRINIVASA RAO, P. & RAO, K. N. A. 1972. Study of the normal conjunctival flora (bacterial and fungal) and its relations to external ocular infections. *Indian J Ophthalmol*, 20, 164-70.
- STHAPIT, P. & TULADHAR, N. 2014. Conjunctival Flora of Normal Human Eye. *JSM Ophthalmol*, 2, 1021.
- SUNDMACHER, R. & REINHARD, T. 2001. Bedarfsdeckung mit qualitätsgesicherten Hornhautimplantaten Rolle der Hornhautbanken und der Kostenträger in Deutschland. *Ophthalmologe*, 98, 277-84.
- TAKAHASHI, Y., WATANABE, A., MATSUDA, H., NAKAMURA, Y., NAKANO, T., ASAMOTO, K., IKEDA, H. & KAKIZAKI, H. 2013. Anatomy of secretory glands in the eyelid and conjunctiva: a photographic review. *Ophthal Plast Reconstr Surg*, 29, 215-9.
- TANDON, R., MEHTA, M., SATPATHY, G., TITIYAL, J. S., SHARMA, N. & VAJPAYEE, R. B. 2008. Microbiological profile of donor corneas: a retrospective study from an eye bank in north India. *Cornea*, 27, 80-7.
- THURET, G., MANISSOLLE, C., ACQUART, S., LE PETIT, J. C., MAUGERY, J., CAMPOS-GUYOTAT, L., DOUGHTY, M. J. & GAIN, P. 2003. Is manual counting of corneal endothelial cell density in eye banks still acceptable? The French experience. *Br J Ophthalmol*, 87, 1481-6.
- TOYOSHIMA, A., MARTIN, P., SATO, S. & POON, L. W. 2018. The relationship between vision impairment and well-being among centenarians: findings from the Georgia Centenarian Study. *Int J Geriatr Psychiatry*, 33, 414-22.
- TSAI, R. J., LI, L. & CHEN, J. 2000. Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells(1). *Am J Ophthalmol*, 130, 543.
- TSAI, R. J. & TSENG, S. C. 1994. Human allograft limbal transplantation for corneal surface reconstruction. *Cornea*, 13, 389-400.
- UKT. 2018. https://www.medicin.uni-tuebingen.de/Presse_Aktuell/Einrichtungen+A+bis+Z/Kliniken/Medizinische+Klinik/Innere+Medizin+II/Stationäre+Behandlung/Station+65.html [Online]. Universitätsklinikum Tübingen. [Accessed 23.03.2018].
- VAN LUIJK, C. M., BRUINSMA, M., VAN DER WEES, J., LIE, J. T., HAM, L. & MELLES, G. R. 2012. Combined chlorhexidine and PVP-I decontamination of human donor eyes prior to corneal preservation. *Cell Tissue Bank*, 13, 333-9.
- WILHELM, F., JENDRAL, G., BREDEHORN, T., DUNCKER, G., WILHELMS, D. & KRAMER, A. 2001. Antimikrobielle Dekontamination von Hornhautspendermaterial. Infektionsprophylaxe und Qualitätssicherung. *Ophthalmologe*, 98, 143-6.
- YOERUEK, E. & BARTZ-SCHMIDT, K. U. 2015. Current approaches to combat the shortage of corneal tissues: split-DMEK and double-split keratoplasty. *Cornea*, 34, e6-9.

- YOERUEK, E. & SZURMAN, P. 2012. Autologous Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Cornea*, 31, 208-10.
- ZIRM, E. K. 1989. Eine erfolgreiche totale Keratoplastik (A successful total keratoplasty). 1906. *Refract Corneal Surg*, 5, 258-61.
- ZYGOURA, V., BAYDOUN, L., HAM, L., BOURGONJE, V. J. A., VAN DIJK, K., LIE, J. T., DAPENA, I., OELLERICH, S. & MELLES, G. R. J. 2018. Quarter-Descemet membrane endothelial keratoplasty (Quarter-DMEK) for Fuchs endothelial corneal dystrophy: 6 months clinical outcome. *Br J Ophthalmol*, bjophthalmol-2017-311398. doi: 10.1136/bjophthalmol-2017-311398. [Epub ahead of print].

7. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Universitäts-Augenklinik des Universitätsklinikums Tübingen unter Betreuung von PD Dr. med. Tobias Röck durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit PD Dr. med. Tobias Röck, FEBO, stellvertretender Leiter der Hornhautbank der Universitäts-Augenklinik Tübingen.

Das Zusammentragen der Daten wurde von mir eigenständig durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch Herrn Dr. Gunnar Blumenstock des Instituts für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch PD Dr. med. Tobias Röck verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 29.04.2018

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen besonderen Dank nachstehenden Personen entgegenbringen, deren Mithilfe die Anfertigung dieser Promotionsschrift ermöglichte:

Herrn Professor K. U. Bartz-Schmidt danke ich für die Möglichkeit, die vorliegende Arbeit in seinem Department durchführen zu können. Ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Tobias Röck, meinem Doktorvater, der es mir ermöglichte, diese Arbeit unter seiner Leitung zu realisieren. Vielen Dank für die unterschiedlichen Anregungen, Verbesserungsvorschläge, motivierenden Worte und Hilfestellungen bei allen Fragen.

Bei dieser Arbeit wurde die methodische Beratung des Instituts für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen in Anspruch genommen. Für die Unterstützung möchte ich mich bei Herrn Dr. Gunnar Blumenstock herzlich bedanken.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Herrn Dr. Michael Buhl und Frau Nicole Hauser von der Medizinischen Mikrobiologie des Universitätsklinikums Tübingen für persönliche Gespräche, die Bereitstellung von Dokumenten und die Beantwortung von Fragen bezüglich der mikrobiologischen Diagnostik.

Für das sorgfältige Lesen dieser Arbeit und die Vielzahl von hilfreichen Ideen zur Korrektur danke ich Herrn Dr. Richard Fux.