

MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Quantifizierung von Ciprofloxacin im Dialysat von Peritonealdialysepatienten

verfasst von | submitted by

Simone Koliha BSc

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra pharmaciae (Mag. pharm.)

Wien | Vienna, 2024

Studienkennzahl lt. Studienblatt | Degree
programme code as it appears on the
student record sheet:

UA 066 605

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree
programme as it appears on the student
record sheet:

Masterstudium Pharmazie

Betreut von | Supervisor:

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

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	1
Abstract	2
1 Einleitung.....	3
1.1 Peritonealdialyse	5
1.2 Peritoneum.....	7
1.3 Peritonealer Zugang und Peritonealdialyselösungen.....	8
1.4 Arten der Peritonealdialyse	9
1.4.1 Kontinuierlich ambulante Peritonealdialyse – CAPD.....	10
1.4.2 Automatisierte Peritonealdialyse – APD.....	10
1.5 Vor- und Nachteile der Peritonealdialyse verglichen mit konventioneller Hämodialyse .	12
1.6 Patienteneignung.....	13
1.7 Größte Problematik: Peritonitis.....	13
1.8 Medikation und Wirksamkeit von Antibiotika.....	14
1.8.1 Ciprofloxacin	14
1.8.1.1 Struktur und Eigenschaften	14
1.8.1.2 Wirkmechanismus	15
1.8.1.3 Anwendungsgebiete	16
1.8.1.4 Minimale Hemmkonzentrationen – MHK.....	16
1.8.1.5 Kompatibilität mit kommerziellen Peritonealdialyselösungen	17
2 Zielsetzung / Fragestellung	18
3 Spezieller Teil und Ergebnisse	19
3.1 Optimierung der MS/MS – Parameter	19
3.2 Optimierung der HPLC – Parameter	20
3.2 Eichgerade	21
3.3 Patientenproben.....	22
3.3.1 Alle Patienten	22
3.3.1.1 Durchschnitt aller Patienten.....	23
3.3.2 Patient 01	24
3.3.3 Patient 02	25
3.3.4 Patient 03	26
3.3.5 Patient 04	27
3.3.6 Patient 05	28
3.3.7 Patient 06	29
4 Diskussion und Schlussfolgerung / Ausblick	30

5 Experimenteller Teil / Material und Methoden.....	34
5.1 Behandlung der Patienten im Universitätsklinikum St. Pölten	34
5.1.1 Ciprofloxacin Kabi 400 mg/200 ml Infusionslösung®	34
5.1.2 Peritonealdialyselösung Extraneal®	35
5.2 Stabilität von Ciprofloxacin in Peritonealdialyselösungen	35
5.3 Aufarbeitung der Dialysatproben.....	36
5.4 Analyse der Proben.....	36
5.4.1 Statistische Auswertung	37
5.5 Ciprofloxacin-HCl.....	37
5.6 Quantifizierungsmethode HPLC-MS/MS.....	38
5.6.1 High Performance Liquid Chromatography – HPLC	38
5.6.1.1 Aufbau HPLC	40
5.6.2 Massenspektrometrie – MS.....	41
5.6.2.1 Aufbau eines Massenspektrometers.....	41
5.6.2.2 Elektrosprayionisation – ESI.....	42
5.6.2.3 Tandemmassenspektrometrie – MS/MS	43
5.6.2.5 Multiple Reaction Monitoring – MRM	44
5.7 Konfigurationen, die für diese Arbeit verwendet wurden.....	45
5.8 Verwendete Substanzen, Reagenzien und Geräte.....	46
6 Abkürzungsverzeichnis / Glossar	47
7 Literaturverzeichnis.....	49
8 Abbildungsverzeichnis.....	55
8.1 Abbildungen.....	55
8.2 Diagramme	56
9 Tabellenverzeichnis.....	57
10 Anhang.....	58
10.1 Patient 01.....	58
10.2 Patient 02.....	60
10.3 Patient 03.....	62
10.4 Patient 04.....	64
10.5 Patient 05.....	66
10.6 Patient 06.....	68
10.7 MRM-Spektren.....	70

Zusammenfassung

Etwa 10.000 Menschen in Österreich sind aufgrund von Nierenschäden oder Nierenfunktionsstörungen auf eine Nierenersatztherapie oder eine neue Niere angewiesen. Da diese allerdings nicht annähernd in einem ausreichenden Ausmaß vorhanden sind, ist ein Großteil dieser Menschen auf die Reinigung des Blutes mittels Dialyse angewiesen. Neben der vergleichsweise aufwendigen, teuren und stationär durchgeführten Hämodialyse gibt es für einen Teil dieser Patienten die Möglichkeit der Peritonealdialyse. Diese hat den ungemein großen Vorteil, dass sie von Patienten nach einer entsprechenden Einschulung selbstständig vorgenommen werden kann. Teilweise sogar ausschließlich während der Nachtstunden, womit für die Patienten eine deutliche Steigerung der Lebensqualität wie auch der Lebenserwartung erreicht werden kann.

Es besteht allerdings das Problem, dass es durch nicht sterile Handhabung und/oder eine unzureichend sterile Umgebung zu Infektionen mit teils schwerwiegendem Verlauf kommen kann. Die Behandlung birgt zudem das Risiko einer peritonealdialysebedingten Peritonitis. Um dies zu verhindern, kann prophylaktisch ein Antibiotikum verabreicht werden. Zwar existiert aktuell keine allgemeine Leitlinie mit Empfehlungen, jedoch wurde in den letzten Jahren die Effektivität und Verträglichkeit unterschiedlicher Antibiotika sowie Verabreichungsmethoden im Zusammenhang mit der Peritonealdialyse untersucht.

In dieser Masterarbeit wurden die Konzentrationen des Antibiotikum Ciprofloxacin in Dialysatproben von sechs Peritonealdialysepatienten quantifiziert, welches intraperitoneal – also über die Peritonealdialyseflüssigkeit – verabreicht wurde. Zur Quantifizierung wurde mit HPLC-MS/MS mit externem Standard gearbeitet. Da Ciprofloxacin konzentrationsabhängig wirkt, ist es essentiell zu wissen, ob eine ausreichende Konzentration für eine Wirkung am Zielort – direkt am Peritoneum – erreicht wird.

Abstract

Approximately 10,000 people in Austria rely on kidney replacement therapy or a kidney transplant due to a kidney damage or dysfunction. However, the availability of donor kidneys is far from sufficient. So, most of these individuals depend on blood purification through dialysis. In addition to the often complex, expensive, and hospital-based haemodialysis, some patients have the opinion of peritoneal dialysis. But this method is only used for approximately 7 % of patients. A significant advantage of peritoneal dialysis is that patients can perform it independently, often even exclusively at night. This significantly enhances their quality of life and survival rates.

But there is a risk that improper handling or non-sterile environment may lead to infections with potential severe consequences, such as peritoneal dialysis-associated peritonitis. To prevent this, patients get prophylactic antibiotic administration but no universal guidelines recommendations currently exist. In recent years, the efficacy and compatibility of different antibiotics and administration routes in connection with peritoneal dialysis have been studied.

In this master's thesis, the concentrations of the antibiotic ciprofloxacin in dialysate samples from six peritoneal dialysis patients were quantified. Ciprofloxacin was administered intraperitoneally through the peritoneal dialysis fluid. The quantification was performed by using HPLC-MS/MS with an external standard.

1 Einleitung

Die Niere erfüllt im Körper eine Reihe an wichtiger Funktionen. Man denkt sofort an die Reinigung des Blutes und die Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes. Aber die Nieren leisten noch viel mehr. Sie regulieren über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) den Blutdruck, sind durch die Produktion von diversen Hormonen wie Erythropoetin etwa an der Bildung von Erythrozyten und der Umwandlung von Vitamin D-Vorstufen in seine aktive Form Cholecalciferol beteiligt und sie spielen auch im Säure-Basen-Haushalt eine wichtige Rolle, u. a. durch Ausscheidung und Rückresorption sauer bzw. basisch reagierender Ionen wie Wasserstoff (H) und Bicarbonat (HCO_3). Zusätzlich sorgen sie auch dafür, dass lebenswichtige Stoffe wieder aus dem Ultrafiltrat rückresorbiert werden und dem Körper zur Verfügung stehen (Salze, Aminosäuren, Zucker,...). Die Nierenfunktion kann anhand der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) abgeschätzt werden. Zur genauen Beurteilung der Funktion werden dann auch andere Parameter herangezogen. Bei einer chronischen Niereninsuffizienz (NI) ist es wichtig rechtzeitig Maßnahmen zu ergreifen. Anfangs kann gegebenenfalls mit Medikamenten für Entlastung der Nieren gesorgt werden, aber spätestens ab einer NI Stadium 5 (GFR <15 ml/min) – besser ab Stadium 4 (GFR <30 ml/min) – sollte eine Dialyse angedacht werden. Optimalerweise wird die Niere schon zuvor entlastet. Wichtig ist auch, eine sich anbahnende chronische (NI) rechtzeitig zu erkennen, da diese im Gegensatz zur akuten NI – die ebenso sofortige Behandlung bedarf – unumkehrbar ist. Es gibt allerdings auslösende Faktoren, an denen bereits im Vorfeld geschraubt werden kann, wie Bluthochdruck, Diabetes mellitus, Autoimmunerkrankungen oder Harnabflussstörungen¹⁻⁶.

In der Therapie der terminalen, dialysepflichtigen Niereninsuffizienz ist die Nierentransplantation die optimale Therapie. Da dies aber aufgrund langer Wartezeiten in der Regel keine unmittelbare Behandlung verspricht, sind die Patienten auf eine Dialyse angewiesen. Bei der Dialyse wird das Blut gefiltert und von Abfall- und Stoffwechselprodukten weitestgehend befreit. Hierfür haben sich die Hämodialyse (HD) und Peritonealdialyse (PD) etabliert. Die HD ist die am häufigsten angewendete Dialyseform. Sie erfolgt extrakorporal – das Blut wird aus dem Körper geleitet, über eine semipermeable Membran gefiltert und wieder in den Körper geleitet^{3,7-9}.

Die PD ist ein modernes Heimdialyseverfahren und hat den großen Vorteil, dass sie sich positiv auf die Lebensqualität, aber vor allem auf die Nierenrestfunktion und damit auch auf die Lebenserwartung auswirkt. In den ersten Jahren nach Dialysebeginn zeigt die PD vergleichbare, in manchen Studien sogar bessere Ergebnisse in puncto Lebenserwartung und bringt einige

weitere Vorteile wie ein geringeres Infektionsrisiko und geringere Therapiekosten mit sich. Selbst Patienten mit Diabetes mellitus können von dieser Art der Therapie sehr profitieren^{7,8}.

Die PD ist ein intrakorporales Verfahren, bei dem das Blut über das Peritoneum (Bauchfell) gefiltert wird und die Stoffwechselprodukte über ein Dialysat entfernt werden. Die Dialysatwechsel erfolgen nach bestimmten Wechselregimen, die im Vorfeld bestimmt, an den Patienten angepasst und etabliert werden müssen. Danach können sie in häuslicher Umgebung stattfinden. Die Wechselzeiten sind in einem gewissen Rahmen flexibel und können gegebenenfalls auch anderen Ortes durchgeführt werden. So können die Patienten nicht nur einem aktiven Lebensstil (Arbeit, Freizeitaktivitäten bis hin zu Sport) nachgehen, sondern auch Reisen und Urlaub sind möglich – und das bei einer vergleichbaren, teilweise sogar besseren Lebenserwartung^{3,4,7,9–14}.

Ein großer Nachteil, der zwingend im Blick zu behalten ist, die Gefahr an einer Peritonealdialysebedingten Peritonitis zu erkranken. Sie ist die häufigste Form der Peritonitis und kann nicht nur fatale Folgen für den Patienten haben, sondern auch die Effektivität der PD langfristig reduzieren bis unmöglich machen^{15–22}.

1.1 Peritonealdialyse

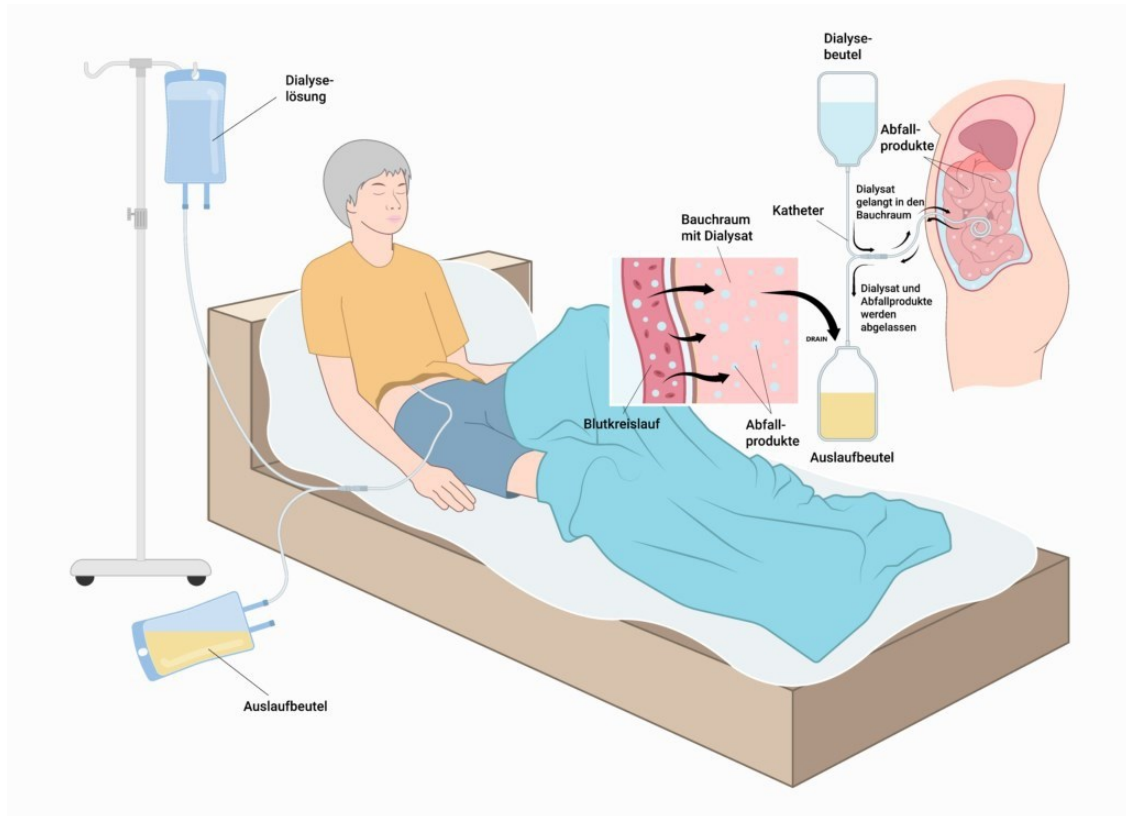


Abbildung 1: Grundzüge einer Peritonealdialyse (<https://rieopharm.de/peritonealdialyse/>, 31.07.2024)

Neben der klassischen Dialyse – der Hämodialyse – ist die Peritonealdialyse eine weitere Form der Dialyse bei der Stoffwechsel- und Abbauprodukte wie auch überschüssiges Körperwasser ausgeleitet werden können, wenn dies von den Nieren nicht mehr oder nur noch eingeschränkt gewährleistet werden kann^{7,10,23}.

Wie man *Abbildung 1* entnehmen kann, wird eine Peritonealdialyseflüssigkeit (PDF) über einen anfangs gelegten Zugang am Bauch (Katheter) in das Peritoneum geleitet und für einen bestimmten Zeitraum darin belassen. Durch die gute Durchblutung des Peritoneums können harnpflichtige Stoffe via Diffusion in das Dialysat übertreten. Die Effektivität der Dialyse wird vor allem von der Permeabilität des Peritoneums bestimmt. Das Konzentrationsgefälle zwischen Blut und Dialyseflüssigkeit erleichtert, dass Abfall- und Stoffwechselprodukte wie auch überschüssiges Körperwasser (Ultrafiltration) abgeführt werden. Die Grundlage der PD bilden Diffusion, Konvektion und Ultrafiltration^{7,8,10,11}.

Es werden beim Erwachsenen ca. 3-4 l Dialyseflüssigkeit über den Katheter in den Bauchraum geleitet und dort belassen. Dieser Vorgang dauert ca. 20 min. Nach einigen Stunden muss das Dialysat abgelassen und gegebenenfalls durch ein frisches ersetzt werden. Während der Dialyse können die Beutel abgenommen und der Katheter dicht verschlossen werden. Das Ablassen erfolgt mittels Schwerkraft oder automatisiert über einen Cycler^{11,12,15,24}.

Der Cycler steuert die Verweildauer und Füllmenge sowie den Ein- und Auslauf der PDF. Welche Peritonealdialysemethode und im weiteren Behandlungsregime gewählt wird, hängt von der Permeabilität des Peritoneums aber auch von der Restfunktion der Nieren ab. Wichtig ist, dass das Dialysat Stoffwechselprodukte nur bis zur Sättigungskonzentration aufnehmen kann und dementsprechend rechtzeitig getauscht werden muss. Der Stoffaustausch wird durch den osmotischen Druck durch die hypertone Glukoselösung zusätzlich vorangetrieben. Er erfolgt mit zunehmender Zeit immer langsamer, da ein Teil der Glukose vom Körper aufgenommen wird und sich dadurch das Konzentrationsgefälle verändert. Zudem steigt die Konzentration an Stoffwechselprodukten kontinuierlich, was den Austausch ebenso verlangsamt^{10–12,15,24}.

Als übliches osmotisches Reagens wird Glukose (in unterschiedlichen Konzentrationen) in den Dialyselösungen verwendet. Diese können unter Anpassung der Antidiabetischen Therapie selbst bei Diabetes mellitus angewendet werden. Es gibt allerdings auch Dialyselösungen die ohne Glukose auskommen. Hierfür werden Aminosäuren oder Polyglucose als osmotisches Agens verwendet. Eine solche glukosefreie, osmotische Substanz ist Icodextrin. Icodextrin wird in der Extraneal® Dialyselösung verwendet, die in der Studie verwendet wurde, die dieser Arbeit zugrunde liegt. Es besteht aus Oligo- und Polysacchariden, wirkt kolloidosmotisch und es erfolgt nahezu keine Resorption. Glukose hat Nachteile für den Metabolismus (u. a. Gewichtszunahme, Glukosetoleranz, Lipidstoffwechselstörungen) und kann durch jahrelange Anwendung das Peritoneum in seiner Funktion verändern. Zusätzlich entstehen bei konventionellen, laktathaltigen Glukoselösungen durch Hitzesterilisation toxische Glukosedegradationsprodukte (GDP). Zwar sorgt der niedrige pH-Wert der Lösung dafür, dass weniger GDP entstehen, aber diese sind zelltoxisch und führen zu Ablagerungen von sog. advanced glycation endproducts (AGEs) an der Peritonealmembran, was langfristig Schäden verursacht und die Funktion des Peritoneums beeinträchtigt. Zudem

können diese auch aufgenommen werden und systemisch wirken. AGEs sind vor allem für ihre gefäßschädigende Wirkung bei Diabetes mellitus bekannt. Aber auch die Anwendung von nicht glukosehaltigen PDF kann Zytokine aktivieren, die inflammatorische und fibrotische Prozesse am Peritoneum bewirken oder systemische Prozesse auslösen können^{7,10,25–27}.

Jüngere Studien zeigen vielversprechende Ergebnisse, wenn die PD als initiales Dialyseverfahren Anwendung findet und dann im weiteren Behandlungsverlauf durch eine HD ersetzt wird. Dieses Vorgehen wird „Integrated Care“ genannt. Hierbei ist es entscheidend, den Zeitpunkt für den Wechsel zur HD korrekt und rechtzeitig zu wählen. Um diesen Zeitpunkt nicht zu versäumen, werden regelmäßig Parameter wie die Ultrafiltrationsleistung, die Clearance von Urämietoxinen sowie die Funktionalität der Peritonealmembran überprüft. Allgemein lässt sich sagen, dass es nur wenige absolute Kontraindikationen für die PD gibt (siehe *Kapitel 1.6*)^{28–30}.

1.2 Peritoneum

Das Peritoneum ist eine dünne, semipermeable Membran, die die gesamte freie Bauchhöhle auskleidet und das sämtliche Bauchorgane beinhaltet. Es schützt, stützt, hält die Organe in Position und sorgt aber gleichzeitig dafür, dass die Organe sich gegeneinander verschieben können. Durch die Faltenbildung hat es bis zu 2 m² Größe. Im Peritoneum befinden sich ca. 50-70 ml viskose Flüssigkeit, die den Reibungswiderstand zwischen den Organen reduziert^{10,16,31-33}.

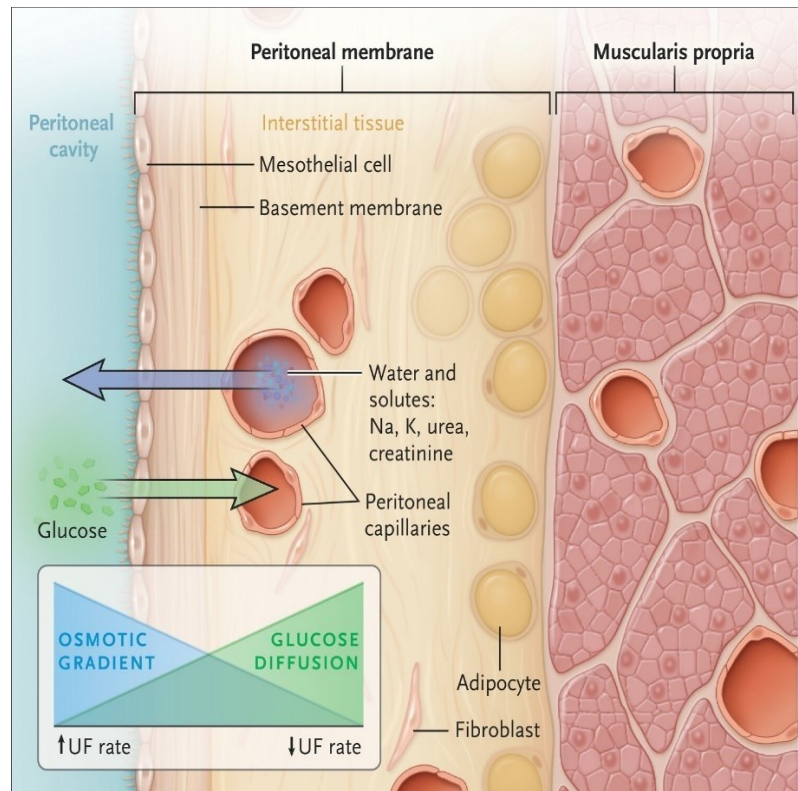


Abbildung 2: Aufbau und Stoffaustausch am Peritoneum (Teitelbaum, 2021)

Wie *Abbildung 2* zeigt, setzt sich das Peritoneum aus einer mesothelialen Schicht mit einer Bindegewebsschicht zusammen, die sich im Wesentlichen aus Kollagen und Mukopolysacchariden besteht und von Blut- und Lymphgefäßen durchzogen ist. Nach Geppert *et al.* 2015 ist das peritoneale Endothel die größte Barriere für den Transport und somit den bidirektionalen Austausch von Stoffen. Das Peritoneum ist besonders gut durchblutet und kann deswegen vergleichbar mit dem Endothel bei der Hämodialyse fungieren. Durch das Konzentrationsgefälle können über die Kapillaren des Peritoneums harnpflichtige, kleine Moleküle in das Dialysat übertreten. Es ist allerdings durchlässiger für etwas größere Moleküle wie Proteine. Dieser Verlust an Proteinen muss z. B. über die Nahrung wieder ausgeglichen werden^{10,13,16,23}.

Je permeabler das Peritoneum ist, desto effektiver gestaltet sich die Therapie mittels PD. Die Permeabilität kann relativ einfach mittels eines standardisierten Tests überprüft werden, dem sogenannten Peritonealen Äquilibrationstest (PET). Hierbei werden 2 l eines 2,5%igen Glukosedialysats über 4 h im Peritoneum belassen. Anschließend wird das Verhältnis von Kreatinin im Dialysat zum Plasma ermittelt^{8,10,34-36}.

1.3 Peritonealer Zugang und Peritonealdialyselösungen

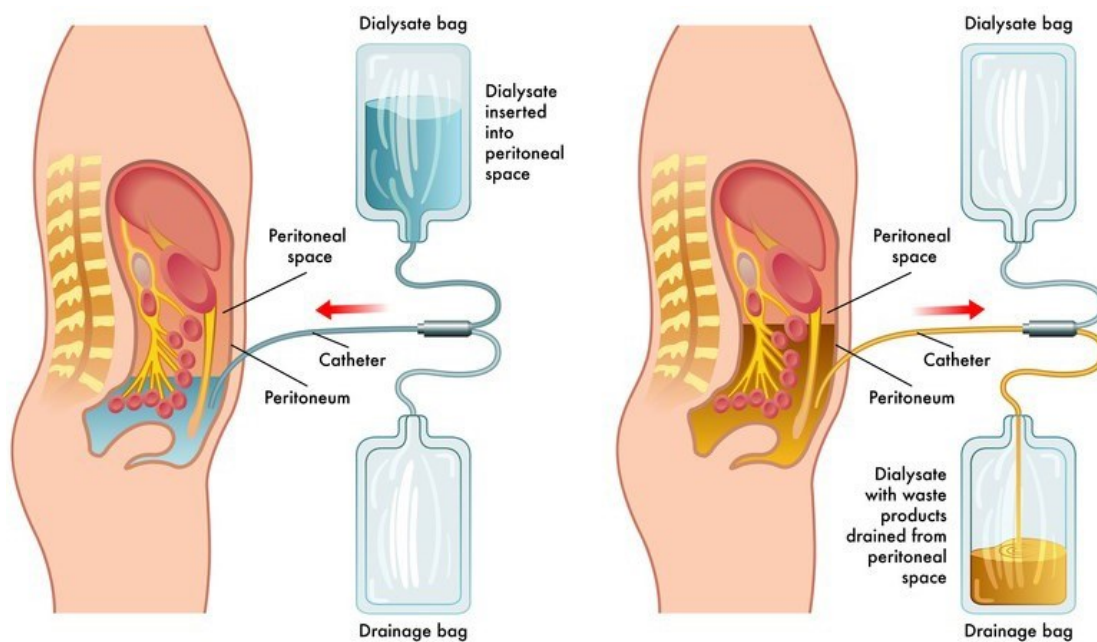


Abbildung 3: Funktionsprinzip der Peritonealdialyse: Das Bild links zeigt wie die Dialyselösung eingebracht wird, am rechten Bild kann man erkennen, wie das Dialysat nach der PD in einen leeren Beutel abgelassen wird (<https://www.gesundheit.gv.at/krankheiten/nieren-harnblase/dialyse/peritonealdialyse-bauchfelldialyse.html>, 30.07.2024)

Abbildung 3 zeigt das Einbringen und Ablassen der PDF mit sämtlichen Stoffwechsel- und Abfallprodukten über einen zuvor gelegten Katheter in der Bauchdecke. Wichtig ist, dass hierfür immer die Schwerkraft genutzt wird. Zum Einbringen hängt der Beutel mit der PDF über dem Bauchniveau und zum Ablassen liegt er üblicherweise auf dem Fußboden^{12,14–16}.

