



universität
wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Stabilität von Fosfomycin in Peritonealdialyselösungen“

verfasst von / submitted by

Alexandra Baumann

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2016 / Vienna, 2016

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Gottfried Reznicek

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei all jenen bedanken, ohne deren Unterstützung diese Diplomarbeit nicht zustande gekommen wäre.

Dafür bedanke ich mich bei Univ.-Prof. Mag. Dr. Verena Dirsch für die Bereitstellung des Diplomarbeitsplatzes am Department für Pharmakognosie.

Ein herzliches Dankeschön an ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Gottfried Reznicek für die nette und hilfreiche Betreuung. Er hatte immer ein offenes Ohr für mich und für jedes meiner Probleme eine Lösung. Mit seiner freundlichen Art sorgte er außerdem für ein angenehmes Arbeitsklima.

Ich bedanke mich auch bei ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Sabine Glasl-Tazreiter und bei allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für die große Hilfsbereitschaft und die freundschaftliche Atmosphäre.

Danke auch an Dr. Wolfgang Pöpl und Dr. Manuel Kussmann für die organisatorische Hilfe und an das Allgemeine Krankenhaus der Stadt Wien und das Universitätsklinikum St. Pölten für die Bereitstellung des benötigten Materials.

Weiters bedanke ich mich bei meinen Freunden für viel Spaß und gegenseitige Motivation während des gesamten Studiums.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, die mich während des gesamten Studiums sowohl finanziell, als auch mit fachlicher Hilfe unterstützten und immer für mich da waren. Ohne ihnen wäre mein Studium in dieser Form nicht möglich gewesen.

Kurzfassung

Peritonealdialyse ist eine spezielle Form der Dialyse, bei der das Peritoneum als Dialysemembran verwendet wird. Dazu wird die Peritonealdialyselösung in den Bauchraum eingeleitet, wo die zu entgiftenden Substanzen aus dem Blut der Kapillaren des Peritoneums in die Lösung wandern. Nach einer Verweildauer von einigen Stunden wird die Dialyselösung, mitsamt den harnpflichtigen Substanzen, wieder aus der Bauchhöhle ausgeleitet.

Eine häufige Nebenwirkung ist die Entstehung einer Bauchfellentzündung, der sogenannten Peritonitis. Diese wird mit Hilfe von Antibiotika therapiert, die idealerweise intraperitoneal appliziert, also direkt in die Dialyselösungen gemischt werden. Da die meisten Patienten die Peritonealdialyse selbstständig zu Hause durchführen, werden die Dialysebeutel im Krankenhaus mit dem Antibiotikum versetzt und den Patienten zur Therapie mit nach Hause gegeben. Für diese Art der Anwendung muss die Stabilität des Antibiotikums in der jeweiligen Dialyselösung überprüft werden.

Für Fosfomycin, ein Reserveantibiotikum mit einem breiten Wirkungsspektrum gegen gram-positive und gram-negative Erreger, das auch gegen viele multiresistente Keime wirksam ist, gibt es bisher nur Untersuchungen mit der Dialyselösung *Dianeal*. Daher sollte im Rahmen dieser Arbeit die Stabilität von Fosfomycin in vier weiteren Peritonealdialyselösungen, nämlich *Extraneal*, *Nutrineal*, *Physioneal 40 1,36 %* und *Physioneal 40 2,27 %* getestet werden.

Dafür wurde Fosfomycin in die Lösungen appliziert und diese bei 6°C und 25°C über einen Zeitraum von zwei Wochen gelagert und analysiert. Diese Temperaturen wurden gewählt, um die Lagerung im Kühlschrank beziehungsweise bei Raumtemperatur zu simulieren. Außerdem wurden Lösungen auf 37°C erwärmt, 24 Stunden lang bei dieser Temperatur gelagert und untersucht, um die Erwärmung der Dialyselösung auf Körpertemperatur und die Verweildauer im Bauchraum zu imitieren.

Mittels HPLC-Quantifizierung wurde jeweils die Fosfomycin-Konzentration der Proben bestimmt. Zusätzlich wurden die pH-Werte gemessen, um zu überprüfen ob die Lösungen für den Patienten gut verträglich sind.

Es konnte gezeigt werden, dass Fosfomycin sowohl bei 6°C, als auch bei 25°C in allen untersuchten Dialyselösungen stabil ist. Auch bei 37°C konnte bei *Nutrineal*, *Physioneal 40 1,36 %* und *Physioneal 40 2,27 %* keine signifikante Abnahme der Fosfomycin-Konzentration festgestellt werden. Bei *Extraneal* war der Verlust mit beinahe 10% etwas größer.

Auch die pH-Werte waren weitgehend konstant. Nur bei den Versuchsreihen bei 37°C ist es bei *Physioneal 40 1,36 %* und *Physioneal 40 2,27 %* zu einer minimalen Erhöhung der

pH-Werte gekommen, die aber bezüglich der Verträglichkeit der Lösungen unbedenklich ist.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass eine intraperitoneale Anwendung von Fosfomycin durchaus möglich ist. Es spricht auch nichts dagegen, den Patienten die mit dem Antibiotikum versetzten Dialysebeutel für eine selbstständige Therapie mit nach Hause zu geben.

Abstract

Peritoneal dialysis is an alternative type of dialysis, where the peritoneum is used as membrane. Therefore, the peritoneal dialysis solution is introduced into the abdominal cavity. Then the waste products move from the blood inside the capillaries of the peritoneum into the dialysis solution. After a few hours the solution is removed and so the substances, which are normally excreted by urine, are extracted from the blood.

A common side-effect is the inflammation of the peritoneum, called peritonitis. The preferential treatment for a peritonitis is the intraperitoneal application of antibiotics. For this method the antibiotic is mixed into the peritoneal dialysis solution. Since most patients are performing peritoneal dialysis at home, the antibiotic is added to the solution bags in a hospital so that the patients can take them home. Therefore, the stability of the antibiotics in the dialysis solutions needs to be tested.

For fosfomycin, an antibiotic of last resort with good effects on gram-positive and gram-negative and also multiresistant bacteria, there exists only one paper on the stability in one peritoneal dialysis solution, called *Dianeal*.

The aim of this work was to test the stability of fosfomycin in four different peritoneal dialysis solutions, namely *Extraneal*, *Nutrineal*, *Physioneal 40 1,36 %* and *Physioneal 40 2,27 %*.

Therefore, fosfomycin was added to the dialysis solutions and stored for two weeks at 6°C and 25°C. This was intended to simulate the storage in the refrigerator and at room temperature. Furthermore, solutions were heated to 37°C and stored at this temperature for 24 hours, imitating the warming of the solution to body temperature and the dwell time in the abdomen.

The samples were analysed using HPLC. Additionally, the pH-value was measured to test if the solutions are tolerable for the patients.

HPLC analyses showed that fosfomycin is stable in each tested dialysis solution at 6°C and 25°C. At 37°C neither *Nutrineal* nor *Physioneal 40 1,36 %* or *Physioneal 40 2,27 %* showed significant decline in the concentration of fosfomycin. Only in *Extraneal* there was a degradation of fosfomycin of approximately 10 %. The pH-value was almost constant in

most solutions. At 37°C there was a little increase of the pH-value in *Physioneal 40* 1,36 % and *Physioneal 40* 2,27 % but this will not affect the tolerance of the solutions negatively. In conclusion, it can be said, that the intraperitoneal application of fosfomycin is definitely possible. Moreover, the antibiotic can be added to the solutions in the hospital and patients can take them home to perform the therapy independently, without affecting the efficacy of fosfomycin negatively.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Peritonealdialyse	1
1.1.1 Häufigkeit der Peritonealdialyse	2
1.1.2 Praktische Durchführung der Peritonealdialyse	3
1.1.3 Peritonealdialyselösungen.....	5
1.1.4 Vorteile und Nachteile der Peritonealdialyse.....	7
1.2 Peritonitis.....	8
1.2.1 Erreger von Peritonitis	9
1.2.2 Therapie von Peritonitiden im Rahmen einer PD	9
1.3 Fosfomycin	10
1.4 Problemstellung.....	11
2 Material und Geräte	13
2.1 Geräte und Software.....	13
2.2 Materialien	13
2.3 Reagenzien	14
2.4 Substanzen	14
2.4.1 Verwendete Peritonealdialyselösungen	15
2.4.2 Fosfomycin	21
3 Methoden	23
3.1 Durchführung der Analysen	23
3.2 HPLC und Massenspektrometer	25
3.2.1 HPLC.....	25
3.2.2 Massenspektrometer	27
3.2.3 Analysen im Rahmen dieser Arbeit.....	30
4 Ergebnisse	37
4.1 Leerwertanalysen	37
4.1.1 Stabilität von Fosfomycin in Wasser	37

4.1.2 Peritonealdialyselösungen ohne Fosfomycin	38
4.2 Konzentrationsbestimmungen mittels HPLC	38
4.2.1 Fosfomycin in Peritonealdialyselösungen bei 6°C	38
4.2.2 Fosfomycin in Peritonealdialyselösungen bei 25°C	39
4.2.3 Fosfomycin in Peritonealdialyselösungen bei 37°C	40
4.2.4 Zusammenfassung der Ergebnisse	41
4.3 pH-Wert-Bestimmungen	42
4.3.1 pH-Werte bei 6°C	42
4.3.2 pH-Werte bei 25°C	43
4.3.3 pH-Werte bei 37°C	44
4.3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse	45
5 Diskussion	47
6 Anhang	49
6.1 Leerwertanalysen	49
6.1.1 Leerwertanalysen bei 6°C	49
6.1.2 Leerwertanalysen bei 25°C	51
6.1.3 Leerwertanalysen bei 37°C	53
6.2 pH-Wert-Analysen	55
6.2.1 pH-Wert-Analyse von Extraneal bei 6°C	55
6.2.2 pH-Wert-Analyse von Nutrineal bei 6°C	56
6.2.3 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 1,36 % bei 6°C	57
6.2.4 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 2,27 % bei 6°C	58
6.2.5 pH-Wert-Analyse von Extraneal bei 25°C	59
6.2.6 pH-Wert-Analyse von Nutrineal bei 25°C	60
6.2.7 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 1,36 % bei 25°C	61
6.2.8 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 2,27 % bei 25°C	62
6.2.9 pH-Wert-Analyse von Extraneal bei 37°C	63
6.2.10 pH-Wert-Analyse von Nutrineal bei 37°C	64

6.2.11	pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 1,36 % bei 37°C	65
6.2.12	pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 2,27 % bei 37°C	66
6.3	HPLC-Analysen	67
6.3.1	HPLC-Analysen von Extraneal bei 6°C	67
6.3.2	HPLC-Analysen von Nutrineal bei 6°C	71
6.3.3	HPLC-Analysen von Physioneal 40 1,36 % bei 6°C	75
6.3.4	HPLC-Analysen von Physioneal 40 2,27 % bei 6°C	79
6.3.5	HPLC-Analysen von Extraneal bei 25°C	83
6.3.6	HPLC-Analysen von Nutrineal bei 25°C	87
6.3.7	HPLC-Analysen von Physioneal 40 1,36 % bei 25°C	91
6.3.8	HPLC-Analysen von Physioneal 40 2,27 % bei 25°C	95
6.3.9	HPLC-Analysen von Extraneal bei 37°C	99
6.3.10	HPLC-Analysen von Nutrineal bei 37°C	102
6.3.11	HPLC-Analysen von Physioneal 40 1,36 % bei 37°C	106
6.3.12	HPLC-Analysen von Physioneal 40 2,27 % bei 37°C	109
7	Abkürzungsverzeichnis.....	113
8	Abbildungsverzeichnis.....	115
9	Tabellenverzeichnis.....	117
10	Literaturverzeichnis	119

1 Einleitung

1.1 Peritonealdialyse

Fällt bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz die glomeruläre Filtrationsrate unter 15 ml/min, spricht man von Nierenversagen. Spätestens dann sollte mit einer Nierenersatztherapie begonnen werden [17]. Hierbei muss zunächst die Entscheidung zwischen Hämodialyse und Peritonealdialyse getroffen werden.

Bei Ersterer handelt es sich um ein extrakorporales Verfahren, bei dem das Blut aus dem Körper durch ein Dialysegerät geleitet wird, wo die harnpflichtigen Substanzen, mit Hilfe einer synthetischen semipermeablen Membran, durch Diffusion entfernt werden. Anschließend wird das Blut zurück in den Körper gepumpt. Um eine ausreichende Entgiftung zu erreichen wird die Hämodialyse dreimal wöchentlich, meist in einem Krankenhaus, durchgeführt [17].

Bei der Peritonealdialyse, kurz PD, erfolgt die Entgiftung über eine körpereigene Membran, das Peritoneum. Dieses ist von einem ausgedehnten Netzwerk aus Kapillaren durchzogen, über die der Stoffaustausch hauptsächlich stattfindet. Über einen dauerhaft in die Bauchdecke implantierten Katheter werden Dialyselösungen in die Bauchhöhle geleitet. Diese Lösungen enthalten osmotisch aktive Substanzen und sorgen so für den Transport der harnpflichtigen Substanzen aus dem Blut der Kapillaren in die Dialyselösungen [17, 24].

Dieser Transport beruht auf mehreren Prinzipien. Die Lösung baut durch ihre Inhaltsstoffe einen osmotischen oder kolloidosmotischen Druck auf, wodurch Wasser aus dem Blut in die PD-Lösung einströmt und zu einem geringen Teil auch harnpflichtige Substanzen mitreißt. Die hauptsächliche Entgiftung erfolgt aber durch Diffusion. Gelöste Stoffen wandern vom Ort einer hohen Konzentration dorthin, wo die Konzentration niedriger ist. Also in diesem Fall aus dem Blut in die Dialyselösung. Allerdings können auch in der PD-Lösung in hoher Konzentration vorhandene, gelöste Stoffe, wie Glucose, ins Blut diffundieren und so vom Körper aufgenommen werden [17, 24].

Nach einigen Stunden wird die PD-Lösung zusammen mit den harnpflichtigen Substanzen wieder aus der Bauchhöhle ausgeleitet. Abbildung 1.1 zeigt eine schematische Darstellung der Peritonealdialyse.

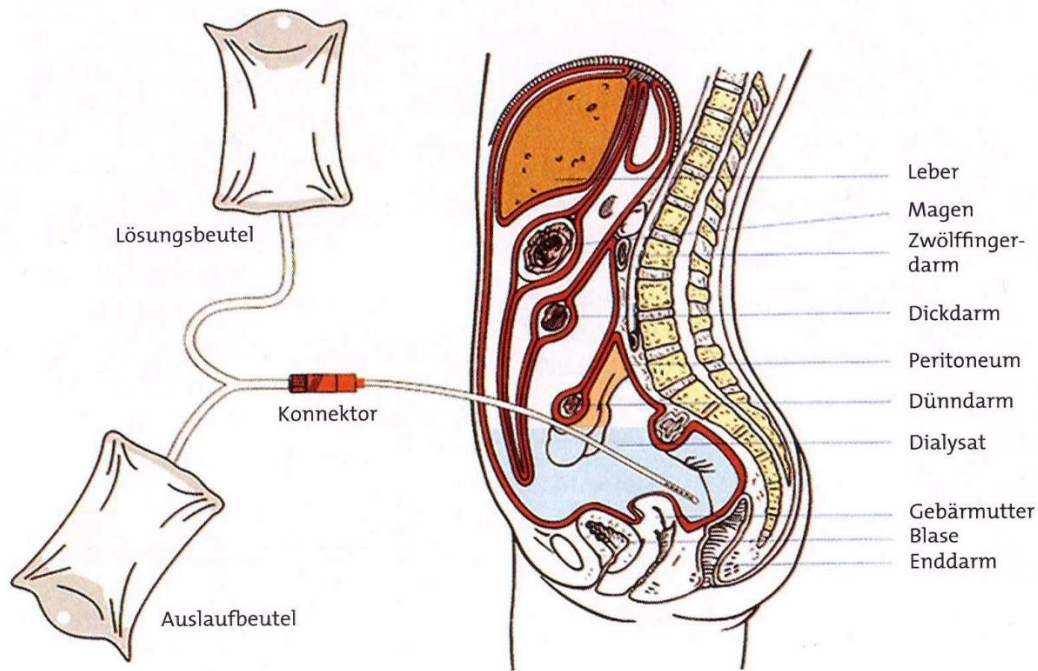


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der Peritonealdialyse [24]

Verschiedene Untersuchungen zeigen, dass bei korrekter Durchführung der beiden Verfahren und sofern die Patienten dafür geeignet sind, die Dialyseergebnisse von Hämodialyse und Peritonealdialyse gleichwertig sind. Daher sollte, wenn möglich, der Patient selbst die Entscheidung über die bevorzugte Dialysemethode treffen [17, 24].

1.1.1 Häufigkeit der Peritonealdialyse

Laut einer Studie aus dem Jahr 2008 gab es damals weltweit etwa 196.000 Peritonealdialyse-Patienten, also rund 11 % aller dialysepflichtigen Patienten [13]. Wie aus einer Markterhebung der Firma Baxter aus dem Jahr 2010 herausgeht, wurden in Österreich zu dieser Zeit 9,3 % der Dialyse-Patienten mit PD behandelt. Dieser Prozentsatz ist im Vergleich zu anderen europäischen Ländern, wie beispielsweise die Niederlande mit 24,6 % oder Schweden mit 24,4 %, relativ gering [11].

1.1.2 Praktische Durchführung der Peritonealdialyse

Vor der Anwendung wird die Peritonealdialyselösung mit Hilfe spezieller Wärmeplatten auf Körpertemperatur erwärmt, um Schmerzen beim Einlaufen zu vermeiden. Dann wird der Dialysebeutel an den Katheter angeschlossen. Üblicherweise wird der Beutel durch ein Y-förmiges Schlauchsystem mit einem Leerbeutel und dem Katheter verbunden. Zunächst wird das System, bei noch geschlossenem Katheter, mit etwas frischer Dialyselösung gespült, um möglicherweise eingeschleppte Keime herauszuwaschen. Danach wird der Katheter geöffnet und sich noch in der Bauchhöhle befindliches Dialysat in den Leerbeutel abgelassen und zum Schluss die frische PD-Lösung in die Bauchhöhle eingeleitet [6, 9, 17, 24, 26]. Abbildung 1.2. zeigt diesen Vorgang.

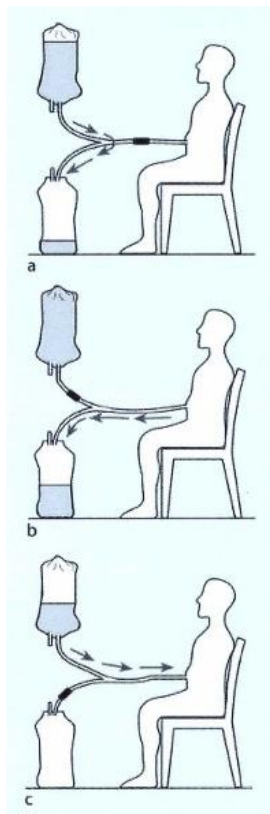


Abbildung 1.2: Beutelwechsel mit einem Y-System [17]; a: Spülschritt, b: Auslassen des alten Dialysats, c: Einlassen der frischen PD-Lösung

Es gibt grundsätzlich zwei unterschiedliche Arten, wie die Peritonealdialyse durchgeführt werden kann. Die kontinuierlich ambulante und die automatische Peritonealdialyse.

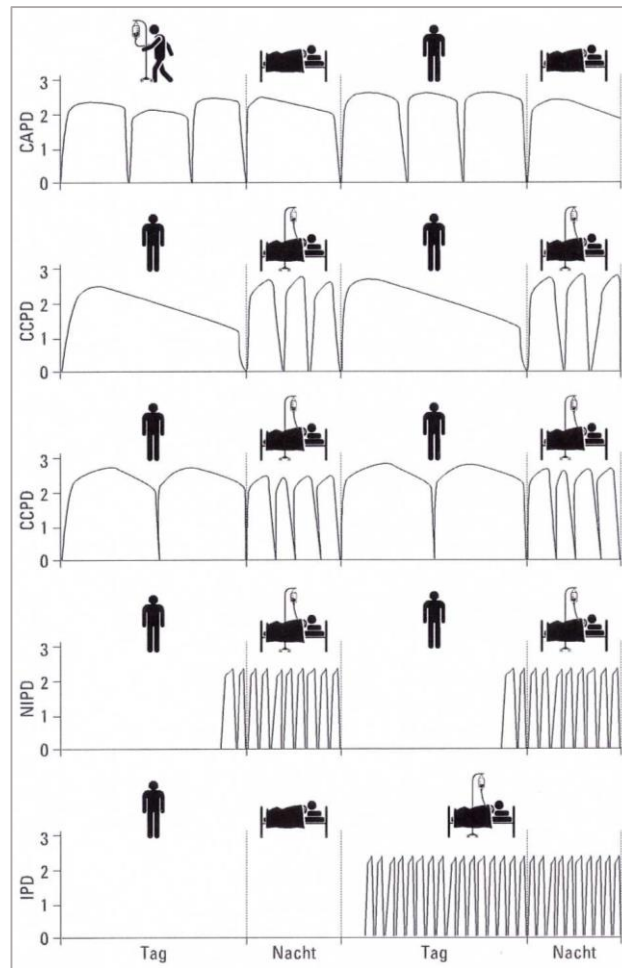


Abbildung 1.3: Formen der PD [26]

Kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse

Bei der kontinuierlich ambulanten Peritonealdialyse (CAPD) werden 1,5 bis 2,5 Liter Dialyselösung in die Bauchhöhle eingeleitet. Der Patient führt 4-5 Mal täglich manuell einen Dialysat-Wechsel durch. Über Nacht bleibt die Lösung bis zu 8 Stunden im Bauchraum [17, 24, 26].

Automatische Peritonealdialyse

Bei der Automatischen Peritonealdialyse (APD) gibt es verschiedene Formen. Alle gemeinsam haben, dass der Dialysat-Wechsel automatisch mit Hilfe eines Cyclers verläuft. Das hat den Vorteil, dass der Wechsel auch in der Nacht erfolgen kann, wodurch die Patienten in ihrem Tagesablauf weniger eingeschränkt sind [17, 24, 26].

Bei der kontinuierlichen zyklischen Peritonealdialyse (CCPD) ist der Bauchraum tagsüber ständig mit Dialysat gefüllt, welches in der Nacht mehrmals gewechselt wird. Zur Erhöhung der Entgiftungsrate kann ein zusätzlicher Dialysat-Wechsel am Tag durchgeführt werden. Im Gegensatz dazu, bleibt bei der nächtlich intermittierenden Peritonealdialyse (NIPD) die Bauchhöhle tagsüber leer. Um die fehlende Behandlungszeit am Tag zu kompensieren, werden in der Nacht mehr Dialysat-Wechsel durchgeführt.

Bei der intermittierenden Peritonealdialyse (IPD) erfolgt die Behandlung in einem Dialysezentrum oder in einem Krankenhaus, in dem die Patienten mehrmals pro Woche bis zu 14 Stunden behandelt werden [17, 24, 26]. Abbildung 1.3. zeigt die verschiedenen Formen der Peritonealdialyse.

1.1.3 Peritonealdialyselösungen

PD-Lösungen werden heute in 250 ml bis 5 l fassenden, durchsichtigen Plastikbeuteln angeboten. Es sind klare, sterile und pyrogenfreie Lösungen, die osmotisch aktive Substanzen, Elektrolyte und Puffer enthalten. Als osmotisch aktives Agens werden Glucose, Aminosäuren sowie Glucosepolymere verwendet. Elektrolyte, wie Calcium, Natrium und Chlorid, werden zugesetzt, da sie gut dialysierbar sind und dem Blut sonst übermäßig entzogen werden würden. Kalium sollte, wegen der Gefahr einer Hyperkaliämie, nicht oder nur in sehr geringen Mengen zugesetzt werden. Puffer sind nötig, um die Dialyselösungen auf einen möglichst physiologischen pH-Wert einzustellen. Außerdem gleichen sie eine metabolische Azidose aus, die Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz meistens entwickeln [17, 24].

Glucose als osmotisch aktive Substanz

Um die Filtrationsleistung individuell an den jeweiligen Patienten anpassen zu können, sind Peritonealdialyselösungen in 3 verschiedenen Glucose-Konzentrationen erhältlich, nämlich 1,36 %, 2,27 % und 3,86 %. Durch den Osmolaritäts-Unterschied zwischen der Dialyselösung, mit 360-510 mosmol/l, und den Kapillaren, mit 280-290 mosmol/l, kommt es zu Ultrafiltration. Also zum Einstrom von Wasser aus dem Blut in die PD-Lösung. Da Glucose aber auch aus der Dialyselösung in das Blut diffundiert, kommt es langsam zu einem Ausgleich der Osmolaritäten. Daher ist die Ultrafiltrationsleistung direkt nach dem Einlauf der frischen Lösung am größten und nimmt immer mehr ab.

Die so erhöhte Aufnahme von Glucose kann längerfristig auch zu Gewichtszunahme und

Hyperglykämie führen und so die Ausbildung einer Hyperinsulinämie fördern. Ein weiteres Problem sind bei der Hitzesterilisation entstehende Glucoseabbauprodukte, sogenannte GDPs (Glucose Decomposition Products). Diese fördern die Glykosilierung von Proteinen und führen so zu einer irreversiblen Veränderung des Peritoneums, wodurch die Filtrationsleistung immer weiter sinkt, bis Peritonealdialyse mit der Zeit nicht mehr möglich ist. Da die Bildung dieser Glucoseabbauprodukte bei einem niedrigen pH-Wert geringer ist, sollten die Lösungen einen pH-Wert von 3 besitzen. Die Verwendung solch saurer PD-Lösungen würde allerdings zu Schädigungen des Peritoneums und zu Schmerzen beim Einlaufen führen. Daher wurden sogenannte Zweikammerbeutelssysteme entwickelt, bei denen eine Kammer (Kammer A) Glucose in einer sauren Lösung mit einem pH-Wert von 3 und die andere Kammer (Kammer B) eine Pufferlösung enthält. Kurz vor der Anwendung werden die Lösungen beider Kammern gemischt und so auf einen pH-Wert von etwa 7,4 gebracht, was den physiologischen Bedingungen im Peritoneum entspricht [24]. In Abbildung 1.4. ist so ein Zweikammerbeutelssystem dargestellt.

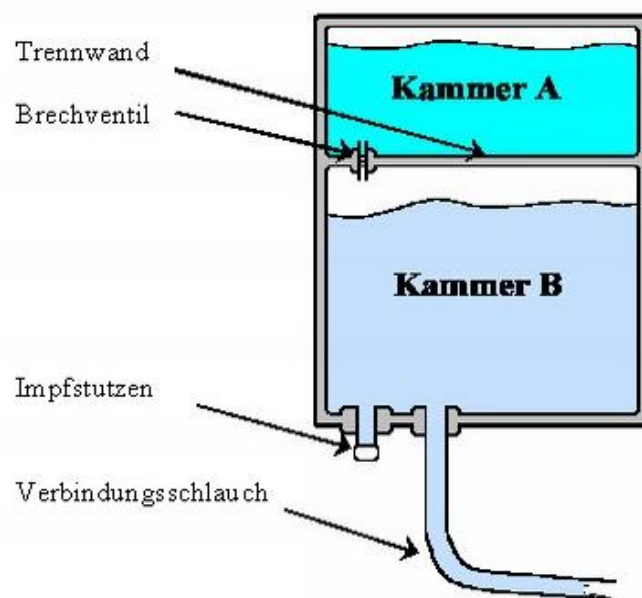


Abbildung 1.4: Schematische Darstellung eines Zweikammerbeutels [19]

Glucosepolymere als osmotisch aktive Substanz

Glucosepolymere, also Ketten aus Glucose, stellen eine Alternative zur Verwendung von Glucose da. Sie bauen einen kolloidalosmotischen Druck im Peritoneum auf. Als kolloidalosmotisch bezeichnet man osmotischen Druck, der durch große Moleküle, wie eben Polymere oder auch Proteine verursacht wird. Der Vorteil hierbei ist, dass die Polymere

aufgrund ihrer Größe nur in geringem Ausmaß in das Blut diffundieren. Daher bleibt der Druckunterschied zwischen der Dialyselösung und dem Blut in den Kapillaren länger erhalten, wodurch die Ultrafiltration bis zu 12 Stunden auf einem konstanten Level gehalten werden kann. Ein weiterer Vorteil ist, dass es nicht zu den durch erhöhte Glucoseaufnahme verursachten Problemen kommt [24]. Mit *Extraneal* gibt es, Stand 7.4.2016, eine zugelassene Peritonealdialyselösung mit einem Glucosepolymer, nämlich *Icodextrin*, in Österreich [12].

Ein Nachteil dieser Lösung ist der mit 5,8 leicht saure pH-Wert, durch den es eventuell zu leichten Schmerzen beim Einlaufen kommen kann [24].

Aminosäuren als osmotisch aktive Substanz

Alternativ können auch Aminosäuren als osmotisch aktives Agens verwendet werden. Diese können einem Proteinmangel vorbeugen, indem sie den durch Peritonealdialyse erlittenen Proteinverlust ausgleichen. Außerdem sind sie glucosefrei und haben dementsprechend auch keine durch Glucose verursachten Nachteile. Die in Österreich erhältliche Aminosäuren-Peritonealdialyselösung *Nutrineal* enthält 1,1 % Aminosäuren und erreicht so eine Ultrafiltrationsleistung, die einer 1,36 % Glucoselösung entspricht. Sie hat einen pH-Wert von etwa 6,7 und ist daher relativ neutral [24].

1.1.4 Vorteile und Nachteile der Peritonealdialyse

Der Umstand, dass die Peritonealdialyse ein Heimdialyseverfahren ist, ist wahrscheinlich ihr größter Vorteil gegenüber der Hämodialyse. So kann der Patient mehr Eigenverantwortung übernehmen und sich seinen Tagesablauf flexibler einteilen, was zu einer Steigerung der Lebensqualität führt. Auch Urlaube sind kein Problem, da PD-Material in fast allen europäischen Ländern und auch in vielen Ländern außerhalb Europas erhältlich ist. Durch eine automatische Peritonealdialyse über Nacht kann die Flexibilität und Freiheit tagsüber noch weiter gesteigert werden [17, 24, 26].

Durch Peritonealdialyse kommt es zu einer kontinuierlichen und regelmäßigen Entgiftung, wodurch große Schwankungen vermieden werden und der Kreislauf des Patienten wenig belastet wird [17, 24, 26]. Einige Untersuchungen zeigen außerdem, dass die Restnierenfunktion durch die Anwendung von PD über einen längeren Zeitraum erhalten werden kann [24].

Auch verursacht die Peritonealdialyse deutlich weniger Kosten als die Hämodialyse [17].

Das alles sind Gründe dafür, dass die Peritonealdialyse immer öfter als Nierenersatzverfahren der Wahl empfohlen wird [24].

Allerdings hat die Peritonealdialyse auch ein paar Nachteile. So ist sie beispielsweise nicht für alle Patienten geeignet. Chronische-entzündliche Darmerkrankungen, Hernien, ausgedehnte intraabdominale Verwachsungen auch restriktive oder obstruktive Lungen-erkrankungen sind Gründe, weshalb die Peritonealdialyse nicht angewendet werden kann [17, 24]. Von manchen Patienten wird auch der dauerhaft implantierte Katheter als kosmetisch störend empfunden [17, 26].

Das größte Problem der Peritonealdialyse ist aber eindeutig die Gefahr einer Entzündung der Katheter-Austrittsstelle, was das Risiko für eine Peritonitis mit sich bringt. Durch wiederholtes Auftreten von Peritonitis kann das Peritoneum dauerhaft geschädigt werden, wodurch die Ultrafiltrationsleistung so weit abnimmt, dass es zum Versagen der Peritonealdialyse kommen kann. In so einem Fall ist der Umstieg auf Hämodialyse notwendig [24].

1.2 Peritonitis

Peritonitis, also eine Entzündung des Bauchfells, wird meist durch Bakterien und Pilze verursacht, die entlang des Katheters oder zusammen mit der Dialyselösung in den Bauchraum gelangen. Durch richtige Handhabung kann dies größtenteils verhindert werden. So ist es wichtig, den Beutelwechsel in einem sauberen Raum durchzuführen, sich vorher immer die Hände zu waschen und zu desinfizieren und bestenfalls einen Mundschutz zu tragen [17, 24]. Obwohl die Zahl der Peritonitis-Fälle, durch technische Verbesserungen und Patiententraining, innerhalb der letzten Jahre zwar deutlich gesenkt werden konnte, bleibt sie die häufigste Komplikation der Peritonealdialyse. Peritonitis ist auch der Hauptgrund für das Versagen der PD-Therapie und den daraus resultierenden Wechsel zu Hämodialyse [3, 14, 17]. Eine Peritonitis kann lebensbedrohlich sein. So ist sie beispielsweise in den USA die Ursache für 18 % der durch Infektionen ausgelösten und für 5 % aller Todesfälle von PD-Patienten [21, 26]. Symptome einer Peritonitis sind Schmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Diarrhoe und Fieber. Das wichtigste Indiz ist aber eine Trübung des Dialysats, da durch den Infekt die Zahl der Leukozyten erhöht ist. In diesem Fall sollte der Patient möglichst rasch in ein Krankenhaus oder in sein Dialysezentrum, damit baldmöglichst mit der Therapie begonnen werden kann [17, 24].