Bei dem Katheter handelt es sich um einen transkutanen Abdominalkatheter, der in der Regel laparoskopisch angebracht wird und mit der Bauchhaut und dem Unterewebe verwächst. Es steht eine große Auswahl an unterschiedlichen Silikon- und Polyurethankathetern zur Auswahl. Wie man in *Abbildung 4* sehen kann, wird der dünne Kunststoffschlauch üblicherweise tief ins Becken eingebracht, am Bauchfell befestigt und meist in der Nähe des Bauchnabels nach außen geleitet. Je nach physiologischen Gegebenheiten kann die Implantationsstelle von Patient zu Patient variieren^{10,37,38}.

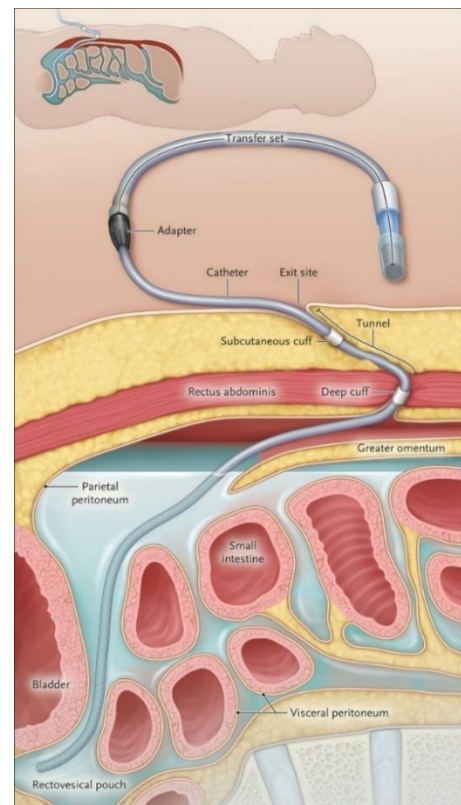


Abbildung 4: Zugang ins Peritoneum (Teitelbaum, 2021)

Herkömmliche PD-Lösungen sind von der Zusammensetzung an die des humanen Plasmas angepasst. Sie enthalten Elektrolyte in ähnlicher Konzentration wie das Plasma und einen

Bikarbonat-Präkursor (meist Laktat) als Puffer. Als osmotisches Agens wird häufig Glukose, in unterschiedlichen Konzentrationen, verwendet. Sie dient der Erzeugung eines Konzentrationsgefälles, das für die Ultrafiltration wichtig ist. Aber auch die Verwendung von Polyglucosen oder Aminosäuren ist möglich. Die Anwendung von Glukose ist recht häufig, da sie in der Anwendung als kostengünstig und sicher gilt. Bei Anpassung der antidiabetischen Therapie findet sie auch bei Patienten mit Diabetes mellitus Anwendung^{7,10,16,24,27,38}.

1.4 Arten der Peritonealdialyse

Bis vor wenigen Jahren wurden die PD-Patienten überwiegend mit der kontinuierlich ambulanten Peritonealdialyse (CAPD) behandelt, bei der die Dialysatwechsel händisch durch den Patienten erfolgen. Inzwischen ist die automatisierte Peritonealdialyse (APD) deutlich populärer. In *Abbildung 5* sind die unterschiedlichen Wechselregime dargestellt, nach denen CAPD- und APD-Behandlungen üblicherweise durchgeführt werden. Aufgrund zahlreicher Vorteile steigt die Zahl der mit APD behandelten

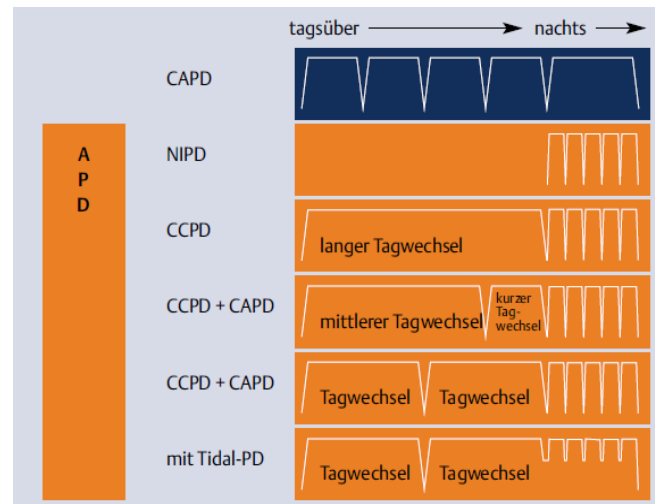


Abbildung 5: Wechselregime unter CAPD- und APD-Behandlung: Während die NIPD und CCPD keine extra Dialysatwechsel während des Tages erfordern, wird bei der CCPD + CAPD als intensivierte Regime ein manueller Wechsel tagsüber benötigt. Die Tidal-PD bleibt Patienten mit hochpermeablem Peritoneum vorbehalten (Fußhüller, 2003)

Patienten laufend. Insbesondere bietet sie gegenüber der HD, aber auch CAPD eine erhöhte Lebensqualität, da untertags kein bzw. gegebenenfalls nur wenige Dialysatwechsel erforderlich sind. Im Vergleich zur HD verbessert sie die Lebensqualität zusätzlich durch den Entfall der regelmäßigen Aufenthalte auf Dialysestationen. Besonders Diabetiker profitieren in den ersten Jahren sogar mit einer erhöhten Nierenrestfunktion verglichen mit der HD. Zudem kann sie auch bei älteren Patienten und Kindern eingesetzt werden. Je permeabler das Peritoneum ist, desto effektiver gestaltet sich die Dialyse. Etwa 5 % der Patienten, die eine PD erhalten, weisen jedoch ein ausgesprochen niedrig permeables Peritoneum auf. Aus diesem Grund ist eine APD aufgrund der kurzen Verweildauer des Dialysats für dieses Patientenkollektiv nicht geeignet. Sie können allerdings mittels CAPD, die mit deutlich längeren Verweilzeiten arbeitet, dennoch behandelt werden^{7,8,10–12,14–16,28,39–42}.

1.4.1 Kontinuierlich ambulante Peritonealdialyse – CAPD

Bei der CAPD müssen täglich 3-5 Dialysatwechsel vom Patienten manuell vorgenommen werden. Allgemein lassen sich 3-4 dieser Wechsel mehr oder weniger gut in den Tag integrieren. Jeder Wechsel nimmt ca. 45 Minuten Zeit in Anspruch. Ein möglicher 5. Wechsel fließt jedoch in die Nachtstunden und reduziert die Lebensqualität für die Patienten deutlich, was häufig zum Abbruch der Therapie führt. Ein weiterer großer Nachteil ist, dass Patienten bei jedem Wechsel neue Beutel an den Katheter anschließen müssen, was mit einem erhöhten Risiko für Peritonitiden einhergeht. Zudem kann dies für ein körperlich eingeschränktes Patientenkollektiv schwierig sein^{7,8,16,24,28,43}.

1.4.2 Automatisierte Peritonealdialyse – APD

Bei der APD erfolgt der Wechsel des Dialysats automatisch während des Schlafes über einen sog. Cycler. Die nächtliche Behandlungsdauer liegt bei 6-9 h. Nach der Behandlung kann je nach Behandlungsregime frische Dialyselösung im Körper verbleiben, damit ein Teil der Dialyse auch tagsüber stattfinden kann. So kann ein deutlich höherer Dialysatumsatz (10-20 l/Tag) erreicht werden. Durch Verbesserung der Geräte konnten Steigerungen der Clearance und Ultrafiltration wie auch eine Reduktion der Verweildauer erreicht werden. Dadurch kann oftmals auf die Dialyse während des Tages verzichtet werden, was wiederum das Risiko einer Peritonitis deutlich reduziert. Durch die tägliche, kontinuierliche Ultrafiltration wird – im Vergleich zur HD, bei der alle 2 Tage eine Ultrafiltration über 4-5 h erfolgt – das Risiko einer hypotensiven Episode nahezu vollständig eliminiert. Untersuchungen an 60 APD-Patienten zeigten, dass bei einem durchschnittlichen Dialysatverbrauch von 20 l/Tag selbst bei anurischen Patienten mit großer Körperoberfläche adäquate Effektivitätsparameter gemäß der DOQI-Richtlinie erreicht werden konnten^{7,8,11,12,15,24,28,30,39,43,44}.

Wie in *Abbildung 5* ersichtlich, gibt es unterschiedliche Cycler-Regime, die je nach Hersteller, Patientenkonstitution und Krankheitsverlauf festgelegt werden. So kann beispielsweise bei Patienten mit guter Nierenrestfunktion und guter Permeabilität des Peritoneums eine nächtliche intermittierende PD (NIPD) ausreichend sein. Bei eingeschränkter oder beginnender Verschlechterung der Nierenrestfunktion oder nicht optimaler Permeabilität des Peritoneums kann mit einer kontinuierlichen zyklischen PD (CCPD) behandelt werden, wo zusätzlich zur nächtlichen Cycler-Behandlung etwas PD tagsüber im Körper verbleibt, womit die Entgiftung auch tagsüber voranschreiten kann. Durch Optimierung der Behandlungs- bzw. Cycler-Regime und Telemetrie (On-line-Therapieüberwachung) kann teilweise selbst Patienten mit erloschener

Nierenrestfunktion die intermittierend durchzuführende HD erspart bleiben, wenn die PD-Effektivität ausreichend hoch gehalten werden kann^{7,8,12,15}.

Nachdem die Mortalität in den ersten Jahren der Anwendung geringer ist als bei HD-therapierten Patienten, verschiebt sich das relative Mortalitätsrisiko nach langjähriger Anwendung allmählich zugunsten der HD. Die Gründe dafür sind Ultrafiltrationsverlust durch Änderung der Morphologie des Peritoneums und Häufung von Peritonitiden. So wie die HD etwa im Falle einer Nieren-Transplantatabstoßung keinesfalls als Konkurrenzverfahren, sondern viel mehr als Ergänzung zur Transplantationstherapie anzusehen ist, verhält sich die HD auch zur PD. Beide Verfahren haben, wie in *Kapitel 1.5* ersichtlich, ihre Vor- und Nachteile. „Aufgrund eines hierdurch bedingten progressiven Ultrafiltrationsversagens wechseln die meisten Patienten nach etwas 5-7 Jahren auf die Hämodialyse.“, schreiben Ritter *et.al.* Längere Therapiezeiten sind allerdings durchaus möglich^{8,43,45}.

1.5 Vor- und Nachteile der Peritonealdialyse verglichen mit konventioneller Hämodialyse

Vorteile

- Höhere Dialyseeffektivität^{7,8}
- Längerer Erhalt der Nierenrestfunktion^{7,8}
- Je nach Studienlage und Interpretation niedrigere Mortalität^{7,40,41}
- Höhere Überlebenszeit bei Patienten mit Diabetes mellitus⁷
- Höheres Ausmaß an Selbstständigkeit und Autonomie⁷
- Keine mit der HD vergleichbaren Einschränkungen bezüglich Familienleben, Freizeitaktivitäten und Berufstätigkeit und dadurch höhere Lebensqualität⁷
- Ausübung der meisten Freizeitaktivitäten und Sportarten möglich¹¹
- Keine mit der HD vergleichbaren Einschränkungen bezüglich Nahrungsaufnahme und Flüssigkeitszufuhr¹³
- Optimale kontinuierliche Vorlastsenkung bei Patienten mit fortgeschrittener Herzinsuffizienz & Vermeidung kardialer Belastung^{7,46,47}
- Keine arteriovenöse Fistel (Dialyseshunt) oder zentralvenöser Dialysekatheter nötig ➔ geringere kardiale Belastung^{7,38,46,47}
- Optimale Aszitestherapie bei Patienten mit fortgeschrittenen Lebererkrankungen^{7,48}
- Ortsunabhängig: Urlaub möglich¹¹
- Ortsunabhängig: auch in ländlichen Gegenden möglich, wo weite Wege bis in die nächste Einrichtung sind oder es keine stationäre Dialysemöglichkeit gibt (u.a. in Entwicklungsländern)¹⁰
- Kann auch bei Patienten mit Polyzystischer Nierendegeneration und abdominellen oder inguinalen Hernien verwendet werden^{8,30}
- Geringere Kosten⁸

Nachteile

- Höhere Permeabilität für größere Moleküle ➔ Proteine müssen über Nahrung ausgeglichen werden¹⁴
- Dialyse täglich notwendig⁸
- Veränderung des Peritoneums bei Langzeitanwendung^{8,26}
- Hohe Eigenverantwortung und Einhaltung eines Hygieneprotokolls zwingend nötig^{11,18}

1.6 Patienteneignung

Nach objektiver Aufklärung über Vor- und Nachteile der Peritoneal- und Hämodialyse durch ein multidisziplinäres Ärzteteam sollte die Entscheidung über das Dialyseverfahren dem Patienten überlassen werden. Hierdurch könnten Patienten, die von der PD als initiales Dialyseverfahren profitieren würden, deutlich besser erreicht werden^{30,32,39,49}.

Sie ist für ein breites Patientenkollektiv gut geeignet. Besonders aber für Kinder, ältere Patienten, Berufstätige und Patienten die an einem aktiven Lebensstil pflegen. Auch Sport und Urlaube sind mit einer PD-Behandlung gut möglich. Besonders hervorzuheben sind die initialen Vorteile für adipöse Patienten, und für Patienten mit Diabetes mellitus oder mit Herzerkrankungen^{7,20,28,30,32,46,47,50}.

Es gibt nur wenige absolute Kontraindikationen für die PD. Hier wären folgende zu erwähnen: entzündliche Darmerkrankungen, große und insbesondere nicht sanierbare Hernien und das Fehlen von Feinmotorik oder der mentalen Eignung der Patienten, sofern keine andere Personen zur Verfügung steht, die die Dialysatwechsel übernehmen kann^{29,30,32}.

1.7 Größte Problematik: Peritonitis

Ein großes Problem bei der Heimdialyse ist die potentielle Kontamination mit Peritonitis-auslösenden Bakterien. Sie ist mit gravierenden gesundheitlichen Risiken für den Patienten verbunden: Schäden am Peritoneum, Verlust der PD-Möglichkeit und Sepsis bis hin zum Tod, weswegen eine Peritonitis einer umgehenden und konsequenten Behandlung bedarf. Häufige Auslöser sind Streptokokken, *Escherichia coli*, Enterokokken, Staphylokokken und Candida. Besonders fatal sind durch eine Infektion mit *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* oder multiresistenten Erreger (MRE) wie methicillin-resistentem *S. aureus* (MRSA) ausgelöste Erkrankungen. Derzeit gibt es keine gemeinhin anerkannten konkreten Empfehlungen zur Therapie mit Antibiotika. Die KDOQI-Leitlinie empfiehlt jedoch, dass die Behandlung grampositive, gramnegative, aerobe und anaerobe Erreger abdecken sollte. Solange keine Sepsis vorliegt, wird eine intraperitoneale Applikationsroute bevorzugt. Weiters empfiehlt KDOQI die prophylaktische Verabreichung von Breitbandantibiotika in die PDF, um Infektionen vorzubeugen. Da die CAPD-assoziierte Peritonitis üblicherweise unkompliziert zu therapieren ist, kann die Therapie ambulant durch Zugabe eines Antibiotikums in die PDF erfolgen. Patienten müssen beim Wechsel der Dialyselösungen sehr sorgsam sein und die Hygienemaßnahmen sollten regelmäßig aufgefrischt werden, um das Peritonitisrisiko so gering wie möglich zu halten. Moderne Kathetersysteme ermöglichen es, das Innere des Katheters steril zu halten, was

ebenfalls das Infektionsrisiko reduziert. Wiederholte Peritonitiden können die Morphologie des Peritoneums verändern, und damit dessen Permeabilität und die Effektivität der Dialyse verschlechtern. Das kann in weiterer Folge bis hin zum Erlöschen der Therapiemöglichkeit mittels PD führen^{6,13,18–22,51}.

Glücklicherweise weist diese Komplikation eine rückläufige Inzidenz auf, die in Deutschland aktuell bei ca. 1:50 bis 1:70 Monaten liegt. Internationale Leitlinien fordern eine Inzidenz von >1:30³².

1.8 Medikation und Wirksamkeit von Antibiotika

Die ersten Symptome einer Peritonitis sind Trübung des Dialysats mit erhöhter Leukozytenzahl im Dialysat, abdominale Schmerzen und beginnendes Fieber. Zur Abklärung wird die Leukozytenzahl im Dialysat bestimmt. Der Grenzwert liegt bei 100 / μ l. Zusätzlich wird eine Kultur des Peritonealdialysats angelegt. Da deren Auswertung allerdings Zeit in Anspruch nimmt, wird Patienten prophylaktisch eine Breitbandantibiotikatherapie verabreicht, sobald sie den Leukozytengrenzwert überschreiten. Diese muss nach Auswertung der Kultur und des Antibiotogramms gegebenenfalls angepasst werden^{17,32,44,52–56}.

Gute Ergebnisse werden erzielt, wenn den Patienten regelmäßig prophylaktisch ein Antibiotikum verabreicht wird. Dieses Vorgehen hat positive Auswirkungen auf die Inzidenz der Peritonealdialyse-bedingten Peritonitis^{53,55,56}.

1.8.1 Ciprofloxacin

1.8.1.1 Struktur und Eigenschaften

Wie man in *Abbildung 6* erkennen kann, ist Ciprofloxacin ein synthetisch hergestelltes Breitbandantibiotikum der Gruppe der Fluorchinolone mit einem Molekulargewicht von 331,4 g/mol, einer Halbwertszeit von 3,2 h und einer Bioverfügbarkeit von 70 %. Die Ausscheidung erfolgt zu 40–50 % unverändert über die Niere, 25–40 % werden metabolisiert. Manche Metabolite entfalten eine potentere antibakterielle Wirkung als Ciprofloxacin selbst. Es besitzt eine pH-abhängige Löslichkeit und ist bei neutralem pH-Wert praktisch unlöslich. Bei einem pH-Wert von 4–5 besitzt es eine Löslichkeit von etwa 40 mg/ml^{57–59}.

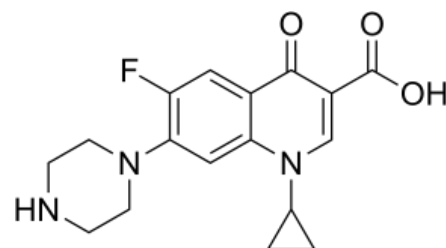


Abbildung 6: Struktur von Ciprofloxacin
(<https://de.wikipedia.org/wiki/Ciprofloxacin>,
23.04.24)

Die Anwendung erfolgt vorzugsweise peroral oder intravenös. Es sind aber auch andere Applikationsrouten möglich. Aufgrund der Möglichkeit von starken, langanhaltenden und

teilweise dauerhaften Nebenwirkungen wird die Anwendung bei banalen Infekten mittlerweile nicht mehr empfohlen. Ciprofloxacin wirkt auch auf humane Zellen und DNA wie auch mitochondriale DNA zytostatisch und zytotoxisch und hoch mutagen^{57–59}.

Die Wirkung beruht auf der Hemmung der bakteriellen DNA-Gyrase Topoisomerase II. Es wirkt daher relativ rasch bakteriostatisch und vorwiegend gegenüber gramnegativen aber auch grampositiven Bakterien. Es kann sowohl extra- als auch intrazellulär wirken, was zur Folge hat, dass es auch bei atypischen Erregern Anwendung finden kann. Weiters weist es eine bakterizide Wirkung auf, deren Wirkmechanismus bislang ungeklärt ist. Fluorchinolone weisen eine konzentrationsabhängige bakteriostatische und bakterizide Aktivität auf^{53,59}.

1.8.1.2 Wirkmechanismus

Das bakterielle Chromosom liegt als zirkuläre, doppelsträngige DNA vor. Entwunden ist die DNA deutlich größer als das Bakterium selbst. Es liegt also nahe, dass die DNA gut gefaltet werden muss, um im Bakterium ausreichend

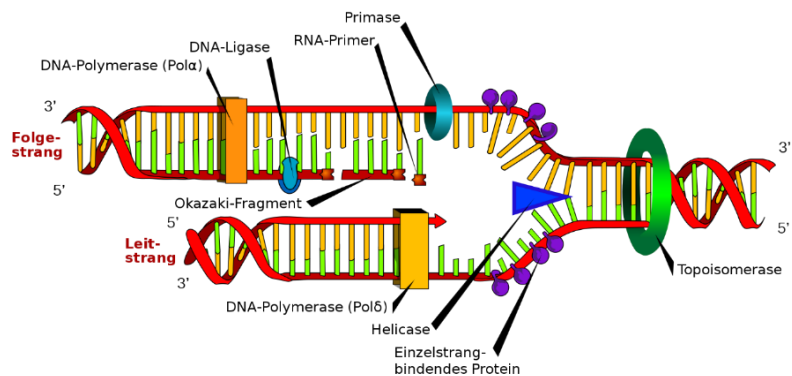


Abbildung 7: DNA-Replikation

(<https://www.biancahoege.de/biologie/genetik/replikation.html>, 12.11.2024)

Platz zu finden. Dies wird von dem Enzym Topoisomerase II (Gyrase) erledigt. Während der

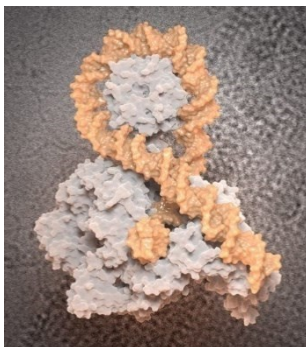


Abbildung 8: Gyrase (grau), die sich an eine DNA (orange) anlagert

(<https://www.scinexx.de/news/medizin/wie-unsere-dna-knoten-vermeidet/>, 11.07.24)

Transkription wird die geknäuelte, doppelsträngige DNA-Helix ein Stück weit entwunden. Diesen Prozess zeigt *Abbildung 7* anhand einer Skizze. Wie man sich vorstellen kann, würde die Spannung in der DNA mit zunehmender Länge der Entwindung stark zunehmen. Damit dies nicht zu Problemen führt, entwirrt und schneidet die Topoisomerase II die DNA-Stränge auf und verbindet sie nach der Replikation augenblicklich wieder. Dies passiert *vice versa* auch beim Falten und Verdrillen der DNA. Wie es aussieht, wenn die Topoisomerase II sich an die DNA anlagert, zeigt *Abbildung 8*. Sie

faltet und verdrillt die DNA zu sog. „supercoils“, schneidet die

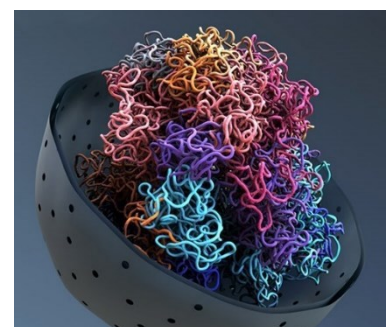


Abbildung 9: DNA-supercoils im Querschnitt einer Zelle

(<https://www.scinexx.de/news/medizin/wie-unsere-dna-knoten-vermeidet/>, 11.07.24)

doppelsträngige DNA-Helix, und verknüpft sie augenblicklich wieder, damit spannungsfreie Windungen entstehen⁵⁹⁻⁶⁴.

Diese negativ gedrehten supercoils lösen, wie man anhand von *Abbildung 9* erahnen kann, das Platzproblem und begünstigen energetisch eine schnelle Transkription und Replikation. Weiters werden Wirkmechanismen unabhängig von der Gyrase-Hemmung vermutet, die bislang unbekannt sind^{62,63}.

1.8.1.3 Anwendungsgebiete

Ciprofloxacin besitzt ein breites Wirkspektrum gegen gramnegative wie auch grampositive Bakterien, selbst wenn diese intrazellulär vorliegen^{58,59}.

Es wird vorwiegend zur Behandlung von Nierenbeckenbodenentzündungen, Harnwegs- und Darminfektionen gegeben, kann aber durch seine intrazelluläre Wirkung auch bei Infektionen im Hals-Nasen-Ohren-Bereich, der Atemwege, des Genitaltrakts wie auch der Knochen und Gelenke gegeben werden und Anwendung bei der Behandlung einer Sepsis finden. Es wird als Chemo-prophylaxe bei Meningokokken-Meningitis, Gonorrhoe, und nach einer Kontamination mit dem Milzbranderreger eingesetzt. Ciprofloxacin wäre aufgrund seiner zytostatischen und zytotoxischen Wirkung auch als Chemotherapeutikum von Interesse, hat allerdings ein hohes genotoxisches Potential im Vergleich zu anderen Chemotherapeutika. Hierdurch gelten Schwangerschaft und Stillzeit als unbedingte Kontraindikation^{59,65}.

1.8.1.4 Minimale Hemmkonzentrationen – MHK

Die Minimale Hemmkonzentration bezeichnet einen Messwert, der die Empfindlichkeit eines Testkeims Gegenüber eines Wirkstoffs (z. B. Antibiotikum) zeigt. Sie wird im Zuge einer Resistenztestung von Antibiotika und Antimykotika eruiert und kann über unterschiedliche Verfahren ermittelt werden. Es kann z. B. für die Testung eines Antibiotikums eine Bakterien-suspension mit bekannter Dichte mit einem Antibiotikum in unterschiedlichen Konzentrationen behandelt werden. Die geringste Antibiotikakonzentration, bei der das Wachstum sichtbar verhindert wird, wird als Minimale Hemmkonzentration – MHK bezeichnet. Die Interpretation der MHK erfolgt anhand der durch EUCAST herausgegebenen Grenzwerte. Sie ermöglicht eine Einteilung in sensibel (S), intermediär (I) und resistent (R). So kann eine gezielte Behandlung einer Infektion mit einer effektiven aber möglichst geringen Konzentration eines Wirkstoffs vorgenommen werden. Vor allem für die Behandlung von komplexen Infektionen oder Infektionen in schwer zugänglichen Kompartimenten ist dies besonders wichtig. Hierfür ist

gegebenenfalls ein therapeutisches Drug-Monitoring zu berücksichtigen. Ciprofloxacin hat eine MHK von ca. 0,01-8 mg/l^{59,66,67}.

1.8.1.5 Kompatibilität mit kommerziellen Peritonealdialyselösungen

Ciprofloxacin ist mit gängigen PDF gut kompatibel und lagerungsfähig. Für die Studie, die dieser Arbeit zugrunde liegt, wurde Extraneal® als PDF verwendet. Die Stabilität von Ciprofloxacin in Extraneal® wurde bei 6 °C (Kühlschrank), 25 °C (Raumtemperatur) und 37 °C (Körpertemperatur) getestet, und ist jeweils bis zu zwei Wochen stabil^{27,68}.

2 Zielsetzung / Fragestellung

Wie in der Einleitung erörtert, ist eine der großen Stärken der Peritonealdialyse die Möglichkeit, sie im häuslichen Umfeld und teilweise ausschließlich nachts durchführen zu können. Unglücklicherweise hat diese Behandlungsmethode einen großen Nachteil: die Gefahr einer Peritonealdialyse-bedingten Peritonitis. Um dieser vorzubeugen wird prophylaktisch, aber auch zur akuten Behandlung von Peritonitiden, oftmals das Breitbandantibiotikum Ciprofloxacin verabreicht. Vor allem prophylaktisch bietet es sich an, das Antibiotikum intraperitoneal zu geben. Es wird üblicherweise direkt vor der Behandlung in die PDF gespritzt. Allerdings ohne Kenntnis darüber, ob es dort evtl. zu einer eingeschränkten Stabilität kommt, was bis hin zu einem Behandlungsversagen führen kann. Es gibt bislang nur wenig Daten zur Stabilität und dem Verhalten von Ciprofloxacin in PDF. Um einen Beitrag zur Schließung dieser Lücke zu leisten, wird in der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie die Konzentration von Ciprofloxacin in den Peritonealdialysaten von sechs Patienten mittels HPLC/MS quantifiziert. Hierfür wurde ein Patientenkollektiv von 6 Patienten ausgewählt, die jeweils eine Dosis Ciprofloxacin intravenös und eine Dosis intraperitoneal erhielten.

In der Vorarbeit von Mag^a. pharm. Kathrin Vorauer (2020) wurden bereits Daten erarbeitet. Da es im Zuge ihrer Arbeit zu Problemen bei der Quantifizierung der Ciprofloxacinkonzentrationen kam, wird in dieser Arbeit ein Teil der Analyse wiederholt. Hierbei handelt es sich um die Quantifizierung der Ciprofloxacinkonzentration bei intraperitonealer Gabe.

***In welcher Konzentration liegt Ciprofloxacin in Peritonealdialysaten vor,
wenn es intraperitoneal appliziert wird?***

3 Spezieller Teil und Ergebnisse

3.1 Optimierung der MS/MS – Parameter

Um Ciprofloxacin in den Patientenproben genau quantifizieren zu können, muss das Tandem-MS (MS/MS) hinsichtlich seiner Sensitivität und Selektivität optimiert werden. Nur dann können auch kleinste Mengen analysiert und quantifiziert werden. Hierfür wurde eine 0,1%ige Lösung aus dem Ciprofloxacin-HCl Standard hergestellt und mit Hilfe einer Pumpenspritze direkt in die Elektrosprayionenquelle (ESI) eingebracht.

Im Zuge der automatisierten Substanzoptimierung misst das Gerät fortlaufend Massenspektren und optimiert die Parameter, bis ein möglichst intensives Precursor- und Produkt-Ion detektiert wird. Die kann man anhand der *Abbildungen 11 und 12* sehen. Für diese Arbeit wurde im positiven Modus gemessen, da hier aufgrund der Stickstoffprotonierung eine bessere Empfindlichkeit erreicht werden konnte. Als Produkt-Ionen wird ein sog. qualifier- und quantifier-Ion gesucht. Als quantifier wird das Produkt-Ion mit der höchsten Intensität herangezogen, es dient der Quantifizierung. Das Ion mit der zweithöchsten Intensität – der qualifier – dient der Bestätigung der Identität.

Wie man *Abbildung 10* entnehmen kann, ergab sich für Ciprofloxacin ein Quasi-Molekül-Ion bei m/z 332,16 $[M+H]^+$. Nach MRM des Precursor-Ions (m/z 332) ergaben sich die Produkt-Ionen „quantifier“ bei m/z 288,10 und „qualifier“ bei m/z 245.

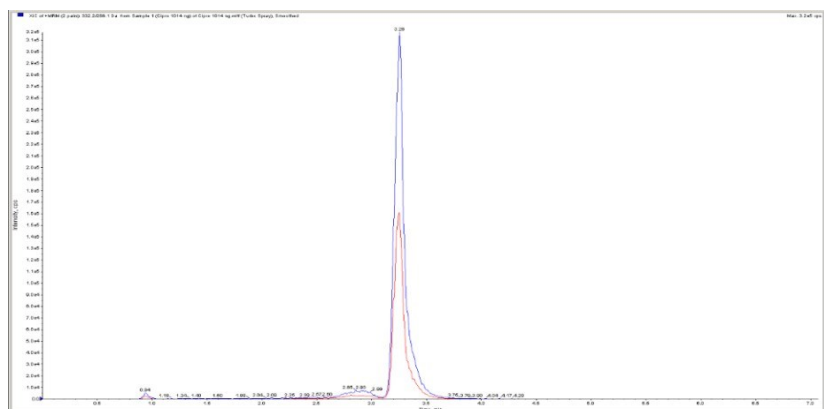


Abbildung 10: Totalionenstrom von Ciprofloxacin; Retentionszeit 3,26 min; quantifier (blau) und qualifier (rot)

Weitere MRM-Spektren vor und nach der Optimierung der Fragmentierung befinden sich im *Anhang 10.7*.

Es wurden folgende Parameter festgelegt:

- MRM quantifier: m/z 332,19/288,10; CE 23.00; CXP 16.00; dwell 150 ms
- MRM qualifier: m/z 332,19/245,10; CE 29.00; CPX 12.00; dwell 150 ms

ESI pos.; IS 5500.00; EP 10.00; CUR 17.00; GS1 40.00; GS2 40.00; TEM 500 °C; CAD 5.0; CEM 3000.0; DP 76.00; DF -100

3.2 Optimierung der HPLC – Parameter

Ein wichtiges Ziel des Optimierungsprozesses ist möglichst schmale, gleichmäßig geformte Peaks bei kurzen Retentionszeiten zu erhalten. Außerdem müssen diese gut reproduzierbar sein.

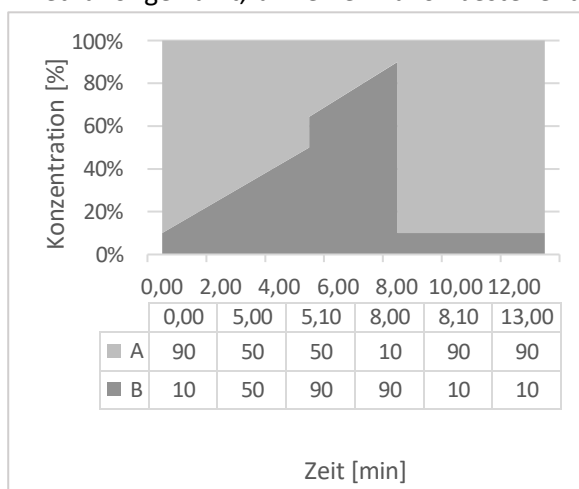
Aufgrund der Vorarbeit von Mag^a. pharm. Kathrin Vorauer (2020) konnte auf Optimierung der Waschlösungen und -volumina wie auch Lösungsmittel zum Teil verzichtet werden, da diese Großteils übernommen werden konnten⁶⁹.

Die Säule wurde gegen eine Polar Advantage (PA II) C18 mit einer passenden Vorsäule getauscht (Tabelle 1), womit eine bessere Auflösung erreicht werden konnte. Hierbei wurden die Silanylgruppen mit polaren Molekülen modifiziert. So soll eine bessere Trennung ermöglicht werden. Bei einer Durchflussrate von 0,5 ml/min und einer Säulenofentemperatur von 25 °C konnte mit einem konstanten Druck von 380 bis 400 bar gearbeitet werden. Der Autosampler wurde mit 4 °C betrieben. Als Waschlösung für den Autosampler wurde

Methanol gewählt, um einen zuvor bestehenden carry-over Effekt zu verhindern. Außerdem

Tabelle 1: HPLC-Parameter

HPLC-Säule	Acclaim Polar Advantage II C18, 120 Å (3 µm, 150 x 2,1 mm I.D., Thermo Fisher Scientific)
Guard cartridge (Vorsäule)	Acclaim Polar Advantage II C18 guard cartridge (5 µm, 10 x 2 mm I.D., Thermo Fisher Scientific)
Flussrate	0,5 ml/min
Temperatur Säulenofen	25 °C
Temperatur Autosampler	4 °C
Druck	380...400 bar
Phase A	ddH ₂ O + 0,1%ige Ameisensäure (FA); pH=2,7
Phase B	Acetonitril (MeCN) + 0,1 %ige Ameisensäure (FA)



wurde mit einer Gradientenelution aus Phase A und B laut *Abbildung 11* gearbeitet. So war es möglich, eine Retentionszeit von 3,26 min zu erhalten.

Abbildung 11: Gradientenelution laut Tabelle unterhalb des Diagramms

3.2 Eichgerade

Da in dieser Arbeit über einen externen Standard quantifiziert wurde, war es notwendig, eine Verdünnungsreihe von Ciprofloxacin in bekannten Konzentrationen herzustellen und zu vermessen. Hierfür wurden Stammlösungen in fünf unterschiedlichen Konzentrationen vorbereitet und 6-fach analysiert. Mit dem berechneten Mittelwert der erhaltenen Peakflächen und den bekannten Konzentrationen der Verdünnungsreihe wurde die Eichgerade erstellt. Die hergestellten Konzentrationen waren 10,14 ng/ml, 50,71 ng/ml, 101,4 ng/ml, 507,1 ng/ml, 1014,16 ng/ml und 5070,8 ng/ml. Diese wurden unter Kühlung bei 6 °C aufbewahrt und im Weiteren bei der Analyse der Proben als quality control (QC) verwendet.

Aus den erhaltenen Peakflächen wurden die Mittelwerte berechnet und den bekannten Konzentrationen der Verdünnungsreihe gegenübergestellt. Es wurde eine Eichgerade mit einer quadratischen Regression und der Gleichung $y = -0,073x^2 + 2,25 * e^{0,03x} - 1,11 * e^{0,05}$ mit einem Bestimmtheitsmaß $r = 0,9999$ erhalten, die in *Abbildung 12* dargestellt ist.

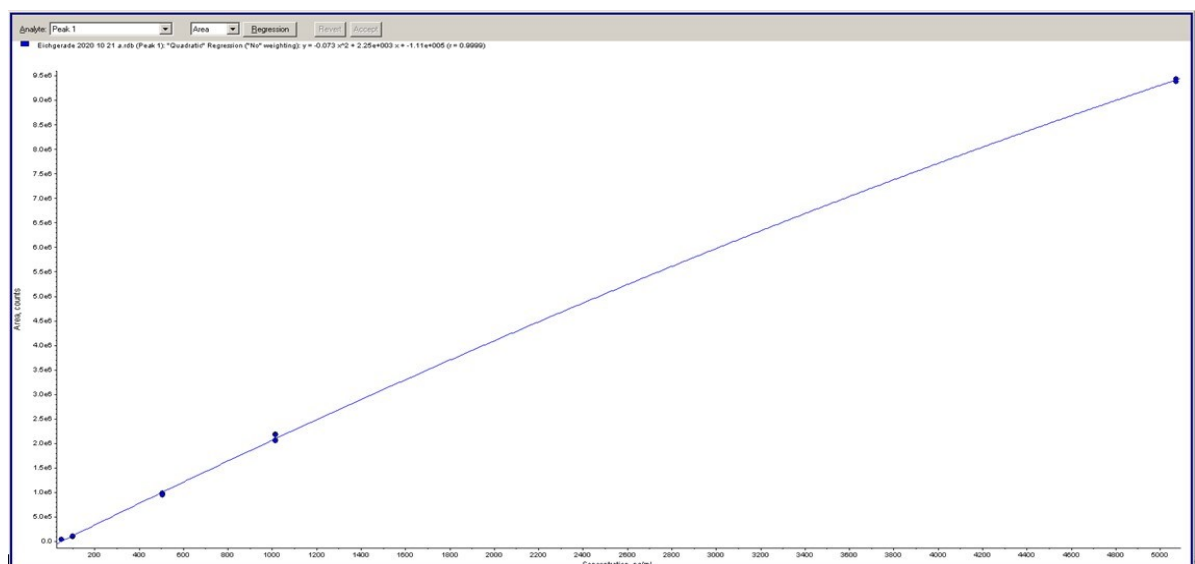


Abbildung 12: Eichgerade von Ciprofloxacin: y-Achse: Peakflächen, x-Achse: Konzentrationen der Verdünnungsreihe [ng/ml]; Gleichung der Kurve $y = -0,073x^2 + 2,25 * e^{0,03x} - 1,11 * e^{0,05}$; $r = 0,999$; Quadratische Regression

Wie man am Verlauf der Eichgerade erkennen kann, flacht die Kurve gegen Ende leicht ab. Das ist auf die Abnahme der Empfindlichkeit bei höheren Konzentrationen zurückzuführen.

Im Zuge dieser Arbeit kam es mehrmals zu Problemen bezüglich der Reproduzierbarkeit und Empfindlichkeit des Massenspektrometers. Darauf wurde erst mit einer Reinigung des MS-Gerätes reagiert und letztendlich stellte sich eine Reparatur mit Austausch einiger Komponenten als erforderlich heraus. Hierdurch konnte das Problem in einen Bereich von 10 ng/ml und darunter verschoben werden, was für diese Arbeit kein Problem darstellt, da selbst die geringsten gemessenen Konzentrationen mehr als ein 10-faches davon betrugen.

3.3 Patientenproben

3.3.1 Alle Patienten

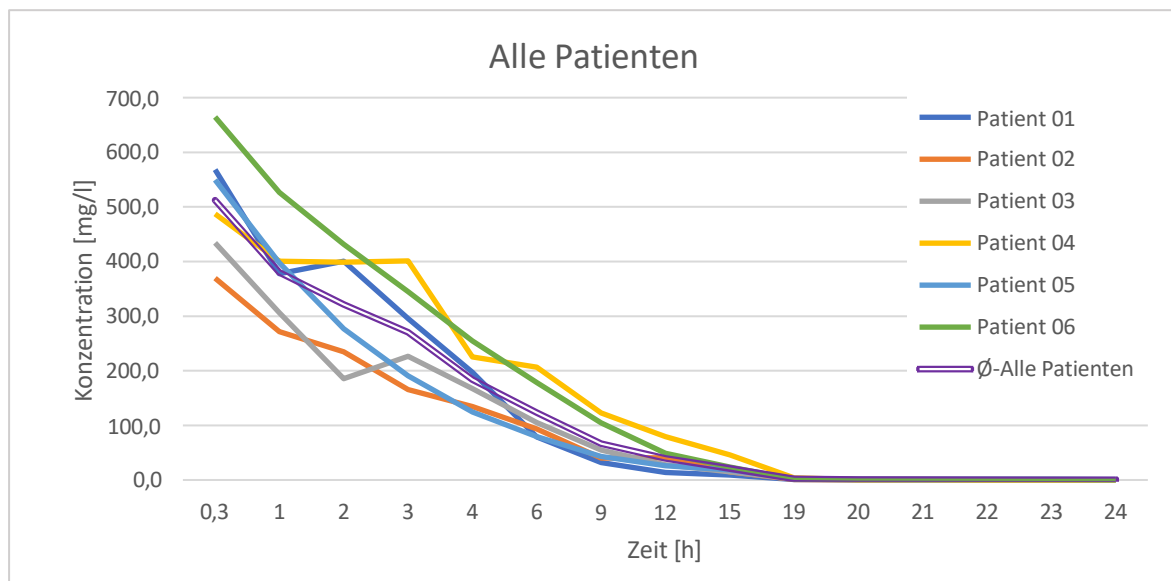


Diagramm 1: Ciprofloxacin-Konzentrationen (c/t) im Dialysat [mg/l] über einen Verlauf von 24 Stunden [h] für alle Patienten. Die violette Kurve stellt den Mittelwert aller Patienten dar

Diagramm 1 zeigt den Konzentrations-Verlauf über die Zeit (c/t) der Ciprofloxacin-Konzentrationen im Dialysat über 24 h hinweg. Es enthält die Kurven aller Patienten wie auch die Kurve der berechneten Mittelwerte aller Patienten. Man kann gut erkennen, dass bei der intraperitonealen Gabe von Ciprofloxacin die maximale Konzentration (c_{max}) zum Zeitpunkt 0 erreicht ist und ab hier abfällt. Patient 06 zeigt mit $c_{max(06)}=664,58$ mg/l die höchste Anfangskonzentration, Patient 02 mit $c_{max(02)}=369,50$ mg/l die niedrigste. Die Unterschiede in den Anfangskonzentrationen amortisieren sich im Zeitverlauf allmählich.

Wie man den Kurvenverläufen entnehmen kann, kommt es teilweise zu einer scheinbaren Konzentrationserhöhung (Patient 01, 03 und 04). Es ist davon auszugehen, dass die Konvektion und Bewegung der Patienten für eine unterschiedliche Verteilung des Ciprofloxacin sorgen und so für die Inhomogenität der Kurvenverläufe verantwortlich sind (Kapitel 4).

Wie man ebenso gut erkennen kann, kommt es nach Stunde 19 zum Auswaschen und augenblicklichen Absinken der Ciprofloxacin-Konzentration durch die Zyklus-Therapie (Kapitel 5.1).

3.3.1.1 Durchschnitt aller Patienten

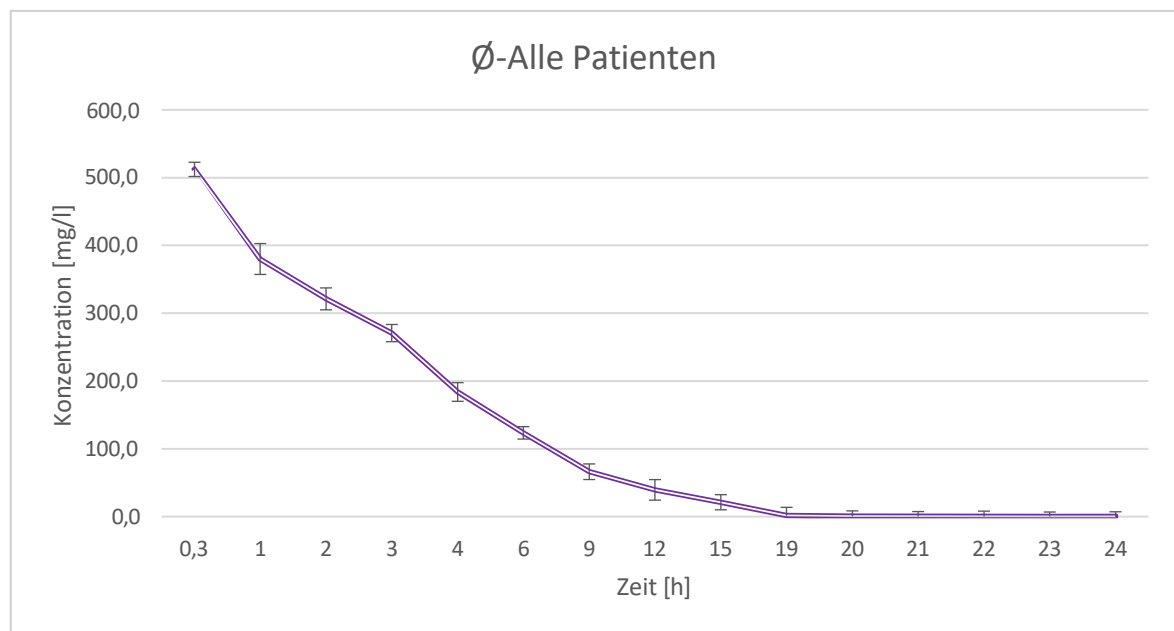


Diagramm 2: Ciprofloxacin-Konzentrationen (c/t) im Dialysat [mg/l] über einen Verlauf von 24 Stunden [h] – Mittelwerte aller Patienten inkl. SD

Die violette Kurve in *Diagramm 2* zeigt die Mittelwerte der Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] aller Patienten mit den zugehörigen Standardabweichungen (SD). Wie man auch hier sehen kann, kommt es nach Stunde 19 zum Auswaschen des Ciprofloxacin durch die Zyklus-Therapie (*Kapitel 5.1*). Besonders auffallend ist die moderate Streuung nach Stunde 1.

Aus den mittleren Konzentrationen kann man sich folgende Pharmakokinetische Parameter berechnen:

$$k_{elim} = \frac{\ln(c_2) - \ln(c_1)}{t_2 - t_1} \approx 0,235 \text{ h}^{-1}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_{elim}} \approx 2,95 \text{ h}$$

Die Kurven der einzelnen Patienten werden auf den folgenden Seiten und Diagrammen in *Kapitel 3.3.2 – 3.3.7* separat beschrieben. Daten zur Einzelaufarbeitung finden sich im Anhang (*Kapitel 10*).

Tabelle 2: Datensatz aller Patienten: berechnet mit dem Mittelwert sämtlicher Patienten

Ø-Alle Patienten			
Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	512,18	53,73	10,49
1	379,97	86,54	22,78
2	321,18	51,88	16,15
3	270,71	34,34	12,69
4	183,83	25,29	13,75
6	123,53	11,28	9,13
9	66,20	7,61	11,50
12	39,44	5,98	15,16
15	21,19	2,36	11,15
19	1,93	0,23	11,77
20	0,88	0,07	7,58
21	0,57	0,04	6,88
22	0,59	0,04	7,50
23	0,48	0,03	6,30
24	0,37	0,02	6,75

3.3.2 Patient 01

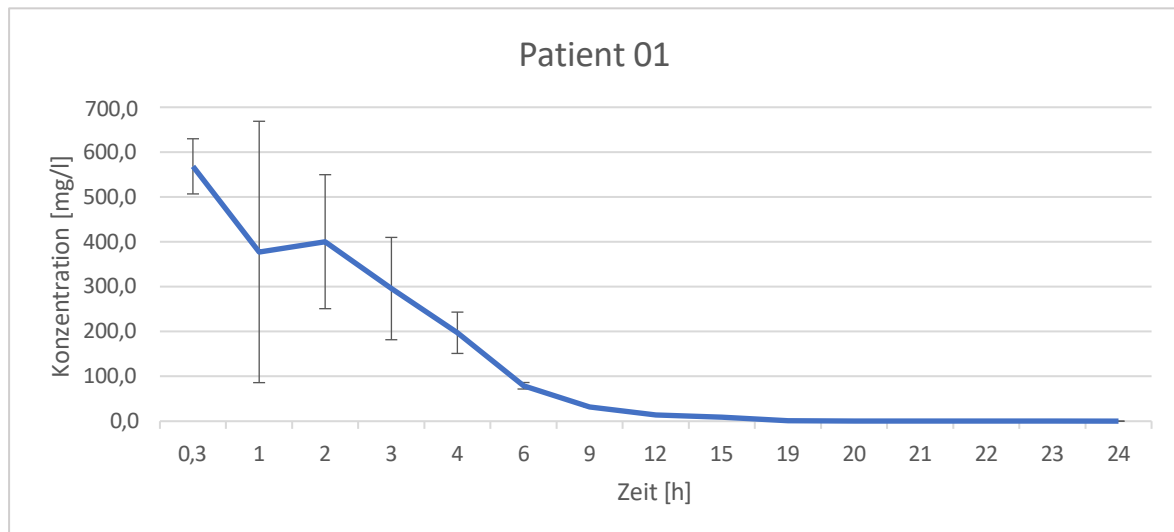


Diagramm 3: Ciprofloxacin-Konzentrationen im Verlauf von 24 Stunden (c/t) im Dialysat [mg/l] von Patient 01 inkl. SD

Tabelle 3: Datensatz zu Patient 01

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	568,25	61,47	10,82
1	377,41	291,37	77,20
2	400,25	149,38	37,32
3	295,75	114,07	38,57
4	197,17	46,03	23,35
6	79,03	7,24	9,16
9	32,14	0,99	3,09
12	13,88	1,39	10,02
15	8,91	0,81	9,13
19	0,78	0,02	2,87
20	0,41	0,00	0,77
21	0,34	0,01	3,33
22	0,34	0,01	2,46
23	0,30	0,01	2,60
24	0,25	0,01	3,99

Der Kurvenverlauf (c/t) in *Diagramm 3* stellt den Konzentrations-Zeit-Verlauf (c/t) von Patient 01 dar. Besonders auffällig sind die breiten Streuungen der Daten von Stunde 1-4. Betrachtet man die Daten der Doppelaufarbeitung getrennt, wie *Diagramm 4 und 5* zeigen, sieht man, dass diese Inhomogenität an den unterschiedlichen Konzentrationen der Proben für die Doppelaufarbeitung („D“ und „DD“ – siehe *Kapitel 5.3*) liegen und sich die Streuung der Werte amortisiert. Konzentrationen, SD und RSD wie auch die größere Diagramme der Kurvenverläufe können *Anhang 10.1* entnommen werden.