1.2.1 Erreger von Peritonitis

Peritonitis kann, wie schon erwähnt, durch Bakterien und Pilze verursacht werden, wobei der Großteil der Peritonitiden auf gram-positive Bakterien zurückzuführen ist. 61,8 % der während Peritonealdialyse aufgetretenen Peritonitiden in Österreich wurden im Jahr 2006 durch gram-positive Erreger, 5,9 % durch gram-negative Erreger und 1,5 % durch Pilze ausgelöst [15]. In den USA sind gram-positive Bakterien die Ursache für 62 % der Peritonitiden im Rahmen einer Peritonealdialyse, in Canada für 61 % [16]. Da sowohl Keimspektren, als auch Resistenzraten von Dialysezentrum zu Dialysezentrum stark variieren können, ist es wichtig, dass die Zentren genau dokumentieren, welche Keime bei ihren Patienten nachgewiesen wurden. So ist es möglich, eine rasche und zielgerichtete Therapie möglich zu gewährleisten [17, 24, 26].

1.2.2 Therapie von Peritonitiden im Rahmen einer PD

Es ist wichtig, so früh wie möglich mit einer Therapie zu beginnen, also meistens noch bevor man genaue Kenntnis über die Erreger hat. Daher erfolgt die initiale Antibiotika-Therapie zentrumspezifisch. Sie sollte gegen gram-positive und gram-negative Bakterien gerichtet sein und häufig vorkommende Erreger oder eventuelle Resistenzen des jeweiligen Dialysezentrums berücksichtigen [14, 17, 26]. Im gram-positiven Bereich werden von der *International Society for Peritoneal Dialysis* (ISPD) Vancomycin oder Cephalosporine empfohlen, im gram-negativen Bereich Cephalosporine der 3. Generation oder Aminoglykoside. Sobald man Ergebnisse der Dialysat-Kulturen hat und weiß, um welche Erreger es sich handelt, wird die Therapie dementsprechend angepasst. Kommt es innerhalb von 5 Tagen unter Therapie mit Antibiotika zu keiner Besserung, empfiehlt die ISPD die Entfernung des Katheters und den Wechsel zu Hämodialyse [14]. Ein großes Problem bei der Therapie von Peritonitiden und allgemein bei Antibiotika-Therapien ist die fortschreitende Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen [20]. So sind beispielsweise laut einer 2002 bis 2011 in Indien durchgeführten Studie 28,6 % der in Dialysatkulturen nachgewiesenen Staphylokokken Methicillin-resistent und sogar 54,3 % der isolierten Enterobakterien produzieren Extended-Spectrum β -Lactamasen (ESBL) [21]. Fosfomycin, dessen Stabilität bei dieser Arbeit untersucht wird, ist bei eben solchen ESBL-Infektionen, neben Carbapenemen und Tigecyclin, Mittel der Wahl und außerdem auch gut wirksam gegen Methicillin-resistente Staphylokokken [18, 20].

Allgemein sollte eine intraperitoneale Applikation des Antibiotikums einer intravenösen vorgezogen werden, da so am Peritoneum lokal hohe Konzentrationen erzielt werden können. Außerdem kann der Patient die Therapie selbstständig zu Hause durchführen,

indem die Antibiotika im Krankenhaus zur PD-Lösung zugegeben werden. Anschließend bekommt der Patient die Beutel mit nach Hause [3, 14, 17, 26]. Dafür ist allerdings Voraussetzung, dass die jeweiligen Antibiotika in der Dialyselösung stabil sind, da sonst eventuell die therapeutische Konzentration nicht erreicht werden kann oder sich toxische Abbauprodukte bilden können [2, 3].

1.3 Fosfomycin

Fosfomycin wurde ursprünglich aus *Streptomyces*-Arten gewonnen, wird heute aber synthetisch hergestellt. Es ist ein bakterizides Breitbandantibiotikum, dessen Wirkungsspektrum sowohl gram-positive als auch gram-negative Bakterien umfasst. Da es gegen viele multiresistente Keime, wie beispielweise ESBL produzierende Enterobakterien und Methicillin-resistente Staphylokokken wirkt, ist es ein wichtiges Reserveantibiotikum [1, 4, 7, 18, 20].

Fosfomycin besitzt gute pharmakokinetische Eigenschaften, wie ein geringes Molekulargewicht, praktische keine Proteinbindung und gute Verteilung im Organismus. Es wird außerdem kaum metabolisiert und unverändert mit dem Harn ausgeschieden [1, 7, 18].

Sein Wirkungsmechanismus ist einzigartig. Das Molekül wird über ein Transportsystem aktiv in die Bakterien aufgenommen. Da für diesen Transport Glukose-6-Phosphat notwendig ist, ist Fosfomycin nur in Glukose-6-Phosphat-haltigem Milieu wirksam. Dieses ist am Entzündungsort, durch Hämolyse, allerdings meistens in genügenden Mengen vorhanden.

In den Bakterien blockiert Fosfomycin, als Analogon der natürlichen Substrates Phosphoenolpyruvat, die Pyruvyltransferase. Da diese für die Peptidoglykansynthese zuständig ist, wird so der erste Schritt der Zellwandsynthese der Bakterien gehemmt [1, 4, 7]. Die Struktur von Fosfomycin und ihre Ähnlichkeit zu Phosphoenolpyruvat ist in Abbildung 1.5 zu sehen.



Abbildung 1.5: Fosfomycin und Phosphoenolpyruvat [1]

Als Nebenwirkungen können Exantheme, Leberenzymerrhöhung, Kopfschmerzen oder gastrointestinale Störungen wie Übelkeit, abdominale Schmerzen und Diarrhoe auftreten [1, 4, 7]. Es ist auch zu beachten, dass es durch die hohe Natrium-Belastung, vor allem bei Patienten mit Herzinsuffizienz, Ödemneigung und Kaliummangel, zu Problemen kommen kann [1].

Fosfomycin ist gut wasserlöslich und wird als Dinatrium-Salz zur Herstellung von Infusionslösungen verwendet [7]. Dieses Salz wird auch bei der intraperitonealen Applikation eingesetzt. Diese Art der Anwendung ist möglich, da Fosfomycin sehr gut dialysierbar ist [1].

1.4 Problemstellung

Wie schon erwähnt, ist die Peritonealdialyse bezüglich der Dialyseleistung eine gleichwertige Alternative zur Hämodialyse. Aufgrund der in Kapitel 1.1.4 erwähnten Vorteile, wird sie immer mehr zu Methode der Wahl bei Patienten, die ein Nierenersatzverfahren benötigen. Dabei besteht allerdings ein gewisses Risiko eine Peritonitis zu bekommen, welche dann vorwiegend mit intraperitoneal verabreichten Antibiotika behandelt wird. Für diese Behandlung ist die Kenntnis über Stabilität und Kompatibilität des jeweiligen Antibiotikums in der Dialyselösung Voraussetzung, da es sonst einerseits zu Unterdosierungen und somit zu ungenügender Wirksamkeit des Antibiotikums kommen kann. Andererseits können sich auch toxische Abbauprodukte bilden [2, 3].

Es existieren mittlerweile einige Studien über die Stabilität verschiedener Antibiotika. Diese wurden von Filip de Vin, Peter Rutherford und Dirk Faict 2008 in einem in-depth Review zusammengefasst [3]. Über die Stabilität von Fosfomycin, das aufgrund seiner Wirkung gegen die meisten Peritonitis-verursachenden Keime eine gute Alternative zu den herkömmlichen Antibiotika darstellt, gibt es nur eine Studie aus dem Jahr 1990. Diese wurde von Quentin, Bouchet, Gaillard *et al.* bei Raumtemperatur über 24 Stunden durchgeführt [22]. Bei der in dieser Studie verwendeten Dialyselösung handelt es sich um *Dianeal*, eine glukosehaltige Lösung in einem Einkammersystem. Diese wird aufgrund der in Kapitel 1.1.3. erwähnten Nachteile allerdings heute kaum noch verwendet.

Ziel dieser Arbeit war es daher, die Stabilität von Fosfomycin in weiteren Dialyselösungen zu untersuchen. Dazu wurden vier in Österreich häufig verwendete PD-Lösungen ausgewählt, die das Spektrum der unterschiedlichen Dialyselösungen möglichst abdecken sollen. Es sollte nach der Zugabe des Antibiotikums die Stabilität unter verschiedenen definierten Bedingungen über einen längeren Zeitraum getestet werden. Dazu sollten

Testreihen bei 6°C und 25°C durchgeführt werden, um die Lagerung im Kühlschrank und bei Raumtemperatur darzustellen. Hier sollten im Zeitraum von zwei Wochen in bestimmten Intervallen Proben genommen und die Konzentration bestimmt werden. Bei einer weiteren Testreihe sollte die Stabilität von Fosfomycin bei einer Temperatur von 37°C über 24 Stunden bestimmt werden. Diese sollte die Erwärmung der Dialyselösung auf Körpertemperatur und seine anschließende Verweildauer im Bauchraum simulieren. Es sollte versucht werden die Handhabung durch die Patienten möglichst praxisnah darzustellen, um zu sehen, ob eine intraperitoneale Anwendung von Fosfomycin zur Behandlung einer Peritonitis möglich ist.

2 Material und Geräte

2.1 Geräte und Software

Tabelle 2.1: Verwendete Geräte und Software

HPLC	Dionex Ultimate 3000 RSLC-series
Massenspektrometer	AB Sciex Instruments API 4000
Trockenschrank	Heraeus Instruments Typ UT 6060
Kühlgerät	Liebherr KU 1710 Type 100641
Heizplatten	Baxter BagWarmer Art.-Nr.: RIC8344, Ser.-Nr.: 51945 Art.-Nr.: RIC8344, Ser.-Nr.: 31554 Art.-Nr.: 50000107, Ser.-Nr.: 5616
pH-Meter	HI 223 Calibration Check Microprocessor pH Meter, HANNA Instruments
Kolbenhub-Pipette	Eppendorf Research 2-20 µl

2.2 Materialien

Tabelle 2.2: Verwendete Materialien

10 ml Spritzen	Braun Injekt 10ml PZN: 02057926 Ch.-Nr.: 15B02C8, MHD: 02/2020 Ch.-Nr.: 15K28C8, MHD: 09/2020
Nadeln	Henke Sass Wolf Fine-Ject 0,8x50mm Ch.-Nr.: 14-11939, MHD: 09/2018
50 ml Spritzen	Henke Sass Wolf SoftJect 50 ml Ch.-Nr.: 2015B06, MHD:01/2020
Spikes	Braun Mini-Spike PZN: 07423488 Ch.-Nr.: 15G23A8131, MHD: 07/2020

2.3 Reagenzien

Tabelle 2.3: Verwendete Reagenzien

Acetonitril	HiPerSolv Chromanorm VWR Chemicals BDH Prolabo Ch.-Nr.: 15H251091, MHD: 08/2018
Ameisensäure	Gatt-Koller 98 % Kontr.-Nr.: 4444/10113813 Art. Nr.: 606000331
Wasser	Demineralisiertes Wasser, destilliert

2.4 Substanzen

Tabelle 2.4: Verwendete Substanzen

Aqua ad injectabilia	Braun 100ml Ch.-Nr.: 152868091, MHD: 06/2018
Fosfomycin	medicamentum pharma 4g Ch.-Nr.: 251403, MHD: 11/2017 Meiji Seika Pharma 4g Ch.-Nr.: 0070, MHD: 07/2017
Extraneal	Baxter 2000ml Ch.-Nr.: 14E16G40, MHD: 04/2016 Ch.-Nr.: 14H31G37, MHD: 07/2016
Nutrineal PD4 mit 1,1% Aminosäuren	Baxter 2500ml Ch.-Nr.: 14G19G37, MHD: 06/2016
Physioneal 40 Glucose 1,36% m/v	Baxter 2000ml Ch.-Nr.: 14D29G11, MHD: 03/2016 Ch.-Nr.: 14F06G11, MHD: 05/2016
Physioneal 40 Glucose 2,27% m/v	Baxter 2000ml Ch.-Nr.: 14A14G11, MHD: 12/2015 Baxter 2500ml Ch.-Nr.: 13K10G10, MHD: 10/2015

2.4.1 Verwendete Peritonealdialyselösungen

Extraneal

Extraneal enthält als osmotisch aktive Substanz 7,5 % Icodextrin, ein Glucosepolymer auf Stärkebasis [6]. Es ist die einzige in Österreich zugelassene Icodextrin-haltige PD-Lösung [12]. Die genaue Zusammensetzung ist in Tabelle 2.5 ersichtlich.

Tabelle 2.5: Zusammensetzung von *Extraneal* [6]

Icodextrin	75 g/l
Natriumchlorid	5,4 g/l
Natrium-(S)-Lactat	4,5 g/l
Calciumchlorid	0,257 g/l
Magnesiumchlorid	0,051 g/l

Sonstige Bestandteile sind Wasser für Injektionszwecke und Natriumhydroxid oder Salzsäure zur pH-Wert-Einstellung. Der pH-Wert von *Extraneal* liegt zwischen 5,0 und 6,0 und die theoretische Osmolarität bei 284 mosmol/l [6].

Extraneal wird vor allem dann angewandt, wenn es bei Patienten durch die Verwendung von Glucose-haltigen Lösungen zu einer verringerten Ultrafiltration gekommen ist. Da Icodextrin im Unterschied zu Glucose kaum über das Peritoneum diffundiert, bleibt die Ultrafiltration über einen Zeitraum von bis zu 12 Stunden konstant. Üblicherweise wird ein Beutel pro Tag verwendet, und zwar jeweils für die längste Verweildauer. Also bei der CAPD über Nacht und bei der APD während des Tages. Durch die Verwendung von *Extraneal* kommt es außerdem zu einer geringeren Glucosebelastung, wodurch metabolische Nebenwirkungen wie Gewichtszunahme oder Hyperinsulinismus seltener sind [6].

Nebenwirkungen wie Schwäche, Schwindel, Müdigkeit, Kopfschmerzen und Dehydratation sind hauptsächlich durch die Flüssigkeitsverluste während der Dialyse bedingt. Des Weiteren kann es auch zu Überempfindlichkeitsreaktionen mit Hautausschlag und Juckreiz und zu gastrointestinalen Störungen, wie Übelkeit, Erbrechen und Diarrhoe kommen [6]. Durch den leicht sauren pH-Wert der Lösung kann der Patient auch leichte Schmerzen während des Einlaufens empfinden [24].

In Abbildung 2.1 ist ein, im Rahmen dieser Arbeit verwendeter, *Extraneal*-Beutel mit einem Volumen von 2000 ml zu sehen.

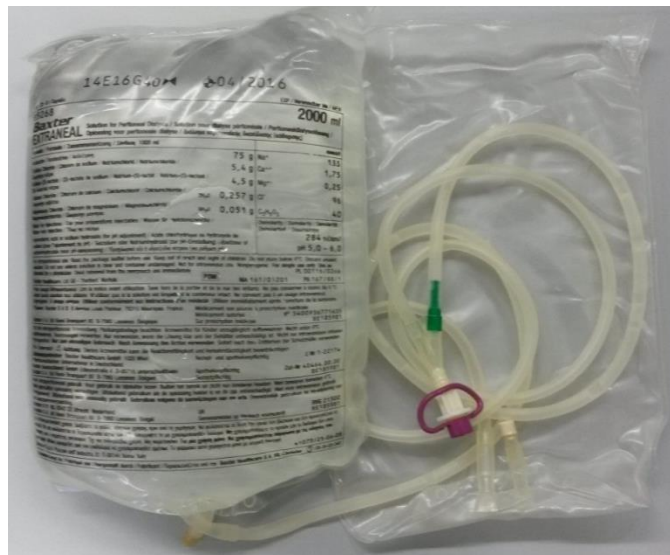


Abbildung 2.1: PD-Beutel *Extraneal*

Nutrineal

Nutrineal ist, mit 1,1 % Aminosäuren als osmotisch aktive Substanz, die einzige Aminosäuren-haltige PD-Lösung, die in Österreich zugelassen ist [8, 12]. Die genaue Zusammensetzung zeigt Tabelle 2.6.

Tabelle 2.6: Zusammensetzung von *Nutrineal* [8]

Alanin	951 mg/l
Arginin	1071 mg/l
Glycin	510 mg/l
Histidin	714 mg/l
Isoleucin	850 mg/l
Leucin	1020 mg/l
Lysinhydrochlorid	955 mg/l
Methionin	850 mg/l
Phenylalanin	570 mg/l
Prolin	595 mg/l
Serin	510 mg/l
Threonin	646 mg/l
Tryptophan	270 mg/l
Tyrosin	300 mg/l
Valin	1393 mg/l
Natriumchlorid	5380 mg/l
Calciumchlorid-Dihydrat	184 mg/l
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	51 mg/l
Natrium-(S)-Lactatlösung	4480 mg/l

Als sonstige Bestandteile sind Wasser für Injektionszwecke und konzentrierte Salzsäure zur Einstellung des pH-Wertes enthalten. Der pH-Wert liegt bei 6,6 und die theoretische Osmolarität bei 365 mosmol/l [8].

Nutrineal wird vor allem bei mangelernährten Patienten eingesetzt [8]. Ein Proteinmangel kann auch durch Peritonealdialyse verursacht werden, da der Patient täglich 2-4 g Aminosäuren und 5-15 g Proteine in das Dialysat verliert [24]. Die übliche Dosierung von Aminosäure-haltigen PD-Lösungen ist ein Beutel pro Tag. In Ausnahmefällen kann die Dosis auf maximal zwei Beutel pro Tag erhöht werden [8].

Häufige Nebenwirkungen sind Störungen des Gastrointestinaltraktes wie beispielsweise Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Appetitlosigkeit, Unverträglichkeitsreaktionen mit Juckreiz und Rötungen sowie Schwächegefühl [8].

Zur Analyse im Rahmen dieser Arbeit wurden *Nutrineal*-Beutel mit einem Volumen von 2500 ml verwendet. Ein solcher Beutel ist in Abbildung 2.2 zu sehen.

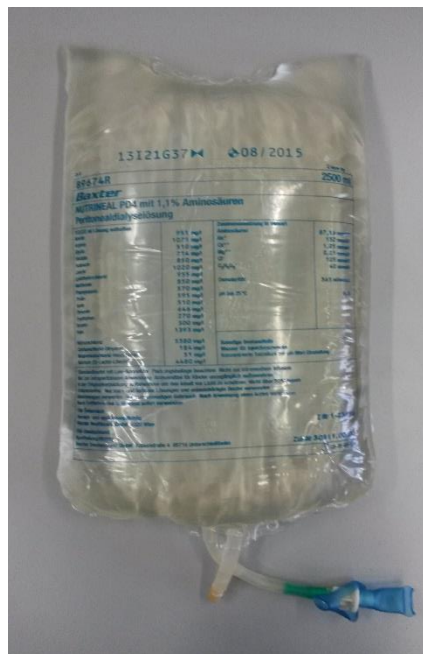


Abbildung 2.2: PD-Beutel *Nutrineal*

Physioneal 40 1,36 %

Bei *Physioneal* handelt es sich um eine Glucose-haltige Peritonealdialyselösung, die repräsentativ für alle auf Glucose basierenden PD-Lösungen gewählt wurde. Die Zahl 40 im Produktnamen steht für die Konzentration der Puffer. Es sind 15 mmol/l Laktat und

25 mmol/l Hydrogencarbonat, also insgesamt 40 mmol/l Puffersubstanzen enthalten [9]. *Physioneal* ist auch mit einer geringeren Pufferkonzentration, nämlich 35 mmol/l, erhältlich [12].

1,36 % steht für die Glucosekonzentration. Dieses ist die niedrigste erhältliche Konzentration, bei der auch am wenigsten Filtrationsleistung zu erwarten ist. Es wird bei einer Therapie mit PD immer eine Lösung mit einer möglichst geringen Osmolarität gewählt, um das Risiko einer Dehydratation zu minimieren. Allerdings sollte dabei auch auf eine ausreichende Filtrationsleistung geachtet werden. Glukose-haltige PD-Lösungen sind neben 1,36 % noch in den Konzentrationen 2,27 % und 3,86 % vorhanden [9].

Physioneal ist in Zweikammerbeuteln erhältlich, deren Vorteile bereits in Kapitel 1.1.3 ausführlich erläutert wurden. Die beiden Kammern sind durch einen Brechdorn verbunden, der direkt vor der Anwendung gebrochen wird, um das Mischen der Inhalte der Kammern zu ermöglichen. Ein 2000 ml Beutel *Physioneal* besteht aus 725 ml in Kammer A und 1275 ml in Kammer B [9]. Eine genaue Zusammensetzung von *Physioneal* 40 1,36 % ist in den Tabellen 2.7 und 2.8 ersichtlich.

Tabelle 2.7: Zusammensetzung von *Physioneal* 40 1,36 % vor dem Mischen [9]

Kammer A	
Glucose-Monohydrat	41,25 g/l
entspricht wasserfreier Glucose	37,50 g/l
Calciumchlorid-Dihydrat	0,507 g/l
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	0,140 g/l
Kammer B	
Natriumchlorid	8,43 g/l
Natriumhydrogencarbonat	3,29 g/l
Natrium-(S)-Lactatlösung	2,36 g/l

Tabelle 2.8: Zusammensetzung von *Physioneal* 40 1,36 % nach dem Mischen [9]

Glucose-Monohydrat	15,00 g/l
entspricht wasserfreier Glucose	13,60 g/l
Natriumchlorid	5,38 g/l
Calciumchlorid-Dihydrat	0,184 g/l
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	0,051 g/l
Natriumhydrogencarbonat	2,10 g/l
Natrium-(S)-Lactatlösung	1,68 g/l

Sonstige Bestandteile sind Wasser für Injektionszwecke und Kohlendioxid zur pH-Einstellung. Der pH-Wert beträgt 7,4 und die theoretische Osmolarität liegt bei 344 mosmol/l [9].

Neben den metabolischen Veränderungen durch eine erhöhte Aufnahme von Glucose und den daraus resultierenden Nebenwirkungen wie Hyperglykämie, Gewichtszunahme und Hyperinsulinämie, kommt es auch häufig zu Hypokaliämie, Alkalose durch erhöhte Bicarbonatspiegel, Ödemen und Schwächegefühl [9].

Die bei dieser Arbeit verwendeten Beutel von Physioneal beinhalten 2000 ml und sind in Abbildung 2.3 zu sehen.

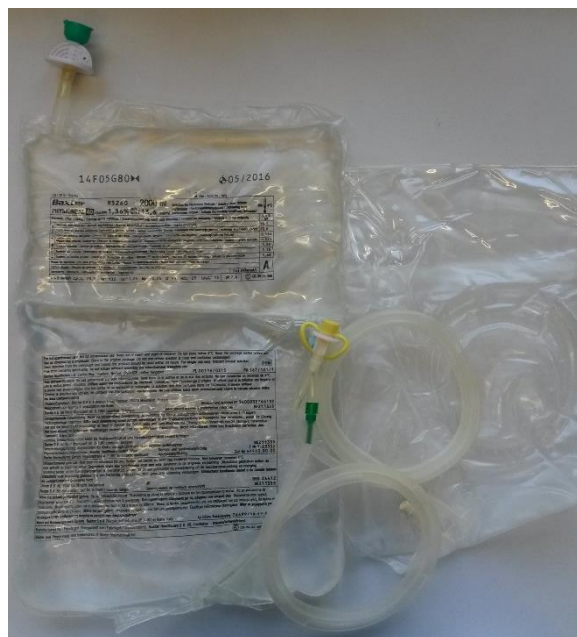


Abbildung 2.3: PD- Beutel *Physioneal 40 1,36 %*

Physioneal 40 2,27 %

Physioneal 2,27 % unterscheidet sich nur durch die höhere Glucosekonzentration von *Physioneal 1,36 %*. Dadurch kann eine höhere Ultrafiltration erzielt werden. Allerdings ist auch die Glucosebelastung für den Patienten höher. Bezüglich der Handhabung und den Nebenwirkungen gibt es keine Unterschiede zwischen *Physioneal 1,36 %* und *Physioneal 2,27 %* [9, 10]. Die genaue Zusammensetzung dieser PD-Lösung ist in den Tabellen 2.9 und 2.10 angeführt.

Tabelle 2.9: Zusammensetzung von Physioneal 40 2,27 % vor dem Mischen [10]

Kammer A	
Glucose-Monohydrat	68,85 g/l
entspricht wasserfreier Glucose	62,60 g/l
Calciumchlorid-Dihydrat	0,507 g/l
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	0,140 g/l
Kammer B	
Natriumchlorid	8,43 g/l
Natriumhydrogencarbonat	3,29 g/l
Natrium-(S)-Lactatlösung	2,36 g/l

Tabelle 2.10: Zusammensetzung von *Physioneal* 40 2,27 % nach dem Mischen [10]

Glucose-Monohydrat	25,00 g/l
entspricht wasserfreier Glucose	22,70 g/l
Natriumchlorid	5,38 g/l
Calciumchlorid-Dihydrat	0,184 g/l
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	0,051 g/l
Natriumhydrogencarbonat	2,10 g/l
Natrium-(S)-Lactatlösung	1,68 g/l

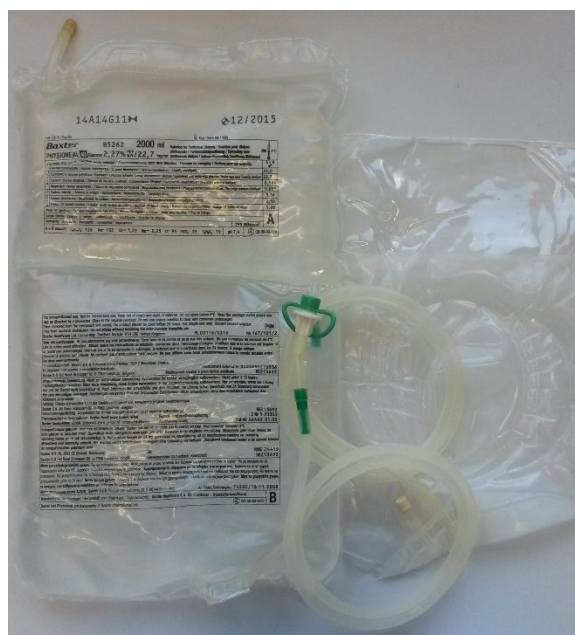


Abbildung 2.4: PD-Beutel *Physioneal* 40 2,27 %

Als sonstige Bestandteile sind Wasser für Injektionszwecke und Kohlendioxid zur pH-Wert-Einstellung enthalten. Der pH-Wert liegt bei 7,4 und die theoretische Osmolarität bei 395 mosmol/l [10].

Für die Analysen wurden Beutel mit einem Volumen von 2000 ml und 2500 ml verwendet. Ein solcher 2000 ml fassender Beutel ist in Abbildung 2.4 zu sehen.

2.4.2 Fosfomycin

Für die Stabilitätsuntersuchung im Rahmen dieser Arbeit wurden Trockenstechampullen mit Fosfomycin als Natriumsalz verwendet. Eine Ampulle enthält 5,28 g Fosfomycin-Dinatrium, entsprechend 4 g Fosfomycin [7]. Die verwendeten Produkte sind in Abbildung 2.5 zu sehen.



Abbildung 2.5: Fosfomycin-Durchstechampullen

Die Wirkungsweise und mögliche Nebenwirkungen von Fosfomycin wurden bereits in Kapitel 1.3 ausführlich beschrieben. Zur peritonealen Anwendung wird Fosfomycin in Aqua ad injectabilia gelöst und dann in den PD-Beutel appliziert. Nachdem der Wirkstoff gelöst wurde, ist die Zubereitung bei 25°C für 24 Stunden stabil [7].

3 Methoden

3.1 Durchführung der Analysen

Zur praktischen Durchführung der Stabilitätsuntersuchungen von Fosfomycin in Peritonealdialyselösungen wurden jeweils 4 g Fosfomycin in die verschiedenen PD-Beutel appliziert. Dafür wurden 20 ml Aqua ad injectabilia mittels Spritzen in die Trockenstechampullen übergeführt. Nach gutem Schütteln wurde der vollständig gelöste Inhalt in die Dialysebeutel gespritzt. Dies erfolgte über sogenannte Mini-Spikes, mit denen die Zuspritzanschlüsse der PD-Beutel versehen wurden, um eine sterile Applikation des Antibiotikums und im weiteren Verlauf auch eine sterile Probennahme zu gewährleisten. Ein solcher Mini-Spike ist in Abbildung 3.1 zu sehen.

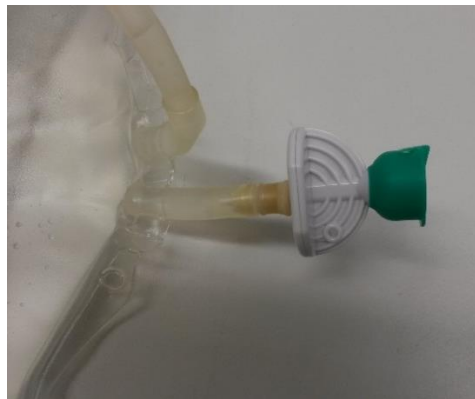


Abbildung 3.1: Mini-Spike

Nach der Zugabe des Antibiotikums ergaben sich folgende, in Tabelle 3.1 dargestellten, Volumina der jeweiligen PD-Lösungen. Mit diesen wurde die erwartete Konzentration von Fosfomycin in der jeweiligen Dialyselösung berechnet. Auch diese Konzentrationen sind in Tabelle 3.1 ersichtlich.

Tabelle 3.1: Volumina der PD-Lösungen und berechnete Fosfomycin-Konz.

Dialyselösung	Inhalt in ml	Konzentration in mg/ml
<i>Extraneal</i>	2020	1,980
<i>Nutrineal</i>	2520	1,587
<i>Physioneal 40 1,36 %</i>	Kammer A: 745	5,369
	Gesamt: 2020	1,980
<i>Physioneal 40 2,27 %</i>	Kammer A: 745	5,369
	Gesamt: 2020	1,980

Die Analysen wurden bei unterschiedlichen Lagertemperaturen der PD-Beutel, nämlich 6°C, 25°C und 37°C, durchgeführt. Dies sollte die Lagerungen im Kühlschrank und bei Raumtemperatur, also die tatsächliche Handhabung der Patienten, darstellen, nachdem diese die im Krankenhaushaus mit Antibiotika versehenen Dialysebeutel zur eigenständigen Anwendung mit nach Hause bekommen. Dafür wurde das Antibiotikum bei *Physioneal* nur in die kleinere Kammer A appliziert. So wird es auch in der Praxis gemacht, da nach Vermischung der beiden Kammern die Lösung innerhalb von 24 Stunden angewendet werden muss [9, 10].

37°C wurde ausgewählt, da die PD-Lösungen vor der Applikation auf Körpertemperatur erwärmt werden, um Schmerzen beim Einlaufen zu verhindern und anschließend mehrere Stunden in der Bauchhöhle verweilen, wo sie auch einer solchen Temperatur ausgesetzt sind. Hier wurde das Antibiotikum bei *Physioneal* auch in Kammer A appliziert, der Brechdorn aber anschließend gebrochen und die Inhalte der beiden Kammern vermischt, wie es die Patienten auch vor der Anwendung machen.

Die Zeiträume der Analysen wurden bei 6°C und 25°C mit zwei Wochen festgelegt, da eine Behandlung mit Fosfomycin diese Zeitspanne nicht überschreiten würde. Bei 37°C reicht es zu wissen, ob das Antibiotikum über 24 Stunden in der Dialyselösung stabil ist. Bei der automatisierten PD werden die Dialysebeutel nämlich über Nacht auf der Wärmeplatte erhitzt und in der Früh appliziert. Diese Lösung bleibt dann den ganzen Tag in der Bauchhöhle. Somit entsteht ein Zeitraum von etwa 24 Stunden, über den die Stabilität gewährleistet sein muss. Wie in der Praxis auch, wurden hierfür die Lösungen nach der Applikation auf *Baxter Bag Warmer* Wärmeplatten erwärmt. Anschließend wurden sie in einem Trockenschrank bei 37°C gelagert.

Während dieser Zeitspanne wurde zu bestimmten Zeitpunkten Proben entnommen. Die genauen Zeitpunkte der Probennahme sind aus Tabelle 3.2 zu entnehmen.

Tabelle 3.2: Zeitpunkte der Probennahme

Lagertemperatur	Zeitpunkt der Probennahme (nach Zugabe von Fosfomycin)
6°C	0h, 6h, 24h, 48h, 72h, 168h, 336h
25°C	0h, 6h, 24h, 48h, 72h, 168h, 336h
37°C	0h, 1h, 2h, 4h, 12h, 24h

Die Analysen wurden als Dreifachbestimmung durchgeführt. Es gab also von jeder Versuchsreihe Beutel A, B und C. Vor der Probennahme wurden die Beutel gut durchgemischt und anschließend zweimal etwa 20 ml Probe entnommen und verworfen, um sowohl die Spikes, als auch die Spritzen zu spülen.

Dann wurden wieder 20 ml entnommen und ein Teil in Eppendorf-Vials gefüllt und eingefroren und der andere Teil für eine pH-Wert-Analyse verwendet. Die eingefrorenen Proben wurden später aufgetaut und mittels HPLC die Fosfomycin-Konzentration bestimmt.

Parallel zu den eigentlichen Analysen wurden Leerwertanalysen von Fosfomycin in Wasser durchgeführt, um sicherzustellen, dass eine eventuelle Abnahme der Fosfomycin-Konzentration wirklich durch eine Interaktion mit der Peritonealdialyselösung zustande kommt. Die Konzentrationen wurden dabei an die erwarteten Fosfomycin-Konzentrationen in den PD-Beuteln angepasst. Dafür wurde eine bestimmte Menge Fosfomycin eingewogen und in einem Erlenmeyerkolben mit der entsprechenden Menge an destilliertem Wasser aufgefüllt. Diese Kolben wurden dann genauso behandelt wie die Dialysebeutel.

Außerdem wurden auch die reinen Dialyselösungen analysiert, um zu sehen, ob Inhaltsstoffe der PD-Lösung die HPLC-Analyse eventuell stören könnten.