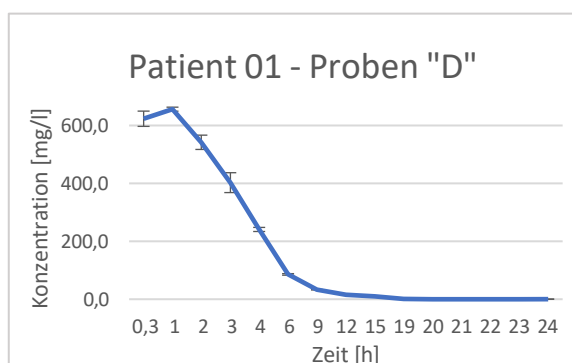


Diagramm 5: c/t - Kurve zu Patient 01 - Datensatz "D" inkl. SD

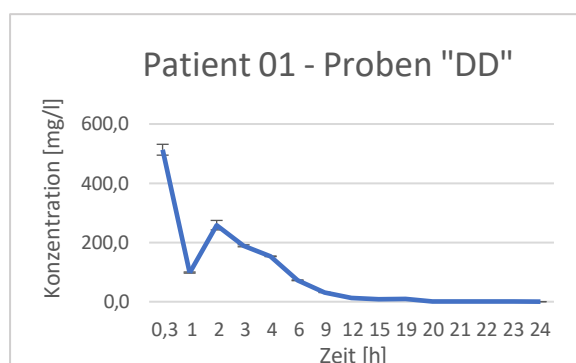


Diagramm 4: c/t - Kurve zu Patient 01 - Datensatz "DD" inkl. SD

3.3.3 Patient 02

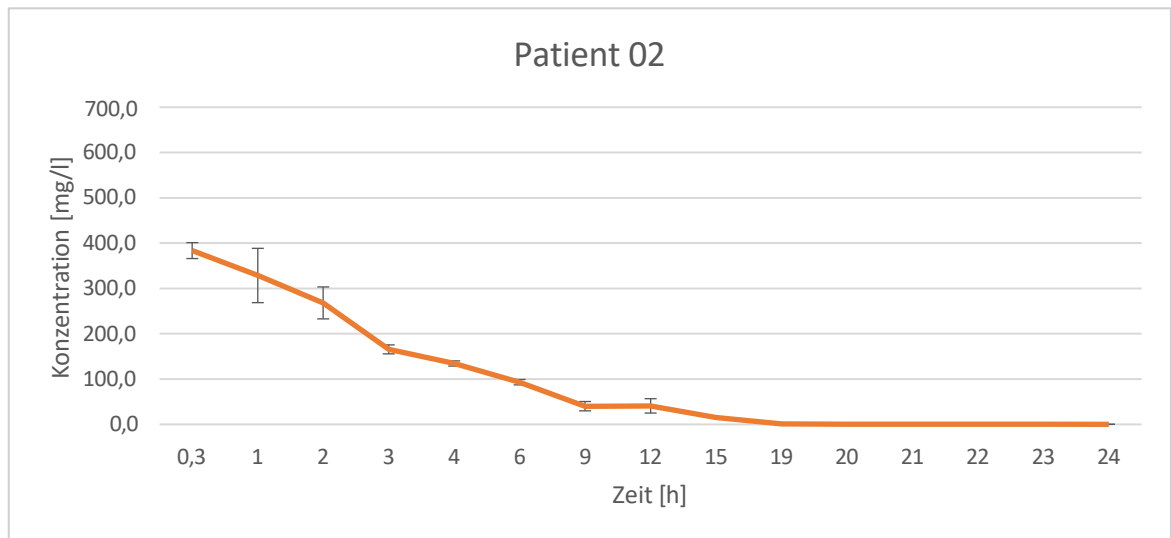


Diagramm 6: Ciprofloxacin-Konzentrationen im Verlauf von 24 Stunden (c/t) im Dialysat [mg/l] von Patient 02 inkl. SD

In *Diagramm 6* sieht man die Konzentrationen von Ciprofloxacin [mg/l] im Dialysat von Patient 02. Die Anfangskonzentration von $c_{max(02)}=369,50$ mg/l liegt hier deutlich unter dem Durchschnitt von $c_{max\phi}=512,18$ mg/l und stellt die geringste Konzentration unter den Patienten in der Studie dar. Hier kann wieder eine erhöhte SD zu Stunde 1 und 2 wie auch Stunde 9 und 12 beobachtet werden.

Tabelle 4: Datensatz zu Patient 02

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	369,50	17,59	4,76
1	271,50	59,95	22,08
2	234,67	35,28	15,04
3	165,58	9,88	5,96
4	134,50	5,70	4,24
6	93,28	5,97	6,40
9	40,29	10,25	25,45
12	40,96	15,85	38,69
15	15,17	1,36	8,95
19	0,99	0,14	14,35
20	0,52	0,03	6,14
21	0,35	0,01	1,74
22	0,30	0,02	7,92
23	0,29	0,01	3,75
24	0,25	0,01	3,88

3.3.4 Patient 03

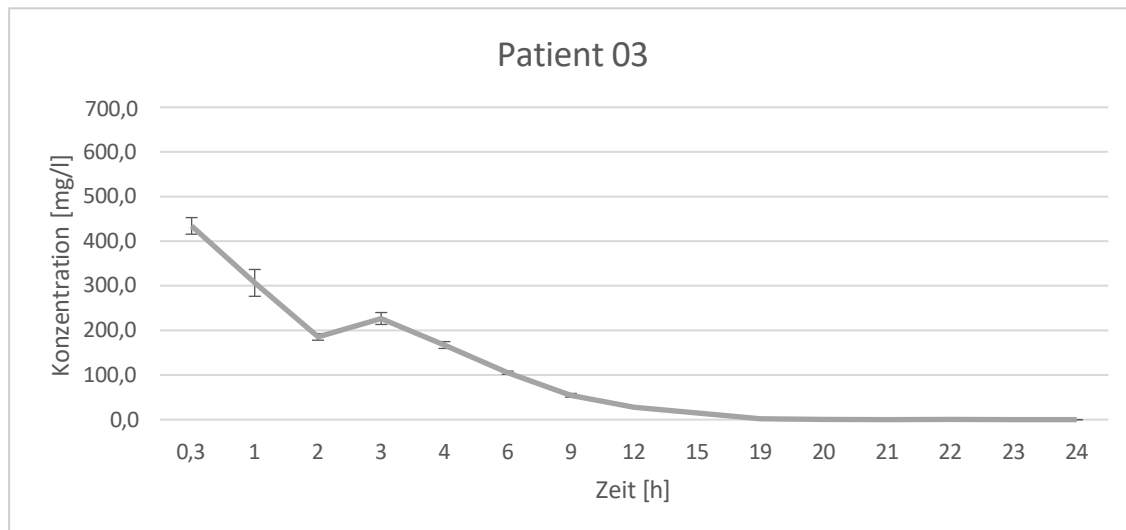


Diagramm 7: Ciprofloxacin-Konzentrationen im Verlauf von 24 Stunden (c/t) im Dialysat [mg/l] von Patient 03 inkl. SD

Tabelle 5: Datensatz zu Patient 03

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	434,17	18,60	4,28
1	306,42	30,06	9,81
2	185,33	7,36	3,97
3	226,57	13,35	5,89
4	167,17	7,70	4,60
6	105,05	3,57	3,40
9	54,49	4,13	7,57
12	27,67	1,76	6,38
15	15,02	1,39	9,26
19	1,63	0,05	3,09
20	0,64	0,01	1,34
21	0,00	0,00	0,00
22	0,31	0,01	2,06
23	0,00	0,00	0,00
24	0,00	0,00	0,00

In *Diagramm 7* ist der Kurvenverlauf von Patient 03 zu sehen. Wie man erkennen kann, fällt die Ciprofloxacin Konzentration [mg/l] in den ersten 2 h ab. Danach kommt es wie bereits in *Abschnitt 3.1.1* erwähnt zu einem einmaligen Anstieg zu Stunde 3, bevor die Konzentration wieder absinkt.

3.3.5 Patient 04

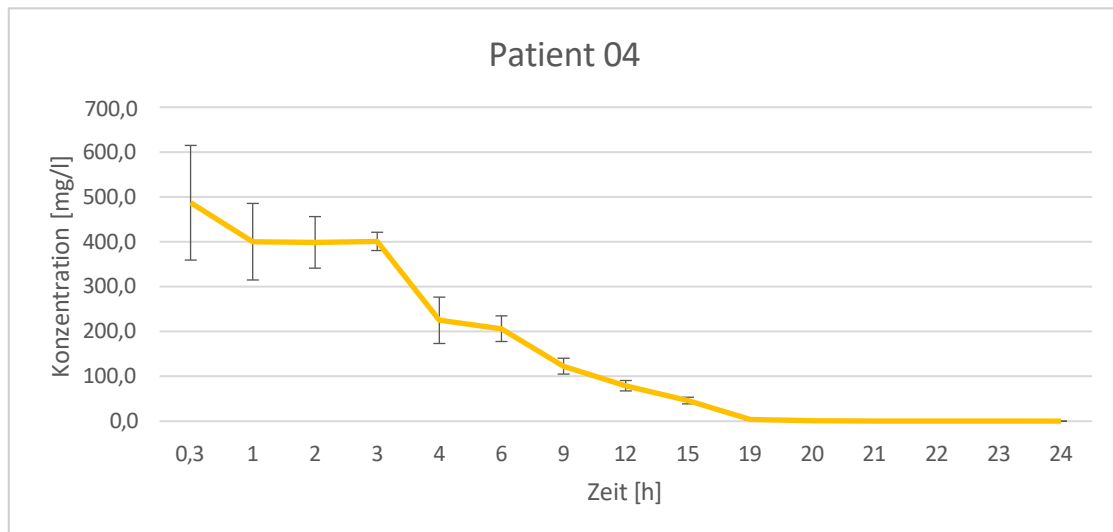


Diagramm 8: Ciprofloxacin-Konzentrationen im Verlauf von 24 Stunden (c/t) im Dialysat [mg/l] von Patient 04 inkl. SD

In *Diagramm 8* sind die Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 04 abgebildet. Auffallend ist das Konzentrations-Plateau von Stunde 1-3 wie auch die moderaten Streuung zu den Zeitpunkten 0,3-1 h, 4 h und 15-20 h.

Sobald man die Proben getrennt analysiert, zeigt sich auch hier eine Homogenität der Daten. Die Kurven und Tabellen der Einzelbestimmung der Proben finden sich im *Anhang 10.2*.

Tabelle 6: Datensatz zu Patient 04

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	487,17	127,83	26,24
1	400,25	85,29	21,31
2	398,75	57,51	14,42
3	400,92	20,40	5,09
4	225,00	51,70	22,98
6	206,25	28,57	13,85
9	122,75	17,63	14,36
12	79,14	11,58	14,63
15	46,06	7,38	16,02
19	3,96	0,61	15,47
20	1,09	0,18	16,57
21	0,63	0,03	5,45
22	0,49	0,07	14,87
23	0,33	0,04	11,61
24	0,31	0,03	8,37

3.3.6 Patient 05

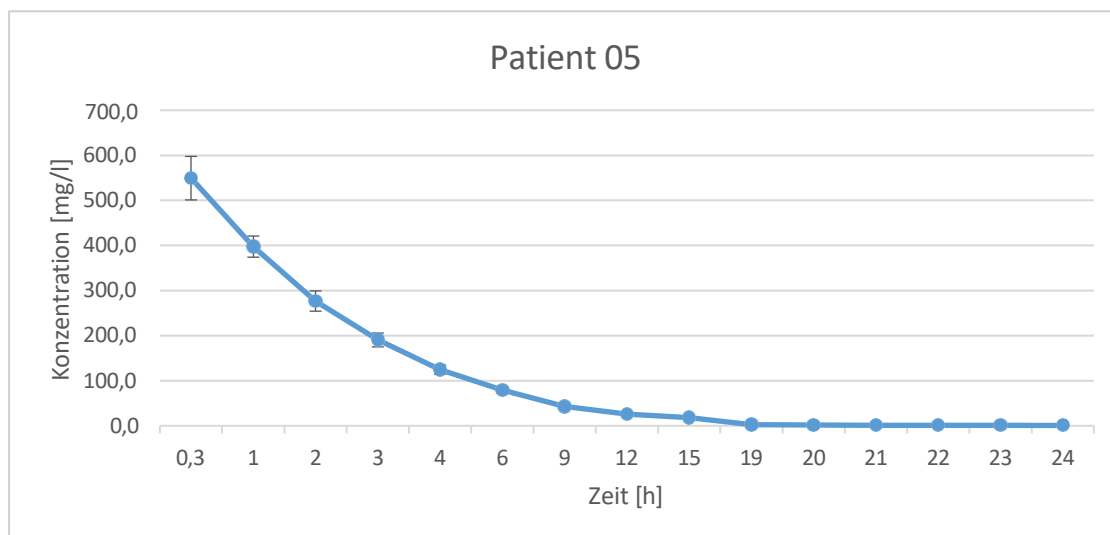


Diagramm 9: Ciprofloxacin-Konzentrationen im Verlauf von 24 Stunden (c/t) im Dialysat [mg/l] von Patient 05 inkl. SD

Tabelle 7: Datensatz zu Patient 05

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	549,42	48,24	8,78
1	397,50	23,47	5,90
2	276,75	22,43	8,11
3	190,50	15,38	8,08
4	124,50	10,40	8,35
6	79,33	6,02	7,59
9	43,08	2,79	6,48
12	26,23	1,99	7,59
15	18,42	1,93	10,49
19	2,65	0,34	12,71
20	1,66	0,07	4,36
21	1,38	0,14	10,00
22	1,38	0,14	9,93
23	1,24	0,07	5,95
24	0,84	0,08	9,75

Die Konzentrations-Zeit-Kurve von Patient 05 in *Diagramm 9* zeigt einen nahezu perfekten Verlauf mit einer guten, engen Streuung (siehe *Tabelle 7*).

3.3.7 Patient 06

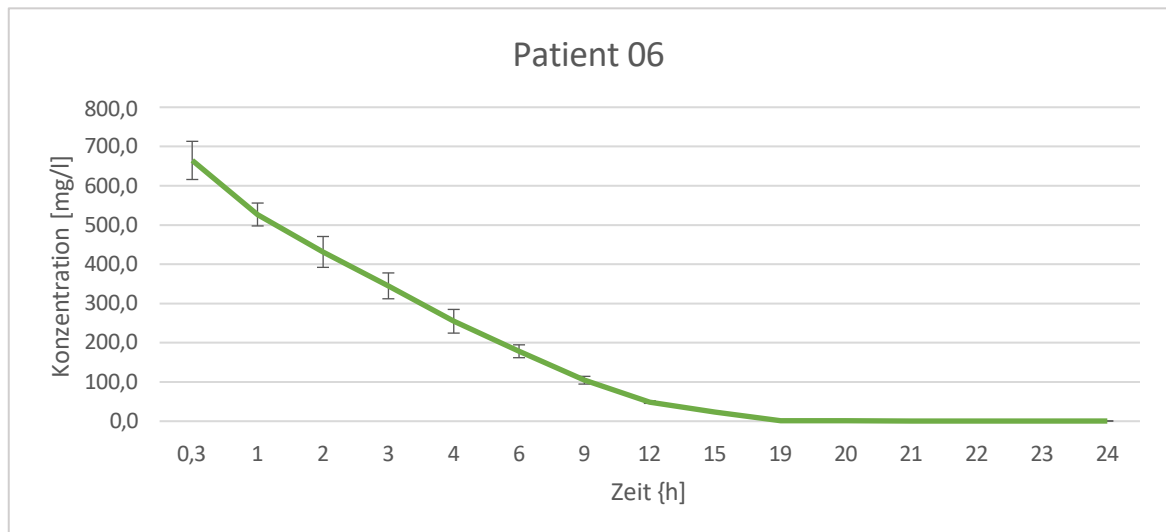


Diagramm 10: Ciprofloxacin-Konzentrationen im Verlauf von 24 Stunden (c/t) im Dialysat [mg/l] von Patient 06 inkl. SD

Auch die c/t -Kurve von Patient 06 in Diagramm 10 zeigt einen schönen Verlauf. Die Anfangskonzentration liegt deutlich über dem Durchschnitt von $c_{\max\emptyset}=512,18$ mg/l und stellt von allen Patienten mit $c_{\max(06)}=664,58$ mg/l die höchste Konzentration dar.

Tabelle 8: Datensatz zu Patient 06

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	664,58	48,67	7,32
1	526,75	29,11	5,53
2	431,33	39,32	9,12
3	344,92	32,97	9,56
4	254,67	30,19	11,85
6	178,25	16,34	9,17
9	104,47	9,88	9,46
12	48,78	3,30	6,77
15	23,58	1,31	5,55
19	1,58	0,20	12,61
20	0,97	0,10	10,80
21	0,74	0,05	6,35
22	0,72	0,02	2,38
23	0,73	0,05	7,00
24	0,57	0,02	3,94

4 Diskussion und Schlussfolgerung / Ausblick

Die Peritonealdialyse stellt sich für dialysepflichtige Patienten als eine Methode heraus, die zu Unrecht unterrepräsentiert ist. Sie ermöglicht es Patienten, ein normales Leben mit Berufstätigkeit, Freizeitaktivitäten, Sport und Urlaube weiterzuführen – je nach Schweregrad der Erkrankung teilweise nur mit geringen Einschränkungen des Tagesablaufs. Allerdings stellt die Gefahr einer PD-bedingten Peritonitis ein erhebliches Risiko für die Patienten dar, dessen Auswirkungen im Eintrittsfall vom Verlust der Möglichkeit zur Durchführung der PD bis hin zu Sepsis und Tod reichen können. Weiters führt eine PD-Therapie im Zeitverlauf in der Regel zu Veränderungen am Peritoneum, die eine Fortsetzung der Behandlung unvorteilhaft oder gar unmöglich machen. Durch eine „*integrated care*“-Therapie, an deren Anfang eine Therapie mit PD steht, die im Laufe der Zeit – falls nötig – durch eine Hämodialyse ersetzt wird, kann nicht nur die Lebensqualität der Patienten hochgehalten werden, sondern auch der Zeitpunkt wo ein Nierenersatz unumgänglich ist oftmals um viele Jahre hinausgezögert werden^{1,3,7,18,20,22,70}.

Es erscheint erstrebenswert, die Vorteile der PD möglichst lange auskosten zu können, dabei aber gleichzeitig das Risiko einer PD-bedingten Peritonitis (vor allem Infektionen mit MRE) soweit wie möglich zu reduzieren. Ein Ansatz dafür ist die präventive Gabe von Antibiotika. Hierzu gibt es in den letzten Jahren Versuche mit verschiedenen Antibiotika und Applikationsrouten. Ein Ansatz ist, das Antibiotikum direkt an Ort und Stelle intraperitoneal zu verabreichen. Um abschätzen zu können, wie sich das Antibiotikum Ciprofloxacin während der PD in der PDF verhält, wurde in dieser Arbeit der Konzentrationsverlauf im Dialysat über 24 h gemessen^{52–54,57,68–71}.

Ein wichtiger Teil dieser Arbeit war zu zeigen, dass intraperitoneal verabreichtes Ciprofloxacin in ausreichend hoher Konzentration und für eine ausreichend lange Zeit in der PDF stabil vorhanden bleibt, um eine Wirksamkeit zur Vorbeugung einer PD-bedingten Peritonitis erreichen zu können. Die Beurteilung der hier erhobenen Daten, hinsichtlich der Wirksamkeit und Effektivität von intraperitoneal verabreichtem Ciprofloxacin, obliegt der Studienleitung^{68,69,71}.

Zur Anwendung von anderen Antibiotika bei i. p.-Gabe gibt es bereits einige Studien. Dies waren unter anderem Meropenem, Vancomycin, Fosfomycin, Cefazolin und Azteonam. Lange Zeit gab es nur eine Arbeit, die sich mit der peroralen Aufnahme von Ciprofloxacin beschäftigt hat. In den letzten Jahren kamen noch einige wenige Arbeiten zur i. p.-Anwendung von Ciprofloxacin ähnlich dieser, hinzu^{17,44,52,54,55,69,71}.

Die Arbeit von Li *et al.* zeigt, dass eine i. p. Gabe von Antibiotika gleichermaßen wirksam wie eine p. o. Gabe ist. Allgemein ist anzumerken, dass bei gleicher Wirksamkeit eine lokale Anwendung von Arzneimitteln aufgrund eines häufig besseren Nebenwirkungs- und Nutzen-Risiko-Profiles in der Regel zu bevorzugen ist²⁰.

Um eine Wirksamkeit gegenüber Ciprofloxacin-empfindlichen Erregern gewährleisten bzw. abschätzen zu können, kann man sich mit der MHK helfen. Diese liegt bei ca. max. 2 µg/ml (manche Erreger 8 µg/ml). Hierbei muss allerdings beachtet werden, dass bei einer MHK von 8 µg/ml eine Resistenzentwicklung möglich ist und unbedingt beobachtet werden muss. Möglicherweise gibt es ein alternatives Antibiotikum, welches mit einer geringeren Dosis (laut Antibiogramm) auskommen findet. Bei beginnender Sepsis ist die parenterale Gabe von Ciprofloxacin der intraperitonealen zu bevorzugen, da hier eine schnelle systemische Wirkung essentiell ist^{59,66}.

Es stellt sich die Frage: Wenn die PD ein der HD hinsichtlich der Dialysequalität gleichgestelltes Dialyseverfahren ist, warum kommt es nicht öfter zum Einsatz? Weltweit liegen die aktuellen Zahlen bei etwa 7 %, in manchen Ländern ist der Anteil sogar rückläufig. Und das obwohl man aufgrund der Einfachheit der Durchführung und Kosteneffizienz einen deutlich größeren Markt bedienen könnte, sowie auch Länder, in denen es nur eingeschränkte medizinische Versorgung gibt oder wo für derartige Behandlungen eine lange Anreise in Kauf genommen werden muss. PD Dr. med. Horst-Walter Birk von der Landesärztekammer Hessen sieht die geringe Verbreitung der PD als: „Folge struktureller Defizite bezüglich Ausbildung von Nephrologen (40 % haben PD in der Facharztausbildung kaum/gar nicht kennengelernt) sowie der Aufklärung inzidenter Dialysepatienten (41 % wurden nicht über PD aufgeklärt) ist (...). Obwohl 51 % der befragten Nephrologen die Lebensqualität unter PD als höher ansehen und 55 % bei eigener Dialysepflichtigkeit eine PD-Behandlung wählen würden, liegt die PD-Rate in deren Dialysezentren bei nur 10,5 %.“ Ein anderer Punkt ist, dass die PD besonderen Patientengruppen mit besonderen physiologischen Gegebenheiten oder Erkrankungen wie Kinder und älteren Personen, Patienten mit Diabetes, Herzinsuffizienz oder Transplantatversagen nur sehr zurückhaltend angeboten wird. Das obwohl es sich gezeigt hat, dass die PD auch für dieses Patientenkollektiv eine hervorragende Wahl ist^{32,39}.

Allgemein ist festzuhalten, dass ein Studienumfang von 6 Patienten bestenfalls als Vorstudie ausreichend ist. Bevor man die intraperitoneale Gabe von Ciprofloxacin als akute oder prophylaktische Behandlungsmethode etablieren kann, müsste die Studie in einem deutlich größeren Umfang mit komplexerem Studiendesign wiederholt werden. Mittlerweile gibt es

einige wenige Daten zu anderen AB in einem ähnlichen Setting. Optimal hierfür wäre ein Vergleich mit einem anderen vielversprechenden AB^{17,54,69,71}.

Weiters stellt sich die Frage, wie die Probenentnahme abgelaufen ist. Vielleicht eröffnet das Wissen darüber eine weitere Erklärung für die Inhomogenitäten der Kurven bei Patient 03 und 04 (*Kapitel 3.3.4 und 3.3.5*).

Wie in den Diagrammen zu den Daten aller Patienten (*Kapitel 3.3.1*) gut zu erkennen ist, kommt es bei der i. p. Gabe von Ciprofloxacin zu einem ähnlichen Kurvenverlauf wie er bei einer klassischen Elimination 1. Ordnung zu erwarten wäre – wie es auch für Eliminationsprozesse von Niere und Leber typisch wäre. Allerdings handelt es sich hierbei um die initiale Aufnahme von Ciprofloxacin in den Körper. Zudem ist die Kurve aufgrund der Verdünnungsprozesse durch die Ultrafiltration flacher.

Da es, bei der i. p. Gabe und bei der Betrachtung des Peritoneums als Kompartiment hier keine klassischen Absorptions-, Verteilungs- und Metabolisierungsprozesse wie bei einer Gabe von Ciprofloxacin p. o. oder i. v. gibt, ist die maximale Konzentration (c_{max}) zum Zeitpunkt 0 vorhanden. Ab diesem Zeitpunkt finden hier ausschließlich Absorptions- und Verdünnungsprozesse statt. Des Weiteren kommt es zu Konvektionsprozessen. Diese scheinen unter anderem für die Inhomogenität der Kurvenverläufe verantwortlich zu sein. Wie man anhand der Daten aller Patienten (*Kapitel 3.3.1*) gut erkennen kann, kommt es nach Stunde 19 zum Auswaschen und augenblicklichen Absinken der Ciprofloxacin-Konzentration durch den Beginn der Zyklus-Therapie (*Kapitel 5.1*).

Sieht man sich die Kurven von Patient 02 und 06 (*Kapitel 3.3.3 und 3.3.7*) an, stechen sie durch eine auffallend niedrige bzw. hohe Anfangskonzentration heraus. Dieser Unterschied relativiert sich mit der Zeit zunehmend.

Patient 01 und 04 (*Kapitel 3.3.2 und 3.3.5*) weisen gegenüber der Kurven der anderen Patienten inhomogenere Verläufe auf. Es kommt im Verlauf dieser Kurven zu kurzen Anstiegen der Ciprofloxacin-Konzentrationen, bevor diese wieder abfällt. Da allerdings die Streuung der Daten relativ eng ist, kann man gut erkennen, welche Auswirkung die Konvektion und physiologischen Bedingungen des Patienten haben können. Die kurzen Anstiege könnten z. B. an der Bewegung des Patienten liegen. Hierdurch könnte ein Teil des Ciprofloxacin durch ungünstige Bedingungen in einem Kompartiment des Peritoneums eingeschlossen gewesen sein, wo weniger Resorption stattgefunden hat, welcher anschließend durch die der Bewegung ins restliche Peritoneum

gelang und dort zu einem Anstieg geführt hat. Um dies allerdings genau sagen zu können, müsste der Studienaufbau ein anderer sein.

Um eine Wirkung von Ciprofloxacin bei einer akuten PD-bedingten Peritonitis aufzeigen zu können, müsste man sich die Daten unter jenen Umständen (also bei einer Patientengruppe mit einer PD-bedingten Peritonitis) ansehen. Da hier allerdings immer das Risiko einer Sepsis mit teils schwerwiegenden Komplikationen auftreten kann, ist hier ein Wechsel auf eine parenterale Gabe eines Antibiotikums anzuraten. Zudem wäre es interessant, sich anzusehen, welche Menge an Ciprofloxacin im Blutplasma ankommt, und ob über diese Applikationsroute auch dort eine ausreichend hohe Konzentration erreicht werden kann, um einer Sepsis zuvorzukommen. Auch hierfür wäre ein deutlich größerer Stichprobenumfang wünschenswert.