3.2 HPLC und Massenspektrometer

3.2.1 HPLC

Die Hochleistungsflüssigchromatographie, kurz HPLC, von der englischen Bezeichnung *High Performance Liquid Chromatography* abgeleitet, zählt heute, aufgrund ihrer flexiblen Anwendung und Selektivität, zu den meist verwendeten Trennmethoden in der pharmazeutischen Analytik. Sie dient der Trennung von Stoffgemischen, sowie der qualitativen und quantitativen Analyse der einzelnen Bestandteile [23].

Die HPLC stellt eine bestimmte Form der Säulenchromatographie dar. Wie bei der herkömmlichen Säulenchromatographie basiert das Trennprinzip auf der Wechselwirkung zwischen einer mobilen und einer stationären Phase. Die Säule wird mit der stationären Phase, beispielweise Kieselgel, befüllt. Anschließend wird das zu trennende Substanzgemisch zusammen mit der mobilen Phase, auch Fließmittel oder Elutionsmittel genannt, aufgebracht und fließt, getrieben durch die Schwerkraft, von oben nach unten durch die Säule. Die einzelnen Substanzen interagieren unterschiedlich stark mit der stationären Phase, wodurch sie zu verschiedenen Zeitpunkten die Säule verlassen. Sie haben also unterschiedliche Retentionszeiten in der Säule [23].

Die Trennleistung hängt auch stark von der Partikelgröße der stationären Phase ab. Durch kleinere Partikel entsteht eine größere Oberfläche, die zur Interaktion zu Verfügung steht, wodurch es zu einer besseren Trennung kommt. Daher werden die Säulen bei der HPLC

mit kleinen und gleichmäßig geformten Partikeln befüllt, um eine optimale Trennleistung zu erzielen. Aufgrund der dadurch entstehenden hohen Packungsdichte, sind Pumpen nötig, um das Elutionsmittel mit einer ausreichenden Fließgeschwindigkeit durch die Säule zu pressen. Es wird mit Drücken von 40-400 bar gearbeitet [5, 23].

Ein HPLC-System besteht grundsätzlich aus einem oder zwei Gefäßen mit dem Elutionsmittel, einem Pumpensystem, einem Injektor zum Einspritzen der Proben, einer Säule in einem Säulenofen mit konstanter Temperatur und einem Detektor. Dieses System ist meistens an einen Computer gekoppelt [5, 23]. Ein schematischer Aufbau einer HPLC-Anlage ist in Abbildung 3.2 zu sehen.

Als Injektor dient entweder ein Autosampler zur automatisierten Einspritzung der Proben, oder ein Einlassventil zur manuellen Probeneinspritzung. Als Pumpen eignen sich Kolbenhubpumpen, da diese einen konstanten Flüssigkeitsstrom erzeugen und Pulsationen, die zu Signalschwankungen führen können, so vermieden werden [23].

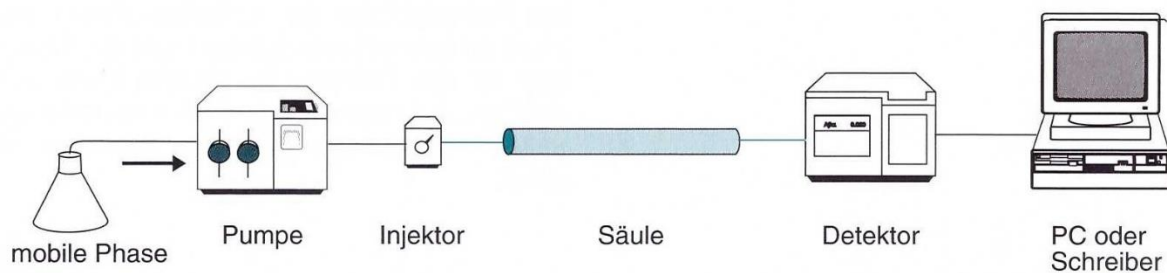


Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau einer HPLC-Anlage [5]

Neben der Partikelgröße ist die Trennleistung auch von der Elutionskraft des Fließmittels abhängig. Eine höhere Elutionskraft bedeutet, dass die Substanzen weniger Möglichkeit für Interaktionen mit der stationären Phase haben und dadurch früher die Säule verlassen. Durch eine Veränderung der mobilen Phase lassen sich daher die Retentionszeiten der Substanzen steuern, daher werden meistens auch Lösungsmittelgemische verwendet [5]. Man unterscheidet zwischen einer isokratischen Elution und einer Gradientenelution. Bei der isokratischen Elution bleibt die Zusammensetzung des Fließmittels konstant, während bei der Gradientenelution das Mischungsverhältnis der einzelnen Bestandteile verändert wird. So lässt sich, auch bei Substanzen mit unterschiedlichen chromatographischen Eigenschaften, eine ausreichende Trennung in akzeptabler Zeit erreichen [5].

Je nach Trennmechanismus und Anwendungsgebiet werden unterschiedliche Säulen gewählt. Verwendet werden die Normalphasenchromatographie, viel häufiger allerdings die Umkehrphasenchromatographie, auch *reversed phase* oder kurz RP-Chromatographie. Bei beiden beruht die Trennung auf der unterschiedlich starken Adsorption der Substanzen an der stationären Phase und den daraus resultierenden unterschiedlichen Retentionszeiten. Bei der Normalphasenchromatographie ist die Säule mit polaren Substanzen wie Kieselgel gefüllt, während bei der Umkehrphasenchromatographie apolare stationäre Phasen verwendet werden. Hierfür werden beispielsweise die Silanolgruppen des Kieselgels alkyliert. Häufig gearbeitet wird mit sogenannten RP18-Säulen, wobei die Zahl 18 für die Anzahl der Kohlenstoffatome der Alkylkette steht. Es wurden also Octadecylgruppen zur Alkylierung verwendet. Neben diesen Säulen gibt es auch weitere Säulen mit anderen Trennprinzipien. So werden beispielsweise chirale Trennungen, Ionenaustauschchromatographien und Ausschlusschromatographien, bei denen die Substanzen nach ihrer Größe getrennt werden, durchgeführt [23].

Um die teure Trennsäule vor groben Verschmutzungen zu schützen, ist meist eine Vorsäule vor die eigentliche Säule geschaltet [23].

Zur Detektion der Substanzen stehen unterschiedliche Detektoren zur Verfügung. Diese werden, je nach Substanzeigenschaften gewählt und auch kombiniert. Häufig verwendet werden UV-VIS-Detektoren, Fluoreszenzdetektoren und Brechungsindexdetektoren. Eine weitere Möglichkeit ist die Kopplung der HPLC an ein Massenspektrometer [24]. Diese teuren MS-Detektoren werden vor allem dann verwendet, wenn eine Detektion mit herkömmlichen Detektoren nicht möglich ist. Ein solches LC-MS-System, von der englischen Bezeichnung *liquid chromatography-mass spectrometry*, wurde auch im Rahmen dieser Arbeit verwendet.

3.2.2 Massenspektrometer

Die Massenspektrometrie, kurz MS, ist eine weit verbreitete Analysenmethode. Die Methode eignet sich sowohl zur Identifizierung, als auch zur Quantifizierung von Substanzen und wird auch zur Strukturaufklärung von unbekannten Verbindungen verwendet. Für eine Analyse sind außerdem nur sehr geringe Substanzmengen nötig. Aufgrund dessen und wegen ihrer großen Substanzspezifität wird sie auch in der Arzneistoffanalytik eingesetzt [5, 23].

Bei der MS werden die Moleküle ionisiert, also in positive oder negative Ionen übergeführt und anschließend fragmentiert. Die geladenen Bruchstücke werden dann aufgrund ihrer unterschiedlichen Massen getrennt und detektiert. So erhält man ein Diagramm in dem

die Massen und ihre relativen Intensitäten zu sehen sind, ein sogenanntes Massenspektrum [23]. Der schematische Aufbau eines Massenspektrometers ist in Abbildung 3.3 zu sehen.

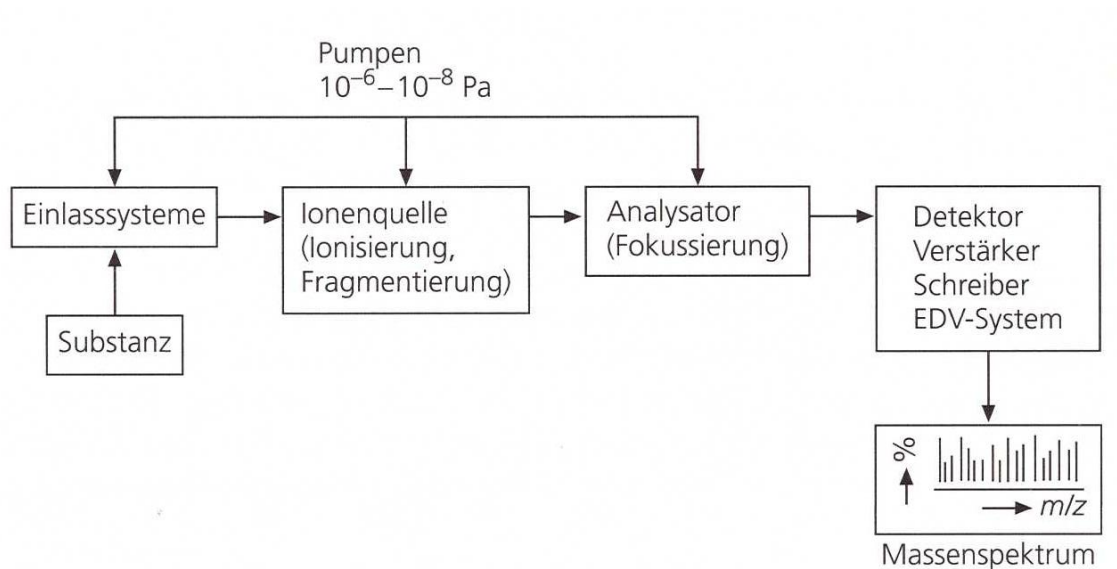


Abbildung 3.3: Aufbau eines Massenspektrometers [23]

Die älteste und am häufigste eingesetzte Ionisierungsmethode ist die Elektronenstoß-Ionisation, bei der es zu einer sehr starken Fragmentierung kommt. Die so erhaltenen Fragmentierungsmuster sind charakteristisch für die jeweiligen Substanzen und können mit Bibliotheken verglichen und so zur Identifizierung herangezogen werden. Andere, weichere Ionisierungsmethoden sind beispielsweise die chemische Ionisation und die Elektrospray-Ionisation [23]. Letztere wurde auch im Rahmen dieser Arbeit verwendet. Hierbei wird die Lösung der zu analysierenden Substanzen bei Atmosphärendruck durch eine Kapillare in ein elektrisches Feld gesprüht. Dadurch kommt es zu einer feinen Zerstäubung und, je nach Ladung des Feldes, zu positiv oder negativ geladenen Ionen. Durch Erhöhung der Temperatur lässt sich eine höhere Ionenausbeute erzielen [23]. Auch für die Trennung der Fragmente, die sogenannte Massen-Fokussierung, gibt es unterschiedliche Verfahren. So wird beispielsweise häufig mit Magnetfeld-Analysatoren oder elektrostatischen Analysatoren gearbeitet. Weitere Methoden sind Flugzeit-Analysatoren, kurz TOF vom englischen *time of flight*, Ionenfallen-Analysatoren und Quadrupol-Analysatoren.

Ein solcher Quadrupol-Analysator, kurz QP, wurde für die Analyse von Fosfomycin verwendet. Er besteht aus vier parallel angeordneten Metallstäben, von denen jeweils zwei gegenüberliegende positiv und zwei negativ geladen sind, wodurch im Raum zwischen den Stäben ein elektrisches Feld entsteht. Durch dieses werden die Ionen geleitet, wobei nur Ionen mit einem bestimmten Masse-zu-Ladungsverhältnis auf einer stabilen Flugbahn durch das elektrische Feld zum Detektor kommen. Alle anderen kollidieren mit den Stäbchen und erreichen den Detektor nicht [5, 23].

Um einen ganzen Massenbereich zu scannen und ein Massenspektrum zu erstellen, kann das elektrische Feld immer so verändert werden, dass ein Ion nach dem anderen durchgelassen wird [5, 23]. In Abbildung 3.4 ist ein Quadrupol-Analysator schematisch dargestellt.

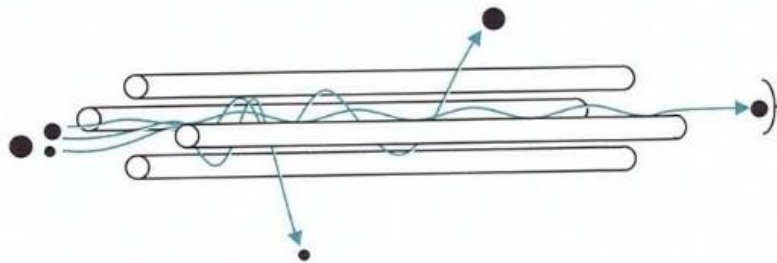


Abbildung 3.4: Funktionsprinzip eines Quadrupol-Massenfilters [5]

Um selektiv und mit höchster Empfindlichkeit ein bestimmtes Molekül zu analysieren, wird mit der Tandem-Massenspektrometrie, auch MS/MS abgekürzt, gearbeitet. Hier wird in einem ersten Analysator (QP1) ein bestimmtes Ion selektiert, das sogenannte Mutterion oder auch *precursor ion*. Dieses wird anschließend in einer Stoßzelle (QP2) gezielt fragmentiert und in einem zweiten Analysator (QP3) werden die so entstehenden Ionen, Tochterionen oder Produktionen genannt, nachgewiesen. Dies kann beispielweise durch ein Triple-Quadrupol-Massenspektrometer geschehen. Im ersten Quadrupol werden nur Ionen mit einer bestimmten Masse durchgelassen, welche im zweiten Quadrupol durch eine mit Inertgas, wie Stickstoff oder Helium, gefüllte Kollisionszelle geleitet werden, wo sie durch Zusammenstöße mit Gasmolekülen fragmentiert werden. Im dritten Quadrupol werden die so gebildeten Tochterionen analysiert [23]. Da QP1 und QP2 im *selected ion* Modus (SIM) arbeiten, erzielt man eine sehr hohe Selektivität und Empfindlichkeit.

3.2.3 Analysen im Rahmen dieser Arbeit

Für die Analysen im Rahmen dieser Arbeit wurde eine HPLC gewählt. Die Detektion von Fosfomycin mit einem UV-VIS-Detektor ist, aufgrund der kleinen Struktur, die kein chromophores System besitzt, nicht möglich. Daher wurde mit einem LC-MS/MS-System gearbeitet. Also eine HPLC-Analyse, an die ein Triple-Quadrupol-Massenspektrometer gekoppelt ist, welches mit Elektrospray-Ionisation, kurz ESI, arbeitet. Um die optimalen Einstellungen des Massenspektrometers zu finden, wurde zuerst Fosfomycin in Wasser gelöst und direkt in das Massenspektrometer eingespritzt und eine sogenannte Flussinjektionsanalyse (FIA) durchgeführt. Die Analysen wurden im Negativ-Modus durchgeführt. Daher wurden aus Fosfomycin negativ geladene Quasimolekülonen mit einem Masse-zu-Ladungsverhältnis m/z von 137 $[M-H]^-$ erzeugt. Dieses m/z ergibt sich aus dem Molekulargewicht von Fosfomycin, nämlich 138 g/mol, abzüglich des einen Protons, das durch die Ionisation im negativen Modus abgespalten wird.

Im ersten Quadrupol wurde dieses Quasimolekülonen, auch Mutterionen genannt, selektiert und im zweiten Quadrupol gezielt fragmentiert. Die so entstandenen Tochterionen sind in Abbildung 3.5 zu sehen.

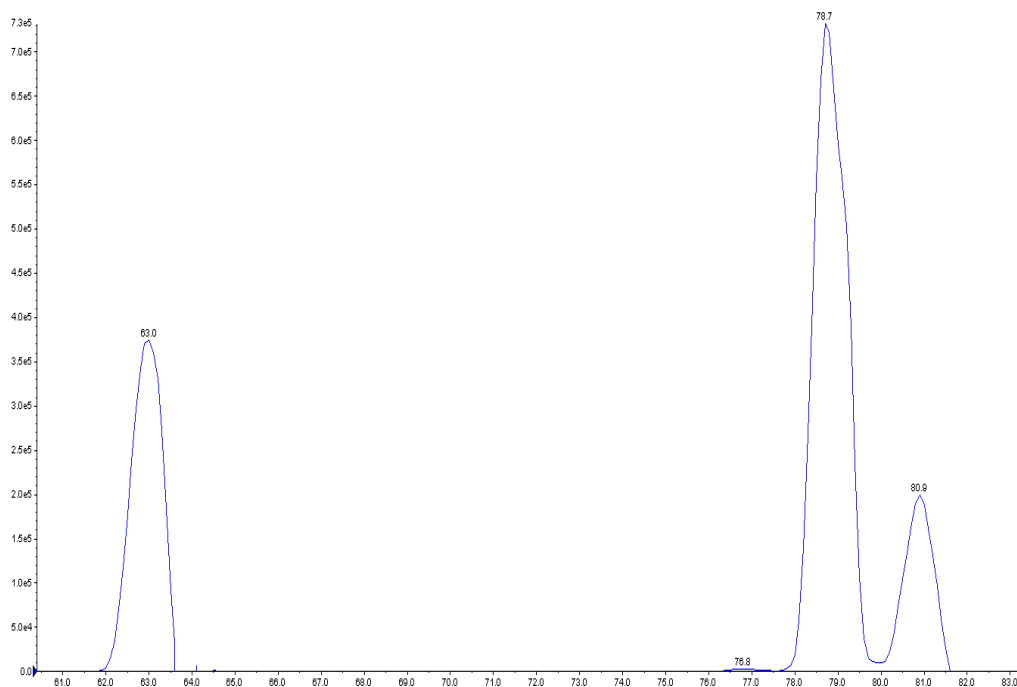


Abbildung 3.5: Nach Fragmentierung von Fosfomycin m/z 137 entstehende Tochterionen; bei m/z 78,8, m/z 63,0 und m/z 80,9

Für die Detektion und Quantifizierung von Fosfomycin wurden die beiden größeren Tochterionen, bei m/z 78,8 und m/z 63,0 ausgewählt und im dritten Quadrupol analysiert und quantifiziert. Werden selektiv ein oder zwei Tochterionen ausgewählt und quantifiziert, nennt man das MRM, von *Multiple Reaction Monitoring*. Im Rahmen dieser Arbeit wurde also mit MRM m/z 137/78,8 und MRM m/z 137/63,0 gearbeitet. Ersteres ist der sogenannte Quantifier und wurde, wie der Name schon sagt, zum Quantifizieren von Fosfomycin genutzt. Das andere Tochterion dient als Qualifier der eindeutigen Zuordnung zu Fosfomycin.

Mit Hilfe einer Software wurde anschließend eine optimale MS/MS-Methode entwickelt um möglichst viel vom Mutterion, als auch von den beiden Tochterionen detektieren zu können. Die genauen Parameter dieser Methode sind in Tabelle 3.3 dargestellt.

Tabelle 3.3: Parameter der MS/MS-Methode; die genauen Bezeichnungen der abgekürzten Geräte-Parameter sind im Abkürzungsverzeichnis zu finden

ESI	negativ
IS	-4500
EP	-10
CUR	10
GS1	40
GS2	40
TEM	500°C
CAD	4
CEM	2200
DF	200
DP	MRM 137/78,8: -30 MRM 137/63,0: -30
CE	MRM 137/78,8: -24 MRM 137/63,0: -22
CXP	MRM 137/78,8: -3 MRM 137/63,0: -7
dwel time	MRM 137/78,8: 150 ms MRM 137/63,0: 150 ms

Tabelle 3.4: Parameter der HPLC

Gerät	Dionex Ultimate 3000 RSLC bestehend aus Degasser, Pumpe, AutoAmplifier und Säulenofen
Stationäre Phase	Thermo Acclaim RSLC 120, C18, 3µm, 120Å, 2,1x150mm, Thermo Fisher Scientific Ch.-Nr.: 018-01-176 Ser.-Nr.: 002827
Vorsäule	Thermo Acclaim RSLC 120, C18, 5µm, 2x10mm Thermo Fisher Scientific
HPLC-Software	Applied Biosystems Analyst 1.5
LCMS-Software	Software Application Dionex Chromatography MS Link
Mobile Phase	Fließmittel A: Wasser mit 1% Ameisensäure Fließmittel B: Acetonitril mit 1% Ameisensäure
LC-Programm	Isokratisch mit 70% Fließmittel B
Autosampler-Temperatur	10 °C
Säulenofen-Temperatur	25 °C
Analysendauer	3 min
Fluss	0,4 ml/ min
Injektionsvolumen	5 µl
Detektion	Massenspektrometer
Quantifizierung	Externer Standard, Massenspektrometer

Der nächste Schritt war die Entwicklung einer HPLC-Methode. Als stationäre Phase wurde dabei eine RP-18 Säule verwendet.

Um eine möglichst optimale Peakform zu erhalten wurden verschiedene Fließmittel-Zusammensetzungen ausprobiert, wobei sich Wasser mit 1 % Ameisensäure (Fließmittel A) und Acetonitril mit 1% Ameisensäure (Fließmittel B), als beste Kombination erwiesen. Durchgeführt wurden die Analysen isokratisch mit 70 % Fließmittel B und 30 % Fließmittel A, wodurch Fosfomycin mit einer Retentionszeit von etwa 1,06 min eluierte. Der Totalionenstrom (TIC) mit den Peaks der beiden Tochterionen ist in Abbildung 3.6 zu sehen. Die genauen Geräteparameter sind in Tabelle 3.4 angegeben.

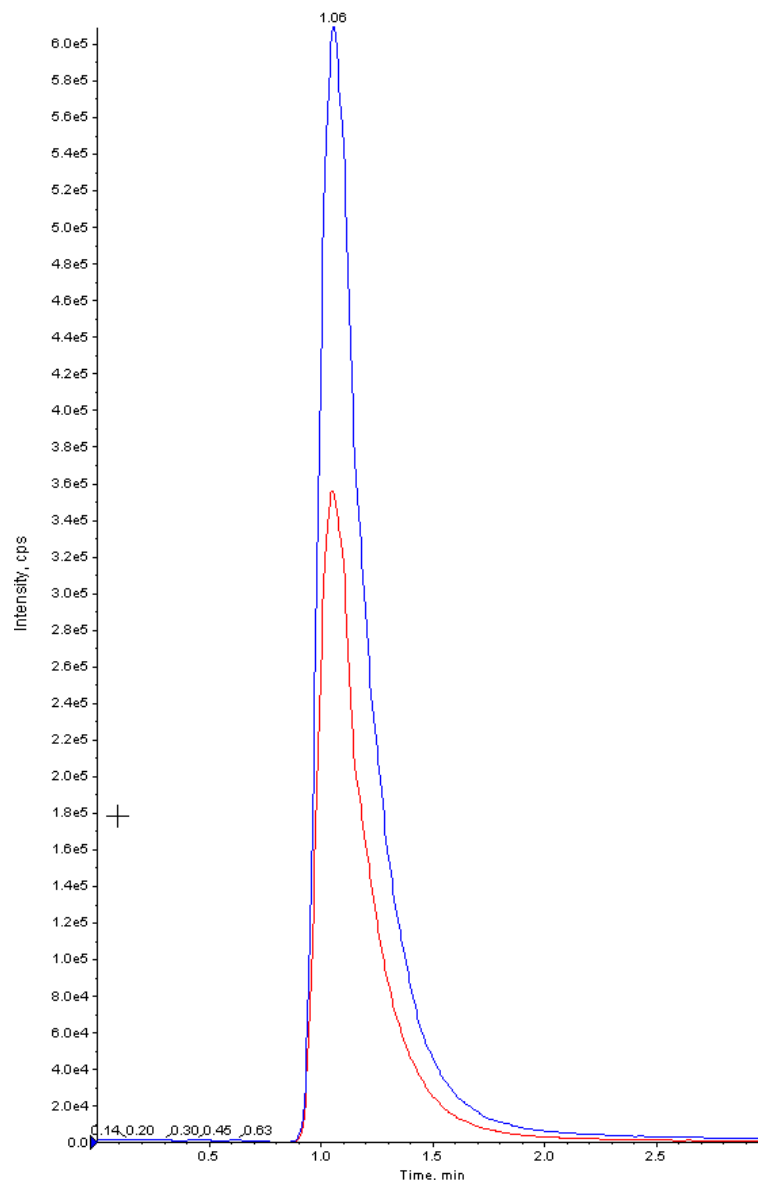


Abbildung 3.6: Totalionenstrom mit den Peaks der Tochterionen; blau: m/z 78,8 (Quantifier), rot: m/z 63,0 (Qualifier)

Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mittels externem Standard, weshalb eine Eichgerade erstellt wurde. Dafür wurde Fosfomycin eingewogen und eine Verdünnungsreihe hergestellt. Es wurden 6 unterschiedliche Konzentrationen zwischen 0,0008 mg/ml und 0,007 mg/m je sechsmal eingespritzt, vermessen und jeweils die Mittelwerte berechnet. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 3.5 ersichtlich. So wurde die Korrelation zwischen den Peakflächen, kurz AUC, vom englischen *Area under the Curve*, und der Fosfomycin-Konzentration hergestellt. Trägt man nämlich die Konzentration auf der x-Achse und die AUC auf der y-Achse in ein Diagramm ein, erhält man die in Abbildung 3.7 dargestellte Gerade mit der Gleichung: $y=4170000000 \cdot x + 998000$. Das Bestimmtheitsmaß betrug 0,9995.

Tabelle 3.5: Erhaltene Werte zur Erstellung der Eichgerade

	Konz. in mg/ml	Mittelwert der AUC
1	0,007010	30316667
2	0,005608	24083334
3	0,003365	15300000
4	0,002020	9585000
5	0,001615	7605000
6	0,000808	4261667

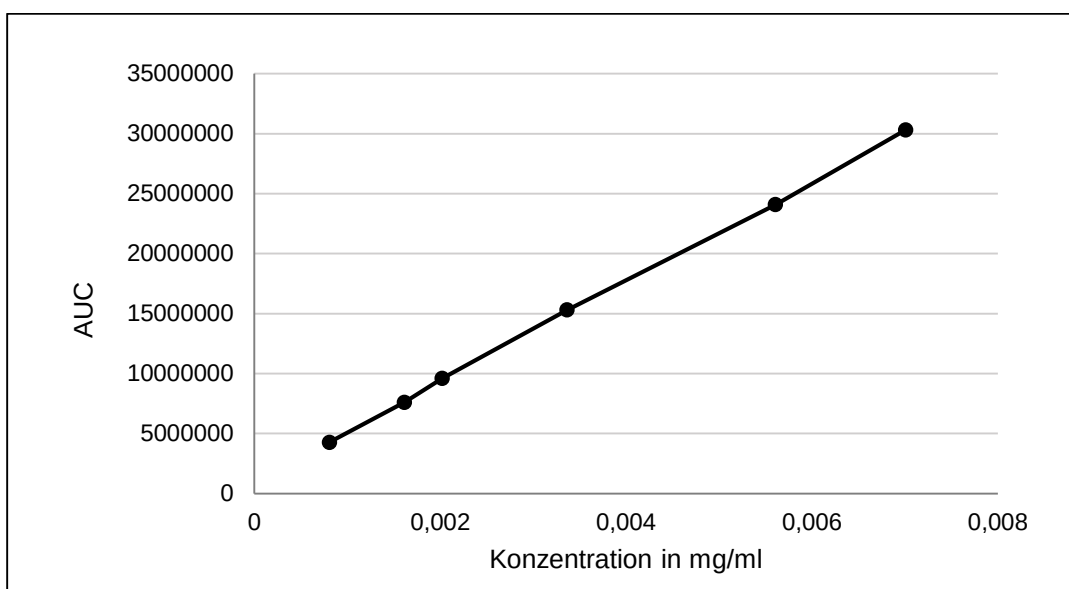


Abbildung 3.7: Eichgerade zur Quantifizierung von Fosfomycin

Der Konzentrationsbereich wurde so ausgewählt, um eine Eichgerade im linearen Bereich zu erhalten. Erste Versuche haben nämlich gezeigt, dass die in den PD-Lösungen zu erwartenden Konzentrationen, sich nicht mehr in diesem Bereich befinden. Daher wurden die entnommenen Proben vor der Analyse mit Hilfe von Eppendorf-Pipetten jeweils 1:1000 verdünnt.

Zur Überprüfung der Methode wurden Lösungen von Fosfomycin in Wasser und in einer Dialyselösung in 3 verschiedenen Konzentrationen angefertigt. Diese Referenzlösungen wurden mittels Eppendorf-Pipetten jeweils 1:1000 verdünnt und 6-fach injiziert, wobei die relative Standardabweichung (RSD) maximal 1,27 betrug. Die genauen Werte sind in den Tabellen 3.6 und 3.7 zu entnehmen. Des Weiteren wurden aus einer Lösung bekannter Konzentration sechs unabhängige Probennahmen getätigt und pro Entnahme 3

Bestimmungen durchgeführt, um die Wiederholbarkeit der Methode zu testen. Hier lag die RSD bei 1,64, wie in Tabelle 3.8 dargestellt ist.

Tabelle 3.6: Referenzlösungen von Fosfomycin in Wasser

Probe	Messung	Konz. in mg/ml	% RSD
A1	1	0,00236	1,27
	2	0,00232	
	3	0,00233	
	4	0,00228	
	5	0,00229	
	6	0,00230	
A2	1	0,00176	0,91
	2	0,00176	
	3	0,00180	
	4	0,00176	
	5	0,00176	
	6	0,00177	
A3	1	0,00140	0,45
	2	0,00140	
	3	0,00139	
	4	0,00140	
	5	0,00141	
	6	0,00140	

Tabelle 3.7: Referenzlösungen von Fosfomycin in PD-Lösung

Probe	Messung	Konz. in mg/ml	% RSD
B1	1	0,00200	1,26
	2	0,00196	
	3	0,00199	
	4	0,00198	
	5	0,00193	
	6	0,00197	
B2	1	0,00170	1,07
	2	0,00170	
	3	0,00168	
	4	0,00172	
	5	0,00173	
	6	0,00172	
B3	1	0,00130	1,03
	2	0,00128	
	3	0,00131	
	4	0,00128	
	5	0,00130	
	6	0,00128	

Tabelle 3.8: Wiederholbarkeit der Fosfomycin-Bestimmung

Probe	Messung	Konz. in mg/ml	% RSD
C1	1	0,00180	1,64
	2	0,00183	
	3	0,00181	
C2	1	0,00184	
	2	0,00185	
	3	0,00184	
C3	1	0,00182	
	2	0,00183	
	3	0,00182	
C4	1	0,00183	
	2	0,00183	
	3	0,00184	
C5	1	0,00183	
	2	0,00181	
	3	0,00177	
C6	1	0,00177	
	2	0,00174	
	3	0,00180	

4 Ergebnisse

Wie in Kapitel 3.1 ausführlich beschrieben, wurden die Dialyselösungen nach der Zugabe von Fosfomycin unter unterschiedlichen Bedingungen gelagert und in bestimmten Zeitabständen Proben genommen, welche analysiert wurden. Für die Bestimmung der Stabilität wurden jeweils die Fosfomycin-Konzentrationen mittels LC-MS/MS bestimmt und sowohl in mg/ml als auch in % der errechneten Anfangskonzentration (=100 %) angeführt. Dieses Kapitel soll einen kurzen Überblick über die Ergebnisse liefern. Detaillierte Tabellen und Graphen sind im Anhang zu finden.

4.1 Leerwertanalysen

4.1.1 Stabilität von Fosfomycin in Wasser

Parallel zu den Versuchsreihen mit Peritonealdialyselösungen wurde die Stabilität von Fosfomycin in Wasser untersucht, um bei einer eventuell verminderten Fosfomycin-Konzentration sicher zu sein, dass dies durch die Interaktion mit der Dialyselösung bedingt ist.

Bei keiner der untersuchten Temperaturen konnte im untersuchten Zeitraum eine Abnahme der Fosfomycin-Konzentration beobachtet werden, wie aus Tabelle 4.1 und Abbildung 4.1 ersichtlich ist. Leichte Schwankungen der Werte können durch eine ungenügende Mischung vor der Probennahme entstanden sein.