5 Experimenteller Teil / Material und Methoden

5.1 Behandlung der Patienten im Universitätsklinikum St. Pölten

Die Patienten wurden im Universitätsklinikum St. Pölten stationär mittels Peritonealdialyse behandelt. Hierfür wurde die Peritonealdialyselösung Extraneal® der Firma Baxter verwendet, und begleitend zur Vermeidung von Infektionen das Antibiotikum Ciprofloxacin intravenös und intraperitoneal über die PDF appliziert²⁷.

Ein wichtiges Kriterium für die Teilnahme an der Studie war, dass zum Zeitpunkt der Probenentnahme keine Peritonitis vorliegen durfte.

Jeder Patient erhielt an Tag 1 jeweils eine Dosis Ciprofloxacin (400 mg) i. v. und an Tag 8 eine Dosis i. p. mit der PDF verabreicht. Um den Wirkstoffspiegel überprüfen zu können, wurden mehrere Proben binnen 24 h entnommen und vermessen. Wie man *Tabelle 9* entnehmen kann, umfasste das neun Messungen binnen des Tages während einer PDF-Verweildauer von 15 h, und 6 Messungen

Tabelle 9: Zeitpunkte der Probenentnahmen

Dialysat-Probe (Patient 1 – 6)	Zeitpunkt der Probenentnahme [h]
0	0,3
1	1
2	2
3	3
4	4
6	6
9	9
12	12
15	15
Zyklus 1	16,5
Zyklus 2	18
Zyklus 3	19,5
Zyklus 4	21
Zyklus 5	22,5
Zyklus 6	24

während der Zyklustherapie nachts, bei der es sechs Wechsel der PDF binnen neun Stunden gab. Jede Probe wurde doppelt (an zwei unterschiedlichen Entnahmestellen) entnommen und mehrfach vermessen.

In dieser Masterarbeit konnten aufgrund von technischen Problemen mit der MS nur die Proben von Tag 8 (intraperitoneal verabreicht) quantifiziert werden. Die restlichen Proben wurden von Mag^a. pharm. Kathrin Vorauer (2020) in ihrer Diplomarbeit analysiert⁶⁹.

5.1.1 Ciprofloxacin Kabi 400 mg/200 ml Infusionslösung®

Die Patienten erhielten das Antibiotikum, in der Darreichungsform Ciprofloxacin Kabi 400 mg/200 ml Infusionslösung®, im Universitätsklinikum St. Pölten, an Tag 8 der Studie, im Zuge des stationären Aufenthalts⁷².

Dies ist eine sterile, klare, farblose Lösung in einer Polyethylenflasche oder in einem flexiblen, durchsichtigen Polyolefinbeutel mit Aluminium-Umverpackung⁷².

Zusammensetzung: Ciprofloxacin als Hydrogensulfat, Natriumchlorid, Schwefelsäure, Natriumhydroxid, Wasser für Injektionszwecke⁷².

5.1.2 Peritonealdialyselösung Extraneal®

Extraneal® ist eine sterile, farblose und klare Peritonealdialyselösung der Firma Baxter mit einer Konzentration von 7,5% m/v in einer Elektrolytlösung. Sie kann sowohl im Rahmen der CAPD als auch bei der APD bei Patienten mit Niereninsuffizienz zum Einsatz kommen und wird üblicherweise einmal täglich appliziert²⁷.

Tabelle 10: Zusammensetzung der PDF Extraneal®

Zusammensetzung Extraneal			Elektrolytkonzentration		
Icodextrin	75	g/l	Natrium	133	mmol/l
Natriumchlorid	5,4	g/l	Calcium	1,75	mmol/l
Natrium-(S)-Lactat	4,5	g/l	Magnesium	0,25	mmol/l
Calciumchlorid	0,257	g/l	Chlorid	96	mmol/l
Magnesiumchlorid	0,051	g/l	Lactat	40	mmol/l
Theoretische Osmolarität	284	Milliosmol/l	pH-Wert	5-6	
Theoretische Osmolalität	301	Milliosmol/kg	<u>Sonstige Bestandteile:</u> Wasser für Injektionszwecke, Natriumhydroxid oder Salzsäure zur pH-Wert-Einstellung		

5.2 Stabilität von Ciprofloxacin in Peritonealdialyselösungen

Ein weiterer wichtiger Parameter um das Ciprofloxacin über die PDF geben zu können ist, dass es in der PDF stabil ist. Denn sobald es mit der PDF reagiert, Komplexe bildet oder zerfällt, muss davon ausgegangen werden, dass es zu einer eingeschränkten Wirkung bis hin zum Wirkungsverlust kommt.

Die Stabilität von Ciprofloxacin in PDF – unter anderen in Extraneal® – wurde in einer vergangenen Diplomarbeit von Mag. pharm. A. Ferth überprüft. Ciprofloxacin wurde für diese Studie hinsichtlich seiner Stabilität bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen untersucht und war jeweils ca. zwei Wochen stabil. Die Untersuchungen inkludierten die Bedingungen unter Kühlung (6 °C), bei Raumtemperatur (25 °C), und bei Körpertemperatur (37 °C). Es konnten keine Adsorptionsvorgänge oder Wirkverluste hinsichtlich der antimikrobiellen Aktivität erkannt werden⁶⁸.

5.3 Aufarbeitung der Dialysatproben

Die Dialysatproben wurden am Institut für Pharmakognosie bei -80 °C gelagert und nach der Entnahme ca. 1 h lang bei Raumtemperatur zum Auftauen gelagert. Danach wurden die Proben mit dem Vortexmischer homogenisiert und doppelt ident aufgearbeitet. Das macht jeweils sechs Probensätze „D“ und „DD“. Da das Ciprofloxacin i. p. gegeben wurde, mussten die Proben von Stunde 0 bis 15 aufgrund deren hoher Konzentrationen auf 1:100 verdünnt werden, um im linearen Bereich der Eichgerade quantifizieren zu können. Hierfür wurden jeweils 10 µl Probe entnommen und mit 990 µl bidestilliertem Wasser (ddH₂O) aufgefüllt und homogenisiert. Die Proben der Zyklustherapie aller Patienten Z01 bis Z06 besaßen geringere Konzentrationen und es konnten unverdünnt 0,1 ml in 0,2 ml HPLC Vials überführt werden. Bei Patient 03 war die Analyse der Zyklustherapie teilweise nicht möglich, da nicht genügend Probe vorhanden war (*siehe Kapitel 3.3.4*). Da die Ciprofloxacin-Konzentration während der Zyklustherapie sehr schnell in einen einstelligen Bereich [mg/l] abfällt, stellt das kein großes Problem dar (*Kapitel 10.3*).

Anschließend wurden sämtliche Vials in den Autosampler des HPLC-Geräts überführt und jeweils 6-fach analysiert. Vor jeder neuen Patientenprobe wurde ein „Blank“ analysiert, um ein Grundrauschen oder das Verbleiben von Substanzen auf der Säule ausschließen zu können. Hierfür wurde einmalig ddH₂O injiziert. Zwischen den Analysen unterschiedlicher Proben wurde immer ein Durchgang mit Lösungsmittel eingeschoben, um einen carry-over Effekt ausschließen zu können und eventuell auftretende Verunreinigungen durch Reste aus den vorangegangenen Proben auszuwaschen. So konnten jeweils zwölf Ergebnisse pro Probe erhalten und ein Mittelwert daraus berechnet werden. Zusätzlich wurden stichprobenartig Ciprofloxacinlösungen in bekannter Konzentration als interne quality control (QC) injiziert. Die verwendeten Substanzen, Reagenzien und Geräte können *Kapitel 5.8* entnommen werden.

Die QC wie auch die höhere Anzahl an Analysen pro Probe wurden eingeführt, um die konstante Funktionalität bzw. Reproduzierbarkeit der Analysemethode kontrollieren zu können, da es zu Beginn der Analysen (vor der Reparatur) massive Probleme mit der Reproduzierbarkeit und Sensitivität gab.

5.4 Analyse der Proben

Die erhaltenen Peakflächen wurden mit der bereitgestellten Software aufgearbeitet, ausgewertet und über den externen Standard quantifiziert. In Microsoft Excel® wurden dann die Verdünnungen zurück- und zur Einfachheit auf mg/l umgerechnet. Aus den 12 erhaltenen

Werten (Doppelbestimmung jeder Probe, 6-fach analysiert - siehe *Kapitel 5.3*) wurden der Mittelwert, die Standardabweichung (SD), und relative Standardabweichung (RSD) berechnet.

Mit den erhaltenen Werten konnte für die Patienten jeweils ein Diagramm (*Kapitel 3.3.2 bis 3.3.7*) mit den zugehörigen SD erstellt werden. Weiters wurden ein Diagramm, welches alle Patientendaten zeigt (*Kapitel 3.3.1*), und ein Diagramm mit dem Mittelwert aller Patienten (*Kapitel 3.3.1.1*) erstellt.

5.4.1 Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung der Patientenproben wurde in Microsoft Excel® der Mittelwert und die Standardabweichung (SD) der Stichprobe berechnet. Zweitens wurde in den Diagrammen auch als Streuungsmaß bzw. Fehlerindikator angegeben. Zur Normalisierung der Daten wurde zudem die Relative Standardabweichung (RSD) berechnet. Da es sich hier um die Aufarbeitung biologischer Proben handelt, wird eine Streuung von $\pm 20\%$ als moderat beurteilt.

5.5 Ciprofloxacin-HCl

Wie bereits in Kapitel 1.8.1 erwähnt, zeigt Ciprofloxacin eine extrem pH-Wert-abhängige Löslichkeit und ist bei neutralem pH- Wert in Wasser und Alkohol nahezu unlöslich. Bei einem pH-Wert von 4-5 ist die Löslichkeit am höchsten, was der Hydrochlorid-Form entspricht⁵⁷.

Da für diese Arbeit mit Ciprofloxacin als externer Standard quantifiziert wurde, wurde mit Ciprofloxacin-Hydrochlorid eine Stammlösung mit Methanol hergestellt und diese quantifiziert. Hieraus konnte eine Eichgerade erstellt werden, die zur Berechnung der Ciprofloxacinkonzentration in den Dialysatproben herangezogen wurde.

5.6 Quantifizierungsmethode HPLC-MS/MS

Für die Analyse der Proben wurde eine Hochleistungstrenn- mit einer Hochleistungsanalyse-methode kombiniert, um selbst kleinste Mengen an Ciprofloxacin in den Patientenproben analysieren zu können. Genauer gesagt wurde eine HPLC mit einem Tandem-MS (MS/MS) gekoppelt, der als Analysator einen Triple Quadrupol verwendet. Dies ermöglicht eine hochsensitive und hochselektive Detektion der zu analysierenden Substanz.

5.6.1 High Performance Liquid Chromatography – HPLC

HPLC steht für High Performance Liquid Chromatography – Hochleistungsflüssigkeits-chromatographie. Die HPLC ist ein chromatographisches Trennverfahren. Es wird ein Stoffgemisch mittels einer mobilen Phase (auch Elutions- oder Laufmittel genannt) durch eine Trennsäule, die die stationäre Phase enthält, gepumpt, und durch die Wechselwirkungen zwischen den Phasen aufgetrennt. Voraussetzung für die Trennung ist eine reversible Adsorption – ein dynamisches Gleichgewicht aus Adsorptions- und Desorptionsprozessen –, da sonst im schlimmsten Fall die Substanzen an der stationäre Phase verbleiben, oder andererseits ohne Auftrennung durch die Säule gespült werden würden. Die Gründe für die unterschiedliche Verteilung liegen im Wesentlichen an der Ladung, Polarität und Geometrie der aufzutrennenden Stoffe^{73–76}.

Häufig wird vor der Hauptsäule noch eine Vorsäule verwendet. Diese kurze **Säule** wird als Filter verwendet um die Hauptsäule vor Verunreinigungen zu schützen. Die HPLC kann sowohl präparativ als auch analytisch genutzt werden. Die aufgetrennten Substanzen können nach der Auftrennung gesammelt, oder mit einem oder mehreren hintereinander geschalteten, geeigneten Detektoren analysiert und mittels geeigneter Software quantifiziert werden. Zur Quantifizierung werden zusätzlich Standards benötigt. Hierfür können je nach Gegebenheiten interne oder externe Standards verwendet werden^{74–78}.

Die **Trennung** beruht auf der Attraktion der einzelnen zu untersuchenden Substanzen mit der stationären und mobilen Phase. Je stärker die Wechselwirkungen mit der stationären Phase sind, desto länger benötigt der Stoff, um die Säule wieder zu verlassen. Dies schlägt sich in der Retentionszeit nieder. Nach der Säule befindet sich ein Detektor, der die Substanzen detektieren kann. Mittels geeigneter Software kann ein Chromatogramm erstellt, und die darin enthaltenen Peaks analysiert und gegebenenfalls quantifiziert werden. Die Substanzen werden im Chromatogramm anhand ihrer Retentionszeiten zugeordnet. Nachfolgende Detektoren wie ein

UV/VIS-Spektrophotometer oder ein Massenspektrometer (MS) erhöhen die Wahrscheinlichkeit, dass die Substanz korrekt identifiziert wird^{74,75,77}.

Man unterscheidet unter anderem die NP-HPLC (normal phase) und die RP-HPLC (reverse phase). Bei der **NP-HPLC** wird eine polare stationäre Phase (zB. Silicagel/Kieselgel) verwendet. Die Stärke der Elutionskraft der mobilen Phase ist von der Polarität der mobilen Phase abhängig. Je polarer diese ist, desto schneller werden die Substanzen aufgetrennt^{74–76}.

In der Praxis ist die **RP-HPLC** die gängigere Methode. Bei der RP-HPLC wird eine unpolare stationäre Phase mit einer polaren mobilen Phase kombiniert. Dies hat den ungemeinen Vorteil, dass als mobile Phase auch Wasser oder Mischungen aus Methanol oder Acetonitril und Wasser verwendet werden können, was große Vorteile in der Handhabung und Entsorgung hat. Als stationäre Phase werden modifizierte Silicagelpartikel mit einer Schicht an Alkanen, mit unterschiedlich langkettigen Kohlenwasserstoffen silyliert (häufig C18), verwendet. Dies reduziert die Polarität der Säule deutlich^{75,76}.

Außerdem gibt es noch die IEX (Ion-Exchange Chromatography), bei der die Ladung der Ionen ausgenutzt wird und aufgrund unterschiedlicher Attraktion zum Austauscherharz aufgetrennt wird, und die SEC (Size-Exclusion Chromatography). Bei der SEC wandern die Moleküle durch ein poröses Gel, welches die Moleküle je nach Größe unterschiedlich lange zurückhält^{79–81}.

Um die **Trennung** weiter zu beeinflussen, gibt es unterschiedliche Verfahren. Neben der isokratischen Trennung, bei der die Zusammensetzung der mobilen Phase während der gesamten Trennung gleichbleibend ist, kann man auch mit einer Gradiententrennung arbeiten. Hierbei ändert sich die Polarität des Fließmittels während der Trennung durch Veränderung der Fließmittelanteile. Üblicherweise wird die Elutionsstärke während der Trennung erhöht. Die Verläufe können linear, kurvenförmig oder stufenförmig sein. Hierfür können bis zu 4 verschiedene Lösungsmittel verwendet werden. Dies hat in der Regel positive Auswirkungen auf die Retention^{75,78,82}.

Analyse: Die aufgetrennten Substanzen und Bestandteile werden anhand ihrer Retentionszeiten und Peakflächen und eben diesen Parametern von Vergleichssubstanzen analysiert, und anhand von internen oder externen Standards quantifiziert. Zur eindeutigen Identifikation unbekannter Substanzen ist eine Kombination mit weiteren Analysemethoden (z. B. Massenspektrometrie) erforderlich. Diese können direkt mit der HPLC gekoppelt werden^{73,76–78}.

Beim Arbeiten mit einem **externen Standard** wird eine Standard-Lösung hergestellt und analysiert. Theoretisch würde eine Konzentration ausreichen, da die Kalibrierungsgerade automatisch durch den Nullpunkt geht. Üblicherweise wird allerdings eine Konzentrations- bzw. Eichgerade erstellt, um die Stabilität und Genauigkeit der Analyse gewährleisten zu können. Über die erhaltenen Peakflächen und bekannten Konzentrationen der Standardlösungen kann im weiteren Verlauf auf die Konzentration des Analyten rückgeschlossen werden^{74–78}.

Wenn ein **interner Standard** verwendet wird, wird in der Analyse eine Substanz mit bekannter Konzentration zugegeben, und so über die Peakflächen auf die Konzentration des Analyten rückgeschlossen. Allerdings muss der interne Standard einige Anforderungen erfüllen: Der Peak des Standards muss sich im Chromatogramm an einer freien Stelle befinden, muss ähnliche chemische Eigenschaften wie der Analyt haben (ähnliches Verhalten im Chromatogramm), und die verwendete Konzentration sollte in einer ähnlichen Größenordnung liegen^{74–78}.

5.6.1.1 Aufbau HPLC

In *Abbildung 13* sieht man den auf die wesentlichen Elemente reduzierten Aufbau, die für die Durchführung einer HPLC benötigt werden:

- mobile Phase (Fließmittel, Elutionsmittel)
- Pumpensystem mit Druckkompensationsschleife
- Injektor
- Vor- und Trennsäule (stationäre Phase)
- Detektor (UV-VIS-Spektrometer, MS,...)
- System zur Auswertung (PC, Software,...)⁷⁸

Die **mobile Phase** wird über eine Hochdruckpumpe mit Dämpfungsschleifen für eine Pulsationsdämpfung durch einen Filter zum **Injektor** geleitet. Hier wird die Probe eingebracht. Entweder händisch oder vollautomatisiert via eines Autosamplers (5-20 µl Volumen). Auch hier ist es wichtig, dass es nicht zu

Druckschwankungen kommt. Dies wird durch ein ausgeklügeltes Probenschleifenventil ermöglicht^{74–76,78}.

Die **Trennsäule** ist das Herzstück der Flüssigchromatographie – sie enthält die stationäre Phase. In der Regel wird vor die Trennsäule eine Vorsäule gehängt, die primär die oftmals sehr teure

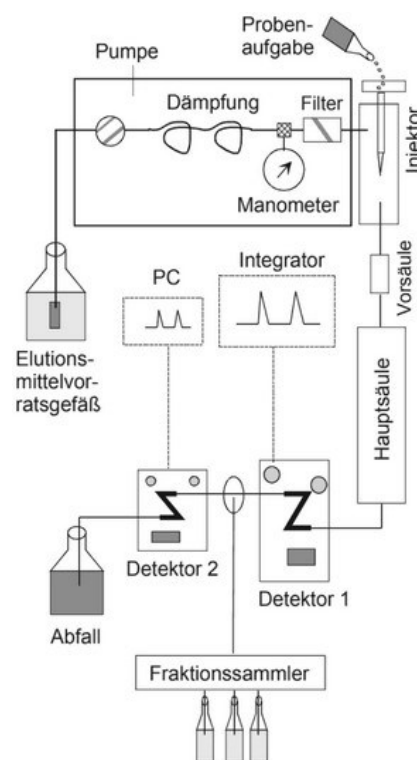


Abbildung 13: Aufbau einer HPLC-Anlage (Gey, 2015)

Trennsäule vor eventuellen Verunreinigungen schützen soll. Trennsäulen bestehen typischerweise aus Edelstahl oder druckverfestigtem Glas in einem Edelstahlschutzmantel, und sind mit gepacktem, gegebenenfalls modifiziertem Silicagel unter Hochdruck gepackt. Die Säulenenden sind mit feinmaschigen Filtersieben verschlossen, um Verschmutzung und das Herausspülen der feinen Silicakügelchen unter Hochdruck zu vermeiden. Es ist wichtig, dass die Säule ohne Totvolumen gepackt wird und dieser Zustand erhalten bleibt, da es sonst zu einer geringeren Auflösung kommt. Dies wäre v.a. bei quantitativen Analysen sehr unvorteilhaft. Die Oberflächensilanolgruppen der Silicakügelchen lassen sich verhältnismäßig leicht mit unterschiedlichen lipophilen (Alkylgruppen) oder hydrophilen (Alkohole, Amine,...) Gruppen modifizieren, womit man sie gut an die zu trennenden Substanzen bzw. Analyse anpassen kann. Eine weitere Möglichkeit, die Retention zu optimieren, liegt in der Variation der mobile Phase (z. B. durch Verwendung eines Elutionsgradienten oder Veränderung der Temperatur des Säulenofens)^{74,75,77,78}.

5.6.2 Massenspektrometrie – MS

Die Massenspektrometrie wird zur Strukturanalyse von organischen Molekülen verwendet. In Kombination mit einem chromatographischen Verfahren ist sie prädestiniert für die Quantifizierung aufgetrennter Strukturen komplexer Matrices. Dabei kann eine Nachweisgrenze im Nano- bis Femtogramm-Bereich erreicht werden. In der MS werden Probemoleküle mit Hilfe einer Ionenquelle in positiv oder negativ geladene, gasförmige Ionen überführt. Anschließend werden sie in einem Analysator nach ihrem Masse-zu-Ladung-Verhältnis (m/z) getrennt um danach von einem Detektor registriert zu werden. Hierbei wird die Probe anders als bei anderen Analysemethoden unwiederbringlich zerstört. Um Kollisionen der Ionen zu vermeiden, wird im MS ein Hochvakuum hergestellt. Aufgrund der Ionentrennung in einem elektrischen oder elektromagnetischen Feld wird die MS den Trennmethoden zugeordnet⁷⁸⁻⁸¹.

5.6.2.1 Aufbau eines Massenspektrometers

Die Hauptbestandteile des Massenspektrometers sind der Probeneinlass, die Ionenquelle, das Trennsystem bzw. der Analysator, der Detektor, und Pumpen, die ein Hochvakuum erzeugen. Dieses Hochvakuum wird benötigt, damit die ionisierten Partikel nicht abgelenkt werden, oder Sauerstoff- und Stickstoffmoleküle aus der Luft die Probensignale überlagern. Unmittelbar nach dem Einlasssystem befindet sich die Ionenquelle. Hier erfolgt die Ionisierung der Probenmoleküle in positiv oder negativ geladene Ionen^{76,78,79}.

Es gibt weiche und harte Ionisierungsmethoden. Bei der **weichen Ionisierung** werden entweder thermische oder elektrische Impulse, oder energiearme Ionen oder Moleküle verwendet um die Probenmoleküle schonend zu ionisieren. So wird eine Fragmentierung weitestgehend vermieden, und die Moleküle können anhand ihrer Quasimolekülionenpeaks sehr gut bestimmt werden. Durch die schonende Ionisierung können auch Biomoleküle analysiert werden. Bei der **harten Ionisierung** werden energiereiche Ionen eingesetzt, die zur teils großzügigen Fragmentierung der Moleküle in einzelne Bruchstücke führen. Die Fragmentierungsmuster sind für gewöhnlich für die Art der Ionisierung und chemische Struktur charakteristisch^{75,76,78}.

5.6.2.2 Elektrosprayionisation – ESI

Die ESI ist eine weiche Ionisierungsmethode. Wie man in *Abbildung 14* erkennen kann, werden die Probenmoleküle samt des Fließmittels durch eine Kapillare geleitet, an deren Ende ein elektrisches Feld angelegt ist. Beim Austritt der Flüssigkeit aus der Kapillare führt das elektrische Feld zur Zerstreuung und Ionisation⁷⁸.

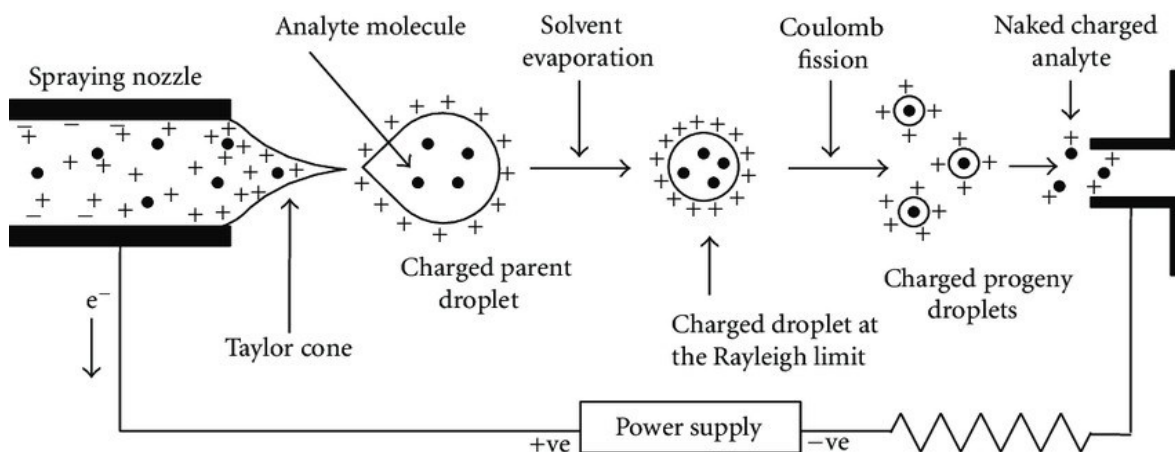


Abbildung 14: Schema der Elektrosprayionisation (https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-the-electrospray-ionization-process_fig31_225050758, 22.09.2024)

Üblicherweise werden Quasimolekülionen detektiert. Wenn positive Spannung angelegt wird $[M+H]^+$ und bei negativer Spannung $[M-H]^-$. Ein charakteristisches Phänomen der ESI ist die Bildung von Addukt-Ionen mit den Eluenten und die Bildung mehrfach geladener Ionen. Sie wird üblicherweise mit Ion-Trap-, Quadrupol- oder Time-of-Flight-Analysatoren (TOF) gekoppelt. Ein großer Vorteil ist, dass sie sich gut zur Kopplung an ein HPLC-System eignet und damit auch komplexe Proben direkt im Fluss analysiert werden können⁸³.



Abbildung 15: Elektrospray-Ionisation (<https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Elektrospray-Ionisation&oldid=220350457>, 05.08.2024)

Im Trennsystem bzw. Masseanalysator (hierzu gehören vor allem die TOF, die Ion-Trap, die Ablenkung im Magnetfeld und der Quadrupol)

werden die ionisierten Moleküle nach ihrem Masse-zu-Ladung-Verhältnis (m/z) aufgetrennt^{81,84}.

Nachdem der Detektor die Ionen registriert hat, erhält man einen Peak infolge eines Signals im Massenspektrum, der eine relative Intensität [%] gegen die Ladung (m/z -Verhältnis) anzeigt. Neben dem Molekülionen-peak können noch Fragmentationenpeaks zu sehen sein. Diese sind typischerweise für die Substanz und die verwendete Ionisierungsmethode charakteristisch, und können unterstützend der Identifikation dienen⁷⁹.