Tabelle 4.1: Überblick der Ergebnisse von Fosfomycin in Wasser bei 6°C, 25°C und 37°C; dargestellt wird jeweils der Mittelwert der bestimmten Fosfomycin-Konzentrationen in % der errechneten Anfangskonzentration zum ersten und letzten gemessenen Zeitpunkt der Probenreihe

Temperatur	Zeitpunkt	Mittelwert der Konz. in mg/ml	Mittelwert der Konz. in %
6°C	0h	2,003	100,00
	336h	2,069	103,29
25°C	0h	2,006	99,99
	336h	1,984	98,93
37°C	0h	2,023	101,17
	24h	2,024	101,20

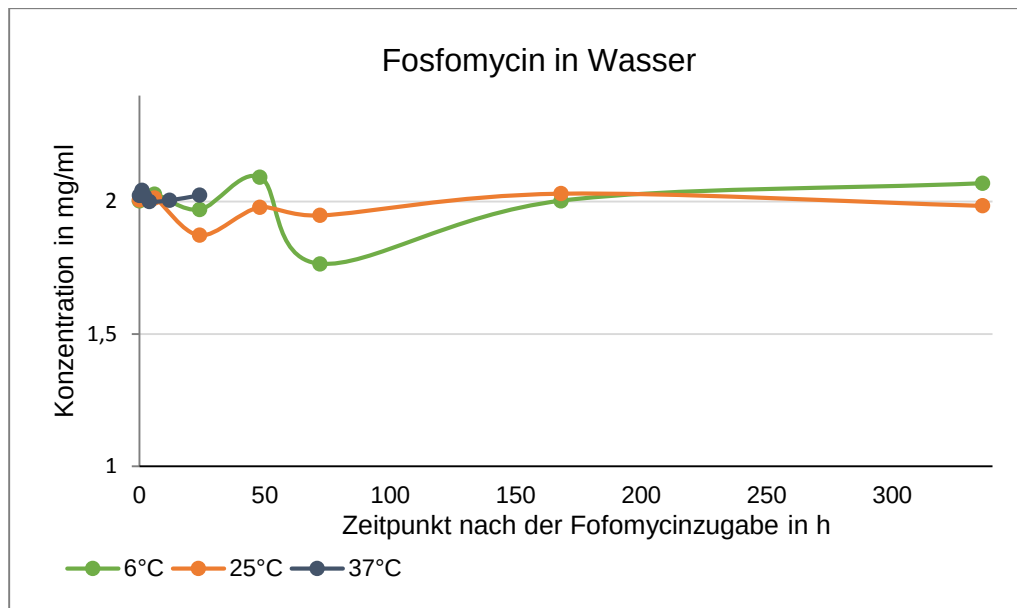


Abbildung 4.1: Stabilität von Fosfomycin in Wasser bei 6°C, 25°C und 37°C; dargestellt wird der Mittelwert der bestimmten Fosfomycin-Konzentrationen zum jeweiligen Zeitpunkt

4.1.2 Peritonealdialyselösungen ohne Fosfomycin

Bei den Analysen der reinen Dialyselösungen konnten keine Peaks festgestellt werden, welche die Quantifizierung von Fosfomycin beeinflussen hätten können.

4.2 Konzentrationsbestimmungen mittels HPLC

4.2.1 Fosfomycin in Peritonealdialyselösungen bei 6°C

Die Stabilitätsuntersuchungen bei einer Lagertemperatur von 6°C zeigten bei keiner der Dialyselösungen eine signifikante Abnahme der Fosfomycin-Konzentration im Untersuchungszeitraum von zwei Wochen. Die PD-Lösungen können also nach der Zugabe von Fosfomycin zwei Wochen im Kühlschrank gelagert werden. Dies ist in Tabelle 4.2 und Abbildung 4.2 zu sehen.

Tabelle 4.2: Überblick der Ergebnisse von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 6°C; dargestellt wird jeweils der Mittelwert der bestimmten Fosfomycin-Konzentrationen in % zum ersten und letzten gemessenen Zeitpunkt der Probenreihe

PD-Lösung	Zeitpunkt	Konz. in mg/ml	Konz. in %
Extraneal	0h	1,980	100,00
	336h	1,863	94,06
Nutrineal	0h	1,587	100,01
	336h	1,610	101,46
Physioneal 40 1,36 %	0h	5,275	98,25
	336h	5,115	95,27
Physioneal 40 2,27 %	0h	5,369	100,00
	336h	5,235	97,51

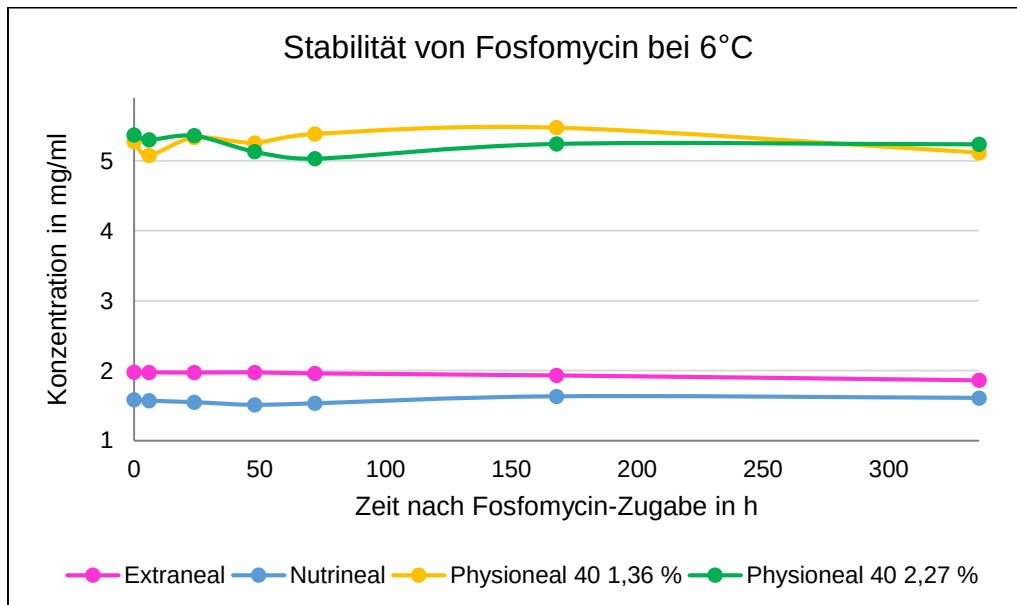


Abbildung 4.2: Stabilität von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 6°C; dargestellt wird der Mittelwert der bestimmten Fosfomycin-Konzentrationen zum jeweiligen Zeitpunkt

4.2.2 Fosfomycin in Peritonealdialyselösungen bei 25°C

Auch bei einer Lagerung bei Raumtemperatur (25°C) ist Fosfomycin in allen untersuchten Dialyselösungen zwei Wochen lang stabil. Es ist während dieser Zeit zu keiner signifikanten Konzentrationsabnahme gekommen, wie Tabelle 4.3 und Abbildung 4.3 zu entnehmen ist.

Tabelle 4.3: Überblick der Ergebnisse von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 25°C; dargestellt wird jeweils der Mittelwert der bestimmten Fosfomycin-Konzentrationen in %, zum ersten und letzten gemessenen Zeitpunkt der Probenreihe

PD-Lösung	Zeitpunkt	Konz. in mg/ml	Konz. in %
Extraneal	0h	1,980	99,99
	336h	1,984	100,17
Nutrineal	0h	1,588	100,01
	336h	1,508	94,99
Physioneal 40 1,36 %	0h	5,369	100,00
	336h	5,357	99,78
Physioneal 40 2,27 %	0h	5,369	100,00
	336h	5,312	98,94

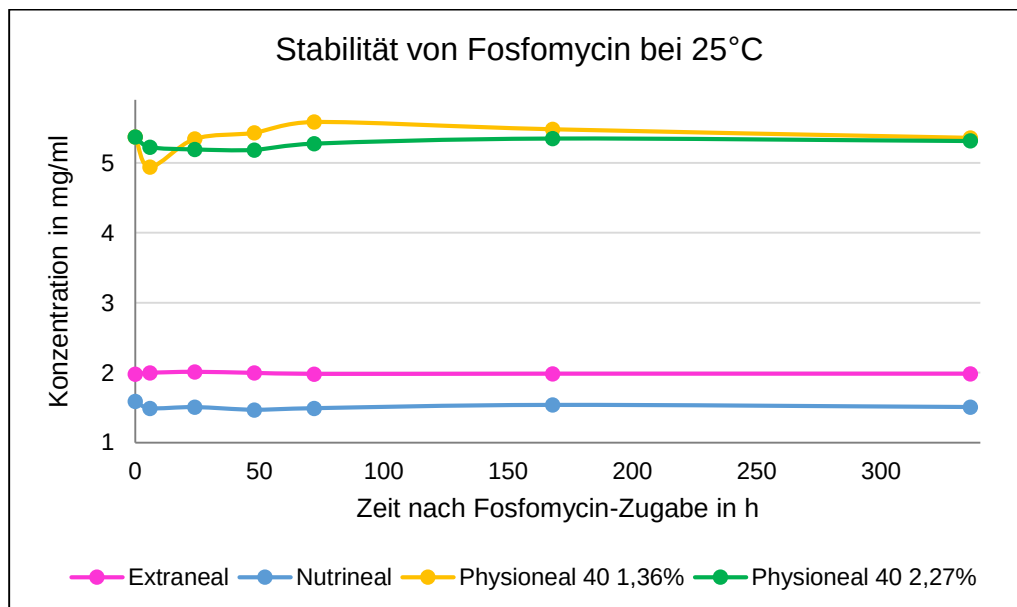


Abbildung 4.3: Stabilität von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 25°C; dargestellt wird der Mittelwert der bestimmten Fosfomycin-Konzentrationen zum jeweiligen Zeitpunkt

4.2.3 Fosfomycin in Peritonealdialyselösungen bei 37°C

Bei den Versuchsreihen bei 37°C kam es bei *Nutrineal*, *Physioneal 40 1,36 %* und *Physioneal 40 2,27 %* ebenfalls zu praktisch keiner Abnahme der Fosfomycin-Konzentration. Bei *Extraneal* war der Abbau mit beinahe 10 % etwas größer. Die Ergebnisse sind überblicksmäßig in Tabelle 4.4 und Abbildung 4.4 dargestellt.

Tabelle 4.4: Überblick der Ergebnisse von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 37°C; dargestellt wird jeweils der Mittelwert der bestimmten Fosfomycin-Konzentrationen in % zum ersten und letzten gemessenen Zeitpunkt der Probenreihe

PD-Lösung	Zeitpunkt	Konz. in mg/ml	Konz. in %
Extraneal	0h	1,980	99,99
	24h	1,858	90,03
Nutrineal	0h	1,587	100,00
	24h	1,535	96,73
Physioneal 40 1,36 %	0h	1,980	100,00
	24h	1,970	99,49
Physioneal 40 2,27 %	0h	1,980	100,00
	24h	1,925	97,20

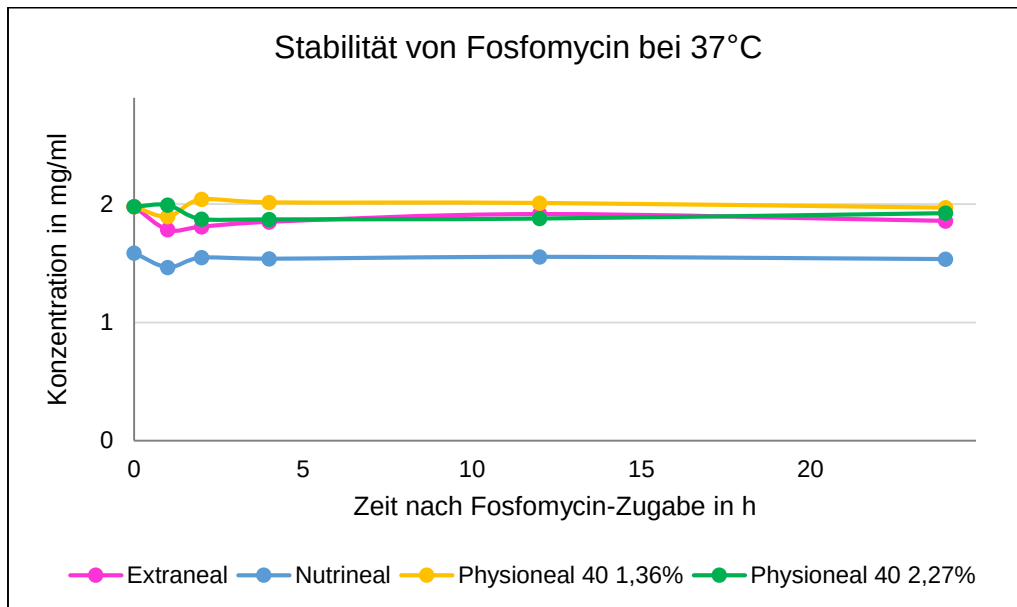


Abbildung 4.4: Stabilität von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 37°C; dargestellt wird der Mittelwert der bestimmten Fosfomycin-Konzentrationen zum jeweiligen Zeitpunkt

4.2.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Zusammenfassend ist zu sagen, dass Fosfomycin in allen untersuchten Dialyselösungen, sowohl bei einer Lagertemperatur von 6°C, als auch bei 25°C über einen Zeitraum von zwei Wochen stabil ist. Bei 37°C war bei *Extraneal* innerhalb von 24 Stunden eine leichte Abnahme der Fosfomycin-Konzentration zu erkennen. In *Nutrineal*, *Physioneal 40 1,36 %* und *Physioneal 40 2,27 %* ist Fosfomycin über diesen Zeitraum bei 37°C stabil.

4.3 pH-Wert-Bestimmungen

Neben der Quantifizierung von Fosfomycin wurde auch der pH-Wert der Proben untersucht, da sich dieser durch die Entstehung von Abbauprodukten eventuell verändern könnte. Durch einen veränderten pH-Wert könnte es zu Schädigung des Peritoneums und zu Schmerzen bei den Patienten kommen.

4.3.1 pH-Werte bei 6°C

Die pH-Werte der Dialyselösungen haben sich bei einer Lagertemperatur von 6°C, wie in Tabelle 4.5 und Abbildung 4.5 zu erkennen ist, praktisch nicht verändert.

Tabelle 4.5: pH-Werte der PD-Lösungen bei 6°C; dargestellt wird jeweils der Mittelwert der gemessenen pH-Werte zum Zeitpunkt der ersten und letzten Probenahme

PD-Lösung	Zeitpunkt	pH-Wert
Extraneal	0h	7,18
	336h	7,19
Nutrineal	0h	7,10
	336h	7,15
Physioneal 40 1,36 %	0h	7,40
	336h	7,39
Physioneal 40 2,27 %	0h	7,38
	336h	7,36

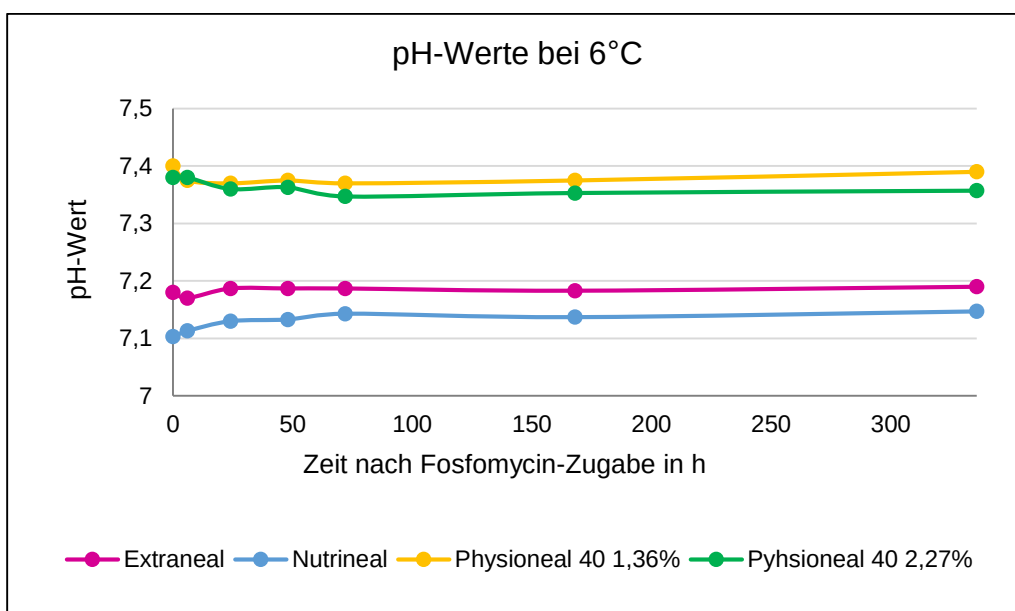


Abbildung 4.5: pH-Werte der PD-Lösungen bei 6°C; dargestellt wird der Mittelwert der gemessenen pH-Werte zum jeweiligen Zeitpunkt

4.3.2 pH-Werte bei 25°C

Bei der Lagerung der PD-Lösungen bei 25°C konnten ebenfalls keine signifikanten Veränderungen des pH-Wertes festgestellt werden. Dies ist in Tabelle 4.6 und Abbildung 4.6 dargestellt.

Tabelle 4.6: pH-Werte der PD-Lösungen bei 25°C; dargestellt wird jeweils der Mittelwert der gemessenen pH-Werte zum Zeitpunkt der ersten und letzten Probenahme

PD-Lösung	Zeitpunkt	pH-Wert
Extraneal	0h	7,19
	336h	7,18
Nutrineal	0h	7,10
	336h	7,12
Physioneal 40 1,36 %	0h	7,41
	336h	7,48
Physioneal 40 2,27 %	0h	7,52
	336h	7,51

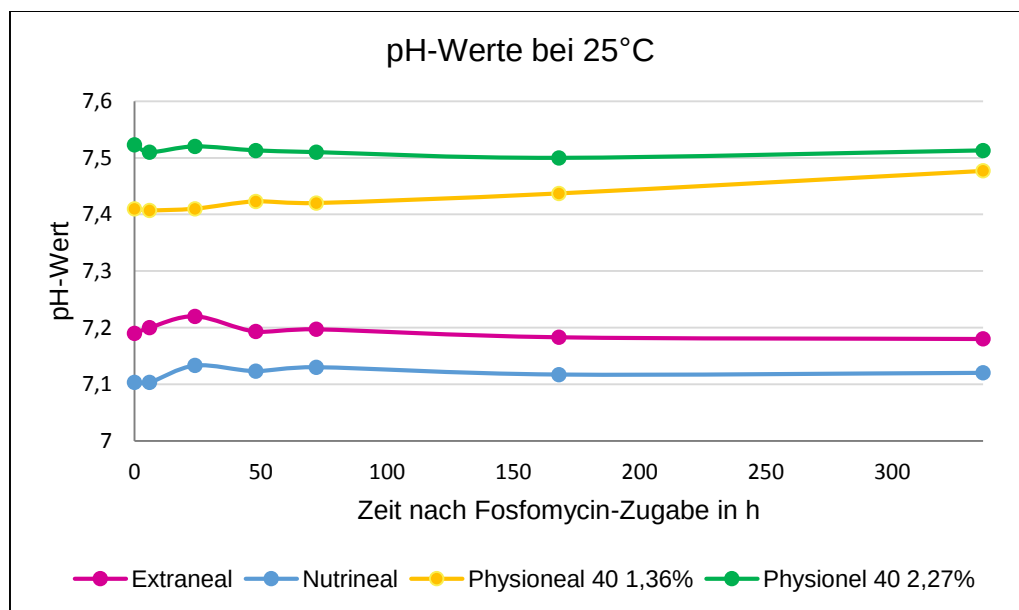


Abbildung 4.6: pH-Werte der PD-Lösungen bei 25°C; dargestellt wird der Mittelwert der gemessenen pH-Werte zum jeweiligen Zeitpunkt

4.3.3 pH-Werte bei 37°C

Bei den Versuchsreihen bei 37°C haben sich die pH-Werte von *Extraneal* und *Nutrineal* praktisch nicht verändert. Bei *Physioneal 40 1,36 %* und *Physioneal 40 2,27 %* sind sie leicht angestiegen. Allerdings wird auch diese Änderung der pH-Werte voraussichtlich keine Auswirkungen auf die Verträglichkeit der Lösungen haben, da sie nur minimal ist. Die gemessenen pH-Werte sind in Tabelle 4.7 und Abbildung 4.7 zu sehen.

Tabelle 4.7: pH-Werte der PD-Lösungen bei 37°C; dargestellt wird jeweils der Mittelwert der gemessenen pH-Werte, zum Zeitpunkt der ersten und letzten Probenahme

PD-Lösung	Zeitpunkt	pH-Wert
Extraneal	0h	7,14
	24h	7,15
Nutrineal	0h	7,10
	24h	7,10
Physioneal 40 1,36 %	0h	7,41
	24h	7,69
Physioneal 40 2,27 %	0h	7,50
	24h	7,80

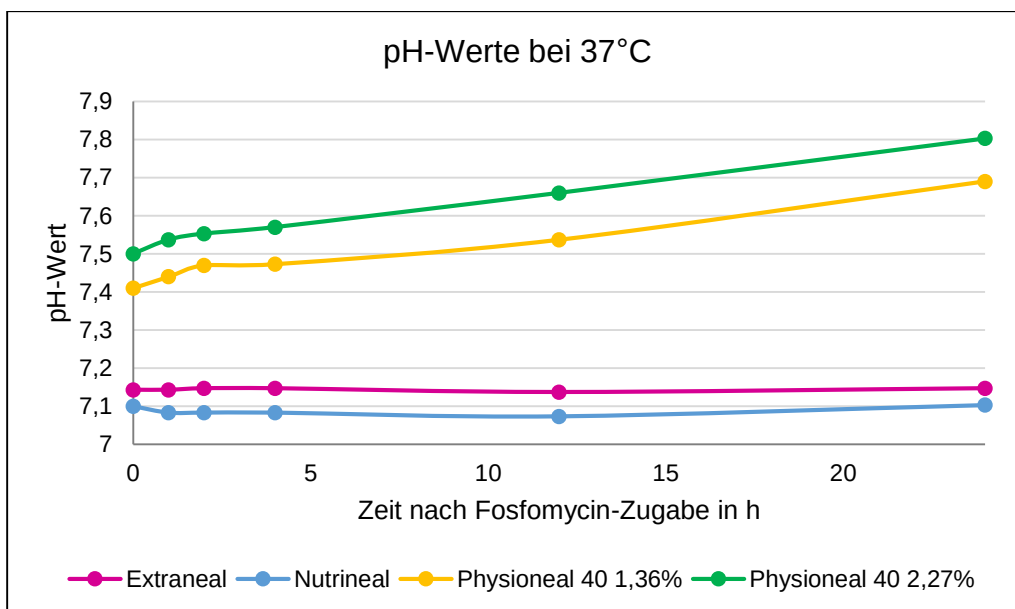


Abbildung 4.7: pH-Werte der PD-Lösungen bei 37°C; dargestellt wird der Mittelwert der gemessenen pH-Werte zum jeweiligen Zeitpunkt

4.3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die pH-Wert-Untersuchungen der Dialyselösungen zeigten, dass die pH-Werte bei 6°C und 25°C über zwei Wochen und bei 37°C 24 Stunden relativ konstant sind. Die PD-Lösungen sind mit pH-Werten zwischen 7,1 und 7,8 nahe dem physiologischen pH-Wert des Blutes und dementsprechend gut verträglich.

5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob Fosfomycin die Voraussetzungen für eine intraperitoneale Applikation erfüllt. Ob also das Antibiotikum in den Dialyselösungen *Extraneal*, *Nutrineal*, *Physioneal 40 1,36 %* und *Physioneal 2,27 %* stabil ist und nicht abgebaut wird.

Die parallel durchgeführten Leerwertuntersuchungen von Fosfomycin in Wasser zeigten keine Abnahme der Fosfomycin-Konzentration. Daraus kann man schließen, dass eine eventuelle Konzentrationsabnahme bei den eigentlichen Versuchsreihen durch die Interaktion des Antibiotikums mit den Dialyselösungen verursacht werden würde.

Stabilitätstests bei 6°C und bei 25°C zeigten bei keiner Dialyselösung im Untersuchungszeitraums von zwei Wochen eine signifikante Abnahme der Fosfomycin-Konzentration. Bei den Testreihen bei einer Temperatur von 37°C ist es bei *Extraneal* zu einer Abnahme von fast 10 % gekommen, während *Nutrineal*, *Physioneal 40 1,36 %* und *Physioneal 40 2,27 %* weitgehend stabil waren. Hier wäre es ratsam, weitere Untersuchungen, beispielsweise Hemmhoftests, durchzuführen, um zu bestätigen, dass die Wirksamkeit von Fosfomycin ausreichend gegeben ist.

Zusätzlich wurden außerdem die pH-Werte analysiert, um eine Unverträglichkeit durch sich möglicherweise verändernde pH-Werte der Lösungen während der Lagerung und Behandlung ausschließen zu können. Sowohl bei 6°C, als auch bei 25°C waren die pH-Werte praktisch konstant. Dies gilt auch für die Dialyselösungen *Extraneal* und *Nutrineal* bei den Versuchsreihen bei 37°C. Bei *Physioneal 40 1,36 %* und *Physioneal 40 2,27 %* ist es zu einem leichten Anstieg der pH-Werte gekommen. Doch auch diese minimalen Veränderungen sollten keinen negativen Einfluss auf die Verträglichkeit der Lösungen haben, da die pH-Werte immer noch nahe dem physiologischen pH-Wertes des Blutes liegen. Dass es sich bei diesen beiden Dialyselösungen um Zweikammerbeutelsysteme handelt, die vor der Anwendung vermischt werden, könnte eine mögliche Ursache für die leichten pH-Wert-Änderungen sein. Eventuell kommt es aber auch durch das Erwärmen der gemischten Lösungen zu einem leicht erhöhten pH-Wert.

Während den Analysen gab es zu den verschiedenen Zeitpunkten immer wieder einzelne Werte, die nicht zu den anderen gepasst haben. Da Messungen bei diesen Dialysebeuteln zum nächsten untersuchten Zeitpunkt wieder passende Konzentrationen zeigten, wurden diese Ausreißer in den Analysen nicht berücksichtigt. Ein Grund für die zu niedrigen Werte könnte das Einfrieren der Proben gewesen sein. Die entnommenen Proben wurden bis zu ihrer Vermessung eingefroren, um anschließend alle Proben einer Versuchsreihe auf

einmal vermessen zu können. So sollten eventuelle Schwankungen des Gerätes und daraus resultierende Unterschiede in den Ergebnissen vermieden werden. Einer weiteren Fehlerquelle, dem Verdünnungsschritt vor der Probenanalyse, wurde dadurch entgegengewirkt, dass die Aufbereitung der Proben immer zweifach durchgeführt wurde. So konnten falsche Ergebnisse durch ein ungenaues Verdünnen ausgeschlossen werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen die Studie von Quentin, Bouchet, Gaillard et al aus dem Jahr 1990, in der nachgewiesen wurde, dass Fosfomycin in der PD-Lösung *Dianeal* bei Raumtemperatur in einem Zeitraum von 24 Stunden stabil ist [22].

Zusammenfassend kann man sagen, dass Fosfomycin mit den untersuchten Dialyselösungen *Extraneal*, *Nutrineal*, *Physioneal 40* 1,36 % und *Physioneal 40* 2,27 % kompatibel ist und einer intraperitonealen Anwendung nichts entgegenpricht. Da die Stabilität bei 6°C und 25°C über zwei Wochen gegeben ist, ist es durchaus möglich Fosfomycin im Krankenhaus oder Dialysezentrum in die Beutel zu applizieren und den Patienten mit nach Hause zu geben. Diese können die Beutel im Kühlschrank oder bei Raumtemperatur lagern, ohne einen Verlust der antibiotischen Aktivität von Fosfomycin befürchten zu müssen.

6 Anhang

Die berechneten Anfangskonzentrationen von Fosfomycin wurden 100 % gesetzt und die gemessenen Konzentrationen entsprechend angegeben.

6.1 Leerwertanalysen

6.1.1 Leerwertanalysen bei 6°C

Tabelle 6.1: Ergebnisse der HPLC-Analysen von Fosfomycin in Wasser bei 6°C

Zeitpunkt [h]	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]
0	a	1	1,963	97,99
		2	2,005	100,09
		3	1,990	99,34
	b	1	2,024	101,04
		2	2,020	100,85
		3	2,017	100,69
	Mittelwert		2,003	100,00
	Standardabweichung		0,023	1,612
	RSD [%]		1,160	1,612
6	a	1	2,032	101,43
		2	2,043	101,98
		3	2,028	101,23
	b	1	2,020	100,84
		2	2,024	101,04
		3	2,020	100,84
	Mittelwert		2,028	101,23
	Standardabweichung		0,009	0,434
	RSD [%]		0,433	0,429
24	a	1	1,936	96,64
		2	1,977	98,69
		3	1,984	99,04
	b	1	1,950	97,34
		2	1,995	99,59
		3	1,977	98,69
	Mittelwert		1,970	98,33
	Standardabweichung		0,022	1,112
	RSD [%]		1,129	1,131
48	a	1	2,134	106,53
		2	2,074	103,53
		3	2,074	103,53
	b	1	2,070	103,33
		2	2,100	104,83
		3	2,100	104,83
	Mittelwert		2,092	104,43
	Standardabweichung		0,025	1,230
	RSD [%]		1,176	1,177

72	a	1	1,756	87,66
		2	1,775	88,61
		3	1,749	87,31
	b	1	1,767	88,21
		2	1,760	87,86
		3	1,782	88,96
	Mittelwert		1,765	99,10
	Standardabweichung		0,012	0,614
	RSD [%]		0,696	0,697
168	a	1	1,988	99,24
		2	2,031	101,38
		3	1,973	98,49
	b	1	2,002	99,94
		2	2,056	102,33
		3	1,973	98,49
	Mittelwert		2,003	99,98
	Standardabweichung		0,032	1,579
	RSD [%]		1,582	1,580
336	a	1	2,057	102,68
		2	2,053	102,48
		3	2,083	103,98
	b	1	2,061	102,88
		2	2,086	104,13
		3	2,075	103,58
	Mittelwert		2,069	103,29
	Standardabweichung		0,014	0,702
	RSD [%]		0,678	0,679

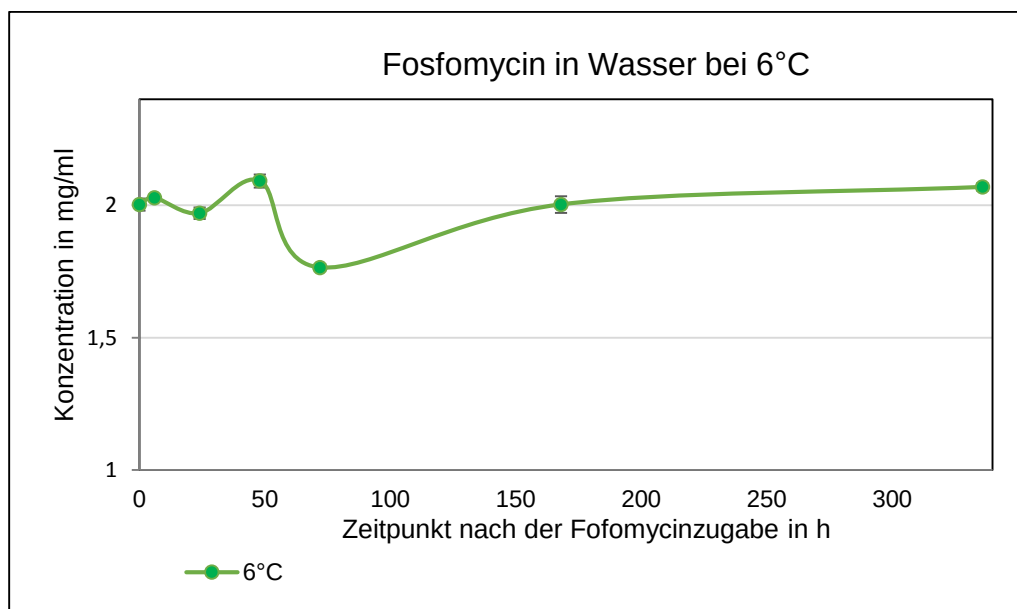


Abbildung 6.1: Graph der HPLC-Analyse von Fosfomycin in Wasser bei 6°C

6.1.2 Leerwertanalysen bei 25°C

Tabelle 6.2: Ergebnisse der HPLC-Analysen von Fosfomycin in Wasser bei 25°C

Zeitpunkt [h]	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]
0	a	1	2,004	99,91
		2	2,014	100,41
		3	1,999	99,66
	b	1	2,038	101,61
		2	2,004	99,91
		3	1,975	98,46
	Mittelwert		2,006	99,99
	Standardabweichung		0,016	1,026
	RSD [%]		0,779	1,026
6	a	1	1,995	99,46
		2	1,975	98,46
		3	1,988	99,11
	b	1	2,030	101,21
		2	2,060	102,70
		3	2,038	101,61
	Mittelwert		2,014	100,43
	Standardabweichung		0,033	1,656
	RSD [%]		1,648	1,649
24	a	1	1,829	91,19
		2	1,767	88,09
		3	1,836	91,53
	b	1	1,936	96,52
		2	1,929	96,17
		3	1,939	96,67
	Mittelwert		1,873	93,36
	Standardabweichung		0,072	3,596
	RSD [%]		3,850	3,852
48	a	1	1,885	93,89
		2	1,941	96,77
		3	1,946	97,02
	b	1	1,974	98,41
		2	2,070	103,20
		3	2,058	102,60
	Mittelwert		1,979	98,66
	Standardabweichung		0,088	3,588
	RSD [%]		4,496	3,637

72	a	1	1,859	92,68
		2	1,872	93,33
		3	1,875	93,48
	b	1	2,038	101,10
		2	2,038	101,61
		3	2,004	99,91
	Mittelwert		1,948	97,10
	Standardabweichung		0,088	4,369
	RSD [%]		4,496	4,499
168	a	1	1,993	99,36
		2	2,014	100,41
		3	1,998	99,61
	b	1	2,075	103,46
		2	2,046	102,00
		3	2,054	102,40
	Mittelwert		2,030	101,21
	Standardabweichung		0,033	1,654
	RSD [%]		1,635	1,634
336	a	1	1,926	96,02
		2	1,939	96,67
		3	1,929	96,17
	b	1	2,060	102,70
		2	2,038	101,61
		3	2,014	100,41
	Mittelwert		1,984	98,93
	Standardabweichung		0,060	2,992
	RSD [%]		3,025	3,025

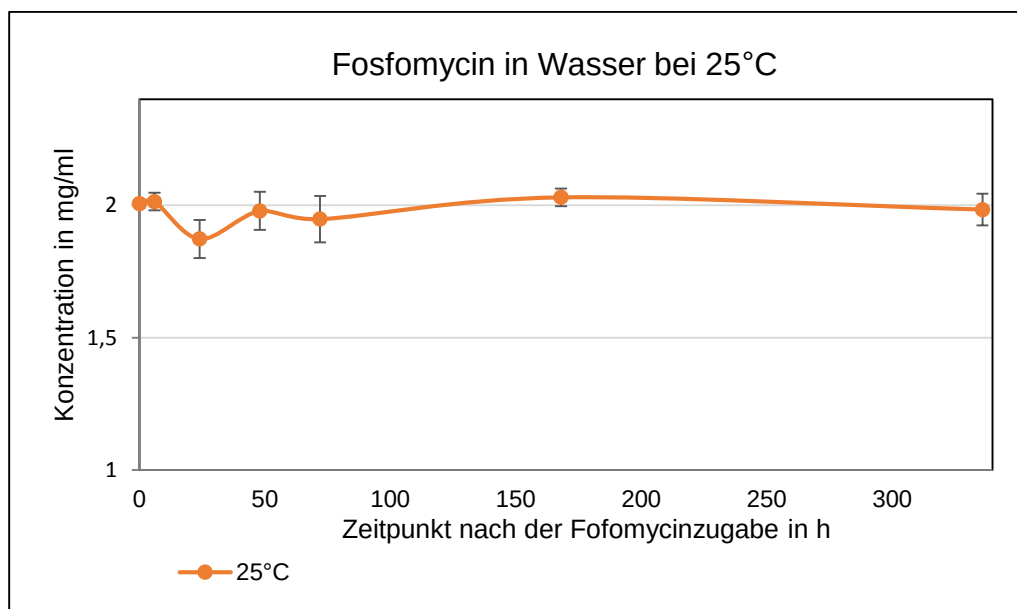


Abbildung 6.2: Graph der HPLC-Analyse von Fosfomycin in Wasser bei 25°C

6.1.3 Leerwertanalysen bei 37°C

Tabelle 6.3: Ergebnisse der HPLC-Analysen von Fosfomycin in Wasser bei 37°C

Zeitpunkt [h]	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]
0	a	1	1,975	98,74
		2	1,972	98,59
		3	1,975	98,74
	b	1	2,072	103,59
		2	2,097	104,84
		3	2,051	102,54
	Mittelwert		2,024	101,17
	Standardabweichung		0,056	2,817
	RSD [%]		2,783	2,784
1	a	1	2,043	102,14
		2	2,040	101,99
		3	2,022	101,09
	b	1	2,057	102,59
		2	2,021	102,54
		3	2,043	102,14
	Mittelwert		2,043	102,13
	Standardabweichung		0,012	0,608
	RSD [%]		0,595	0,595
2	a	1	2,022	101,09
		2	2,040	101,99
		3	2,011	100,54
	b	1	2,004	100,19
		2	2,036	101,79
		3	2,015	100,74
	Mittelwert		2,021	101,06
	Standardabweichung		0,014	0,711
	RSD [%]		0,704	0,704
4	a	1	1,965	98,24
		2	1,933	96,64
		3	1,972	98,59
	b	1	2,043	102,14
		2	2,015	100,74
		3	2,071	103,54
	Mittelwert		2,000	99,98
	Standardabweichung		0,052	2,609
	RSD [%]		2,609	2,609

12	a	1	2,024	101,19
		2	2,014	100,69
		3	2,007	100,34
	b	1	1,989	99,44
		2	2,003	100,14
		3	1,993	99,64
	Mittelwert		2,005	100,24
	Standardabweichung		0,013	0,652
	RSD [%]		0,650	0,650
24	a	1	1,986	99,29
		2	1,989	99,44
		3	2,017	100,84
	b	1	2,017	100,84
		2	2,063	103,14
		3	2,073	103,64
	Mittelwert		2,024	101,20
	Standardabweichung		0,037	1,829
	RSD [%]		1,807	1,807

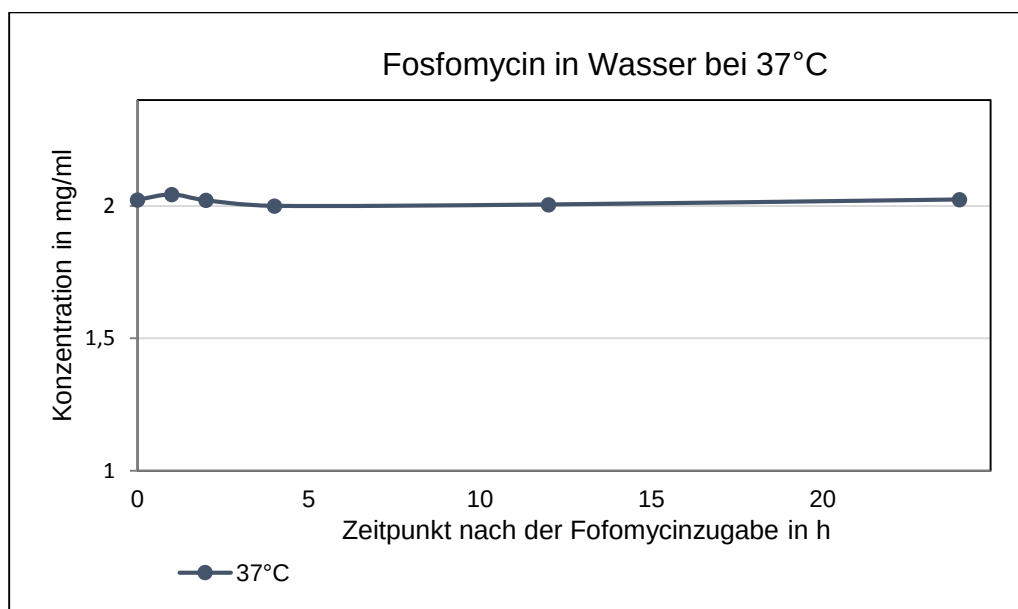


Abbildung 6.3: Graph der HPLC-Analyse von Fosfomycin in Wasser bei 37°C

6.2 pH-Wert-Analysen

6.2.1 pH-Wert-Analyse von Extraneal bei 6°C

Tabelle 6.4: pH-Werte von *Extraneal* bei 6°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,18	7,18
	B	7,17	
	C	7,19	
6	A	7,16	7,17
	B	7,17	
	C	7,18	
24	A	7,18	7,19
	B	7,18	
	C	7,20	
48	A	7,21	7,19
	B	7,17	
	C	7,18	
72	A	7,19	7,19
	B	7,18	
	C	7,19	
168	A	7,19	7,18
	B	7,18	
	C	7,18	
336	A	7,18	7,19
	B	7,19	
	C	7,20	

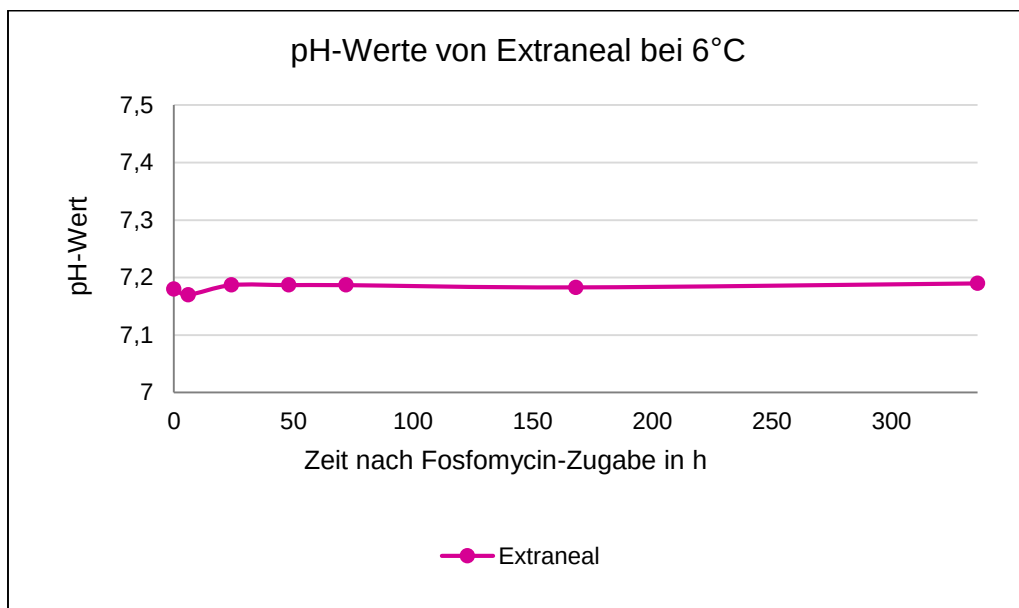


Abbildung 6.4: Graph der pH-Werte von *Extraneal* bei 6°C

6.2.2 pH-Wert-Analyse von Nutrineal bei 6°C

Tabelle 6.5: pH-Werte von *Nutrineal* bei 6°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,11	7,10
	B	7,10	
	C	7,10	
6	A	7,10	7,11
	B	7,12	
	C	7,12	
24	A	7,13	7,13
	B	7,13	
	C	7,13	
48	A	7,12	7,13
	B	7,14	
	C	7,14	
72	A	7,14	7,14
	B	7,15	
	C	7,15	
168	A	7,15	7,14
	B	7,14	
	C	7,12	
336	A	7,15	7,15
	B	7,14	
	C	7,15	

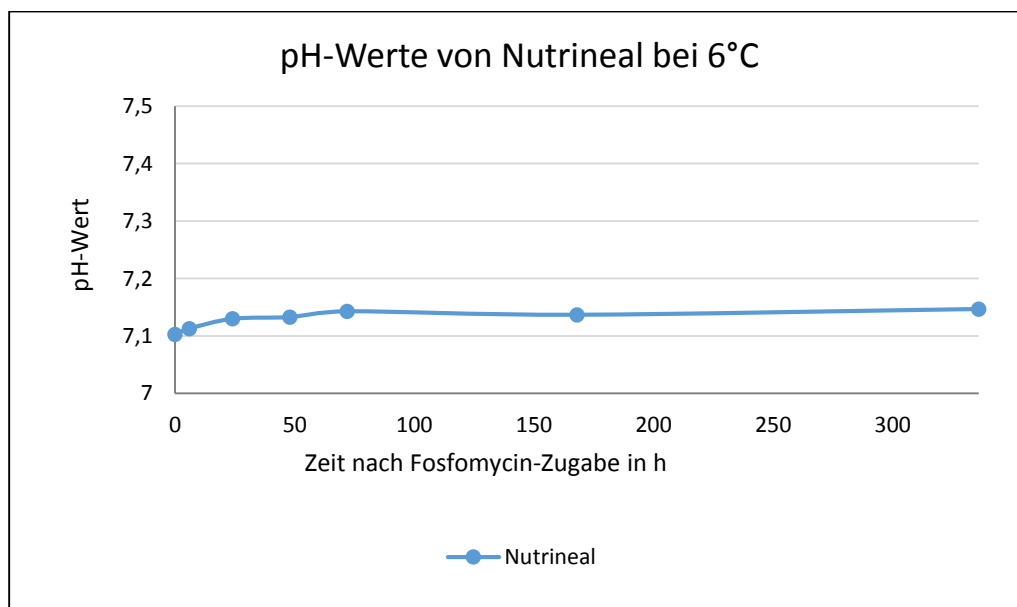


Abbildung 6.5: Graph der pH-Werte von *Nutrineal* bei 6°C

6.2.3 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 1,36 % bei 6°C

Tabelle 6.6: pH-Werte von *Physioneal 40 1,36 %* bei 6°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,39	7,40
	B	7,41	
	C	7,40	
6	A	7,37	7,38
	B	7,38	
	C	7,38	
24	A	7,36	7,37
	B	7,38	
	C	7,37	
48	A	7,37	7,38
	B	7,38	
	C	7,38	
72	A	7,37	7,37
	B	7,37	
	C	7,37	
168	A	7,38	7,38
	B	7,37	
	C	7,38	
336	A	7,39	7,39
	B	7,39	
	C	7,39	

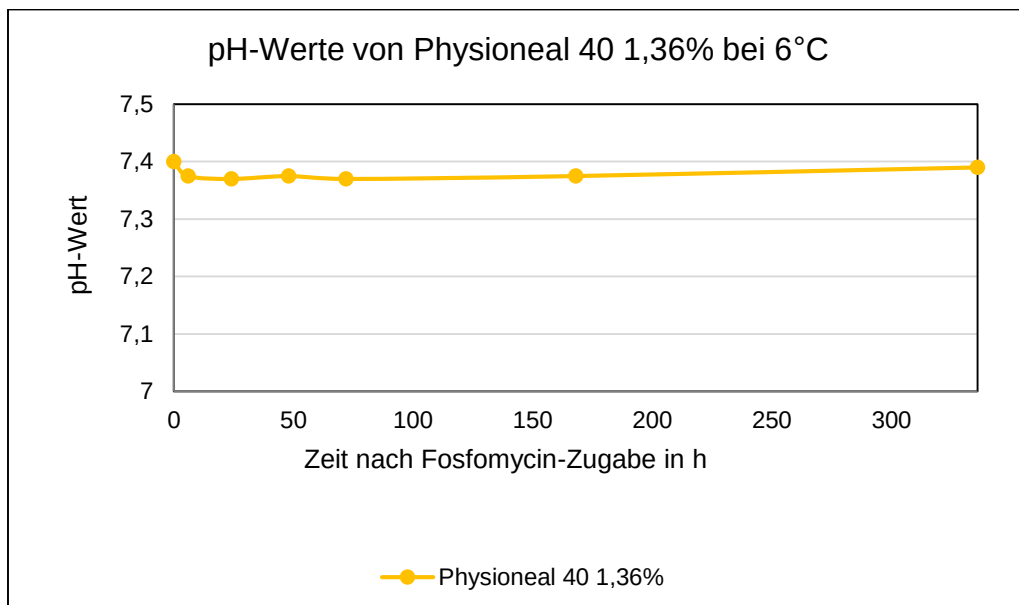


Abbildung 6.6: Graph der pH-Werte von Physioneal 40 1,36 % bei 6°C

6.2.4 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 2,27 % bei 6°C

Tabelle 6.7: pH-Werte von Physioneal 40 2,27 % bei 6°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,38	7,38
	B	7,38	
	C	7,38	
6	A	7,38	7,38
	B	7,38	
	C	7,38	
24	A	7,35	7,36
	B	7,36	
	C	7,37	
48	A	7,36	7,36
	B	7,37	
	C	7,36	
72	A	7,34	7,35
	B	7,36	
	C	7,34	
168	A	7,35	7,35
	B	7,35	
	C	7,36	
336	A	7,35	7,36
	B	7,36	
	C	7,36	

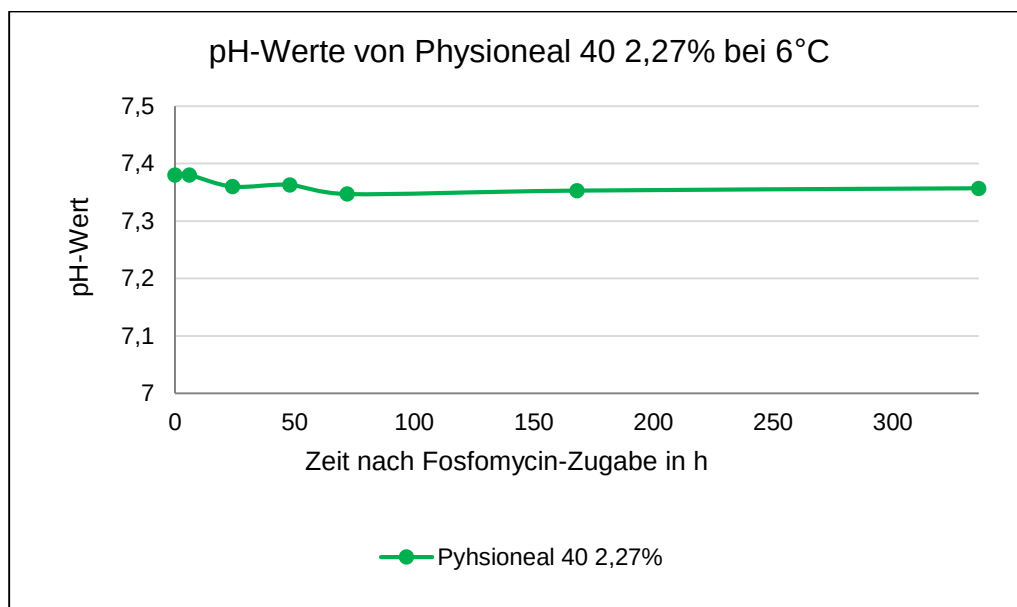


Abbildung 6.7: Graph der pH-Werte von Physioneal 40 2,27 % bei 6°C

6.2.5 pH-Wert-Analyse von Extraneal bei 25°C

Tabelle 6.8: pH-Werte von *Extraneal* bei 25°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,18	7,19
	B	7,19	
	C	7,20	
6	A	7,20	7,20
	B	7,20	
	C	7,20	
24	A	7,20	7,22
	B	7,22	
	C	7,22	
48	A	7,18	7,19
	B	7,20	
	C	7,20	
72	A	7,18	7,20
	B	7,21	
	C	7,20	
168	A	7,19	7,18
	B	7,18	
	C	7,18	
336	A	7,18	7,18
	B	7,19	
	C	7,17	

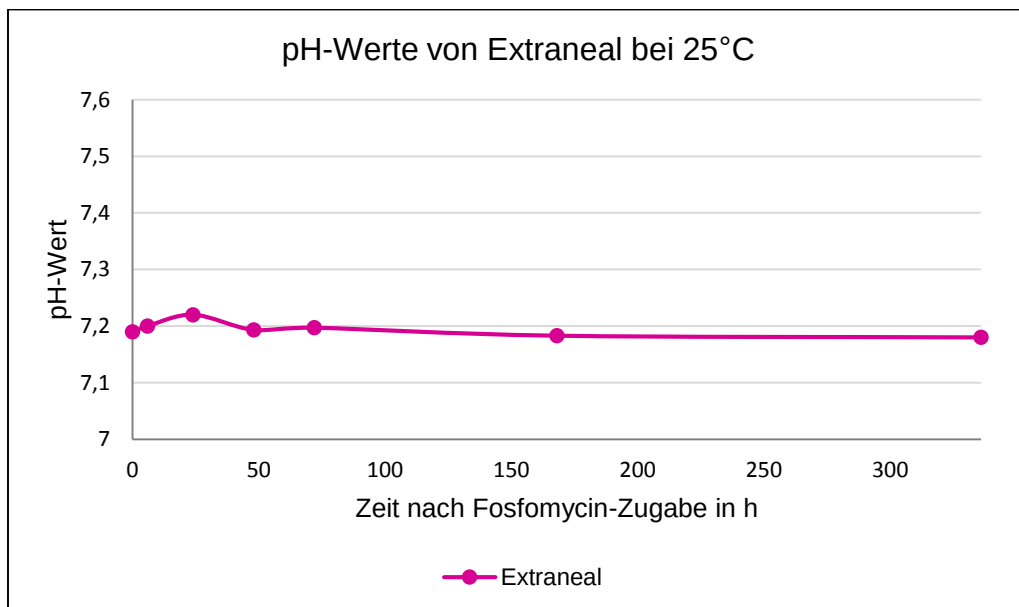


Abbildung 6.8: Graph der pH-Werte von *Extraneal* bei 25°C

6.2.6 pH-Wert-Analyse von Nutrineal bei 25°C

Tabelle 6.9: pH-Werte von *Nutrineal* bei 25°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,11	7,10
	B	7,10	
	C	7,10	
6	A	7,10	7,10
	B	7,11	
	C	7,10	
24	A	7,14	7,13
	B	7,13	
	C	7,13	
48	A	7,13	7,12
	B	7,12	
	C	7,12	
72	A	7,14	7,13
	B	7,13	
	C	7,12	
168	A	7,12	7,12
	B	7,11	
	C	7,12	
336	A	7,12	7,12
	B	7,12	
	C	7,12	

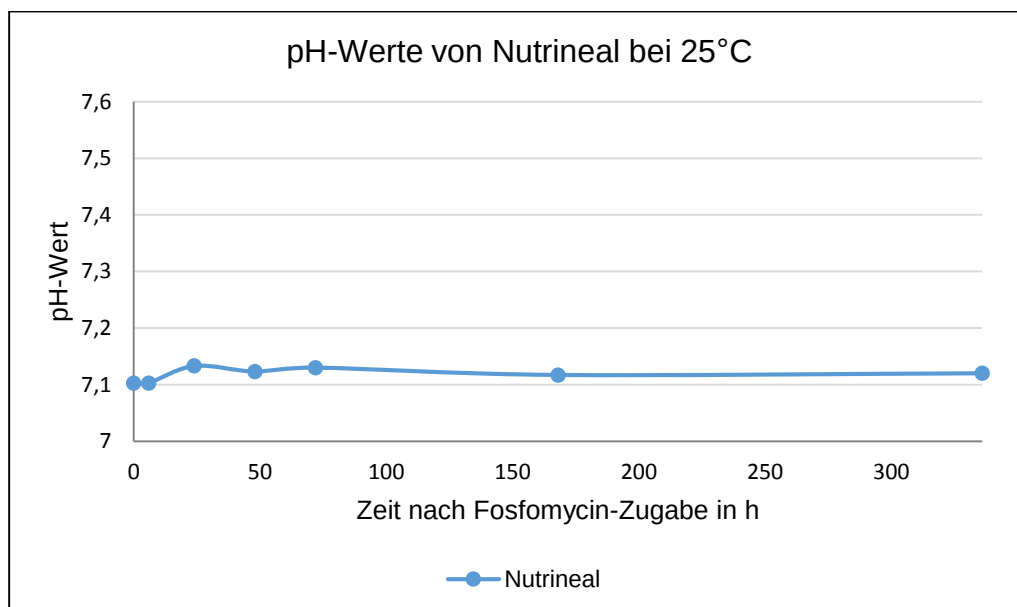


Abbildung 6.9: Graph der pH-Werte von *Nutrineal* bei 25°C

6.2.7 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 1,36 % bei 25°C

Tabelle 6.10: pH-Werte von *Physioneal 40 1,36 %* bei 25°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,40	7,41
	B	7,41	
	C	7,42	
6	A	7,39	7,41
	B	7,41	
	C	7,42	
24	A	7,40	7,41
	B	7,41	
	C	7,42	
48	A	7,42	7,42
	B	7,42	
	C	7,43	
72	A	7,41	7,42
	B	7,42	
	C	7,43	
168	A	7,43	7,44
	B	7,44	
	C	7,44	
336	A	7,47	7,48
	B	7,48	
	C	7,48	

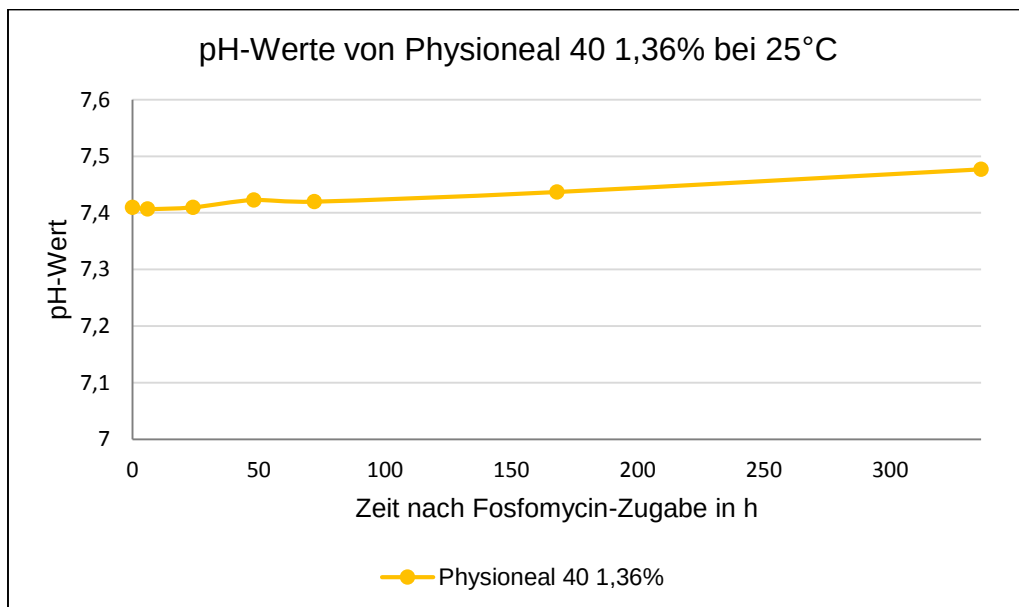


Abbildung 6.10: Graph der pH-Werte von *Physioneal 40 1,36 %* bei 25°C

6.2.8 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 2,27 % bei 25°C

Tabelle 6.11: pH-Werte von *Physioneal 40 2,27 %* bei 25°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,41	7,52
	B	7,58	
	C	7,58	
6	A	7,39	7,51
	B	7,57	
	C	7,57	
24	A	7,41	7,52
	B	7,58	
	C	7,57	
48	A	7,41	7,51
	B	7,57	
	C	7,58	
72	A	7,41	7,51
	B	7,56	
	C	7,56	
168	A	7,43	7,50
	B	7,53	
	C	7,54	
336	A	7,46	7,51
	B	7,54	
	C	7,54	

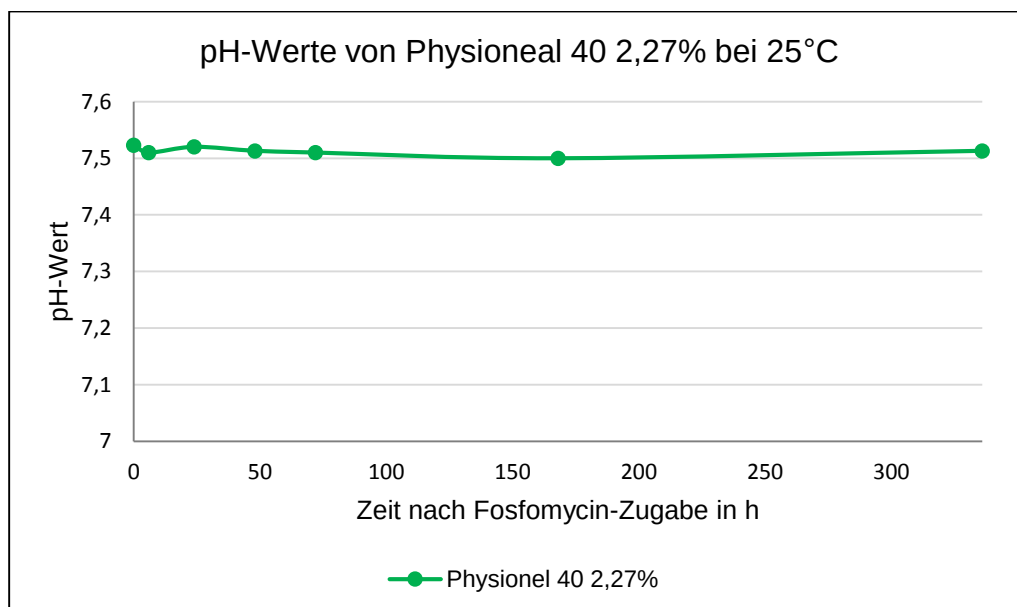


Abbildung 6.11: Graph der pH-Werte von *Physioneal 40 2,27 %* bei 25°C

6.2.9 pH-Wert-Analyse von Extraneal bei 37°C

Tabelle 6.12. pH-Werte von *Extraneal* bei 37°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,11	7,14
	B	7,17	
	C	7,15	
1	A	7,10	7,14
	B	7,16	
	C	7,17	
2	A	7,10	7,15
	B	7,17	
	C	7,17	
4	A	7,11	7,15
	B	7,17	
	C	7,16	
12	A	7,09	7,14
	B	7,16	
	C	7,16	
24	A	7,12	7,15
	B	7,16	
	C	7,16	

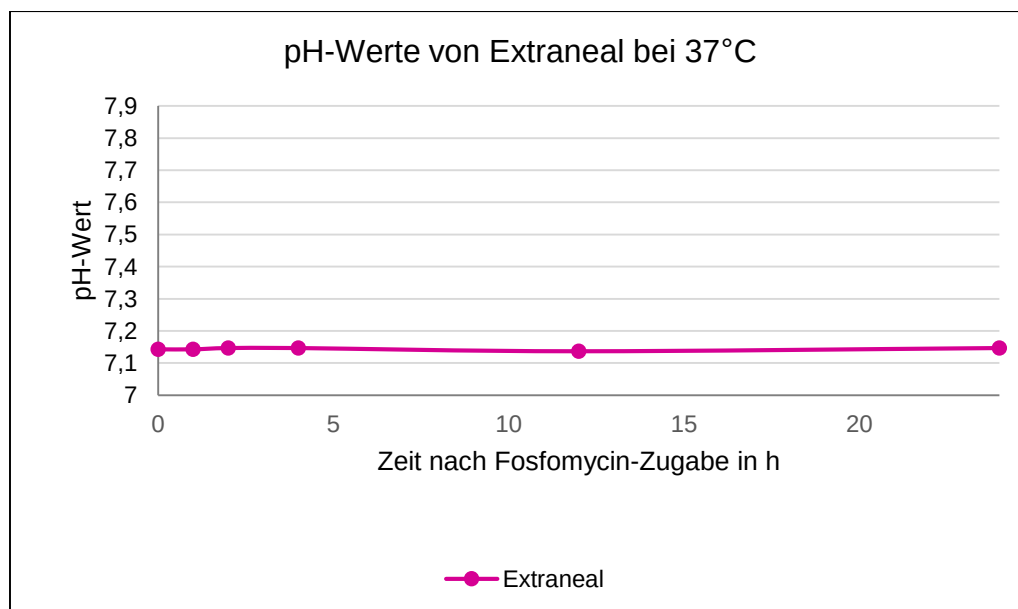


Abbildung 6.12: Graph der pH-Werte von *Extraneal* bei 37°C

6.2.10 pH-Wert-Analyse von Nutrineal bei 37°C

Tabelle 6.13: pH-Werte von *Nutrineal* bei 37°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,10	7,10
	B	7,10	
	C	7,10	
1	A	7,08	7,08
	B	7,09	
	C	7,09	
2	A	7,07	7,08
	B	7,09	
	C	7,09	
4	A	7,09	7,08
	B	7,08	
	C	7,08	
12	A	7,06	7,07
	B	7,08	
	C	7,08	
24	A	7,11	7,10
	B	7,10	
	C	7,10	

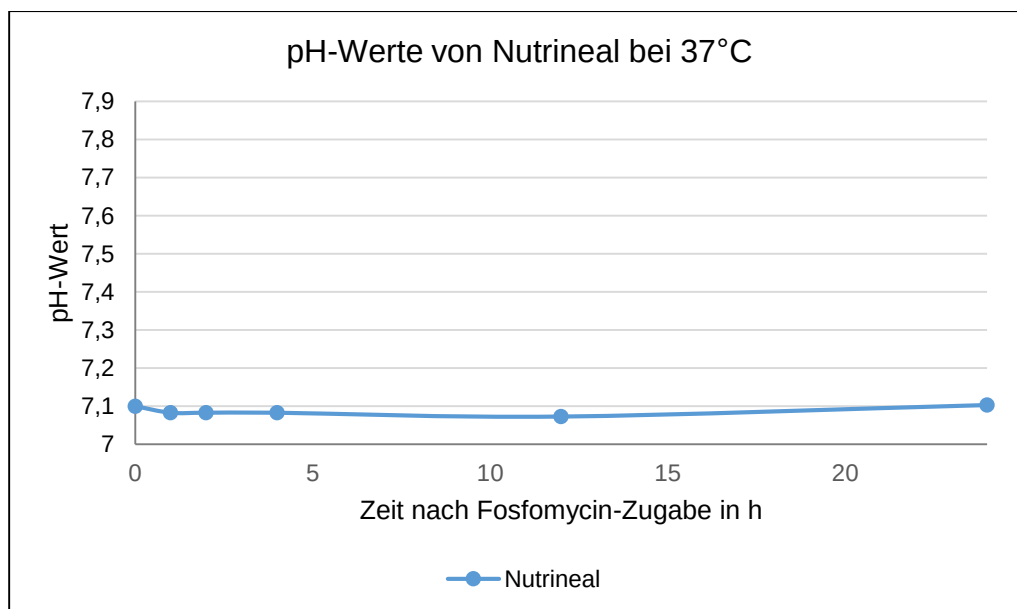


Abbildung 6.13: Graph der pH-Werte von *Nutrineal* bei 37°C

6.2.11 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 1,36 % bei 37°C

Tabelle 6.14: pH-Werte von *Physioneal 40 1,36 %* bei 37°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,40	7,41
	B	7,41	
	C	7,42	
1	A	7,45	7,44
	B	7,43	
	C	7,46	
2	A	7,47	7,47
	B	7,46	
	C	7,48	
4	A	7,47	7,47
	B	7,46	
	C	7,49	
12	A	7,51	7,54
	B	7,55	
	C	7,55	
24	A	7,69	7,69
	B	7,68	
	C	7,70	