5.6.2.3 Tandemmassenspektrometrie – MS/MS

In einem Tandemmassenspektrometer (MS/MS) sind zwei MS hintereinander gekoppelt. Im ersten wird das Spektrum der Probensubstanz aufgenommen. Im zweiten wird ein spezielles, interessantes Ionenbündel ausgewählt, in eine Reaktionszone überführt. Nach der resultierten Fragmentierung wird ein weiteres Spektrum aufgenommen, bei dem ein ausgewähltes Ion mit deutlich höherer Empfindlichkeit registriert wird^{78,79,84}.

Am weitesten verbreitet sind HPLC-Triple-Quadrupol-MS (QqQ) mit ESI-Ionisation, wie auch für die Erstellung dieser Arbeit verwendet. Gängige andere Methoden wären noch Q-TOF und TOF-TOF⁷⁹.

5.6.2.4 Triple-Quadrupol-Massenanalysator

Im Quadrupol-Massenanalysator fliegen die Ionen durch vier parallel angeordnete zylindrische Stabelektroden (Abbildung 16) von denen die jeweils gegenüberliegenden Stabelektroden die gleiche Ladung besitzen. Sie werden in einem statischen, elektrischen Wechselfeld beschleunigt und es findet eine Selektierung nach m/z statt, sodass nur Teilchen mit definiertem m/z -Verhältnis

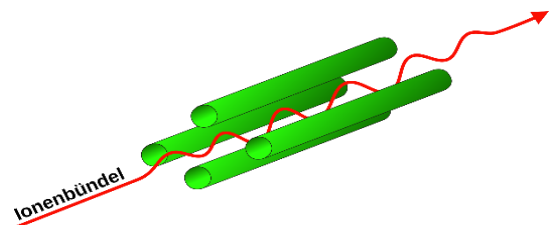


Abbildung 16: Quadrupol-MS: Anordnung der Stabelektroden und Flugbahn der Ionen (<https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Quadrupol-Massenspektrometer&oldid=244965235>, 22.09.2024)

vom nachgeschalteten Detektor registriert werden. Aufgrund ihrer Selektivität und hohen Sensitivität sind Triple-Quad-MS-Systeme das Mittel der Wahl bei der Analyse von bekannten wie auch unbekannten Substanzen, beispielsweise in der Umwelt- und Lebensmitteltechnik oder bei der Analyse von Blutmedikamentenspiegeln im klinischen Bereich^{79–81,84,85}.

Triple Quads (auch QqQ) werden für die Tandem-MS verwendet. Zwischen den beiden Quadrupol-Analysatoren liegt eine Kollisionszelle (siehe *Abbildung 17*), in welcher die Teilchen mittels kollisionsinduzierter Dissoziation (CID) fragmentiert werden. Die

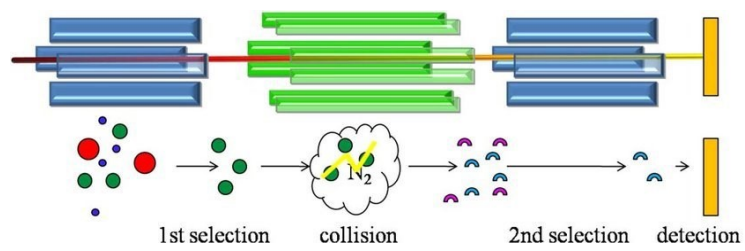


Abbildung 17: Triple Quadrupol MS

(https://www.researchgate.net/figure/Scheme-of-a-triple-quadrupole-mass-spectrometer_fig3_255738948, 24.09.24)

CID ist ein Mechanismus, bei dem die Moleküle in einem Hochvakuum durch Anlegen einer Spannung beschleunigt werden, mit Molekülen eines hochreinen, inerten Gases (Argon, Helium, Stickstoff) kollidieren, und dabei charakteristisch fragmentiert werden. Sie ist eine sehr gebräuchliche und übliche Methode für HPLC-MS/MS-Kopplungen. Die Kollisionszelle kann ebenfalls als Quadrupol oder als Oktapol ausgelegt sein. So kann die Selektivität der Messung bis in den Nanomol-Bereich gesteigert werden^{79–81,84,85}.

Durch den dritten Quadrupol (Q3) hat man die Möglichkeit, selektiv nach einzelnen Molekülonen oder entstandenen Fragmentionen zu scannen. Durch die Erfassung einzelner Fragmentionen kann sehr empfindlich und selektiv quantifiziert werden. Es kann aber auch nach allen entstandenen Fragmentionen gescannt werden, womit dann im Weiteren Rückschlüsse auf eine unbekannte Struktur gezogen werden können⁷⁹.

5.6.2.5 Multiple Reaction Monitoring – MRM

Ein Quadrupol bzw. auch die Tandem-Kombination kann in verschiedenen Modi Aufnahmen an Spektren erstellen und ist so für unterschiedliche Anwendungsfälle anpassungsfähig⁸¹.

Hierfür ist der Aufnahmemodus so eingestellt, dass nur Ionen mit bestimmten m/z -Werten durch den Quadrupol geleitet und detektiert werden. Hierfür wird die angelegte Spannung am Q3 nicht kontinuierlich verändert, sondern so eingestellt und für eine bestimmte Zeit konstant gehalten, dass so nur bestimmte Ionen detektiert werden können. Dies hat den großen Vorteil, dass es zu einer deutlichen Verringerung des Grundrauschens durch störende Signale anderer Ionen bzw. Fragmenten kommt, was der Sensitivität sehr zugute kommt⁸¹.

5.7 Konfigurationen, die für diese Arbeit verwendet wurden

- HPLC-Gerät: Ultimate 3000 RSLC System Dionex, Software: Analyst 1.5 – MS Link 2.5.0.2429

⇒ Säule und Einstellungen siehe *Kapitel 3.2*

⇒ Lösungsmittel

Phase A	Wasser + 0,1 % Ameisensäure
Phase B	Acetonitril + 0,1 % Ameisensäure
Waschlösung	Methanol Wasser + 20 % Isopropanol

- Massenspektrometer: API 4000, Triple Quadrupol Mass Spectrometer, AB Sciex Instruments; Software: Analyst 1.5

⇒ Triple-Quadrupol-MS mit einem Quadrupol als Kollisionszelle und hochreinem Stickstoffgas

- Methode: OCiprofloxMRMposRR18-PAllneu

- Aufnahmemodus: MRM

⇒ MRM quantifier: m/z 332,19/288,10; CE 23.00; CXP 16.00; dwell 150 ms

⇒ MRM qualifier: m/z 332,19/245,10; CE 29.00; CPX 12.00; dwell 150 ms

⇒ ESI pos.; IS 5500.00; EP 10.00; CUR 17.00; GS1 40.00; GS2 40.00; TEM 500 °C; CAD 5.0; CEM 3000.0; DP 76.00; DF -100

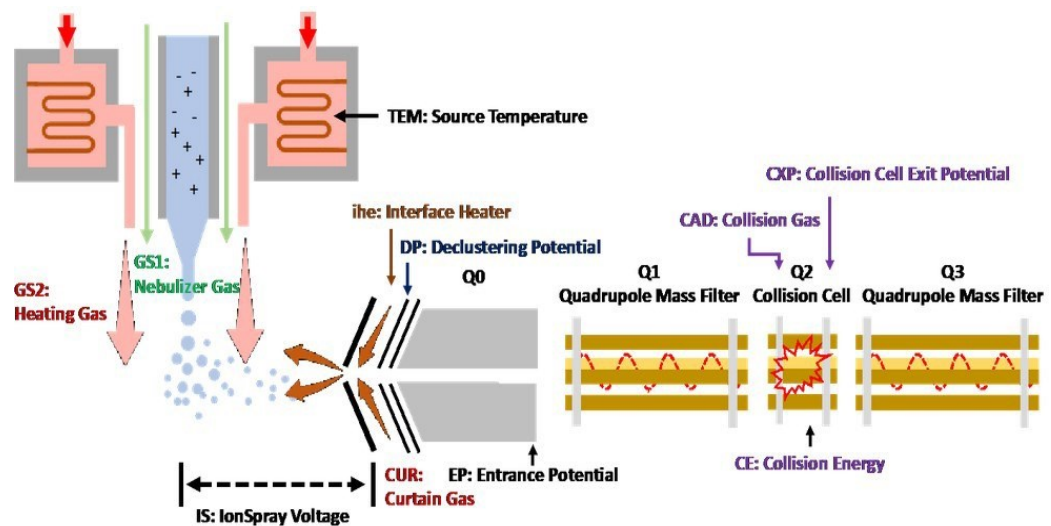


Abbildung 18: Schema einer MS mit den wichtigsten Parameter (https://www.bioanalysis-zone.com/learn-with-in-about-lc-ms-bioanalysis-part-iii-tune-the-triple-quadrupole-system_covance, 18.11.2024)

5.8 Verwendete Substanzen, Reagenzien und Geräte

Tabelle 11: verwendete Lösungsmittel

Acetonitril - MeCN	HiPerSolv CHROMANORM VWR Chemicals BDH Prolabo® for HPLC-SUPER GRADIENT (Rh: 99,95 %)
Ameisensäure - HCOOH	ROTIPURAN® ≥99 % p.a., ACS Carl Roth GmbH
Wasser, bidestilliert - ddH ₂ O	GFL Gesellschaft für Labortechnik GmbH
Methanol - MeOH	HiPerSolv CHROMANORM VWR Chemicals BDH Prolabo® for HPLC LC-MS grade
Essigsäure – CH ₃ COOH	ROTIPURAN 100 % p. a.

Tabelle 12: verwendete Reagenzien

Ammoniumacetat	1 kg; MERCK
Ciprofloxacin-HCl als Reinsubstanz	1 g; Pharmaceutical secondary standard, traceable to USP, PhEur and BP Sigma Life Science CAS-Number: 86393-32-0

Tabelle 13: verwendete Geräte

Gefriergerät	Thermo Scientific TSX ULT Fre
Kühlgerät	Liebherr Medline KU1710, Type 100641
Zentrifuge	Thermo Electron Corporation HERAEUS PICO 21 Centrifuge
HPLC-Vials	40 Standard 1,5 ml clear glass flat 0,2 ml clear glass
Eppendorf Pipetten	Research plus: 1000 µl, 100 µl
Vollpipetten	10 ml, 5 ml, 1 ml

6 Abkürzungsverzeichnis / Glossar

AB	Antibiotikum
AGE	Advanced Glycation End Product – irreversibel glykierte Reaktionsprodukte von Proteinen, Lipiden oder Nukleinsäuren mit Kohlenhydraten (Zucker)
APD	Automated Peritoneal Dialysis (Automatisierte Peritonealdialyse)
c	Konzentration
c/t	Konzentrations-Zeit-Verlauf
CAPD	Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis (Kontinuierlich ambulante Peritonealdialyse)
CID	Collision Induced Declustering (Kollisionsinduzierte Dissoziation)
CH ₃ COOH	Essigsäure
CO ₂	Kohlendioxid
DNA	Desoxyribonucleinacid (Desoxyribonukleinsäure) – Erbinformation und Bauplan allen Lebens
ESI	Electrosprayionisation (Elektrosprayionisation)
FA	Formic Acid (Ameisensäure)
g	Gramm
GDP	Glucose Degradation Products (Glukosedegradationsprodukte) – ein unvermeidbares Nebenprodukt bei der Hitzesterilisation von glukosehaltigen Peritonealdialyselösungen
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate [ml/min] jenes Blutvolumen, das pro Zeiteinheit in den Glomeruli filtriert wird
h	Stunde
HCO ₃	Bicarbonat
HCOOH	Ameisensäure
HD	Hämodialyse – Verfahren bei dem das Blut außerhalb des Körpers gereinigt und von harnpflichtigen Stoffwechselbestandteilen befreit wird
HPLC	High performance liquid chromatography (Hochleistungsflüssigchromatographie) – Chromatographisches Verfahren zur Trennung von Substanzgemischen
HWZ	Halbwertszeit – Zeit in der sich die Konzentration eines Stoffes auf die Hälfte reduziert
H ₂ O/ddH ₂ O	Wasser/Bidestilliertes Wasser
i. p.	intraperitoneal
i. v.	intravenös
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MIC (MHK)	Minimal Inhibitory Concentration (Minimale Hemmkonzentration)
MRE	Multiresistente Erreger
MRSA	Multiresistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MRM	Multi Reaction Monitoring – Verfahren zur selektiven Bestimmung von Ionen mittels LC-MS/MS

MS	Mass Spectrometry (Massenspektrometrie) – Analyseverfahren zur Bestimmung von chemischen Elementen und Verbindungen
NI	Niereninsuffizienz – Unterfunktion der Nieren: es kommt zum Anstieg von harnpflichtigen Substanzen im Blut
Q3	Analyseeinheit eines Triple Quadrupol
QqQ	Triple Quadrupol Analysator der bei der Massenspektrometrie zum Einsatz kommt
PD	Peritonealdialyse – intrakorporales Blutreinigungsverfahren, bei dem das Peritoneum die Filterfunktion übernimmt
PDF	Peritonealdialyseflüssigkeit – Dialyseflüssigkeit die bei der Peritonealdialyse zur Reinigung des Blutes verwendet wird
PET	Peritonealer Äquilibrium Test – Verfahren mit dem die Transportkapazität des Peritoneums beurteilt werden kann
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RSD	Relative Standard Deviation (Relative Standardabweichung)
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
STABW	Standardabweichung
t	Zeit [h]
TOF	Time-of-Flight – Analysator in der Massenspektrometrie
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter

MS -Parameter

CAD	collision gas
CE	collision energy
CEM	channel electron multiplier – Verstärker
CUR	curtain gas
CXP	collision cell exit potential
DF	deflector voltage
DP	declustering potential
dwell	Beobachtungszeit
EP	entrance potential
GS1	nebulizer gas – Zerstäubergas
GS2	heating gas – Trocknungsgas
IS	Ion Spray voltage
TEM	source temperature – Temperatur des Trocknungsgas

7 Literaturverzeichnis

1. ÖDTR. Accessed September 18, 2024. <https://www.nephrologie.at/gesellschaft/oedtr#top>
2. Niere - Harnblase - Funktion. Gesundheitsportal. Accessed November 16, 2024. <https://www.gesundheit.gv.at/krankheiten/nieren-harnblase/funktion.html>
3. Dialyse » Nierenersatz » Niere & Harnwege » Fachgebiete » Internisten im Netz ». Accessed November 15, 2024. <https://www.internisten-im-netz.de/fachgebiete/nieren-harnwege/nierenersatz/dialyse.html>
4. Was ist Dialyse und wann sollte man damit beginnen? DaVita. Accessed November 16, 2024. <https://www.davita.de/de/patienten-und-angehoerige/informationen-zu-nierenersatztherapien/was-ist-dialyse>
5. Chronische Niereninsuffizienz. MEDICLIN Staufenburg Klinik. Accessed November 16, 2024. <https://www.staufenburg-klinik.de/fachbereiche-krankheitsbilder/gesundheits Themen/artikel/chronische-niereninsuffizienz-definition-und-schweregrade/>
6. NKF KDOQI Guidelines. Accessed November 22, 2024. https://kidneyfoundation.cachefly.net/professionals/KDOQI/guidelines_ckd/p4_class_g1.htm
7. Fußhöller A, Rump LC. Peritonealdialyse - mehr Unabhängigkeit für Patienten mit Diabetes. *Springer Medizin Verlag* 2009. Published online October 24, 2009:8. doi:10.1007/s11428-009-0484-z
8. Fußhöller A. Automatisierte Peritonealdialyse (APD) - Heimdialysetherapie mit Zukunft. *Der Klinikarzt*. 2003;32(10):350-354. doi:10.1055/s-2003-43281
9. Dialyse - Nieren- und Harnwegserkrankungen. MSD Manual Ausgabe für Patienten. Accessed November 16, 2024. <https://www.msdmanuals.com/de/heim/nieren-und-harnwegserkrankungen/dialyse/dialyse>
10. Geppert C, Widmer MK, Saxena R, Gallieni M. Grundlagen der Peritonealdialyse. *Gefäßchirurgie*. 2015;20(8):564-570. doi:10.1007/s00772-015-0093-7
11. e.V Dg. Peritoneal-dialyse (PD). Accessed September 14, 2024. <https://www.nieren-navi.de/nierenersatztherapie/peritonealdialyse-pd>
12. Peritonealdialyse zu Hause | Baxter Renal Care. Accessed November 11, 2024. <https://mykidneyjourney.baxter.at/de/behandlungsmoeglichkeiten/peritonealdialyse-zuhause>
13. Dialyse. In: *Wikipedia*. ; 2024. Accessed September 13, 2024. <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Dialyse&oldid=248533135#Peritonealdialyse>
14. Peritonealdialyse (Bauchfelldialyse). Gesundheitsportal. Accessed July 19, 2024. <https://www.gesundheit.gv.at/krankheiten/nieren-harnblase/dialyse/peritonealdialyse-bauchfelldialyse.html>
15. Tast C. *Peritonealdialyse: Klinischer Leitfaden für Pflegekräfte*. Hogrefe AG; 2020.

16. Teitelbaum I. Peritoneal Dialysis. *New England Journal of Medicine*. 2021;385(19):1786-1795. doi:10.1056/NEJMra2100152
17. Wiesholzer M, Pichler P, Reznicek G, et al. An Open, Randomized, Single-Center, Crossover Pharmacokinetic Study of Meropenem after Intraperitoneal and Intravenous Administration in Patients Receiving Automated Peritoneal Dialysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016;60(5):2790. doi:10.1128/AAC.02664-15
18. Wiederhold D. Strategien zur Entwicklung präventiver Verhaltensweisen zur Vorbeugung einer Peritonitis bei Peritonealdialyse-Patienten. *Dialyse aktuell*. 2018;22(9):396-396. doi:10.1055/a-0656-7075
19. Szeto CC, Li PKT. Peritoneal Dialysis–Associated Peritonitis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2019;14(7):1100. doi:10.2215/CJN.14631218
20. Li PKT, Szeto CC, Piraino B, et al. Peritoneal Dialysis-Related Infections Recommendations: 2010 Update. *Perit Dial Int*. 2010;30(4):393-423. doi:10.3747/pdi.2010.00049
21. Dzekova-Vidimliski P. Peritoneal dialysis-related peritonitis: Rate, clinical outcomes and patient survival. Published online 2021. Accessed November 11, 2024. https://journals.lww.com/jasn/fulltext/2021/10001/nationwide_standardized_peritonitis_reporting_.1182.aspx
22. Perl J, Fuller DS, Boudville N, et al. Optimizing Peritoneal Dialysis–Associated Peritonitis Prevention in the United States: From Standardized Peritoneal Dialysis–Associated Peritonitis Reporting and Beyond. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2021;16(1):154. doi:10.2215/CJN.11280919
23. Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. In: *Allgemeine Und Spezielle Pharmakologie Und Toxikologie*. ELSEVIER; 2017.
24. Hafer C. Volumenmanagement bei Peritonealdialyse. *Der Nephrologe*. 2016;1(12):14-19. doi:10.1007/s11560-016-0116-8
25. Vychytil A. Peritonealdialyselösungen. *Nephrologe*. 2017;12(1):20-26. doi:10.1007/s11560-016-0112-z
26. Martikainen TA, Teppo AM, Grönhagen-Riska C, Ekstrand AV. Glucose-free dialysis solutions: inductors of inflammation or preservers of peritoneal membrane? *Perit Dial Int*. 2005;25(5):453-460.
27. Baxter Seite für Download Extraneal. Accessed August 29, 2024. <https://baxter.benchmarkdigital.com/baxter/ehs/msds/index.cfm?siteID=2&pagetype=basic&scopeappconfigid=3&passCode=E9A1C7F528618141E3DE8FAA746E5508>
28. Haag-Weber M. Kontinuierliche ambulante und automatisierte Peritonealdialyse. *Der Nephrologe*. 2006;4(1):267-277. doi:10.1007/s11560-006-0036-0
29. Table:Indikationen und Kontraindikationen des allgemeinen Nierenersatztherapien. MSD Manual Profi-Ausgabe. Accessed November 12, 2024. <https://www.msdmanuals.com/de/profi/multimedia/table/indikationen-und-kontraindikationen-des-allgemeinen-nierenersatztherapien>

30. Schwenger V. Welcher Patient ist für die Peritonealdialyse (nicht) geeignet? – Absolute Kontraindikationen sind inzwischen selten. *Dialyse aktuell*. 2014;18(7):360-364. doi:10.1055/s-0034-1394094
31. Bauchhöhle - Wissen @ AMBOSS. Accessed November 15, 2024. <https://www.amboss.com/de/wissen/bauchhoehle/>
32. CME-Fortbildung: Peritonealdialyse. Landesärztekammer Hessen. June 23, 2023. Accessed November 12, 2024. <https://www.laekh.de/heftarchiv/ausgabe/artikel/2023/juli-august-2023/cme-fortbildung-peritonealdialyse>
33. DocCheck M bei. Peritoneum. DocCheck Flexikon. Accessed November 15, 2024. <https://flexikon.doccheck.com/de/Peritoneum>
34. Bruck H, Haag-Weber M, Hiß M, et al. Standardisierung des peritonealen Äquilibrationstest (PET) bei Peritonealdialyse. *Der Nephrologe*. 2017;1(12):33-39. doi:10.1007/s11560-016-0123-9
35. Mitchell JP, Suggett JA. Developing Ways to Evaluate in the Laboratory How Inhalation Devices Will Be Used by Patients and Care-Givers: The Need for Clinically Appropriate Testing. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15(5):1275-1291. doi:10.1208/s12249-014-0145-4
36. Marple V, Olson B, Santhanakrishnan K, Roberts D, Mitchell JP, Hudson-Curtis B. Next generation pharmaceutical impactor: a new impactor for pharmaceutical inhaler testing. Part III. extension of archival calibration to 15 L/min. *Journal of aerosol medicine : the official journal of the International Society for Aerosols in Medicine*. Published online 2004. doi:10.1089/JAM.2004.17.335
37. Anlage eines Katheters zur Bauchfelldialyse. Published online September 7, 2020. Accessed August 7, 2024. https://ammerland-klinik.de/medeport/Boegen/CH_29_DE.pdf
38. Silberhumer GR, Pokorny H, Györi G, Mühlbacher F. Chirurgische Aspekte der Peritonealdialyse. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2013;11-12(163):288-294. doi:10.1007/s10354-013-0216-2
39. Puttinger H. Peritonealdialyse – ein ideales initiales Dialyseverfahren. *Wien Med Wochenschr*. 2013;163(11):271-279. doi:10.1007/s10354-013-0200-x
40. Vonesh EF, Snyder JJ, Foley RN, Collins AJ. The differential impact of risk factors on mortality in hemodialysis and peritoneal dialysis. *Kidney Int*. 2004;66(6):2389-2401. doi:10.1111/j.1523-1755.2004.66028.x
41. Heaf JG, Wehberg S. Relative Survival of Peritoneal Dialysis and Haemodialysis Patients: Effect of Cohort and Mode of Dialysis Initiation. *PLOS ONE*. 2014;9(3):e90119. doi:10.1371/journal.pone.0090119
42. Hausinger R. Innovationen in der Peritonealdialyse. *Der Nephrologe*. 2022;17(2):85-91.
43. Vychytil A. Peritonealdialyse – eine Alternative zur Hämodialyse im Zentrum. *Wiener medizinische Wochenschrift*. 2013;163(11-12):253-254.
44. Brown J, Altmann P, Cunningham J, Shaw E, Marsh F. Pharmacokinetics of once daily intra-peritoneal aztreonam and vancomycin in the treatment of CAPD peritonitis. *J Antimicrob Chemother*. 1990;25(1):141-147. doi:10.1093/jac/25.1.141

45. Ritter C, Hofmann U, Busch M, Wolf G. Erfolgreiche Nierentransplantation nach 11 Jahren automatisierter nächtlicher Peritonealdialyse mit nur einer Peritonitis. *NH*. 2020;49(12):554-558. doi:10.5414/NHX02146
46. Kagan A, Rapoport J. The role of peritoneal dialysis in the treatment of refractory heart failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20 Suppl 7:vii28-31. doi:10.1093/ndt/gfh1104
47. Krishnan A, Oreopoulos DG. Peritoneal dialysis in congestive heart failure. *Adv Perit Dial*. 2007;23:82-89.
48. Selgas R, Bajo MA, Peso GD, et al. Peritoneal Dialysis in the Comprehensive Management of End-Stage Renal Disease Patients with Liver Cirrhosis and Ascites: Practical Aspects and Review of the Literature. *Perit Dial Int*. 2008;28(2):118-122. doi:10.1177/089686080802800203
49. Lhotta K. Bedeutung der Prädialysevorbereitung und Patienteninformation für die Wahl des Dialyseverfahrens. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2013;11-12(163):266-270. doi:10.1007/s10354-013-0192-6
50. Brown EA, Finkelstein FO, Iyasere OU, Kliger AS. Peritoneal or hemodialysis for the frail elderly patient, the choice of 2 evils? *Kidney International*. 2017;91(2):294-303. doi:10.1016/j.kint.2016.08.026
51. Szeto C, Wong TY, Chow K, Leung C, Li PK. Are peritoneal dialysis patients with and without residual renal function equivalent for survival study? Insight from a retrospective review of the cause of death. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2003;18(5):977-982. doi:10.1093/ndt/gfg027
52. Lima RCS, Barreira A, Cardoso FL, Lima MHS, Leite M. Ciprofloxacin and cefazolin as a combination for empirical initial therapy of peritoneal dialysis-related peritonitis: five-year follow-up. *Perit Dial Int*. 2007;27(1):56-60.
53. Überblick über die antibakterielle Substanzen - Infektionskrankheiten. MSD Manual Profi-Ausgabe. Accessed October 27, 2024. <https://www.msdmanuals.com/de/profi/infektionskrankheiten/bakterien-und-antibakterielle-wirkstoffe/überblick-über-die-antibakterielle-substanzen>
54. Goffin E, Herbiet L, Pouthier D, et al. Vancomycin and Ciprofloxacin: Systemic Antibiotic Administration for Peritoneal Dialysis-Associated Peritonitis. *Perit Dial Int*. 2004;24(5):433-439. doi:10.1177/089686080402400507
55. Gadallah MF, Ramdeen G, Mignone J, Patel D, Mitchell L, Tatro S. Role of preoperative antibiotic prophylaxis in preventing postoperative peritonitis in newly placed peritoneal dialysis catheters. *Am J Kidney Dis*. 2000;36(5):1014-1019. doi:10.1053/ajkd.2000.19104
56. Peritonealdialyse - Urogenitaltrakt. MSD Manual Profi-Ausgabe. Accessed November 12, 2024. <https://www.msdmanuals.com/de/profi/urogenitaltrakt/nierenersatztherapie/peritonealdialyse>
57. Behandlung von Zellen mit Ciprofloxacin.
58. PharmaWiki - Ciprofloxacin. Accessed August 7, 2024. <https://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=ciprofloxacin>

59. Ciprofloxacin. In: *Wikipedia*. ; 2024. Accessed July 16, 2024.
<https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Ciprofloxacin&oldid=244326666#Anwendung>
60. Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K. *Allgemeine Und Spezielle Pharmakologie Und Toxikologie*. 12th ed. ELSEVIER; 2017.
61. Müller-Esterl W. *Biochemie - Eine Einführung Für Mediziner Und Naturwissenschaftler*. 1st ed.; 2004.
62. Podbregar N. Wie unsere DNA Knoten vermeidet. scinexx | Das Wissensmagazin. April 11, 2024. Accessed July 11, 2024. <https://www.scinexx.de/?p=283959>
63. Supercoiling - Altmeyers Enzyklopädie - Fachbereich Mikrobiologie. April 14, 2021. Accessed July 11, 2024. <https://www.altmeyers.org/de/mikrobiologie/supercoiling-154573>
64. DNA-Replikation. Accessed November 12, 2024.
<https://www.biancahoegel.de/biologie/genetik/replikation.html>
65. Mutschler E. *Mutschler Arzneimittelwirkungen*. Wiss. Verlag-Ges.; 2013.
66. Allgemeines. July 22, 2021. Accessed November 19, 2024. <https://www.labor-limbach.de/fachbereiche/infektionsdiagnostik/befundinterpretation/allgemeines/>
67. DocCheck M bei. Minimale Hemmkonzentration. DocCheck Flexikon. Accessed November 26, 2024. https://flexikon.doccheck.com/de/Minimale_Hemmkonzentration
68. Kussmann M, Ferth A, Obermüller M, et al. Compatibility of ciprofloxacin with commercial peritoneal dialysis solutions. *Sci Rep*. 2019;9(1):6512. doi:10.1038/s41598-019-42854-y
69. Vorauer KA. Quantifizierung von Ciprofloxacin im Dialysat von Peritonealdialysepatienten. Published online 2020.
70. Eckmann C. Antibiotikatherapie intraabdomineller Infektionen im Zeitalter der Multiresistenz. *Chirurg*. 2016;87(1):26-33. doi:10.1007/s00104-015-0106-9
71. Ranftl P. Quantifizierung von Ciprofloxacin in Serumproben.
72. Fresenius Ciprofloxacin 400/200 Kabi download. Accessed August 29, 2024.
<https://aspreister.basg.gv.at/aspreister/faces/aspreister.jspx>
73. Küster FW, Thiel A. *Analytik: Daten, Formeln, Übungsaufgaben*. 108th ed. De Gruyter
74. Heise DKH. HPLC – Eine Methode für die biochemische Forschung. Reichelt Chemietechnik Magazin. April 18, 2019. Accessed September 1, 2024. <https://www.rct-online.de/magazin/hplc-biochemische-forschung/>
75. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie. In: *Wikipedia*. ; 2024. Accessed August 31, 2024.
<https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Hochleistungsfl%C3%BCssigkeitschromatographie&oldid=247977468>
76. Smollich M. *Einführung in die pharmazeutische instrumentelle Analytik*. GRIN Verlag; 2007.