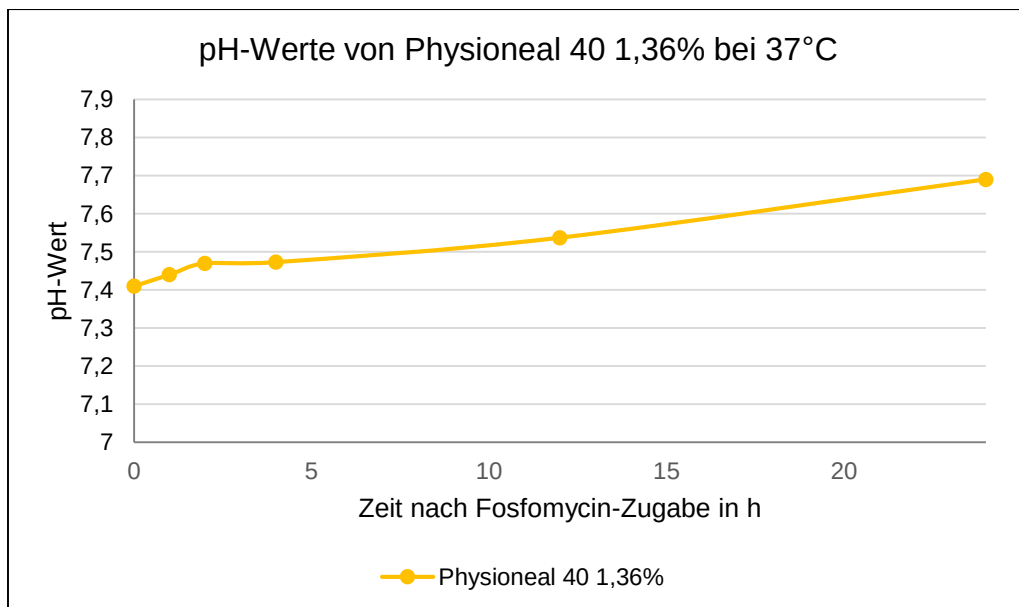


Abbildung 6.14: Graph der pH-Werte von *Physioneal 40 1,36 %* bei 37°C

6.2.12 pH-Wert-Analyse von Physioneal 40 2,27 % bei 37°C

Tabelle 6.15: pH-Werte von *Physioneal 40 2,27 %* bei 37°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	pH-Wert	Mittelwert
0	A	7,49	7,50
	B	7,50	
	C	7,51	
1	A	7,50	7,54
	B	7,56	
	C	7,55	
2	A	7,53	7,55
	B	7,57	
	C	7,56	
4	A	7,57	7,57
	B	7,58	
	C	7,56	
12	A	7,65	7,66
	B	7,66	
	C	7,67	
24	A	7,78	7,80
	B	7,81	
	C	7,82	

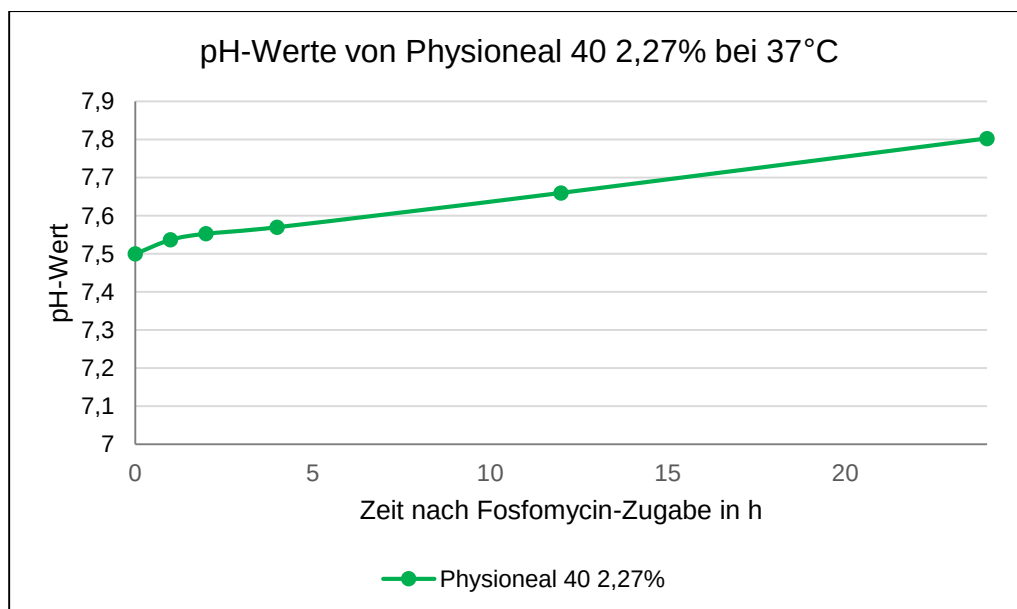


Abbildung 6.15: Graph der pH-Werte von *Physioneal 40 2,27 %* bei 37°C

6.3 HPLC-Analysen

6.3.1 HPLC-Analysen von Extraneal bei 6°C

Tabelle 6.16: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Extraneal* bei 6°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A	a	1	2,028	102,41	
			2	2,038	102,92	
			3	2,031	102,57	
		b	1	1,929	97,41	
			2	1,933	97,62	
			3	1,878	94,84	
		B	a	1	1,899	95,90
				2	1,885	95,19
				3	1,892	95,55
	b		1	2,004	101,20	
			2	2,038	102,92	
			3	2,007	101,35	
	C		a	1	1,980	99,99
				2	2,001	101,05
				3	1,997	100,85
		b	1	2,031	102,57	
			2	2,024	102,21	
3			2,048	103,42		
Mittelwert			1,980	100,00		
Standardabweichung			0,060	3,034		
RSD [%]			3,034	3,034		
6	A	a	1	2,020	102,01	
			2	2,010	101,51	
			3	2,026	102,31	
		b	1	1,829	92,36	
			2	1,868	94,33	
			3	1,883	95,09	
		B	a	1	1,941	98,02
				2	1,917	96,81
				3	1,873	94,59
	b		1	2,026	102,30	
			2	2,058	103,93	
			3	1,993	100,65	
	C	a	1	2,009	101,45	
			2	2,007	101,35	
			3	2,021	102,06	
		b	1	2,007	101,35	
			2	2,026	102,31	
			3	2,031	102,57	
	Mittelwert			1,975	99,72	
	Standardabweichung			0,070	3,526	
	RSD [%]			3,535	3,536	

24	A	a	1	1,916	96,76	
			2	1,947	98,32	
			3	1,983	100,14	
		b	1	1,983	100,14	
			2	1,991	100,55	
			3	1,991	100,55	
		B	a	1	1,969	99,43
				2	2,000	101,00
				3	2,005	101,25
	b		1	1,950	98,48	
			2	1,959	98,93	
			3	1,933	97,62	
	C	a	1	1,950	98,48	
			2	1,971	99,54	
			3	1,980	99,99	
b		1	1,971	99,54		
		2	1,992	100,60		
		3	2,005	101,25		
Mittelwert			1,972	99,59		
Standartabweichung			0,025	1,273		
RSD [%]			1,279	1,279		

48	A	a	1	1,965	99,23
			2	1,941	98,02
			3	1,977	99,84
		b	1	1,976	99,79
			2	1,996	100,80
			3	1,960	98,98
	B	a	1	1,933	97,62
			2	1,965	99,23
			3	1,965	99,23
		b	1	1,909	96,40
			2	1,973	99,64
			3	1,973	99,64
	C	a	1	1,996	100,80
			2	1,980	99,99
			3	1,968	99,38
		b	1	2,000	101,00
			2	2,055	103,78
			3	2,011	101,56
	Mittelwert			1,975	99,72
Standartabweichung			0,317	1,602	
RSD [%]			1,605	1,607	

72	A	a	1	1,952	98,58
			2	1,917	96,81
			3	1,933	97,62
		b	1	1,940	97,97
			2	1,940	97,97
			3	1,925	97,21
	B	a	1	1,940	97,97
			2	1,952	98,58
			3	1,952	98,58
		b	1	1,910	96,46
			2	1,964	99,18
			3	1,929	97,41
	C	a	1	1,990	100,50
			2	2,029	102,46
3			2,013	101,66	
b		1	2,006	101,30	
		2	1,998	100,90	
		3	1,983	100,14	
Mittelwert			1,960	98,96	
Standardabweichung			0,353	1,784	
RSD [%]			1,803	1,803	

168	A	a	1	1,937	97,82
			2	1,903	96,10
			3	1,959	98,93
		b	1	1,985	100,24
			2	1,972	99,59
			3	1,965	99,23
	B	a	1	1,855	93,68
			2	1,811	91,46
			3	1,811	91,46
		b	1	1,911	96,51
			2	1,892	95,55
			3	1,896	95,75
	C	a	1	1,972	99,59
			2	1,965	99,23
			3	1,961	99,03
		b	1	1,968	99,38
			2	1,986	100,29
			3	2,019	101,96
	Mittelwert			1,932	97,54
	Standardabweichung			0,060	3,022
	RSD [%]			3,099	3,098

336	A	a	1	1,967	99,33	
			2	1,974	99,69	
			3	1,988	100,39	
		b	1	1,745	88,12	
			2	1,752	88,48	
			3	1,756	88,68	
		B	a	1	1,763	89,03
				2	1,721	86,91
				3	1,773	89,54
	b		1	1,816	91,71	
			2	1,844	91,12	
			3	1,939	97,92	
	C	a	1	1,964	99,18	
			2	1,950	98,48	
			3	1,918	96,86	
		b	1	1,837	92,77	
			2	1,872	94,54	
			3	1,946	98,27	
	Mittelwert			1,863	94,06	
	Standartabweichung			0,094	4,767	
	RSD [%]			5,067	5,067	

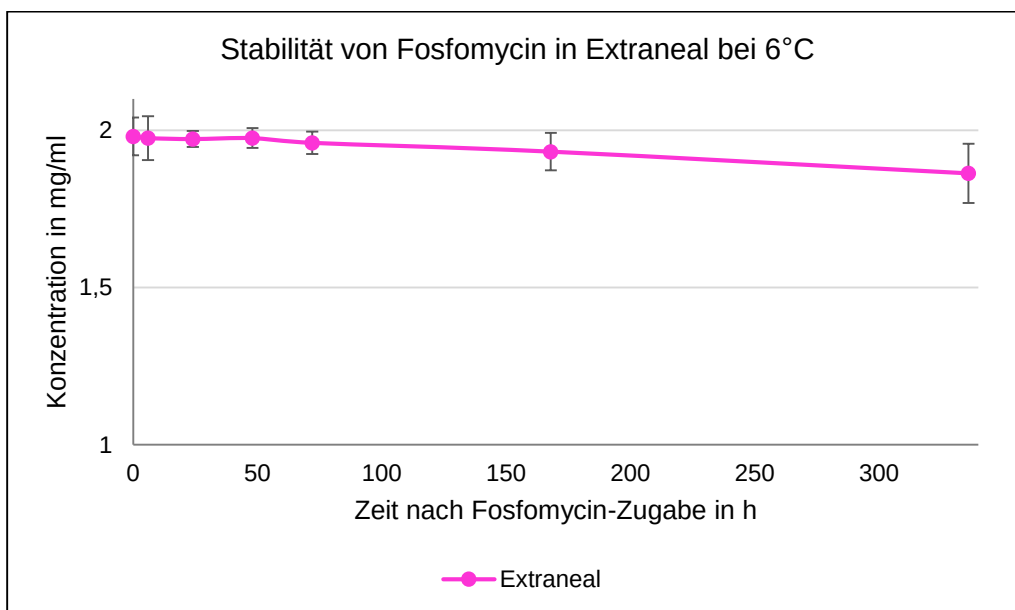


Abbildung 6.16: Graph der HPLC-Analysen von *Extraneal* bei 6°C

6.3.2 HPLC-Analysen von Nutrineal bei 6°C

Tabelle 6.17: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Nutrineal* bei 6°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A	a	1	1,524	96,01	
			2	1,554	97,90	
			3	1,550	97,65	
		b	1	1,573	99,10	
			2	1,577	99,35	
			3	1,606	101,18	
		B	a	1	1,586	99,92
				2	1,600	100,80
				3	1,590	100,17
	b		1	1,596	100,55	
			2	1,626	102,44	
			3	1,606	101,18	
	C	a	1	1,580	99,54	
			2	1,570	98,91	
			3	1,570	98,91	
		b	1	1,613	101,62	
			2	1,603	100,99	
3			1,649	109,89		
Mittelwert			1,587	100,01		
Standardabweichung			0,029	1,849		
RSD [%]			1,848	1,849		
6	A	a	1	1,540	97,02	
			2	1,562	98,41	
			3	1,590	100,11	
		b	1	1,568	98,78	
			2	1,617	101,87	
			3	1,602	100,93	
		B	a	1	1,577	99,35
				2	1,565	98,59
				3	1,562	98,41
	b		1	1,586	99,92	
			2	1,568	98,78	
			3	1,583	99,73	
	C	a	1	1,614	101,68	
			2	1,602	100,93	
			3	1,596	100,55	
		b	1	1,513	95,32	
			2	1,522	95,89	
			3	1,498	94,37	
		Mittelwert			1,570	98,92
	Standardabweichung			0,034	2,134	
	RSD [%]			2,157	2,158	

24	A	a	1	1,555	97,96
			2	1,552	97,78
			3	1,561	98,34
		b	1	1,522	95,89
			2	1,519	95,70
			3	1,513	95,32
	B	a	1	1,540	97,02
			2	1,552	97,78
			3	1,590	100,17
		b	1	1,534	96,64
			2	1,507	94,94
			3	1,540	97,02
	C	a	1	1,599	100,74
			2	1,584	99,79
			3	1,590	100,17
		b	1	1,537	96,83
2			1,528	96,26	
3			1,564	98,53	
Mittelwert			1,549	97,60	
Standartabweichung			0,028	1,753	
RSD [%]			1,797	1,796	

48	A	a	1	1,316	82,91
			2	1,506	94,88
			3	1,527	96,20
		b	1	1,541	97,08
			2	1,553	97,84
			3	1,553	96,58
	B*	a	1	1,170	73,71
			2	1,170	73,71
			3	1,158	72,95
		b	1	1,220	76,86
			2	1,214	76,48
			3	1,199	75,54
	C	a	1	1,515	95,44
			2	1,503	94,69
			3	1,524	96,01
		b	1	1,533	96,58
			2	1,547	97,46
			3	1,539	96,96
	Mittelwert			1,511	95,22
	Standartabweichung			0,063	3,996
	RSD [%]			4,198	4,196

72	A	a	1	1,430	90,09
			2	1,458	91,85
			3	1,375	86,62
		b	1	1,473	92,80
			2	1,505	94,81
			3	1,499	94,44
	B	a	1	1,617	101,87
			2	1,652	104,08
			3	1,640	103,32
		b	1	1,606	101,18
			2	1,484	93,49
			3	1,545	97,33
	C	a	1	1,623	102,25
			2	1,562	98,41
3			1,623	102,25	
b		1	1,482	93,37	
		2	1,510	95,13	
		3	1,505	94,81	
Mittelwert			1,533	96,56	
Standardabweichung			0,080	5,028	
RSD [%]			5,205	5,207	

168	A	a	1	1,649	103,89
			2	1,655	104,26
			3	1,629	102,63
		b	1	1,571	98,97
			2	1,563	98,47
			3	1,583	99,73
	B	a	1	1,692	106,60
			2	1,649	103,89
			3	1,672	105,34
		b	1	1,617	101,87
			2	1,626	102,44
			3	1,603	100,99
	C	a	1	1,617	101,87
			2	1,686	106,22
			3	1,724	108,61
		b	1	1,637	103,13
			2	1,591	100,23
			3	1,620	102,06
	Mittelwert			1,632	102,84
	Standardabweichung			0,043	2,723
	RSD [%]			2,648	2,648

336	A	a	1	1,634	102,94
			2	1,657	104,39
			3	1,686	106,22
		b	1	1,740	109,62
			2	1,792	112,90
			3	1,740	109,20
	B	a	1	1,525	96,07
			2	1,517	95,57
			3	1,479	93,18
		b	1	1,519	95,70
			2	1,528	96,26
			3	1,508	95,00
	C	a	1	0,978	61,61
			2	0,969	61,05
			3	0,963	60,67
		b	1	0,903	56,89
			2	0,937	59,03
			3	0,946	59,06
	Mittelwert			1,610	101,46
	Standartabweichung			0,110	6,953
	RSD [%]			6,853	6,853

- * Beutel wurde, aufgrund stark abweichender Werte im Vergleich zu den anderen Beuteln, zu diesem Zeitpunkt der Probennahme nicht in die Analysen einbezogen

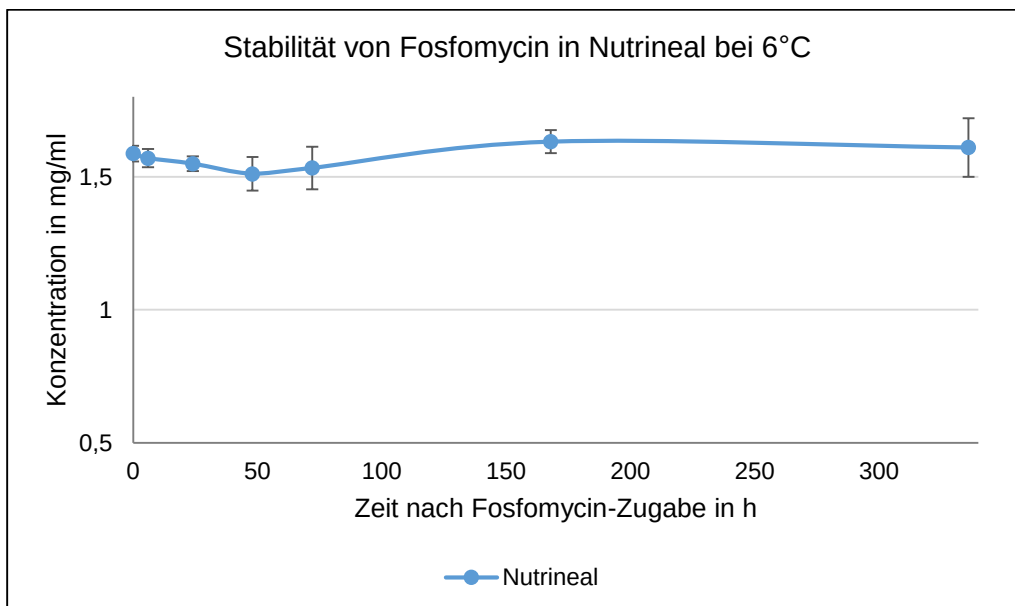


Abbildung 6.17: Graph der HPLC-Analysen von *Nutrineal* bei 6°C

6.3.3 HPLC-Analysen von Physioneal 40 1,36 % bei 6°C

Tabelle 6.18: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Physioneal* 1,36 % bei 6°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]
0	A	a	1	5,322	99,12
			2	5,366	99,94
			3	5,388	100,35
		b	1	5,410	100,76
			2	5,344	99,53
			3	5,388	100,35
	B	a	1	5,145	95,83
			2	5,057	94,19
			3	5,101	95,01
		b	1	5,410	100,76
			2	5,455	101,60
			3	5,455	101,60
	C	a	1	4,792	89,25
			2	4,836	90,07
			3	4,792	89,25
		b	1	5,565	103,65
			2	5,499	102,42
3			5,631	104,88	
Mittelwert			5,275	98,25	
Standardabweichung			0,261	4,859	
RSD [%]			4,946	4,946	
6	A	a	1	5,016	93,42
			2	4,996	93,05
			3	4,933	91,88
		b	1	4870	90,70
			2	5,016	93,42
			3	4,849	90,31
	B	a	1	4,933	91,88
			2	4,870	90,70
			3	4,996	93,05
		b	1	4,996	93,05
			2	4,996	93,05
			3	4,996	93,05
	C	a	1	5,205	96,94
			2	5,267	98,10
			3	5,351	99,66
		b	1	5,372	100,05
			2	5,393	100,44
			3	5,330	99,27
	Mittelwert			5,077	94,56
	Standardabweichung			0,188	3,492
	RSD [%]			3,694	3,693

24	A	a	1	5,272	98,25
			2	5,316	99,01
			3	5,254	97,87
		b	1	5,212	97,07
			2	5,295	98,62
			3	5,295	98,62
	B	a	1	5,441	101,34
			2	5,400	100,57
			3	5,316	99,01
		b	1	5,316	99,01
			2	5,254	97,86
			3	5,233	97,46
	C	a	1	5,441	101,34
			2	5,525	102,90
			3	5,316	99,01
		b	1	5,337	99,40
2			5,400	100,57	
3			5,358	99,79	
Mittelwert			5,332	99,32	
Standartabweichung			0,082	1,527	
RSD [%]			1,538	1,537	

48	A	a	1	5,449	101,49
			2	5,491	102,27
			3	5,343	99,51
		b	1	5,237	97,54
			2	5,194	96,74
			3	5,067	94,37
	B	a	1	5,364	99,90
			2	5,300	97,71
			3	5,297	98,32
		b	1	5,940	92,01
			2	5,067	94,37
			3	5,025	93,59
	C	a	1	5,279	98,32
			2	5,259	97,93
			3	5,237	97,54
		b	1	5,343	99,51
			2	5,343	99,51
			3	5,385	100,30
	Mittelwert			5,256	97,89
	Standartabweichung			0,149	2,769
	RSD [%]			2,828	2,828

72	A	a	1	5,283	98,40	
			2	5,261	97,99	
			3	5,196	96,78	
		b	1	5,217	97,17	
			2	5,239	97,58	
			3	5,261	97,99	
		B	a	1	5,304	98,79
				2	5,326	99,20
				3	5,283	98,40
	b		1	5,478	102,03	
			2	5,326	99,20	
			3	5,413	100,82	
	C	a	1	5,565	103,65	
			2	5,587	104,06	
			3	5,565	103,65	
b		1	5,543	103,24		
		2	5,565	103,65		
		3	5,500	102,44		
Mittelwert			5,384	100,28		
Standardabweichung			0,141	2,617		
RSD [%]			2,611	2,610		

168	A	a	1	5,329	99,25	
			2	5,477	102,01	
			3	5,435	101,23	
		b	1	5,456	101,62	
			2	5,540	103,18	
			3	5,456	101,62	
		B	a	1	5,498	102,40
				2	5,477	102,01
				3	5,498	102,40
	b		1	5,181	96,50	
			2	5,096	94,91	
			3	5,223	97,28	
	C	a	1	5,667	105,55	
			2	5,561	103,57	
			3	5,540	103,18	
		b	1	5,688	105,94	
			2	5,688	105,94	
			3	5,709	106,33	
		Mittelwert			5,473	101,94
		Standardabweichung			0,174	3,246
		RSD [%]			3,185	3,184

336	A	a	1	4,922	91,67	
			2	4,860	90,52	
			3	4,963	92,44	
		b	1	4,696	87,46	
			2	4,860	90,52	
			3	4,942	92,04	
		B	a	1	5,311	98,92
				2	5,373	100,07
				3	5,311	98,92
	b		1	4,819	89,75	
			2	4,881	90,91	
			3	4,860	90,52	
	C		a	1	5,332	99,31
				2	5,332	99,31
				3	5,229	97,39
		b	1	5,475	101,97	
			2	5,455	101,60	
			3	5,455	101,60	
		Mittelwert			5,115	95,27
		Standartabweichung			0,267	4,979
		RSD [%]			5,226	5,226

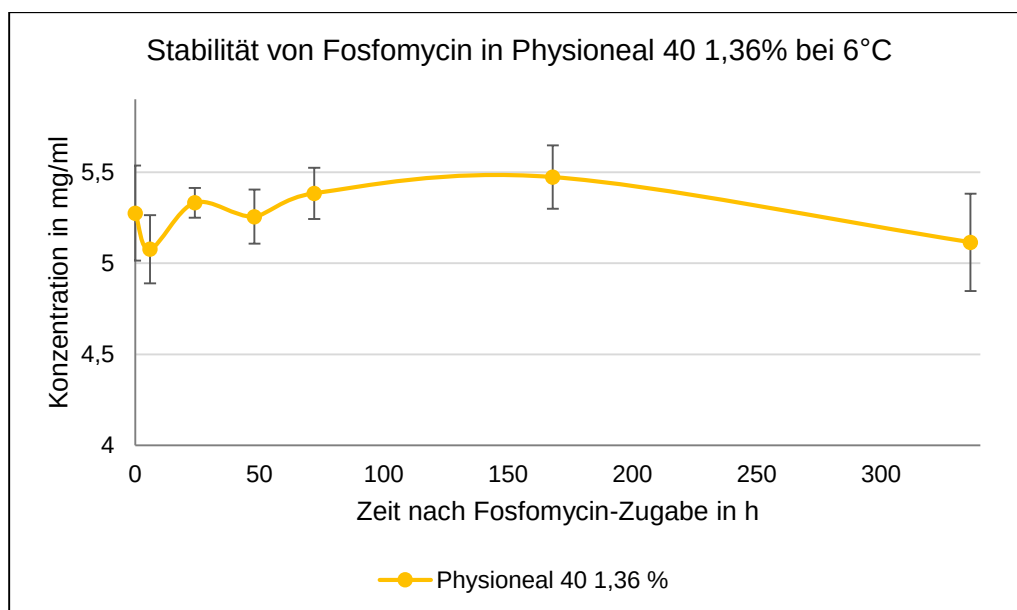


Abbildung 6.18: Graph der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 1,36 %* bei 6°C

6.3.4 HPLC-Analysen von Physioneal 40 2,27 % bei 6°C

Tabelle 6.19: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 2,27 %* bei 6°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A	a	1	5,107	95,12	
			2	5,398	100,54	
			3	5,232	97,45	
		b	1	5,564	103,63	
			2	5,523	102,87	
			3	5,523	102,84	
		B	a	1	5,419	100,93
				2	5,481	102,08
				3	5,564	103,63
	b		1	5,273	98,21	
			2	5,253	97,84	
			3	5,273	98,21	
	C	a	1	5,211	97,05	
			2	5,356	99,76	
			3	5,315	98,99	
		b	1	5,315	98,99	
			2	5,439	101,30	
3			5,398	100,54		
Mittelwert			5,369	100,00		
Standardabweichung			0,132	2,455		
RSD [%]			2,455	2,455		
6	A	a	1	5,077	94,56	
			2	5,249	97,76	
			3	5,192	96,70	
		b	1	5,306	98,82	
			2	5,344	99,53	
			3	5,306	98,82	
		B	a	1	5,192	96,70
				2	5,306	98,82
				3	5,192	96,70
	b		1	5,172	96,33	
			2	5,211	97,05	
			3	5,287	98,47	
	C	a	1	5,459	101,67	
			2	5,592	104,15	
			3	5,497	102,38	
		b	1	5,287	98,47	
			2	5,421	100,97	
			3	5,306	98,82	
	Mittelwert			5,300	98,71	
	Standardabweichung			0,128	2,382	
	RSD [%]			2,413	2,413	

24	A*	a	1	3,740	69,66
			2	3,722	69,32
			3	3,795	70,68
		b	1	3,923	73,07
			2	4,160	77,48
			3	3,959	73,74
	B	a	1	5,547	103,31
			2	5,474	101,95
			3	5,455	101,60
		b	1	5,328	99,23
			2	5,328	99,23
			3	5,182	96,51
	C	a	1	5,364	99,90
			2	5,364	99,90
			3	5,309	98,88
		b	1	5,218	97,19
			2	5,382	100,24
			3	5,346	99,57
		Mittelwert		5,358	99,79
		Standartabweichung		0,102	1,897
		RSD [%]		1,901	1,901
48	A	a	1	5,141	95,75
			2	5,124	95,43
			3	5,124	95,43
		b	1	5,231	97,43
			2	5,195	96,76
			3	5,195	96,76
	B	a	1	5,195	96,76
			2	5,213	97,09
			3	5,177	96,42
		b	1	5,034	93,76
			2	5,106	95,10
			3	5,052	94,09
	C	a	1	4,999	93,11
			2	5,034	93,76
			3	5,034	93,76
		b	1	5,159	96,09
			2	5,141	95,75
			3	5,159	96,09
		Mittelwert		5,129	95,52
		Standartabweichung		0,071	1,320
		RSD [%]		1,381	1,382

72	A	a	1	4,490	83,63
			2	4,472	83,29
			3	4,490	83,63
		b	1	5,172	96,33
			2	5,226	97,33
			3	5,244	97,67
	B	a	1	5,226	97,33
			2	5,190	96,66
			3	5,316	99,01
		b	1	4,813	89,64
			2	4,885	90,98
			3	4,903	91,32
	C	a	1	5,226	97,33
			2	5,065	94,34
3			5,172	96,33	
b		1	5,244	97,67	
		2	5,190	96,66	
		3	5,190	96,66	
Mittelwert			5,029	93,66	
Standardabweichung			0,086	5,316	
RSD [%]			5,677	5,676	

168	A	a	1	5,148	95,88
			2	5,256	97,89
			3	5,292	98,56
		b	1	5,220	97,22
			2	5,238	97,56
			3	5,292	98,56
	B	a	1	5,238	97,56
			2	5,220	97,22
			3	5,166	96,22
		b	1	5,274	98,23
			2	5,328	99,23
			3	5,328	99,23
	C	a	1	5,166	96,22
			2	5,184	96,55
			3	5,166	96,22
		b	1	5,274	98,23
			2	5,256	97,89
			3	5,292	98,56
	Mittelwert			5,241	97,61
	Standardabweichung			0,057	1,060
	RSD [%]			1,088	1,086

336	A	a	1	5,435	101,23	
			2	5,435	101,23	
			3	5,435	101,23	
		b	1	5,036	93,80	
			2	5,072	94,47	
			3	5,072	94,47	
		B	a	1	5,381	100,22
				2	5,399	100,56
				3	5,363	99,89
	b		1	5,399	100,56	
			2	5,272	98,19	
			3	5,290	98,53	
	C		a	1	5,145	95,83
				2	5,108	95,14
				3	5,126	95,47
		b	1	5,108	95,14	
			2	5,072	94,47	
			3	5,090	94,80	
		Mittelwert			5,235	97,51
		Standartabweichung			0,155	2,887
		RSD [%]			2,961	2,961

- * Beutel wurde, aufgrund stark abweichender Werte im Vergleich zu den anderen Beuteln, zu diesem Zeitpunkt der Probennahme nicht in die Analysen einbezogen

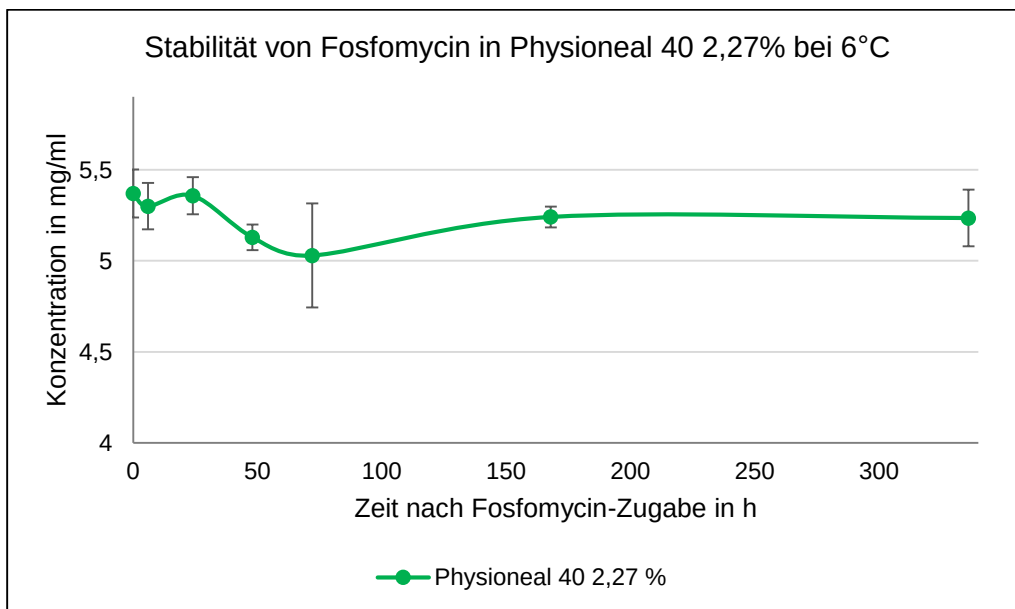


Abbildung 6.19: Graph der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 2,27 %* bei 6°C

6.3.5 HPLC-Analysen von Extraneal bei 25°C

Tabelle 6.20: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Extraneal* bei 25°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A	a	1	1,944	98,17	
			2	1,962	99,08	
			3	1,980	99,99	
		b	1	1,908	96,35	
			2	1,962	99,08	
			3	1,998	100,90	
		B	a	1	1,908	96,35
				2	1,980	99,99
				3	1,962	99,08
	b		1	1,926	97,26	
			2	1,962	99,08	
			3	1,980	99,99	
	C	a	1	2,070	104,54	
			2	2,034	102,72	
			3	2,070	104,54	
		b	1	1,980	99,99	
			2	2,016	101,81	
3			1,998	100,90		
Mittelwert			1,980	99,99		
Standardabweichung			0,047	2,357		
RSD [%]			2,354	2,357		
6	A	a	1	1,961	99,03	
			2	1,978	99,89	
			3	1,943	98,12	
		b	1	2,032	102,62	
			2	1,996	100,80	
			3	2,032	102,62	
		B	a	1	1,818	91,81
				2	1,996	100,80
				3	2,032	102,62
	b		1	2,014	101,71	
			2	2,032	102,62	
			3	2,032	102,62	
	C	a	1	1,943	98,12	
			2	1,996	100,80	
			3	1,996	100,80	
		b	1	2,032	102,62	
			2	2,085	105,29	
			3	2,050	103,53	
		Mittelwert			1,998	100,91
		Standardabweichung			0,058	2,943
		RSD [%]			2,916	2,916

24	A	a	1	1,999	100,95	
			2	2,034	102,72	
			3	2,052	103,63	
		b	1	2,070	104,54	
			2	2,088	105,44	
			3	2,070	104,54	
		B	a	1	1,999	100,95
				2	1,999	100,95
				3	1,999	100,95
	b		1	1,963	99,13	
			2	1,981	100,04	
			3	1,963	99,13	
	C	a	1	1,981	100,04	
			2	1,999	100,95	
			3	1,927	97,31	
		b	1	2,017	101,86	
			2	2,052	103,63	
3			2,034	102,72		
Mittelwert			2,013	101,64		
Standartabweichung			0,043	2,175		
RSD [%]			2,138	2,140		