77. Wie untersucht man Substanzen mit der HPLC? . Accessed September 3, 2024.
<https://www.qa-group.com/de/glossar/hplc/>
78. Gey MH. *Instrumentelle Analytik und Bioanalytik: Biosubstanzen, Trennmethoden, Strukturanalytik, Applikationen*. Springer-Verlag; 2015.
79. Massenspektrometrie. In: *Wikipedia*. ; 2024. Accessed September 5, 2024.
<https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Massenspektrometrie&oldid=246956357>
80. Kanu AB, Dwivedi P, Tam M, Matz L, Hill HH. Ion mobility–mass spectrometry. *J Mass Spectrom*. 2008;43(1):1-22. doi:10.1002/jms.1383
81. Theorie der Massenspektrometrie - Teil 2. Accessed October 18, 2024.
<https://www.shimadzu.de/lcms-kurs-teil-2.html>
82. Unterschiede zwischen isokratischen und Gradiententrennungen. April 30, 2012. Accessed September 3, 2024. <https://www.labo.de/hplc-tipp/unterschiede-zwischen-isokratischen-und-gradiententrennungen.htm>
83. Elektrospray-Ionisation. In: *Wikipedia*. ; 2022. Accessed September 5, 2024.
<https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Elektrospray-Ionisation&oldid=220350457>
84. Quadrupol-Massenspektrometer. In: *Wikipedia*. ; 2024. Accessed September 22, 2024.
<https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Quadrupol-Massenspektrometer&oldid=244965235>
85. Pringle SD, Giles K, Wildgoose JL, et al. An investigation of the mobility separation of some peptide and protein ions using a new hybrid quadrupole/travelling wave IMS/oa-ToF instrument. *International Journal of Mass Spectrometry*. 2007;261(1):1-12. doi:10.1016/j.ijms.2006.07.021

8 Abbildungsverzeichnis

8.1 Abbildungen

Abbildung 1: Grundzüge einer Peritonealdialyse	5
Abbildung 2: Aufbau und Stoffaustausch am Peritoneum	7
Abbildung 3: Funktionsprinzip der Peritonealdialyse	8
Abbildung 4: Zugang ins Peritoneum.....	8
Abbildung 5: Wechselregime unter der CAPD- und APD-Behandlung	9
Abbildung 6: Struktur von Ciprofloxacin.....	14
Abbildung 7: DNA-Replikation	15
Abbildung 8: Gyrase, die sich an eine DNA anlagert	15
Abbildung 9: DNA-supercoils im Querschnitt einer Zelle	15
Abbildung 10: Totalionenstrom von Ciprofloxacin	19
Abbildung 11: Gradientenelution	20
Abbildung 12: Eichgerade von Ciprofloxacin	21
Abbildung 13: Aufbau einer HPLC-Anlage	40
Abbildung 14: Schema der Elektrosprayionisation	42
Abbildung 15: Elektrosprayionisation	42
Abbildung 16: Quadrupol-MS: Anordnung der Stabelektroden und Flugbahn der Ionen.....	43
Abbildung 17: Triple Quadrupol MS.....	44
Abbildung 18: Schema einer MS mit den wichtigsten Parameter	45
Abbildung 18: MRM von Ciprofloxacin vor der Optimierung der Fragmentierung	70
Abbildung 19: MRM von Ciprofloxacin vor der Optimierung der Fragmentierung	70

8.2 Diagramme

Diagramm 1: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] aller Patienten inkl. Mittelwerte.....	22
Diagramm 2: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] – Mittelwerte aller Patienten	23
Diagramm 3: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 01	24
Diagramm 5: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 01 – Datensatz DD.....	24
Diagramm 4: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 01 – Datensatz D	24
Diagramm 6: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 02	25
Diagramm 7: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 03	26
Diagramm 8: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 04	27
Diagramm 9: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 05	28
Diagramm 10: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 06	29
Diagramm 11: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 01	58
Diagramm 12: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 01 – Datensatz D.....	59
Diagramm 13: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 01 – Datensatz DD.....	59
Diagramm 14: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 02	60
Diagramm 15: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 02 – Datensatz D	61
Diagramm 16: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 02 – Datensatz DD.....	61
Diagramm 17: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 03	62
Diagramm 18: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 03 – Datensatz D	63
Diagramm 19: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 03 – Datensatz DD.....	63
Diagramm 20: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 04	64
Diagramm 21: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 04 – Datensatz D	65
Diagramm 22: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 04 – Datensatz DD.....	65
Diagramm 23: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 05	66
Diagramm 24: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 05 – Datensatz D	67
Diagramm 25: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 05 – Datensatz DD.....	67
Diagramm 26: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 06	68
Diagramm 27: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 06 – Datensatz D	69
Diagramm 28: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 06 – Datensatz DD.....	69

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: HPLC-Parameter.....	20
Tabelle 2: Datensatz aller Patienten: berechnet mit dem Mittelwert sämtlicher Patienten.....	23
Tabelle 3: Datensatz zu Patient 01	24
Tabelle 4: Datensatz zu Patient 02	25
Tabelle 5: Datensatz zu Patient 03	26
Tabelle 6: Datensatz zu Patient 04	27
Tabelle 7: Datensatz zu Patient 05	28
Tabelle 8: Datensatz zu Patient 06	29
Tabelle 9: Zeitpunkte der Probenentnahmen	34
Tabelle 10: Zusammensetzung der PDF Extraneal® ²⁷	35
Tabelle 11: verwendete Lösungsmittel.....	46
Tabelle 12: verwendete Reagenzien.....	46
Tabelle 13: verwendete Geräte	46
Tabelle 14: Datensatz zu Patient 01	58
Tabelle 15: Datensatz zu Patient 01 - Proben "D"	59
Tabelle 16: Datensatz zu Patient 01 - Proben "DD"	59
Tabelle 17: Datensatz zu Patient 02	60
Tabelle 18: Datensatz zu Patient 02 - Proben "D"	61
Tabelle 19: Datensatz zu Patient 02 - Proben "DD"	61
Tabelle 20: Datensatz zu Patient 03	62
Tabelle 21: Datensatz zu Patient 03 - Proben "D"	63
Tabelle 22: Datensatz zu Patient 03 - Proben "DD"	63
Tabelle 23: Datensatz zu Patient 04	64
Tabelle 24: Datensatz zu Patient 04 - Proben "D"	65
Tabelle 25: Datensatz zu Patient 04 - Proben "DD"	65
Tabelle 26: Datensatz zu Patient 05	66
Tabelle 27: Datensatz zu Patient 05 - Proben "D"	67
Tabelle 28: Datensatz zu Patient 05 - Proben "DD"	67
Tabelle 29: Datensatz zu Patient 06	68
Tabelle 30: Datensatz zu Patient 06 - Proben "D"	69
Tabelle 31: Datensatz zu Patient 06 - Proben "DD"	69

10 Anhang

10.1 Patient 01

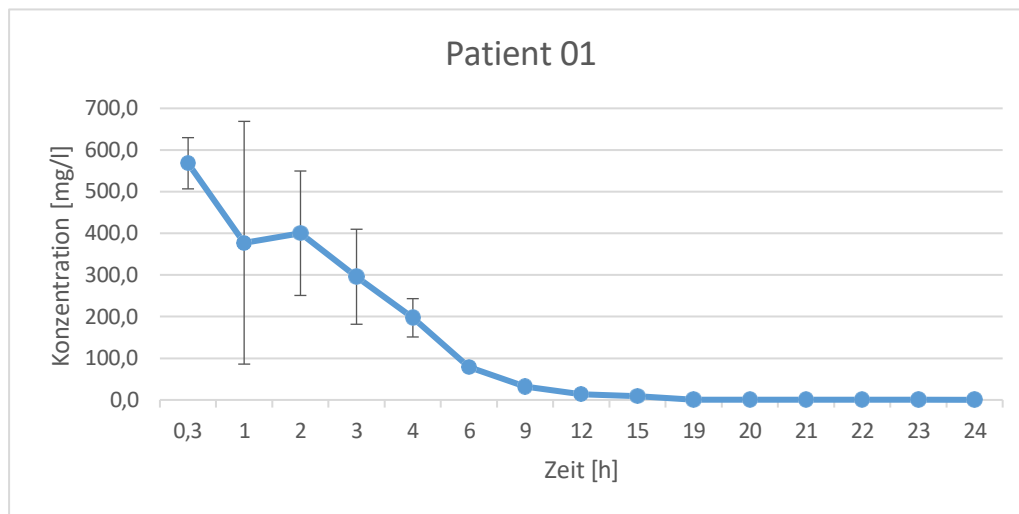


Diagramm 11: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 01 inkl. SD

Tabelle 14: Datensatz zu Patient 01

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	568,25	61,47	10,82
1	377,41	291,37	77,20
2	400,25	149,38	37,32
3	295,75	114,07	38,57
4	197,17	46,03	23,35
6	79,03	7,24	9,16
9	32,14	0,99	3,09
12	13,88	1,39	10,02
15	8,91	0,81	9,13
19	0,78	0,02	2,87
20	0,41	0,00	0,77
21	0,34	0,01	3,33
22	0,34	0,01	2,46
23	0,30	0,01	2,60
24	0,25	0,01	3,99

Wie bereits in *Kapitel 3.3.2* erläutert, sieht man bei den Daten von Patient 01 für die Stunden 1-4 eine breite Streuung. Wenn man sich hierfür die Kurven in *Diagramm 12 und 13* bzw. die Daten in *Tabelle 15 und 16* ansieht, kann man erahnen, dass es an der Inhomogenität der Proben liegt.

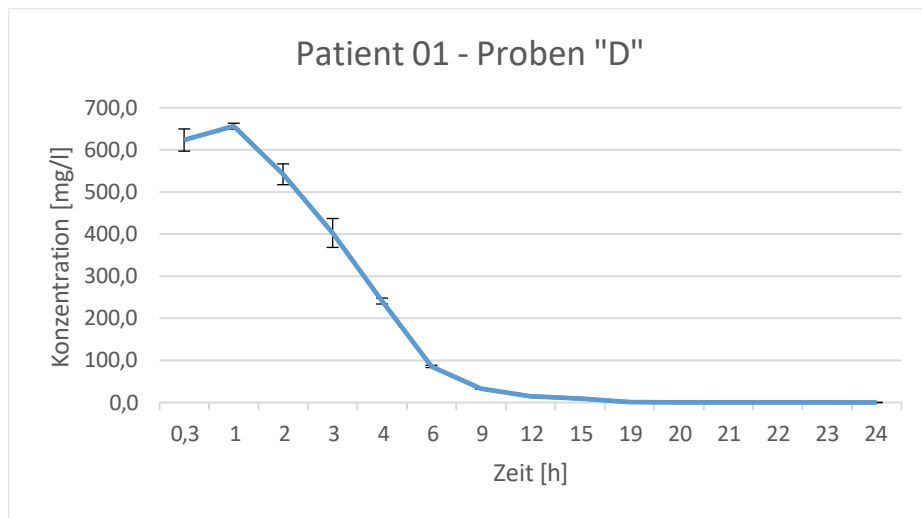


Diagramm 12: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 01 - Datensatz "D" inkl. SD

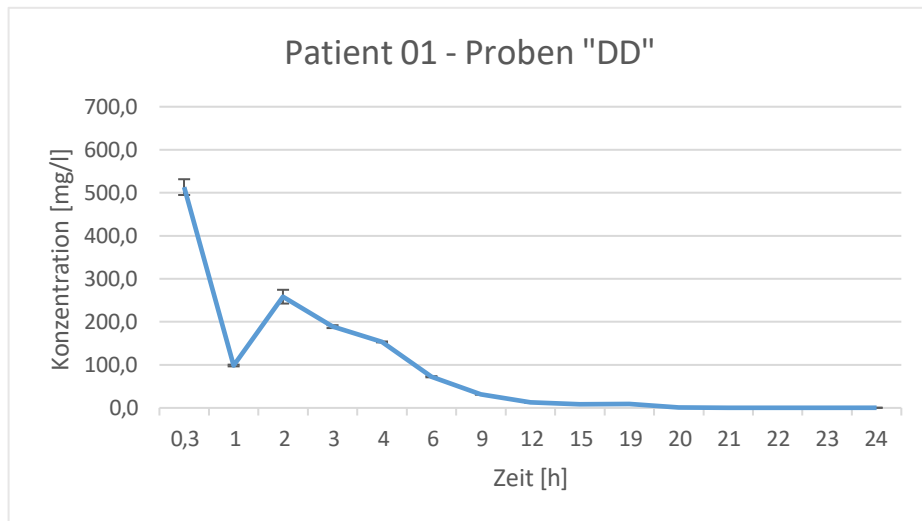


Diagramm 13: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 01 - Datensatz "DD" inkl. SD

Tabelle 15: Datensatz zu Patient 01 - Proben "D"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	623,33	26,37	4,23
1	656,33	6,95	1,06
2	542,00	24,71	4,56
3	402,67	34,33	8,53
4	241,00	7,04	2,92
6	85,70	2,63	3,07
9	32,90	0,65	1,99
12	15,07	0,55	3,65
15	9,41	0,56	5,97
19	0,78	0,02	2,87
20	0,41	0,00	0,77
21	0,34	0,01	3,33
22	0,34	0,01	2,46
23	0,30	0,01	2,60
24	0,25	0,01	3,99

Tabelle 16: Datensatz zu Patient 01 - Proben "DD"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	513,17	18,30	3,57
1	98,48	1,97	2,00
2	258,50	16,01	6,19
3	188,83	3,31	1,75
4	153,33	1,03	0,67
6	72,37	1,30	1,80
9	31,38	0,60	1,91
12	12,70	0,77	6,06
15	8,40	0,72	8,63
19	9,41	0,56	5,97
20	0,78	0,02	2,87
21	0,41	0,00	0,77
22	0,34	0,01	3,33
23	0,34	0,01	2,46
24	0,30	0,01	2,60

10.2 Patient 02

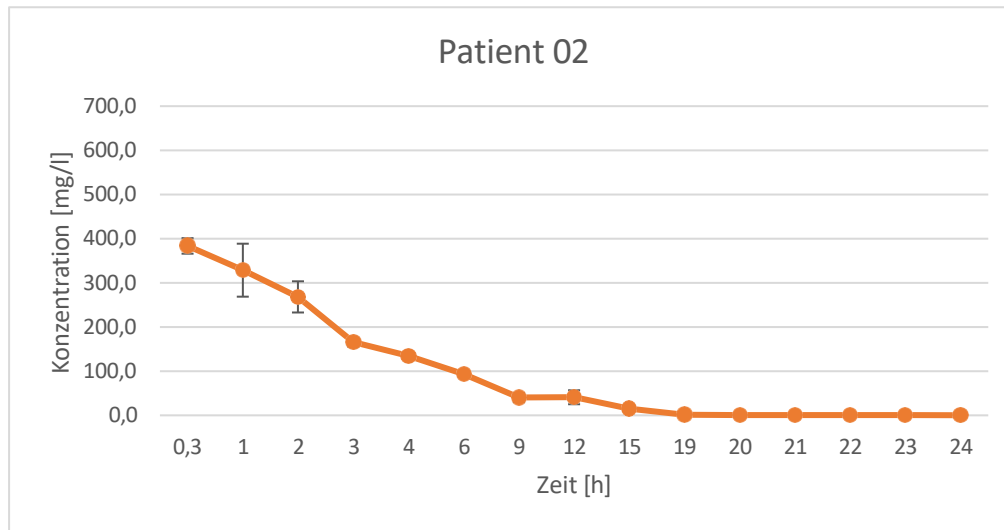


Diagramm 14: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 02 inkl. SD

Tabelle 17: Datensatz zu Patient 02

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	369,50	17,59	4,76
1	271,50	59,95	22,08
2	234,67	35,28	15,04
3	165,58	9,88	5,96
4	134,50	5,70	4,24
6	93,28	5,97	6,40
9	40,29	10,25	25,45
12	40,96	15,85	38,69
15	15,17	1,36	8,95
19	0,99	0,14	14,35
20	0,52	0,03	6,14
21	0,35	0,01	1,74
22	0,30	0,02	7,92
23	0,29	0,01	3,75
24	0,25	0,01	3,88

Wie bereits in *Kapitel 3.3.3* erläutert, sieht man bei den Daten von Patient 02 eine moderate Streuung der Stunden 1-2 und 9-12. Wenn man sich hierfür die Kurven in *Diagramm 15 und 16* bzw. die Daten in *Tabelle 18 und 19* ansieht, sieht man auch hier, dass es an der Inhomogenität der Proben liegt.

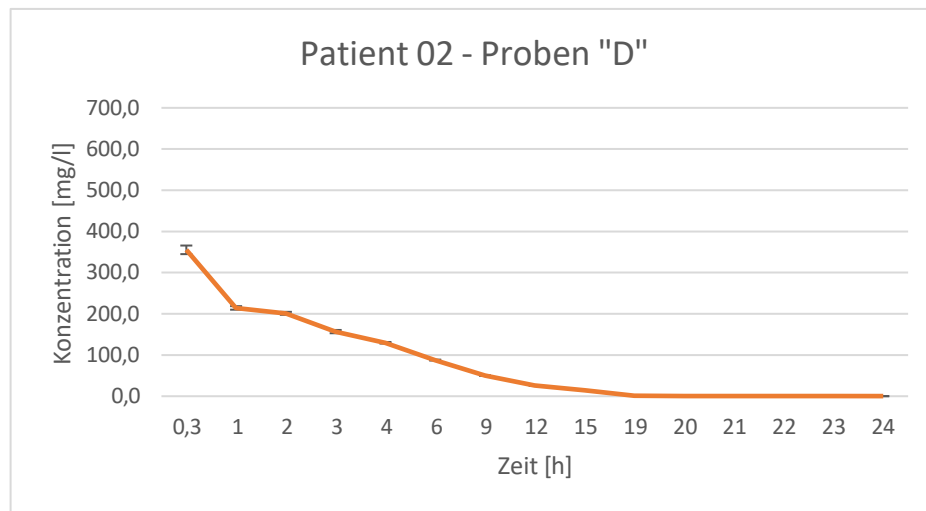


Diagramm 15: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 02 - Datensatz "D" inkl. SD

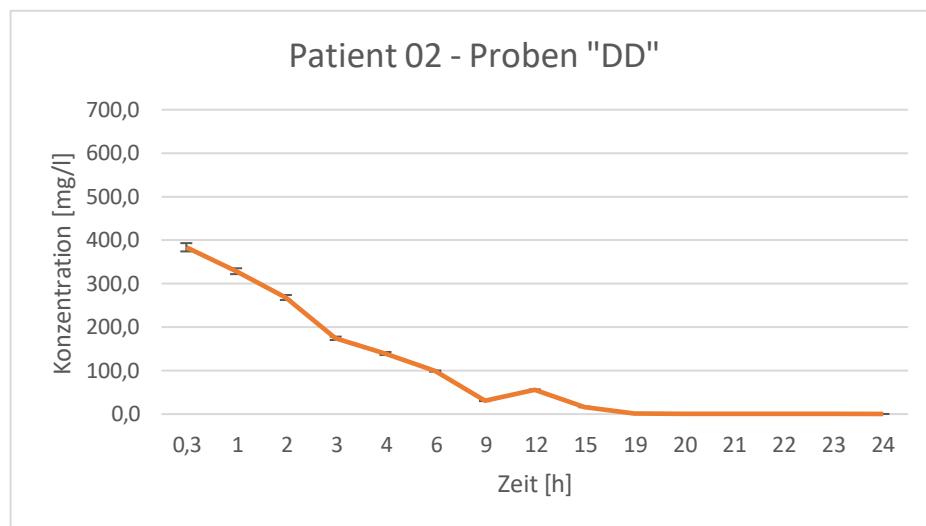


Diagramm 16: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 02 - Datensatz "DD" inkl. SD

Tabelle 18: Datensatz zu Patient 02 - Proben "D"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	355,33	10,41	2,93
1	214,33	4,27	1,99
2	201,17	3,60	1,79
3	156,83	3,97	2,53
4	129,67	1,86	1,44
6	87,68	1,13	1,29
9	50,10	0,24	0,49
12	25,80	0,69	2,67
15	14,00	0,55	3,96
19	0,86	0,01	1,54
20	0,49	0,01	1,43
21	0,35	0,01	1,45
22	0,28	0,01	2,62
23	0,28	0,01	2,09
24	0,25	0,01	3,68

Tabelle 19: Datensatz zu Patient 02 - Proben "DD"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	383,67	9,54	2,49
1	328,67	6,71	2,04
2	268,17	5,71	2,13
3	174,33	3,88	2,23
4	139,33	3,44	2,47
6	98,88	1,34	1,35
9	30,48	0,64	2,09
12	56,12	0,68	1,21
15	16,33	0,69	4,25
19	1,13	0,02	2,15
20	0,55	0,01	1,02
21	0,36	0,00	1,39
22	0,36	0,00	0,88
23	0,32	0,01	1,86
24	0,26	0,00	1,30

10.3 Patient 03

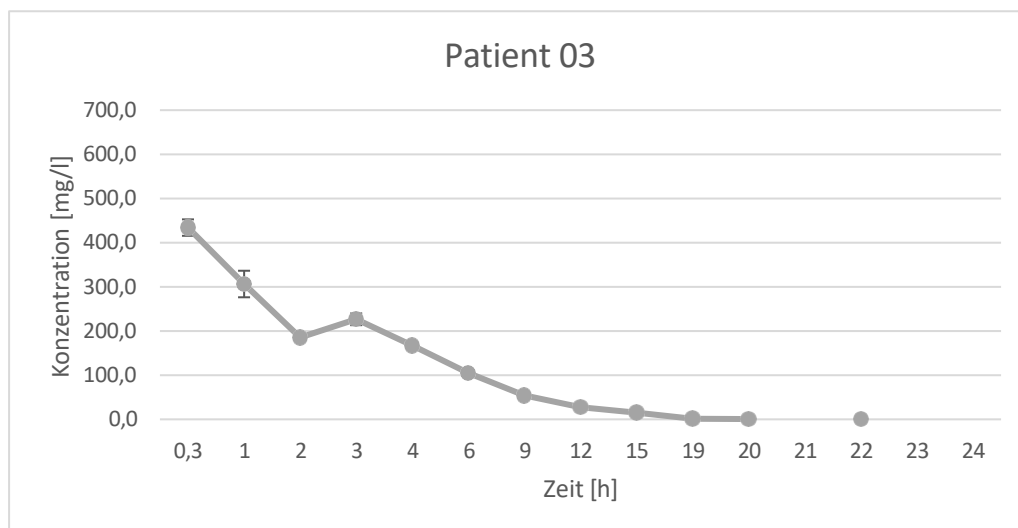


Diagramm 17: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 03 inkl. SD

Tabelle 20: Datensatz zu Patient 03

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	434,17	18,60	4,28
1	306,42	30,06	9,81
2	185,33	7,36	3,97
3	226,57	13,35	5,89
4	167,17	7,70	4,60
6	105,05	3,57	3,40
9	54,49	4,13	7,57
12	27,67	1,76	6,38
15	15,02	1,39	9,26
19	1,63	0,05	3,09
20	0,64	0,01	1,34
21			
22	0,31	0,01	2,06
23			
24			

Wie bereits in *Kapitel 3.3.4* erwähnt, fällt die Konzentration von Patient 03 in den ersten 2 h ab und steigt danach einmalig zu Stunde 3 an. Danach sinkt die Konzentration wieder.