	A	a	1	2,028	102,41
			2	2,046	103,32
			3	2,028	102,41
		b	1	2,010	101,51
			2	2,010	101,51
			3	1,939	97,92
	B	a	1	1,993	100,65
			2	2,028	102,41
			3	2,082	105,14
		b	1	2,028	102,41
			2	2,046	103,32
			3	1,957	98,83
	C	a	1	1,939	97,20
			2	1,904	96,15
			3	1,921	97,01
		b	1	1,975	99,74
			2	2,010	101,51
			3	1,975	99,74
	Mittelwert			1,996	100,77
Standartabweichung			0,049	2,451	
RSD [%]			2,432	2,432	

72	A*	a	1	1,730	87,37	
			2	1,746	88,17	
			3	1,763	89,03	
		b	1	1,594	80,50	
			2	1,590	80,30	
			3	1,571	79,34	
		B	a	1	2,000	101,35
				2	2,025	102,26
				3	1,990	100,50
	b		1	1,955	98,73	
			2	1,955	98,73	
			3	1,955	98,73	
	C	a	1	1,955	98,73	
			2	1,955	98,73	
			3	1,936	97,87	
b		1	2,007	101,35		
		2	2,007	101,35		
		3	2,025	102,26		
Mittelwert			1,981	100,05		
Standardabweichung			0,032	1,610		
RSD [%]			1,611	1,609		

168	A	a	1	2,017	101,86
			2	2,000	101,00
			3	2,000	101,00
		b	1	2,053	103,68
			2	2,053	103,68
			3	2,053	103,68
	B	a	1	1,982	100,09
			2	1,947	98,32
			3	1,947	98,32
		b	1	2,000	101,00
			2	2,000	101,00
			3	2,017	101,86
	C	a	1	1,965	99,23
			2	1,982	100,09
			3	1,982	100,09
		b	1	1,912	96,56
			2	1,912	96,56
			3	1,895	95,70
	Mittelwert			1,984	100,21
	Standardabweichung			0,048	2,416
	RSD [%]			2,411	2,411

336	A	a	1	1,936	97,77
			2	1,988	100,39
			3	1,988	100,39
		b	1	2,041	103,07
			2	2,041	103,07
			3	2,059	103,98
	B	a	1	1,936	97,77
			2	1,918	96,86
			3	1,918	96,86
		b	1	1,971	99,54
			2	1,971	99,54
			3	1,971	99,54
	C	a	1	1,971	99,54
			2	1,971	99,54
			3	1,971	99,54
		b	1	2,024	102,21
			2	2,006	101,30
			3	2,024	102,21
	Mittelwert			1,984	100,17
	Standartabweichung			0,042	2,126
	RSD [%]			2,123	2,123

* Beutel wurde, aufgrund stark abweichender Werte im Vergleich zu den anderen Beuteln, zu diesem Zeitpunkt der Probennahme nicht in die Analysen einbezogen

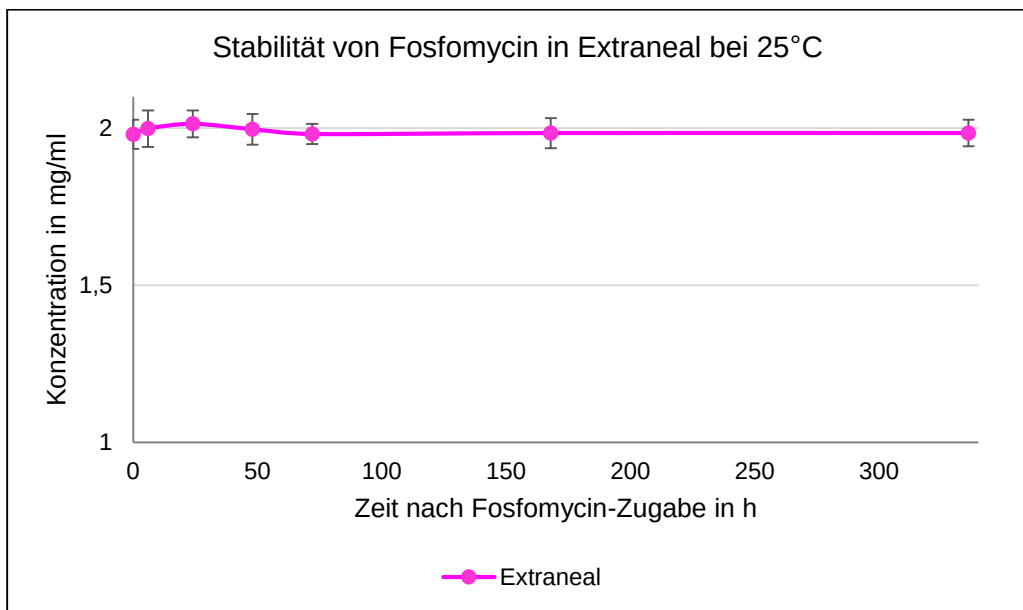


Abbildung 6.20: Graph der HPLC-Analysen von *Extraneal* bei 25°C

6.3.6 HPLC-Analysen von Nutrineal bei 25°C

Tabelle 6.21: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Nutrineal* bei 25°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]
0	A*	a	1	1,226	77,24
			2	1,226	77,24
			3	1,239	78,06
		b	1	1,211	76,29
			2	1,214	76,48
			3	1,207	76,04
	B	a	1	1,590	100,17
			2	1,590	100,17
			3	1,590	100,17
		b	1	1,575	99,22
			2	1,590	100,17
			3	1,590	100,17
	C*	a	1	1,091	68,93
			2	1,100	69,30
			3	1,114	70,18
		b	1	1,124	70,81
2			1,114	70,18	
3			1,124	70,81	
Mittelwert			1,588	100,01	
Standardabweichung			0,006	0,388	
RSD [%]			0,386	0,388	
6	A	a	1	1,503	94,69
			2	1,503	94,69
			3	1,474	92,86
		b	1	1,460	91,98
			2	1,489	93,81
			3	1,489	93,81
	B	a	1	1,474	92,86
			2	1,503	94,69
			3	1,489	93,81
		b	1	1,517	95,57
			2	1,474	92,86
			3	1,517	95,57
	C*	a	1	1,028	64,76
			2	1,033	65,08
			3	1,009	63,57
		b	1	1,020	64,26
			2	1,046	65,90
			3	1,013	63,82
	Mittelwert			1,491	93,93
	Standardabweichung			0,018	1,144
	RSD [%]			1,217	1,218

24	A	a	1	1,604	101,05
			2	1,503	94,69
			3	1,546	97,40
		b	1	1,517	95,57
			2	1,532	96,52
			3	1,590	100,17
	B	a	1	1,517	95,57
			2	1,532	96,52
			3	1,489	93,81
		b	1	1,517	95,57
			2	1,517	95,57
			3	1,517	95,57
	C	a	1	1,474	92,86
			2	1,445	91,03
			3	1,474	92,86
		b	1	1,546	97,40
			2	1,374	86,56
			3	1,424	89,71
		Mittelwert		1,507	94,91
		Standartabweichung		0,055	3,486
		RSD [%]		3,671	3,673
	A	a	1	1,445	91,03
			2	1,474	92,86
			3	1,532	96,52
		b	1	1,590	100,17
			2	1,517	95,57
			3	1,412	88,96
	B	a	1	1,405	88,51
			2	1,428	89,96
			3	1,474	92,86
		b	1	1,460	91,98
			2	1,412	88,96
			3	1,419	89,40
	C	a	1	1,422	89,59
			2	1,517	95,57
			3	1,517	95,57
		b	1	1,517	95,57
			2	1,460	91,98
			3	1,419	89,40
		Mittelwert		1,468	92,47
		Standartabweichung		0,053	3,320
		RSD [%]		3,622	3,623

72	A	a	1	1,392	87,70	
			2	1,415	89,14	
			3	1,431	90,15	
		b	1	1,460	91,98	
			2	1,460	91,98	
			3	1,489	93,81	
		B*	a	1	1,065	67,09
				2	1,052	66,28
				3	1,064	67,03
	b		1	1,077	67,85	
			2	1,078	67,91	
			3	1,098	69,17	
	C	a	1	1,474	92,86	
			2	1,517	95,57	
			3	1,517	95,57	
b		1	1,561	98,34		
		2	1,590	100,17		
		3	1,590	100,17		
Mittelwert			1,491	93,95		
Standardabweichung			0,066	4,129		
RSD [%]			4,395	4,395		
168	A	a	1	1,517	95,57	
			2	1,532	96,52	
			3	1,532	96,52	
		b	1	1,561	98,34	
			2	1,503	94,69	
			3	1,561	98,34	
	B	a	1	1,532	96,52	
			2	1,546	97,40	
			3	1,546	97,40	
		b	1	1,532	96,52	
			2	1,561	98,34	
			3	1,546	97,40	
	C*	a	1	1,176	74,09	
			2	1,189	74,91	
			3	1,176	74,09	
		b	1	1,218	76,73	
			2	1,231	77,55	
			3	1,217	76,67	
	Mittelwert			1,539	96,96	
	Standardabweichung			0,018	1,134	
	RSD [%]			1,714	1,170	

336	A	a	1	1,517	95,57	
			2	1,532	96,52	
			3	1,532	96,52	
		b	1	1,575	99,22	
			2	1,575	99,22	
			3	1,575	99,22	
		B	a	1	1,416	89,21
				2	1,439	90,66
				3	1,438	90,59
	b		1	1,489	93,81	
			2	1,503	94,69	
			3	1,189	93,81	
	C	a	1	1,517	95,57	
			2	1,503	94,69	
			3	1,517	95,57	
		b	1	1,517	95,57	
			2	1,503	94,69	
			3	1,503	94,69	
	Mittelwert			1,508	94,99	
	Standartabweichung			0,045	2,811	
	RSD [%]			2,961	2,960	

* Beutel wurde, aufgrund stark abweichender Werte im Vergleich zu den anderen Beuteln, zu diesem Zeitpunkt der Probennahme nicht in die Analysen einbezogen

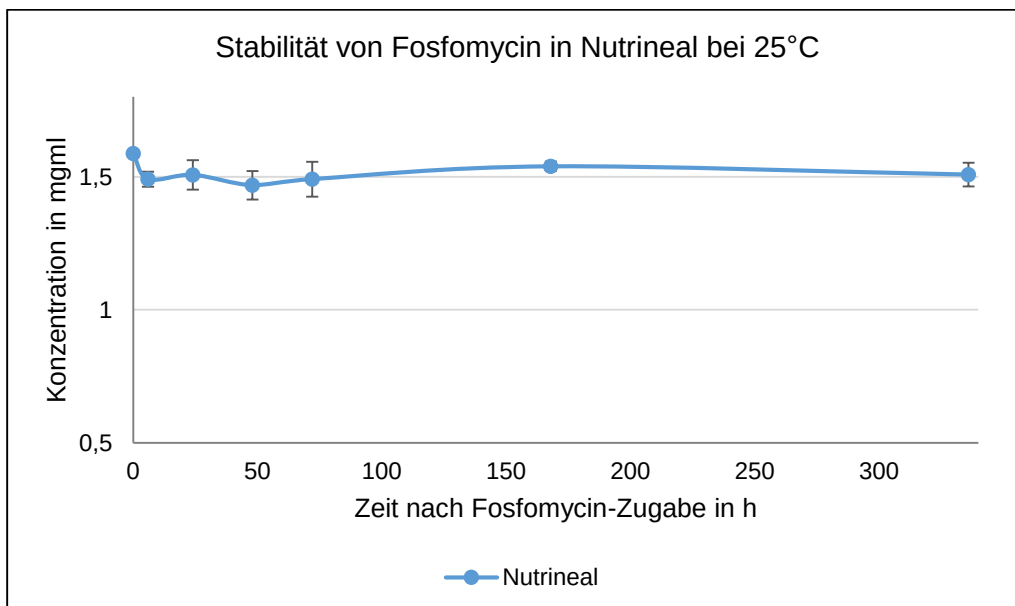


Abbildung 6.21: Graph der HPLC-Analysen von *Nutrineal* bei 25°C

6.3.7 HPLC-Analysen von Physioneal 40 1,36 % bei 25°C

Tabelle 6.22: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 1,36 %* bei 25°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A	a	1	5,011	93,33	
			2	5,154	95,99	
			3	5,226	97,33	
		b	1	5,369	100,00	
			2	5,333	99,33	
			3	5,333	99,33	
		B	a	1	5,441	101,34
				2	5,405	100,67
				3	5,477	102,01
	b		1	5,441	101,34	
			2	5,441	101,34	
			3	5,477	102,01	
	C	a	1	5,405	100,67	
			2	5,369	100,00	
			3	5,369	100,00	
		b	1	5,477	102,01	
			2	5,477	102,01	
3			5,441	101,34		
Mittelwert			5,369	100,00		
Standardabweichung			0,125	2,337		
RSD [%]			2,336	2,337		
6	A	a	1	4,787	89,16	
			2	4,723	87,97	
			3	4,787	89,16	
		b	1	4,851	90,35	
			2	4,819	89,75	
			3	4,819	89,75	
	B	a	1	4,915	91,54	
			2	4,947	92,14	
			3	4,979	92,73	
		b	1	4,979	92,73	
			2	5,010	93,31	
			3	4,979	92,73	
	C	a	1	4,883	90,95	
			2	4,915	91,54	
			3	5,042	93,91	
		b	1	5,010	93,31	
			2	5,074	94,50	
			3	5,393	100,44	
	Mittelwert			4,940	92,00	
	Standardabweichung			0,150	2,796	
	RSD [%]			3,041	3,039	

24	A	a	1	5,283	98,40	
			2	5,283	98,40	
			3	5,283	98,40	
		b	1	5,161	96,12	
			2	5,039	93,85	
			3	5,131	95,56	
		B	a	1	5,375	100,11
				2	5,436	101,25
				3	5,375	100,11
	b		1	5,375	100,11	
			2	5,466	101,80	
			3	5,436	101,25	
	C	a	1	5,344	99,53	
			2	5,375	100,11	
3			5,405	100,67		
b		1	5,283	98,40		
		2	5,466	101,80		
		3	5,619	104,65		
Mittelwert			5,341	99,47		
Standardabweichung			0,136	2,541		
RSD [%]			2,555	2,555		

48	A	a	1	5,252	97,82	
			2	5,252	97,82	
			3	5,282	98,38	
		b	1	5,313	98,95	
			2	5,282	98,38	
			3	5,313	98,95	
		B	a	1	5,436	101,25
				2	5,436	101,25
				3	5,405	100,67
	b		1	5,313	98,95	
			2	5,344	99,53	
			3	5,375	100,11	
	C	a	1	5,651	105,25	
			2	5,651	105,25	
			3	5,620	104,67	
		b	1	5,651	105,25	
			2	5,620	104,67	
			3	5,528	102,96	
		Mittelwert			5,429	101,12
		Standardabweichung			0,151	2,812
		RSD [%]			2,782	2,781

72	A	a	1	5,263	98,02
			2	5,354	99,72
			3	5,416	100,87
		b	1	5,691	105,99
			2	5,630	104,86
			3	5,569	103,72
	B	a	1	5,507	102,57
			2	5,569	103,72
			3	5,569	103,72
		b	1	5,660	105,42
			2	5,569	103,72
			3	5,722	106,57
	C	a	1	5,660	105,42
			2	5,660	105,42
3			5,630	104,86	
b		1	5,660	105,42	
		2	5,660	105,42	
		3	5,722	106,57	
Mittelwert			5,584	104,00	
Standardabweichung			0,127	2,364	
RSD [%]			2,272	2,273	

168	A	a	1	5,335	99,36
			2	5,275	98,25
			3	5,275	98,25
		b	1	5,366	99,94
			2	5,456	101,62
			3	5,456	101,62
	B	a	1	5,486	102,18
			2	5,456	101,62
			3	5,456	101,62
		b	1	5,607	104,43
			2	5,607	104,43
			3	5,637	104,99
	C	a	1	5,607	104,43
			2	5,546	103,29
			3	5,577	103,87
		b	1	5,396	100,50
			2	5,546	102,74
			3	5,577	103,87
	Mittelwert			5,480	102,06
	Standardabweichung			0,115	2,142
	RSD [%]			2,099	2,099

336	A	a	1	5,436	101,25	
			2	5,406	100,69	
			3	5,436	101,25	
		b	1	5,527	102,94	
			2	5,557	103,50	
			3	5,527	102,94	
		B	a	1	5,013	93,37
				2	5,104	95,06
				3	5,104	95,06
	b		1	5,315	98,99	
			2	5,315	98,99	
			3	5,285	98,43	
	C	a	1	5,376	100,13	
			2	5,376	100,13	
			3	5,376	100,13	
		b	1	5,436	101,25	
			2	5,436	101,25	
			3	5,406	100,69	
	Mittelwert			5,357	99,78	
	Standardabweichung			0,150	2,799	
	RSD [%]			2,805	2,805	

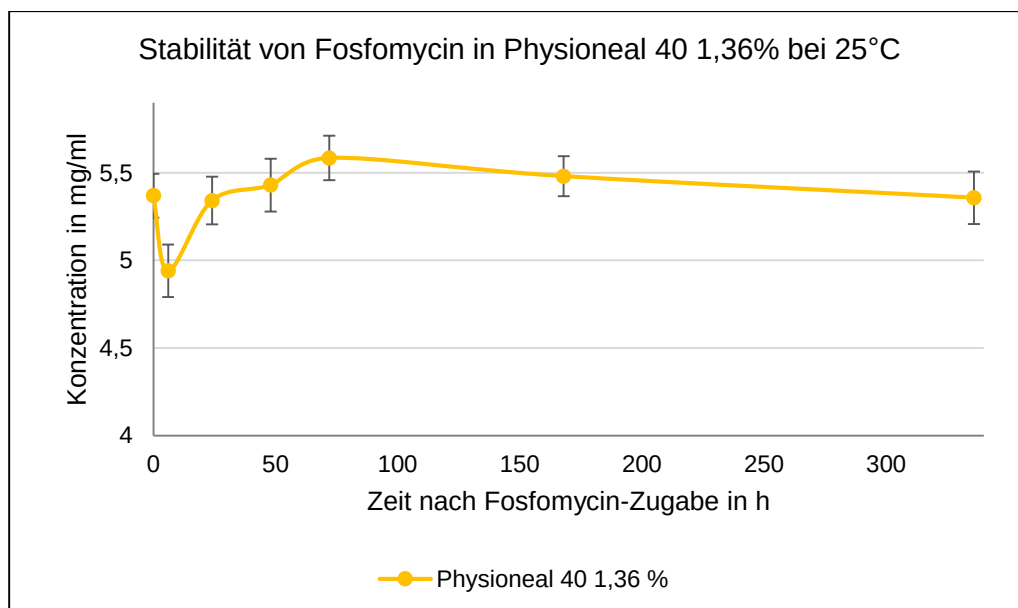


Abbildung 6.22: Graph der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 1,36 %* bei 25°C

6.3.8 HPLC-Analysen von Physioneal 40 2,27 % bei 25°C

Tabelle 6.23: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 2,27 %* bei 25°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A	a	1	5,448	101,47	
			2	5,392	100,43	
			3	5,142	95,77	
		b	1	5,337	99,40	
			2	5,448	101,47	
			3	5,448	101,47	
		B	a	1	5,243	97,65
				2	5,177	96,52
				3	5,209	97,02
	b		1	5,209	97,02	
			2	5,243	97,65	
			3	5,308	98,87	
	C	a	1	5,572	103,78	
			2	5,572	103,78	
			3	5,606	104,41	
		b	1	5,708	100,73	
			2	5,441	101,33	
3			5,441	101,33		
Mittelwert			5,369	100,00		
Standardabweichung			0,143	2,656		
RSD [%]			2,656	2,656		
6	A	a	1	5,177	96,42	
			2	5,203	96,91	
			3	5,282	98,38	
		b	1	5,203	96,91	
			2	5,256	97,89	
			3	5,361	99,85	
		B	a	1	5,094	94,87
				2	5,187	96,61
				3	5,377	100,15
	b		1	5,187	96,61	
			2	5,259	97,95	
			3	5,187	96,61	
	C	a	1	5,178	96,61	
			2	5,235	97,51	
			3	5,283	98,39	
		b	1	5,163	96,17	
			2	5,210	97,04	
			3	5,187	96,61	
		Mittelwert			5,224	97,31
		Standardabweichung			0,070	1,295
		RSD [%]			1,331	1,331

24	A	a	1	5,168	96,25
			2	5,190	96,66
			3	5,168	96,25
		b	1	5,211	97,05
			2	5,254	97,86
			3	5,211	97,05
	B	a	1	5,099	94,96
			2	5,075	94,52
			3	4,978	92,72
		b	1	5,147	95,86
			2	5,194	96,74
			3	5,219	97,21
	C	a	1	5,147	95,86
			2	5,075	94,52
			3	5,219	97,21
		b	1	5,315	98,99
			2	5,412	100,80
			3	5,340	99,45
		Mittelwert		5,190	96,66
		Standardabweichung		0,102	1,908
		RSD [%]		1,974	1,974
48	A	a	1	5,282	98,38
			2	5,210	97,19
			3	5,110	95,17
		b	1	4,894	91,15
			2	4,873	90,76
			3	4,829	89,94
	B	a	1	5,223	97,28
			2	5,223	97,28
			3	5,271	98,18
		b	1	5,271	98,18
			2	5,295	98,62
			3	5,271	98,18
	C	a	1	5,248	97,74
			2	5,199	96,84
			3	5,174	96,37
		b	1	5,343	99,52
			2	5,295	98,62
			3	5,271	98,18
		Mittelwert		5,183	96,53
		Standardabweichung		0,155	2,897
		RSD [%]		2,999	3,001

72	A	a	1	5,340	99,46	
			2	5,188	96,63	
			3	5,296	98,64	
		b	1	5,079	94,60	
			2	5,145	95,83	
			3	5,123	95,42	
		B	a	1	5,112	95,22
				2	5,089	94,78
				3	5,186	96,58
	b		1	5,356	99,75	
			2	5,209	97,02	
			3	5,234	97,48	
	C	a	1	5,526	102,93	
			2	5,526	102,93	
			3	5,526	102,93	
b		1	5,307	98,85		
		2	5,331	99,29		
		3	5,356	99,75		
Mittelwert			5,274	98,23		
Standardabweichung			0,148	2,757		
RSD [%]			2,805	2,806		

168	A	a	1	5,435	101,23
			2	5,413	100,82
			3	5,435	101,23
		b	1	5,391	100,41
			2	5,369	100,00
			3	5,369	100,00
	B	a	1	5,407	100,70
			2	5,383	100,26
			3	5,432	101,17
		b	1	5,358	99,80
			2	5,308	98,87
			3	5,285	98,43
	C	a	1	5,210	97,04
			2	5,334	99,34
			3	5,285	98,40
		b	1	5,308	98,87
			2	5,308	98,87
			3	5,235	97,51
	Mittelwert			5,348	99,61
	Standardabweichung			0,069	1,266
	RSD [%]			1,273	1,271

336	A	a	1	5,488	102,21	
			2	5,445	101,41	
			3	5,424	101,02	
		b	1	5,403	100,63	
			2	5,403	100,63	
			3	5,403	100,63	
		B	a	1	5,252	97,81
				2	5,347	99,59
				3	5,728	106,68
	b		1	5,300	98,71	
			2	5,181	96,49	
			3	5,133	95,61	
	C		a	1	5,253	97,83
				2	5,429	101,12
				3	5,102	95,03
		b	1	5,102	95,03	
			2	5,127	95,49	
			3	5,102	95,03	
		Mittelwert			5,312	98,94
		Standardabweichung			0,171	3,183
		RSD [%]			3,219	3,217

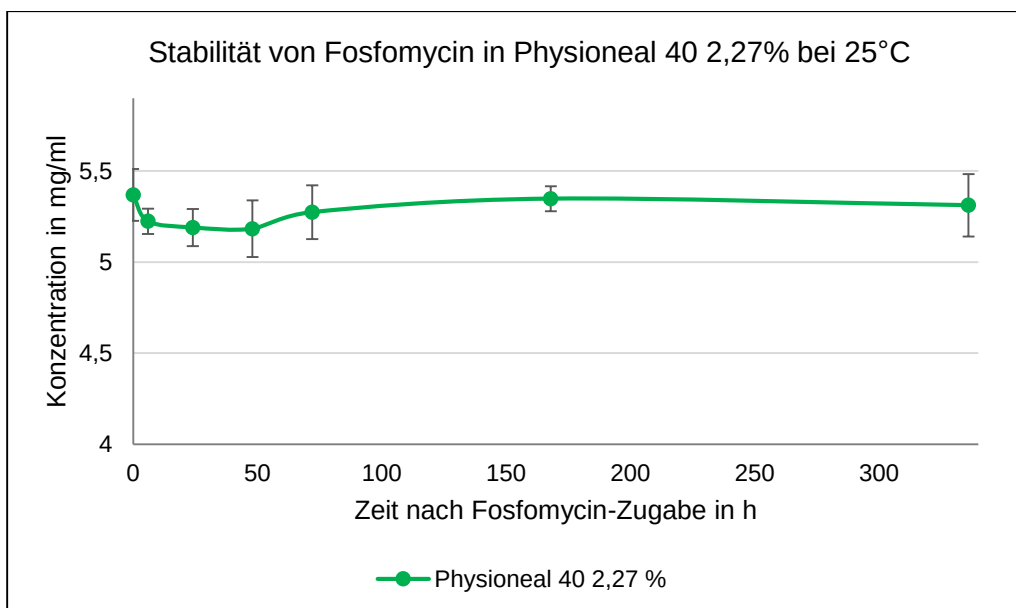


Abbildung 6.23: Graph der HPLC-Analysen von *Physioneal* 40 2,27 % bei 25°C

6.3.9 HPLC-Analysen von Extraneal bei 37°C

Tabelle 6.24: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Extraneal* bei 37°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A*	a	1	1,791	90,45	
			2	1,807	91,25	
			3	1,872	94,54	
		b	1	1,864	94,13	
			2	1,864	94,13	
			3	1,872	94,54	
		B	a	1	2,025	102,26
				2	2,017	101,86
				3	2,017	101,86
	b		1	2,025	102,26	
			2	2,049	103,47	
			3	2,033	102,67	
	C	a	1	1,953	98,63	
			2	1,969	99,43	
			3	1,888	95,34	
		b	1	1,920	96,96	
			2	2,001	101,05	
3			1,864	94,13		
Mittelwert			1,980	99,99		
Standardabweichung			0,061	3,090		
RSD [%]			3,090	3,090		
1	A*	a	1	1,572	79,39	
			2	1,588	80,19	
			3	1,580	79,79	
		b	1	1,564	78,98	
			2	1,540	77,77	
			3	1,572	79,39	
		B	a	1	1,726	87,16
				2	1,726	87,16
				3	1,669	84,28
	b		1	1,653	83,48	
			2	1,726	87,16	
			3	1,734	87,57	
	C	a	1	1,856	93,73	
			2	1,831	92,47	
			3	1,856	93,73	
		b	1	1,864	94,13	
			2	1,864	94,13	
			3	1,888	95,34	
		Mittelwert			1,783	90,03
		Standardabweichung			0,085	4,284
		RSD [%]			4,758	4,758

2	A*	a	1	1,638	82,72	
			2	1,638	82,72	
			3	1,629	72,26	
		b	1	1,604	71,00	
			2	1,579	79,74	
			3	1,571	79,34	
		B	a	1	1,764	89,08
				2	1,697	85,70
				3	1,722	86,96
	b		1	1,814	91,61	
			2	1,823	92,06	
			3	1,839	92,87	
	C	a	1	1,755	88,63	
			2	1,772	89,49	
			3	1,789	90,34	
b		1	1,949	98,42		
		2	1,873	94,59		
		3	1,915	96,71		
Mittelwert			1,809	91,37		
Standardabweichung			0,076	3,818		
RSD [%]			4,179	4,178		

4	A*	a	1	1,580	79,79
			2	1,623	81,96
			3	1,606	81,10
		b	1	1,606	81,10
			2	1,606	81,10
			3	1,623	81,96
	B	a	1	1,89	95,39
			2	1,846	93,22
			3	1,795	90,65
		b	1	1,846	93,22
			2	1,898	95,85
			3	1,829	92,36
	C	a	1	1,829	92,36
			2	1,872	94,54
			3	1,846	93,22
		b	1	1,872	94,54
			2	1,838	92,82
			3	1,838	92,82
	Mittelwert			1,850	93,42
	Standardabweichung			0,029	1,448
	RSD [%]			1,549	1,550

12	A*	a	1	1,565	79,03
			2	1,556	78,58
			3	1,516	76,56
		b	1	1,581	79,84
			2	1,532	77,37
			3	1,556	78,58
	B	a	1	1,874	94,64
			2	1,825	92,16
			3	1,850	93,43
		b	1	1,809	91,35
			2	1,850	93,43
			3	1,931	97,52
	C	a	1	1,939	97,92
			2	1,923	97,11
3			1,923	97,11	
b		1	2,021	102,06	
		2	2,029	102,46	
		3	2,021	102,06	
Mittelwert			1,916	96,77	
Standardabweichung			0,077	3,907	
RSD [%]			4,039	4,038	

24	A*	a	1	1,532	77,37
			2	1,540	77,77
			3	1,579	79,74
		b	1	1,548	78,17
			2	1,524	76,96
			3	1,516	76,56
	B	a	1	1,838	92,77
			2	1,860	93,93
			3	1,806	91,20
		b	1	1,868	94,33
			2	1,884	95,14
			3	1,868	94,33
	C	a	1	1,829	92,36
			2	1,829	92,36
			3	1,829	92,36
		b	1	1,899	95,90
			2	1,899	95,90
			3	1,884	95,14
	Mittelwert			1,858	93,81
	Standardabweichung			0,031	1,568
	RSD [%]			1,670	1,671

* Beutel A wurde, aufgrund eines Fehlers bei der Fosfomycin-Zugabe und daraus resultierenden stark erniedrigten Fosfomycin-Konzentrationen, für die Analysen bei 37°C nicht berücksichtigt

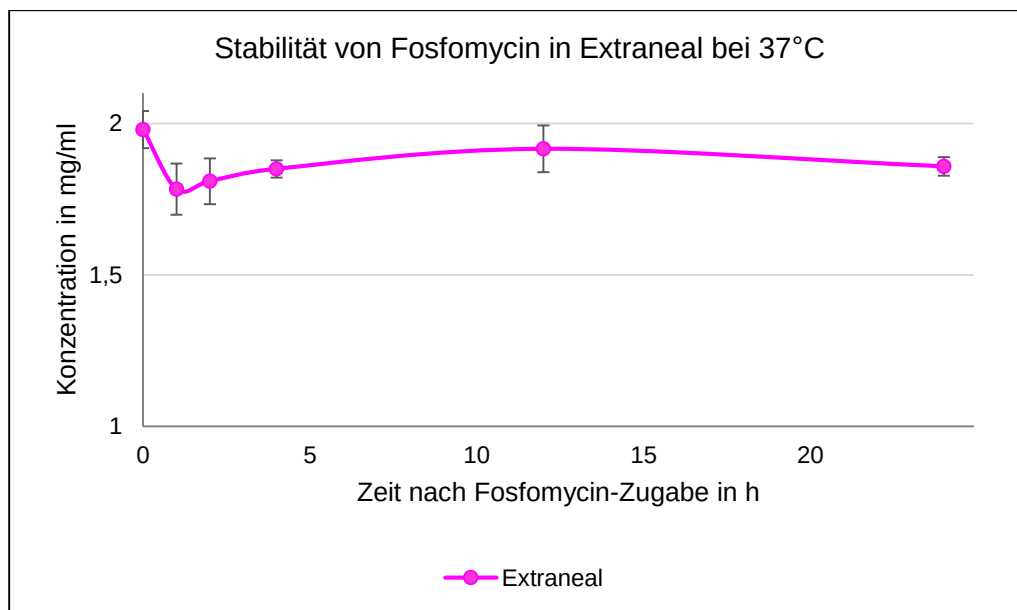


Abbildung 6.24: Graph der HPLC-Analysen von *Extraneal* bei 37°C

6.3.10 HPLC-Analysen von Nutrineal bei 37°C

Tabelle 6.25: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Nutrineal* bei 37°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A	a	1	1,528	96,26	
			2	1,535	96,70	
			3	1,543	97,21	
		b	1	1,575	99,22	
			2	1,591	100,23	
			3	1,615	101,74	
	B	a	1	1,575	99,22	
			2	1,607	101,24	
			3	1,607	101,24	
		b	1	1,630	102,69	
			2	1,662	104,71	
			3	1,662	104,71	
	C	a	1	1,559	98,22	
			2	1,559	98,22	
			3	1,575	99,22	
		b	1	1,551	97,71	
			2	1,615	101,74	
			3	1,583	99,73	
	Mittelwert				1,587	100,00
	Standardabweichung				0,040	2,508
	RSD [%]				2,507	2,208

1	A	a	1	1,417	89,27
			2	1,425	89,77
			3	1,410	88,83
		b	1	1,433	90,28
			2	1,472	92,74
			3	1,456	91,73
	B*	a	1	1,036	65,27
			2	1,036	65,27
			3	1,051	66,21
		b	1	1,075	67,72
			2	1,067	76,22
			3	1,090	68,67
	C	a	1	1,433	90,28
			2	1,433	90,28
3			1,456	91,73	
b		1	1,558	98,15	
		2	1,550	97,65	
		3	1,550	97,65	
Mittelwert			1,466	92,36	
Standardabweichung			0,055	3,466	
RSD [%]			3,753	3,752	

2	A	a	1	1,560	98,28
			2	1,552	97,78
			3	1,537	96,83
		b	1	1,529	96,33
			2	1,513	95,32
			3	1,545	97,33
	B	a	1	1,568	98,78
			2	1,576	99,29
			3	1,537	96,83
		b	1	1,552	97,78
			2	1,584	99,79
			3	1,576	99,29
	C	a	1	1,560	98,28
			2	1,529	96,33
			3	1,545	97,33
		b	1	1,545	97,33
			2	1,537	96,83
			3	1,521	95,82
	Mittelwert			1,548	97,53
	Standardabweichung			0,020	1,246
	RSD [%]			1,278	1,278

4	A	a	1	1,548	97,52	
			2	1,548	97,52	
			3	1,548	97,52	
		b	1	1,589	100,11	
			2	1,605	101,11	
			3	1,646	103,70	
		B*	a	1	1,368	86,18
				2	1,376	86,69
				3	1,368	86,18
	b		1	1,360	85,68	
			2	1,335	84,10	
			3	1,327	83,60	
	C	a	1	1,507	94,94	
			2	1,466	92,36	
			3	1,450	91,35	
b		1	1,515	95,44		
		2	1,507	94,94		
		3	1,532	96,52		
Mittelwert			1,538	96,92		
Standardabweichung			0,056	3,526		
RSD [%]			3,639	3,638		

12	A	a	1	1,515	95,44	
			2	1,532	96,52	
			3	1,540	97,02	
		b	1	1,557	98,09	
			2	1,548	97,52	
			3	1,532	96,52	
		B	a	1	1,599	100,74
				2	1,565	98,59
				3	1,540	97,02
	b		1	1,548	97,52	
			2	1,574	99,16	
			3	1,565	98,59	
	C	a	1	1,532	96,52	
			2	1,565	98,59	
			3	1,557	98,09	
		b	1	1,574	99,16	
			2	1,582	99,67	
			3	1,540	97,02	
	Mittelwert			1,554	97,88	
	Standardabweichung			0,021	1,334	
	RSD [%]			1,362	1,363	

24	A	a	1	1,477	93,05	
			2	1,468	92,48	
			3	1,477	93,05	
		b	1	1,528	96,26	
			2	1,502	94,63	
			3	1,536	96,77	
		B	a	1	1,596	100,55
				2	1,579	99,48
				3	1,579	99,48
	b		1	1,621	102,12	
			2	1,613	101,62	
			3	1,587	99,98	
	C	a	1	1,477	93,05	
			2	1,494	94,12	
			3	1,494	94,12	
		b	1	1,545	97,33	
			2	1,519	95,70	
			3	1,545	97,33	
	Mittelwert			1,535	96,73	
	Standardabweichung			0,050	3,181	
	RSD [%]			3,288	3,288	

* Beutel wurde, aufgrund stark abweichender Werte im Vergleich zu den anderen Beuteln, zu diesem Zeitpunkt der Probennahme nicht in die Analysen einbezogen

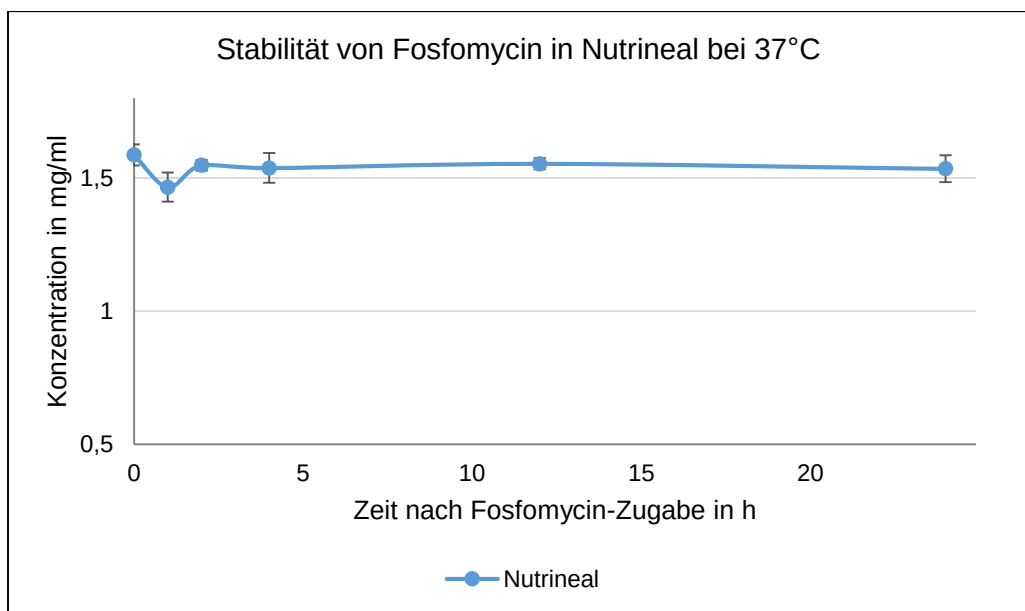


Abbildung 6.25: Graph der HPLC-Analysen von *Nutrineal* bei 37°C

6.3.11 HPLC-Analysen von Physioneal 40 1,36 % bei 37°C

Tabelle 6.26: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 1,36 %* bei 37°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A	a	1	1,832	92,52	
			2	1,851	93,48	
			3	1,890	95,45	
		b	1	2,045	103,27	
			2	2,006	101,30	
			3	2,045	103,27	
		B	a	1	1,967	99,33
				2	1,958	98,88
				3	1,996	100,80
	b		1	2,045	103,73	
			2	2,074	104,74	
			3	2,045	103,27	
	C*	a	1	0,996	48,78	
			2	0,960	48,48	
			3	0,965	48,73	
		b	1	1,018	51,41	
			2	1,027	51,86	
			3	1,056	53,33	
Mittelwert			1,980	100,00		
Standardabweichung			0,083	4,174		
RSD [%]			4,176	4,174		
1	A	a	1	1,886	95,24	
			2	1,906	96,25	
			3	1,866	94,23	
		b	1	1,937	97,82	
			2	1,927	97,31	
			3	1,906	96,25	
		B	a	1	1,927	97,31
				2	1,937	97,82
				3	1,876	94,74
	b		1	1,957	98,83	
			2	1,987	100,34	
			3	1,987	100,34	
	C	a	1	1,746	88,12	
			2	1,775	89,64	
			3	1,805	91,15	
		b	1	1,916	96,76	
			2	1,866	94,23	
			3	1,896	95,75	
	Mittelwert			1,895	95,67	
	Standardabweichung			0,066	3,335	
	RSD [%]			3,485	3,486	

2	A	a	1	1,956	98,78	
			2	1,977	99,84	
			3	1,956	98,78	
		b	1	2,030	102,52	
			2	2,072	104,64	
			3	2,145	108,32	
		B	a	1	2,065	104,28
				2	1,996	100,80
				3	2,026	102,31
	b		1	2,172	109,69	
			2	2,181	110,14	
			3	2,143	108,22	
	C	a	1	2,006	101,30	
			2	2,035	102,77	
			3	1,996	100,80	
b		1	1,957	98,83		
		2	1,996	100,80		
		3	2,035	102,77		
Mittelwert			2,041	103,09		
Standardabweichung			0,074	3,731		
RSD [%]			3,620	3,619		

4	A	a	1	2,000	101,00	
			2	2,051	103,58	
			3	2,031	102,57	
		b	1	2,061	104,08	
			2	2,081	105,09	
			3	2,071	104,59	
		B	a	1	2,021	102,06
				2	2,051	103,58
				3	2,041	103,07
	b		1	2,051	103,58	
			2	2,031	102,57	
			3	2,101	106,10	
	C	a	1	1,930	97,47	
			2	1,970	99,49	
			3	1,950	98,48	
		b	1	1,930	97,47	
			2	1,930	97,47	
			3	1,960	98,98	
		Mittelwert			2,015	101,74
		Standardabweichung			0,056	2,826
		RSD [%]			2,778	2,778

12	A	a	1	1,939	97,87
			2	1,889	95,39
			3	1,948	98,37
		b	1	1,987	100,34
			2	2,026	102,31
			3	2,036	102,82
	B	a	1	1,967	99,33
			2	1,938	97,87
			3	1,860	93,93
		b	1	1,997	100,85
			2	1,977	99,84
			3	2,016	101,81
	C	a	1	2,143	108,22
			2	2,192	110,70
3			2,182	110,19	
b		1	2,003	101,30	
		2	2,036	102,82	
		3	2,036	102,82	
Mittelwert			2,010	101,49	
Standardabweichung			0,090	4,546	
RSD [%]			4,478	4,479	

24	A	a	1	1,915	96,71
			2	1,943	98,12
			3	2,026	102,31
		b	1	1,952	98,58
			2	2,008	101,40
			3	1,952	98,58
	B*	a	1	1,536	77,57
			2	1,536	77,57
			3	1,545	78,02
		b	1	1,517	76,61
			2	1,545	78,02
			3	1,545	78,02
	C	a	1	1,971	99,54
			2	1,925	97,21
			3	1,971	99,54
		b	1	1,971	99,54
			2	2,008	101,40
			3	1,999	100,95
	Mittelwert			1,970	99,49
	Standardabweichung			0,035	1,754
	RSD [%]			1,765	1,763

* Beutel wurde, aufgrund stark abweichender Werte im Vergleich zu den anderen Beuteln, zu diesem Zeitpunkt der Probennahme nicht in die Analysen einbezogen

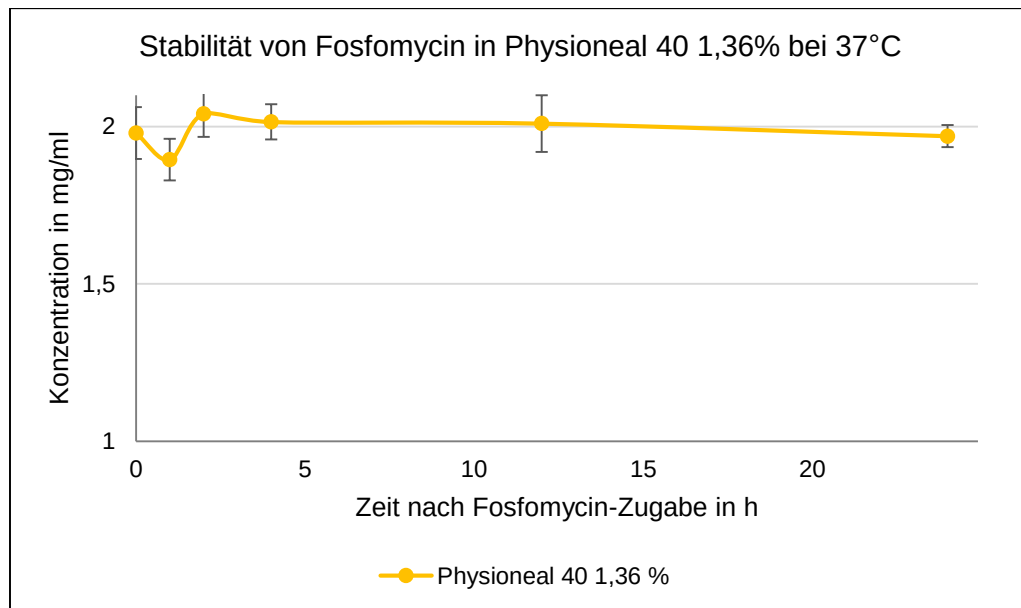


Abbildung 6.26: Graph der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 1,36 %* bei 37°C

6.3.12 HPLC-Analysen von *Physioneal 40 2,27 %* bei 37°C

Tabelle 6.27: Ergebnisse der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 2,27 %* bei 37°C

Zeitpunkt [h]	Beutel	Aufbereitung	Messung	Gehalt [mg/ml]	Gehalt [%]	
0	A	a	1	2,004	101,20	
			2	2,062	104,10	
			3	2,069	104,48	
		b	1	2,117	106,91	
			2	2,007	101,35	
			3	1,966	99,28	
		B	a	1	1,940	97,97
				2	1,920	96,96
				3	1,930	97,47
	b		1	1,971	99,54	
			2	1,947	98,32	
			3	1,976	99,79	
	C		a	1	1,964	99,18
				2	1,956	98,78
				3	1,899	95,90
		b	1	1,976	99,79	
			2	1,978	99,89	
			3	1,964	99,18	
		Mittelwert			1,980	100,00
		Standardabweichung			0,055	2,778
		RSD [%]			2,779	2,778

1	A	a	1	1,958	98,88	
			2	1,962	99,08	
			3	1,941	98,02	
		b	1	2,010	101,51	
			2	2,006	101,30	
			3	1,985	100,24	
		B	a	1	1,978	99,89
				2	1,962	99,08
				3	1,958	98,88
	b		1	2,015	101,76	
			2	2,033	102,67	
			3	2,029	102,46	
	C	a	1	2,024	102,21	
			2	2,013	101,66	
			3	2,024	102,21	
b		1	1,999	100,95		
		2	1,983	100,14		
		3	2,006	101,30		
Mittelwert			1,994	100,68		
Standardabweichung			0,029	1,440		
RSD [%]			1,430	1,430		

2	A*	a	1	1,522	76,86	
			2	1,509	76,20	
			3	1,520	76,76	
		b	1	1,547	78,12	
			2	1,559	78,73	
			3	1,544	77,97	
		B	a	1	1,819	91,86
				2	1,832	92,52
				3	1,836	92,72
	b		1	1,894	95,65	
			2	1,900	95,95	
			3	1,879	97,89	
	C	a	1	1,846	93,22	
			2	1,867	94,28	
			3	1,871	94,49	
		b	1	1,908	96,35	
			2	1,915	96,71	
			3	1,919	96,91	
	Mittelwert			1,874	94,63	
	Standardabweichung			0,034	1,738	
	RSD [%]			1,837	1,837	

4	A	a	1	1,800	90,90
			2	1,879	94,89
			3	1,825	92,16
		b	1	1,860	93,93
			2	1,837	92,77
			3	1,874	94,64
	B	a	1	1,808	91,30
			2	1,847	93,27
			3	1,839	92,87
		b	1	1,908	96,35
			2	1,926	97,26
			3	1,926	97,26
	C	a	1	1,848	93,32
			2	1,845	93,17
3			1,854	93,63	
b		1	1,945	98,22	
		2	1,945	98,22	
		3	1,926	97,26	
Mittelwert			1,872	94,52	
Standardabweichung			0,047	2,354	
RSD [%]			2,491	2,490	

12	A	a	1	1,836	92,72
			2	1,848	93,32
			3	1,868	94,33
		b	1	1,806	91,20
			2	1,842	93,02
			3	1,821	91,96
	B	a	1	1,821	91,96
			2	1,838	92,82
			3	1,818	91,81
		b	1	1,829	92,36
			2	1,868	94,33
			3	1,818	91,81
	C	a	1	1,934	97,67
			2	1,897	95,80
			3	1,915	96,71
		b	1	2,009	101,45
			2	2,047	103,37
			3	2,009	101,45
	Mittelwert				94,89
Standardabweichung				3,770	
RSD [%]				3,973	

24	A	a	1	1,869	94,38	
			2	1,869	94,38	
			3	1,833	92,57	
		b	1	1,905	96,20	
			2	1,941	98,02	
			3	1,959	98,92	
		B	a	1	1,797	90,75
				2	1,869	94,38
				3	1,851	93,48
	b		1	1,941	98,02	
			2	1,959	98,93	
			3	1,923	97,11	
	C		a	1	1,923	97,11
				2	1,869	94,38
				3	1,869	94,38
		b	1	2,102	106,15	
			2	2,120	107,06	
			3	2,048	103,42	
		Mittelwert				97,20
		Standardabweichung				4,479
		RSD [%]				4,608

- * Beutel wurde, aufgrund stark abweichender Werte im Vergleich zu den anderen Beuteln, zu diesem Zeitpunkt der Probennahme nicht in die Analysen einbezogen

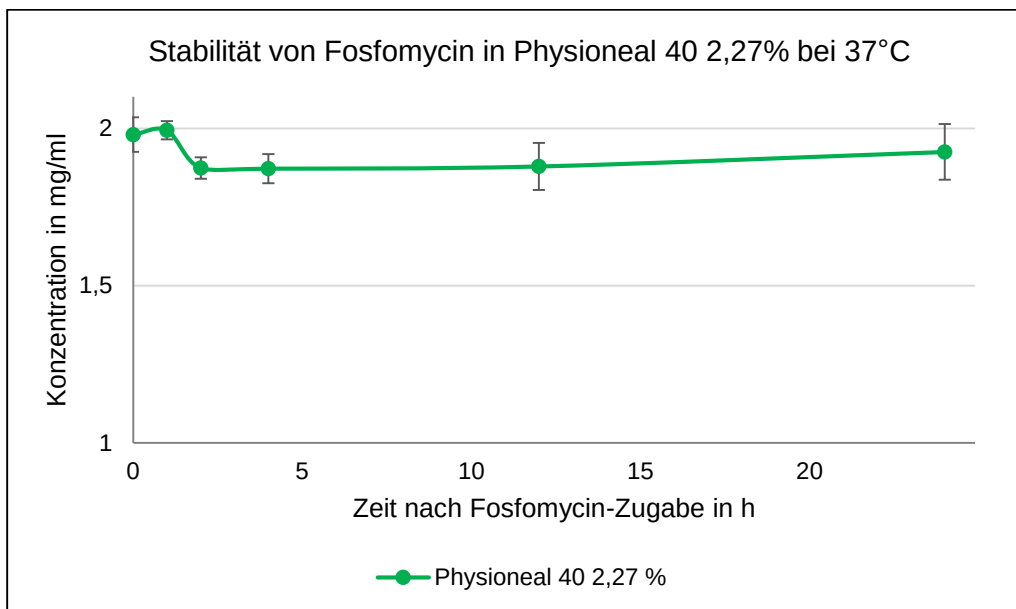


Abbildung 6.27: Graph der HPLC-Analysen von *Physioneal 40 2,27 %* bei 37°C

7 Abkürzungsverzeichnis

APD	automatische Peritonealdialyse
Art.-Nr.	Artikelnummer
AUC	<i>Area under the Curve</i> , Fläche unter der Kurve
CAD	<i>Collision Activated Decomposition</i> , durch Kollisionen aktivierte Fragmentierung
CAPD	<i>Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis</i> , kontinuierlich ambulante Peritonealdialyse
CCPD	<i>Continuous Cycling Peritoneal Dialysis</i> , kontinuierlich zyklische Peritonealdialyse
CE	<i>Collision Energy</i> , Kollisionsenergie
CEM	<i>Channel Electron Multiplier</i> , Kanalelektronenvervielfacher
Ch.-Nr.	Chargennummer
CUR	<i>Curtain Gas</i>
CXP	<i>Cell Exit Potential</i> , Zellaustrittspotential
DF	<i>Deflector</i> , Ablenkungspotential
DP	<i>Declustering Potential</i> , Deklusteringspotential
dwel time	Mess-Zeit
EP	<i>Entrance Potential</i> , Eintrittspotential
ESBL	Extended-Spectrum β -Lactamasen
ESI	Elektrospray-Ionisation
FIA	<i>Flow Injection Analysis</i> , Flussinjektionsanalyse
GPD	<i>Glucose Degradation Product</i> , Glucoseabbauprodukt
GS1	<i>nebulizing gas</i> , Vernebelungsgas
GS2	<i>drying gas</i> , Trocknungsgas
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> , Hochleistungsflüssigchromatographie
IPD	<i>Intermittent Peritoneal Dialysis</i> , intermittierende Peritonealdialyse

IS	<i>Ion Spray Voltage</i> , Ionenspray-Spannung
ISPD	<i>International Society for Peritoneal Dialysis</i> , Internationale Gesellschaft für Peritonealdialyse
Kontr.-Nr.	Kontrollnummer
Konz.	Konzentration
LC-MS	<i>Liquid Chromatography – Mass Spectrometry</i> , Flüssigchromatographie – Massenspektrometrie
MHD	Mindesthaltbarkeitsdatum
MRM	<i>Multiple Reaction Monitoring</i>
MS	Massenspektroskopie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
NIPD	nächtliche intermittierende Peritonealdialyse
PD	Peritonealdialyse
PZN	Pharmazentralnummer
QP	Quadrupol
RP	<i>Reversed Phase</i> , Umkehrphase
RSD	relative Standardabweichung
Ser.-Nr.	Seriennummer
SIM	<i>Selected Ion Modus</i>
TEM	<i>Temperature of Ion Source</i> , Ionenquellen-Temperatur
TIC	<i>Total Ion Current</i> , Totalionenstrom
TOF	<i>Time of Flight</i> , Flugzeitanalysator
UV-VIS	<i>Ultraviolet-visible</i> , Ultraviolett-sichtbares Licht

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der Peritonealdialyse	2
Abbildung 1.2: Beutelwechsel mit einem Y-System.....	3
Abbildung 1.3: Formen der PD	4
Abbildung 1.4: Schematische Darstellung eines Zweikammerbeutels	6
Abbildung 1.5: Fosfomycin und Phosphoenolpyruvat.....	10
Abbildung 2.1: PD-Beutel <i>Extraneal</i>	16
Abbildung 2.2: PD-Beutel <i>Nutrineal</i>	17
Abbildung 2.3: PD- Beutel <i>Physioneal 40 1,36 %</i>	19
Abbildung 2.4: PD-Beutel <i>Physioneal 40 2,27 %</i>	20
Abbildung 2.5: Fosfomycin-Durchstechampullen.....	21
Abbildung 3.1: Mini-Spike	23
Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau einer HPLC-Anlage	26
Abbildung 3.3: Aufbau eines Massenspektrometers.....	28
Abbildung 3.4: Funktionsprinzip eines Quadrupol-Massenfilters	29
Abbildung 3.5: Nach Fragmentierung von Fosfomycin m/z 137 entstehende Tochter- ionen.....	30
Abbildung 3.6: Totalionenstrom mit den Peaks der Tochterionen.....	33
Abbildung 3.7: Eichgerade zur Quantifizierung von Fosfomycin	34
Abbildung 4.1: Stabilität von Fosfomycin in Wasser bei 6°C, 25°C und 37°C	38
Abbildung 4.2: Stabilität von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 6°C.....	39
Abbildung 4.3: Stabilität von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 25°C.....	40
Abbildung 4.4: Stabilität von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 37°C.....	41
Abbildung 4.5: pH-Werte der PD-Lösungen bei 6°C.....	42
Abbildung 4.6: pH-Werte der PD-Lösungen bei 25°C.....	43
Abbildung 4.7: pH-Werte der PD-Lösungen bei 37°C.....	44
Abbildung 6.1: Graph der HPLC-Analyse von Fosfomycin in Wasser bei 6°C	50
Abbildung 6.2: Graph der HPLC-Analyse von Fosfomycin in Wasser bei 25°C	52
Abbildung 6.3: Graph der HPLC-Analyse von Fosfomycin in Wasser bei 37°C	54
Abbildung 6.4: Graph der pH-Werte von <i>Extraneal</i> bei 6°C	55
Abbildung 6.5: Graph der pH-Werte von <i>Nutrineal</i> bei 6°C.....	56

Abbildung 6.6: Graph der pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 6°C	57
Abbildung 6.7: Graph der pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 6°C	58
Abbildung 6.8: Graph der pH-Werte von <i>Extraneal</i> bei 25°C	59
Abbildung 6.9: Graph der pH-Werte von <i>Nutrineal</i> bei 25°C	60
Abbildung 6.10: Graph der pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 25°C	61
Abbildung 6.11: Graph der pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 25°C	62
Abbildung 6.12: Graph der pH-Werte von <i>Extraneal</i> bei 37°C	63
Abbildung 6.13: Graph der pH-Werte von <i>Nutrineal</i> bei 37°C	64
Abbildung 6.14: Graph der pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 37°C	65
Abbildung 6.15: Graph der pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 37°C	66
Abbildung 6.16: Graph der HPLC-Analysen von <i>Extraneal</i> bei 6°C	70
Abbildung 6.17: Graph der HPLC-Analysen von <i>Nutrineal</i> bei 6°C	74
Abbildung 6.18: Graph der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 6°C	78
Abbildung 6.19: Graph der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 6°C	82
Abbildung 6.20: Graph der HPLC-Analysen von <i>Extraneal</i> bei 25°C	86
Abbildung 6.21: Graph der HPLC-Analysen von <i>Nutrineal</i> bei 25°C	90
Abbildung 6.22: Graph der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 25°C	94
Abbildung 6.23: Graph der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 25°C	98
Abbildung 6.24: Graph der HPLC-Analysen von <i>Extraneal</i> bei 37°C	102
Abbildung 6.25: Graph der HPLC-Analysen von <i>Nutrineal</i> bei 37°C	105
Abbildung 6.26: Graph der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 37°C	109
Abbildung 6.27: Graph der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 37°C	112

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: Verwendete Geräte und Software	13
Tabelle 2.2: Verwendete Materialien	13
Tabelle 2.3: Verwendete Reagenzien	14
Tabelle 2.4: Verwendete Substanzen.....	14
Tabelle 2.5: Zusammensetzung von <i>Extraneal</i>	15
Tabelle 2.6: Zusammensetzung von <i>Nutrineal</i>	16
Tabelle 2.7: Zusammensetzung von <i>Physioneal 40 1,36 %</i> vor dem Mischen	18
Tabelle 2.8: Zusammensetzung von <i>Physioneal 40 1,36 %</i> nach dem Mischen.....	18
Tabelle 2.9: Zusammensetzung von <i>Physioneal 40 2,27 %</i> vor dem Mischen	20
Tabelle 2.10: Zusammensetzung von <i>Physioneal 40 2,27 %</i> nach dem Mischen.....	20
Tabelle 3.1: Volumina der PD-Lösungen und berechnete Fosfomycin-Konz.	23
Tabelle 3.2: Zeitpunkte der Probennahme	24
Tabelle 3.3: Parameter der MS/MS-Methode	31
Tabelle 3.4: Parameter der HPLC-Methode	32
Tabelle 3.5: Erhaltene Werte zur Erstellung der Eichgerade	34
Tabelle 3.6: Referenzlösungen von Fosfomycin in Wasser	35
Tabelle 3.7: Referenzlösungen von Fosfomycin in PD-Lösung	35
Tabelle 3.8: Wiederholbarkeit der Fosfomycin-Bestimmung.....	36
Tabelle 4.1: Überblick der Ergebnisse von Fosfomycin in Wasser	37
Tabelle 4.2: Überblick der Ergebnisse von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 6°C	39
Tabelle 4.3: Überblick von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 25°C	40
Tabelle 4.4: Überblick von Fosfomycin in PD-Lösungen bei 37°C	41
Tabelle 4.5: pH-Werte der PD-Lösungen bei 6°C.....	42
Tabelle 4.6: pH-Werte der PD-Lösungen bei 25°C.....	43
Tabelle 4.7: pH-Werte der PD-Lösungen bei 37°C.....	44
Tabelle 6.1: Ergebnisse der HPLC-Analysen von Fosfomycin in Wasser bei 6°C	49
Tabelle 6.2: Ergebnisse der HPLC-Analysen von Fosfomycin in Wasser bei 25°C	51
Tabelle 6.3: Ergebnisse der HPLC-Analysen von Fosfomycin in Wasser bei 37°C	53
Tabelle 6.4: pH-Werte von <i>Extraneal</i> bei 6°C.....	55
Tabelle 6.5: pH-Werte von <i>Nutrineal</i> bei 6°C.....	56
Tabelle 6.6: pH-Werte von <i>Physioneal 40 1,36 %</i> bei 6°C.....	57

Tabelle 6.7: pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 6°C	58
Tabelle 6.8: pH-Werte von <i>Extraneal</i> bei 25°C	59
Tabelle 6.9: pH-Werte von <i>Nutrineal</i> bei 25°C	60
Tabelle 6.10: pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 25°C	61
Tabelle 6.11: pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 25°C	62
Tabelle 6.12: pH-Werte von <i>Extraneal</i> bei 37°C	63
Tabelle 6.13: pH-Werte von <i>Nutrineal</i> bei 37°C	64
Tabelle 6.14: pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 37°C	65
Tabelle 6.15: pH-Werte von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 37°C	66
Tabelle 6.16: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Extraneal</i> bei 6°C.....	67
Tabelle 6.17: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Nutrineal</i> bei 6°C	71
Tabelle 6.18: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 1,36 % bei 6°C	75
Tabelle 6.19: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 6°C	79
Tabelle 6.20: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Extraneal</i> bei 25°C.....	83
Tabelle 6.21: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Nutrineal</i> bei 25°C	87
Tabelle 6.22: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 25°C	91
Tabelle 6.23: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 25°C	95
Tabelle 6.24: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Extraneal</i> bei 37°C.....	99
Tabelle 6.25: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Nutrineal</i> bei 37°C	102
Tabelle 6.26: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 1,36 % bei 37°C	106
Tabelle 6.27: Ergebnisse der HPLC-Analysen von <i>Physioneal</i> 40 2,27 % bei 37°C	109

10 Literaturverzeichnis

- [1] Aktories K., Förstermann U., Hofmann F., Starke K. (2009). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 10. Auflage, Urban und Fischer Verlag, München, ISBN: 978-3-437-42522-6
- [2] Bailie G. R., Kane M. P. (1995), Stability of drug additives to peritoneal dialysate, *Peritoneal Dial. Int.*, 15, 328-335
- [3] De Vin F., Rutherford P., Faict D. (2009), Intraperitoneal administration of drugs in peritoneal dialysis patients: A review of compatibility and guidance for clinical use, *Peritoneal Dial. Int.* 29, 5-15
- [4] Dellas C. (2011), *Crashkurs Pharmakologie*, 3. Auflage, Urban und Fischer Verlag, München, ISBN: 978-3-437-43182-1
- [5] Dominik A., Steinhilber D. (2002), *Instrumentelle Analytik*, 2. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart
- [6] *Fachinformation Extraneal Peritonealdialyselösung*, Baxter Healthcare GmbH, Juni 2012
- [7] *Fachinformation Fosfomycin medicamentum 4g i.v. -Trockensubstanz zur Infusions-bereitung*, medicamentum pharma GmbH, Allerheiligen, Juni 2014
- [8] *Fachinformation Nutrineal PD4 mit 1,1 % Aminosäuren, Peritonealdialyselösung*, Baxter Healthcare GmbH, 1020 Wien, April 2012
- [9] *Fachinformation Physioneal 40 Glucose 1,36 % m/v / 13,6 mg/ml – Peritonealdialyselösung*, Baxter Healthcare GmbH, 1020 Wien, Jänner 2016
- [10] *Fachinformation Physioneal 40 Glucose 2,27 % m/v / 22,7 mg/ml – Peritonealdialyselösung*, Baxter Healthcare GmbH, 1020 Wien, Jänner 2016
- [11] http://www.baxter.at/patienten_angehoerige/therapiegebiete/dialyse/peritonealdialyse.html, abgerufen am 01.04.2016
- [12] <https://aspreister.basg.gv.at>, abgerufen am 27.03.2016
- [13] Jain A. K., Blake P., Cordy P., Garg A. X. (2012), Global trends in rates of peritoneal dialysis, *J. Am. Soc. Nephrol.* 23.3, 533-544
- [14] Mak-Tao Li P. et al. (2010), Peritoneal dialysis-related infections recommendations. 2010 update, *Peritoneal Dial. Int.* 30.4, 393-423

- [15] Kopriva-Altfahrt G. et al (2009), Exit-site care in Austrian peritoneal dialysis centers- a nationwide survey, *Peritoneal Dial. Int.*, 29.3, 330-339
- [16] Mujais S. (2006), Microbiology and outcomes of peritonitis in North America, *Kidney Int.*, 70, 55-62
- [17] Nowack R., Birck R., Weinreich Th. (2009), *Dialyse und Nephrologie für Fachpersonal*, 3. Auflage, Springer Medizin Verlag, Heidelberg, ISBN: 978-3-540-72322-6
- [18] Pachon-Ibanez M. E. et al. (2011), Efficacy of fosfomycin and its combination with linezolid, vancomycin and imipenem in an experimental peritonitis model caused by a *Staphylococcus aureus* strain with reduced susceptibility to vancomycin, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 30, 89-95
- [19] Plail M. (2006), *Peritonealer Stoff- und Flüssigkeitstransport und peritoneale Immunkompetenz an der automatisierten Peritonealdialyse (APD) nach Langzeitbehandlung mittels Bikarbonat/Laktat gepuffertem Dialysat. Ein Vergleich zu Laktat gepuffertem Dialysat*, Dissertation, Medizinische Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- [20] Pletz M. W. et al. (2015), Multiresistente Erreger-Infektionsmanagement 2015, *Dtsch Med Wochenschr*, 140, 975-981
- [21] Prasad K. N. et al. (2014), Microbiology and outcomes of peritonitis in Northern India, *Peritoneal Dial. Int.*, 34.2, 188-194
- [22] Quentin C., Bouchet J. L., Gaillard I. et al. (1990), Stability of fosfomycin and quinolones in peritoneal dialysis solution, *J. Antimicrob. Chemother.*, 25, 878-880
- [23] Rücker G., Neugebauer M., Willems Günter G. (2013), *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*, 5. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, ISBN: 978-3-8047-3092-2
- [24] Tast Ch., Mettang Th. (2013), *Peritonealdialyse Klinischer Leitfaden für Pflegekräfte*, 4. Auflage, Hans Huber Verlag, ISBN: 978-3-456-85335-2
- [25] Tobudic S. et al. (2012), Pharmacokinetics on intraperitoneal and intravenous Fosfomycin in automated peritoneal dialysis patients without peritonitis, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 56.7, 3992-3995

- [26] Vychtyl et al. (2013), *Wichtige Aspekte der Peritonealdialyse*, Nephroscript Interdisziplinäre Fortbildungsreihe der Österreichischen Gesellschaft für Nephrologie, 3