Wie man *Tabelle 20* entnehmen kann, war bei den Proben der Zyklustherapie teilweise nicht ausreichend Probenmaterial zur Analyse vorhanden (Stunde 19-24 – siehe *Tabelle 20 bis 22*).

Die Daten der Einzelauswertung der Proben von Patient 03 können *Diagramm 18/19* und *Tabelle 21/22* entnommen werden.

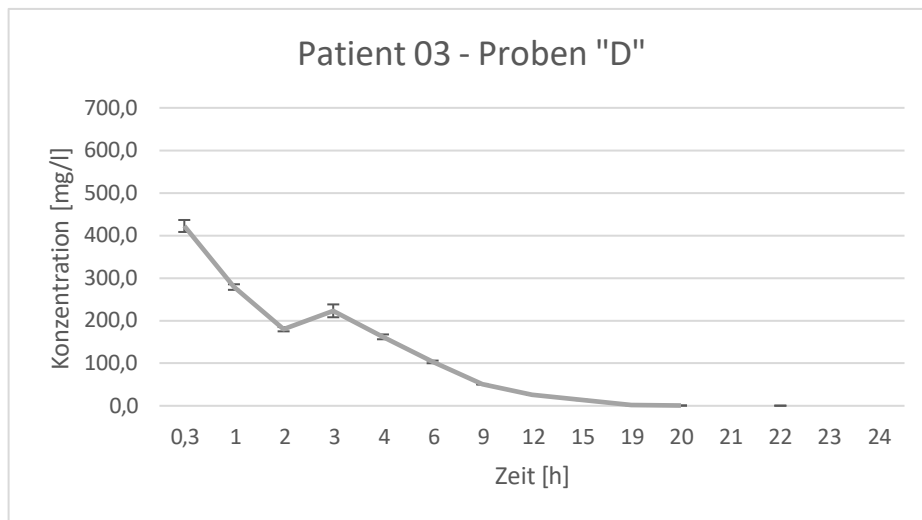


Diagramm 18: c/t-Kurve zu Patient 03 - Datensatz "D" inkl. SD

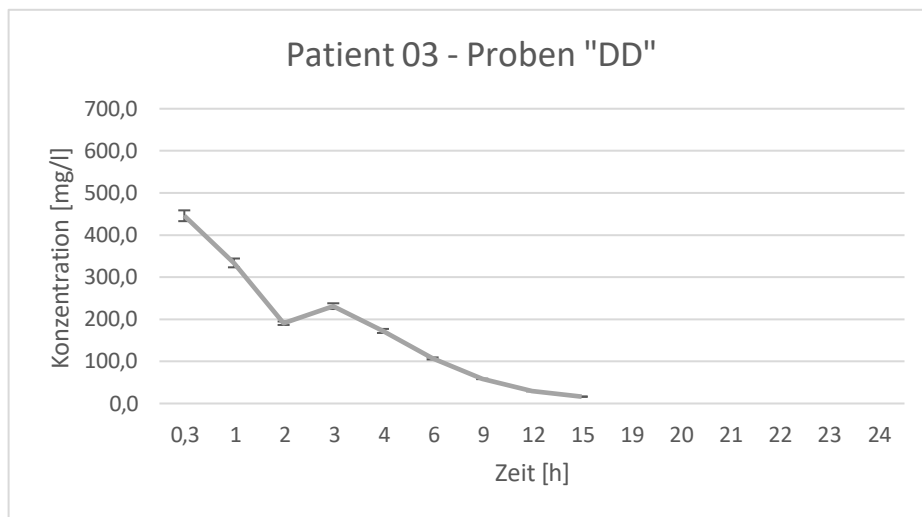


Diagramm 19: c/t-Kurve zu Patient 03 - Datensatz "DD" inkl. SD

Tabelle 21: Datensatz zu Patient 03 - Proben "D"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	422,50	14,07	3,33
1	279,00	6,53	2,34
2	180,00	5,07	2,81
3	223,13	15,08	6,76
4	162,00	5,69	3,51
6	103,10	3,12	3,02
9	50,60	0,75	1,49
12	26,05	0,66	2,51
15	13,78	0,48	3,49
19	1,63	0,05	3,09
20	0,64	0,01	1,34
21			
22	0,31	0,01	2,06
23			
24			

Tabelle 22: Datensatz zu Patient 03 - Proben "DD"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	445,83	12,80	2,87
1	333,83	10,51	3,15
2	190,67	4,11	2,16
3	231,17	6,79	2,94
4	172,33	4,78	2,78
6	107,00	2,45	2,29
9	58,38	0,59	1,01
12	29,28	0,22	0,75
15	16,25	0,52	3,21
19			
20			
21			
22			
23			
24			

10.4 Patient 04

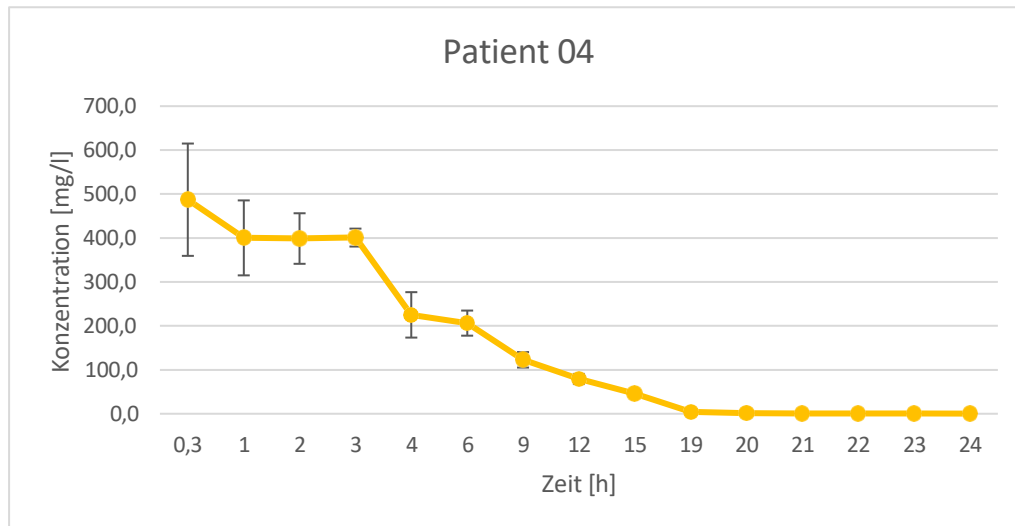


Diagramm 20: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 04 inkl. SD

Tabelle 23: Datensatz zu Patient 04

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	487,17	127,83	26,24
1	400,25	85,29	21,31
2	398,75	57,51	14,42
3	400,92	20,40	5,09
4	225,00	51,70	22,98
6	206,25	28,57	13,85
9	122,75	17,63	14,36
12	79,14	11,58	14,63
15	46,06	7,38	16,02
19	3,96	0,61	15,47
20	1,09	0,18	16,57
21	0,63	0,03	5,45
22	0,49	0,07	14,87
23	0,33	0,04	11,61
24	0,31	0,03	8,37

Wie bereits in *Kapitel 3.3.5* erläutert, sieht man im Kurvenverlauf von Patient 04 (*Diagramm 20*) ein Konzentrationsplateau der Stunden 1-4 sowie eine moderate Streuung laut *Tabelle 23*. Wenn man sich hierfür die Kurven der *Diagramme 21 und 22* bzw. die Daten der *Tabellen 24 und 25* ansieht, wo die Proben getrennt analysiert wurden, zeigt sich eine gute Homogenität der Daten mit engen RSD.

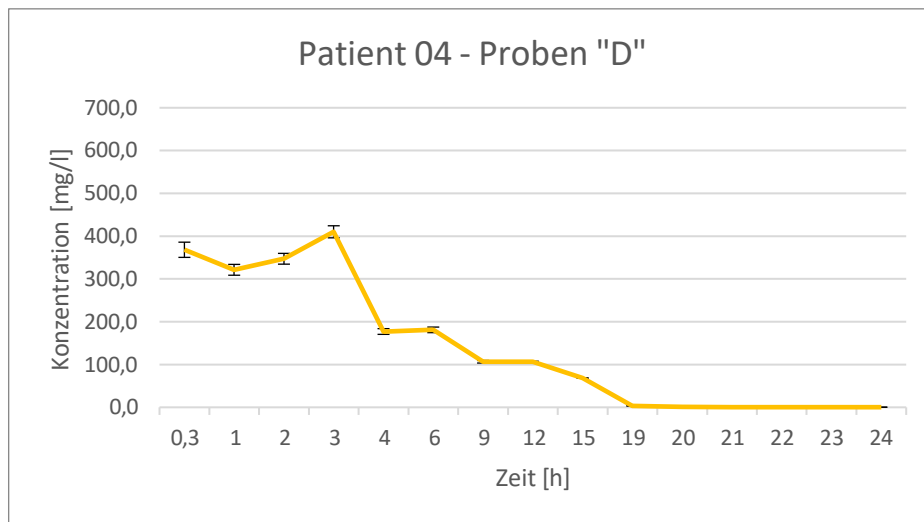


Diagramm 21: c/t-Kurve zu Patient 04 - Datensatz "D" inkl. SD

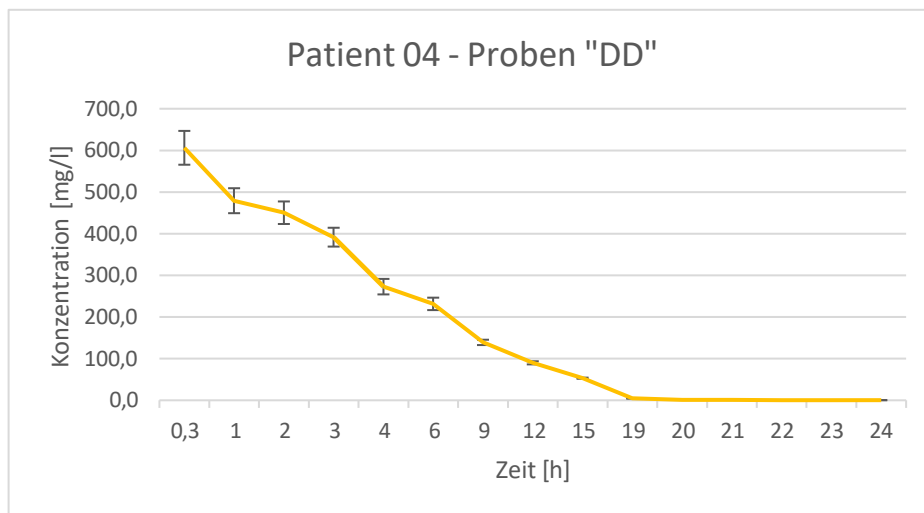


Diagramm 22: c/t-Kurve zu Patient 04 - Datensatz "DD" inkl. SD

Tabelle 24: Datensatz zu Patient 04 - Proben "D"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	368,17	17,77	4,83
1	321,33	12,66	3,94
2	347,17	12,61	3,63
3	410,17	14,11	3,44
4	177,17	6,68	3,77
6	181,00	6,51	3,60
9	106,50	3,02	2,83
12	106,50	1,17	1,10
15	68,35	0,20	0,29
19	3,40	0,12	3,59
20	0,92	0,02	2,45
21	0,60	0,01	1,55
22	0,42	0,00	0,63
23	0,29	0,00	1,51
24	0,28	0,00	1,62

Tabelle 25: Datensatz zu Patient 04 - Proben "DD"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	606,17	40,60	6,70
1	479,17	29,97	6,25
2	450,33	27,04	6,00
3	391,67	22,61	5,77
4	272,83	18,58	6,81
6	231,50	14,92	6,45
9	139,00	6,39	4,60
12	89,93	3,74	4,16
15	53,07	1,35	2,54
19	4,53	0,22	4,76
20	1,26	0,04	3,45
21	0,66	0,02	2,44
22	0,56	0,01	2,12
23	0,36	0,01	3,25
24	0,33	0,01	1,67

10.5 Patient 05

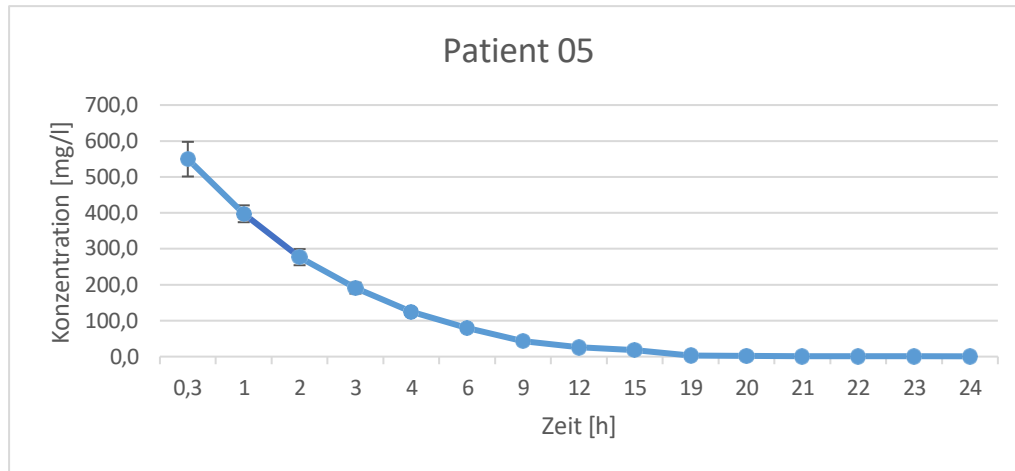


Diagramm 23: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 05 inkl. SD

Tabelle 26: Datensatz zu Patient 05

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	549,42	48,24	8,78
1	397,50	23,47	5,90
2	276,75	22,43	8,11
3	190,50	15,38	8,08
4	124,50	10,40	8,35
6	79,33	6,02	7,59
9	43,08	2,79	6,48
12	26,23	1,99	7,59
15	18,42	1,93	10,49
19	2,65	0,34	12,71
20	1,66	0,07	4,36
21	1,38	0,14	10,00
22	1,38	0,14	9,93
23	1,24	0,07	5,95
24	0,84	0,08	9,75

Die Konzentrations-Zeit-Kurve von Patient 05 in *Diagramm 23* zeigt einen nahezu perfekten Verlauf mit einer geringen Streuung (*Tabelle 26*).

Die Daten der Einzelauswertung der Proben können *Diagramm 24/25* und *Tabelle 27/28* entnommen werden.

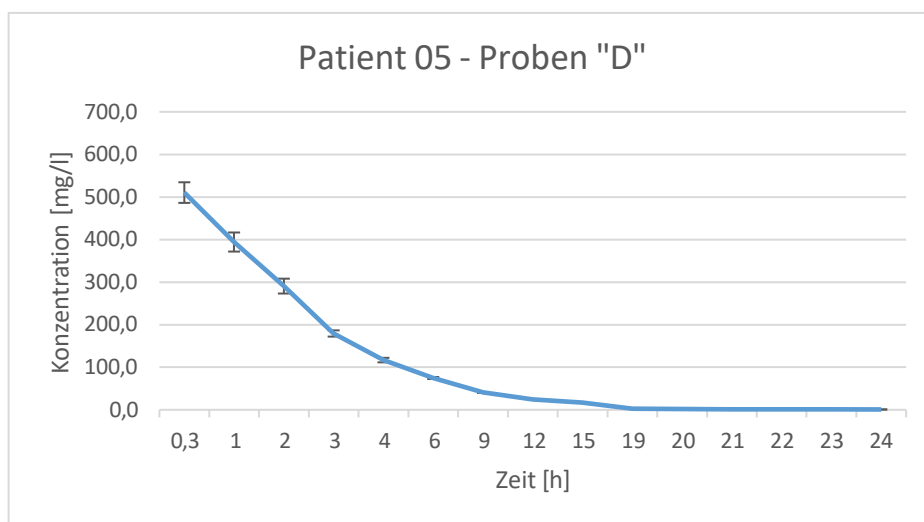


Diagramm 24: c/t-Kurve zu Patient 05 - Datensatz "D" inkl. SD

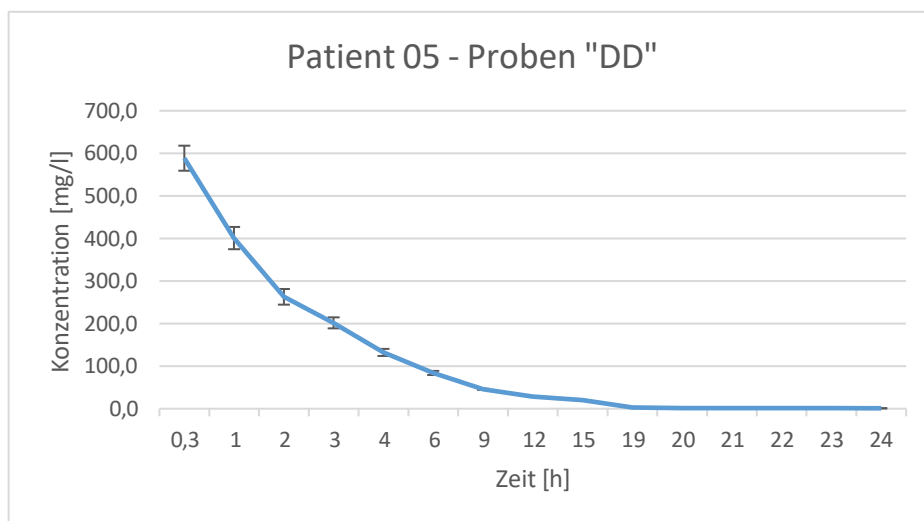


Diagramm 25: c/t-Kurve zu Patient 05 - Datensatz "DD" inkl. SD

Tabelle 27: Datensatz zu Patient 05 - Proben "D"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	510,33	24,23	4,75
1	394,17	22,37	5,68
2	290,67	17,45	6,01
3	179,33	7,34	4,09
4	116,83	5,31	4,54
6	74,72	2,35	3,15
9	40,60	1,02	2,52
12	24,40	0,54	2,23
15	16,60	0,44	2,67
19	2,37	0,14	5,97
20	1,64	0,06	3,64
21	1,26	0,06	4,35
22	1,26	0,05	3,99
23	1,18	0,03	2,19
24	0,77	0,03	4,17

Tabelle 28: Datensatz zu Patient 05 - Proben "DD"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	588,50	29,43	5,00
1	400,83	26,16	6,53
2	262,83	18,38	6,99
3	201,67	12,94	6,42
4	132,17	8,28	6,27
6	83,93	4,82	5,74
9	45,55	1,17	2,58
12	28,07	0,61	2,17
15	20,23	0,30	1,49
19	2,94	0,19	6,50
20	1,68	0,08	4,95
21	1,50	0,08	5,26
22	1,50	0,06	4,20
23	1,30	0,04	3,13
24	0,91	0,04	3,99

10.6 Patient 06

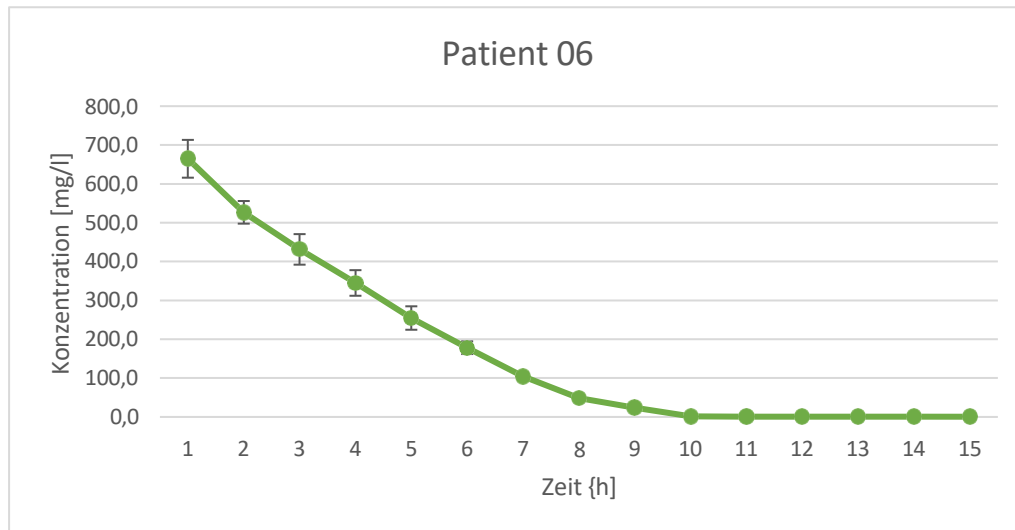


Diagramm 26: Ciprofloxacin-Konzentrationen [mg/l] von Patient 06 inkl. SD

Tabelle 29: Datensatz zu Patient 06

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	664,58	48,67	7,32
1	526,75	29,11	5,53
2	431,33	39,32	9,12
3	344,92	32,97	9,56
4	254,67	30,19	11,85
6	178,25	16,34	9,17
9	104,47	9,88	9,46
12	48,78	3,30	6,77
15	23,58	1,31	5,55
19	1,58	0,20	12,61
20	0,97	0,10	10,80
21	0,74	0,05	6,35
22	0,72	0,02	2,38
23	0,73	0,05	7,00
24	0,57	0,02	3,94

Wie bereits in Kapitel 3.3.7 erwähnt, zeigt auch die Kurve von Patient 06 in *Diagramm 26* einen schönen Verlauf mit einer akzeptablen Streuung der Daten laut *Tabelle 29*. Die Anfangskonzentration $c_{\max(06)}=664,58$ mg/l liegt deutlich über dem Durchschnitt und stellt von allen Patienten mit $c_{\max\emptyset}=512,18$ mg/l die höchste Konzentration dar.

Die Daten der Einzelauswertung der Proben können *Diagramm 27/28* und *Tabelle 30/31* entnommen werden.

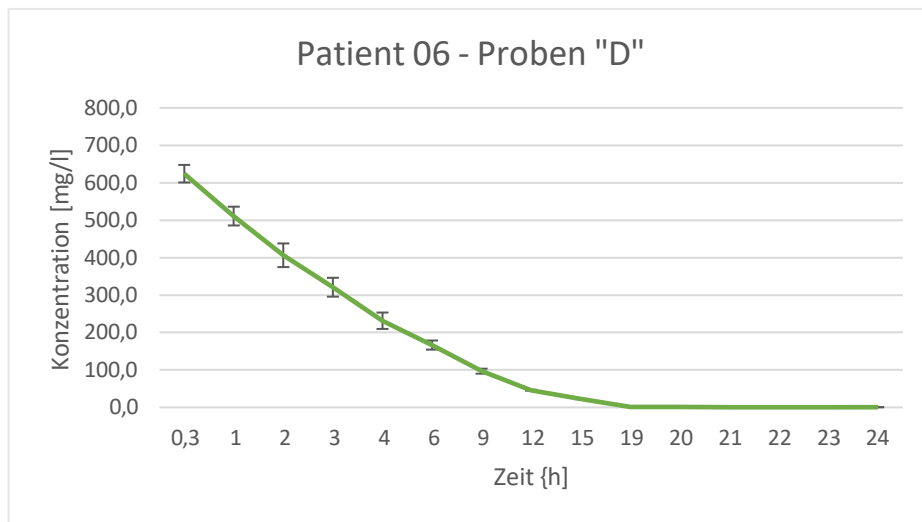


Diagramm 27: c/t-Kurve zu Patient 06 - Datensatz "D" inkl. SD

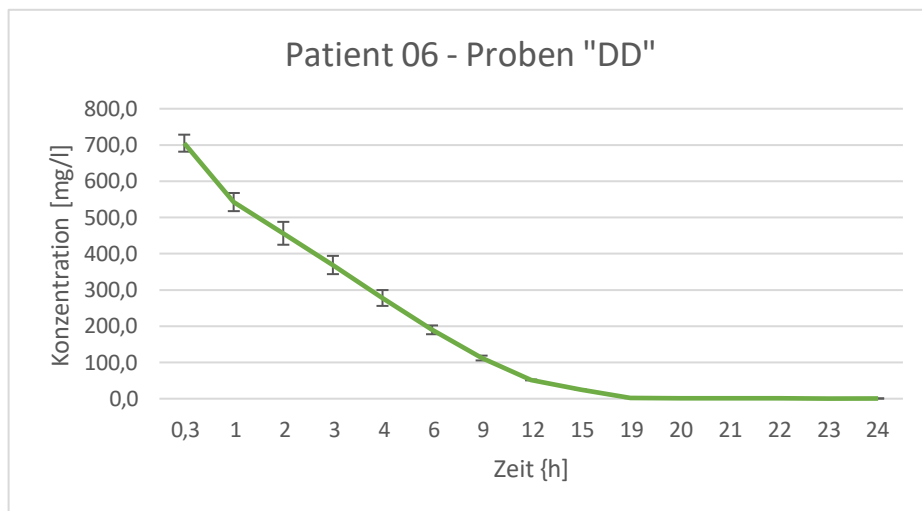


Diagramm 28: c/t-Kurve zu Patient 06 - Datensatz "DD" inkl. SD

Tabelle 30: Datensatz zu Patient 06 - Proben "D"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	624,17	27,20	4,36
1	511,00	25,33	4,96
2	406,33	30,06	7,40
3	321,00	19,60	6,10
4	231,50	15,45	6,67
6	166,50	10,39	6,24
9	96,77	5,30	5,48
12	45,83	1,36	2,97
15	22,38	0,37	1,63
19	1,40	0,06	4,63
20	0,88	0,03	3,24
21	0,69	0,02	2,49
22	0,73	0,02	2,33
23	0,78	0,02	2,76
24	0,57	0,01	2,55

Tabelle 31: Datensatz zu Patient 06 - Proben "DD"

Zeit [h]	Konz. [mg/l]	STABW	RSD [%]
0,3	705,00	23,47	3,33
1	542,50	25,05	4,62
2	456,33	31,59	6,92
3	368,83	25,20	6,83
4	277,83	21,86	7,87
6	190,00	12,17	6,40
9	112,17	6,68	5,95
12	51,72	1,17	2,26
15	24,78	0,43	1,72
19	1,76	0,08	4,68
20	1,07	0,04	3,49
21	0,78	0,01	0,90
22	0,71	0,02	2,23
23	0,69	0,01	1,19
24	0,56	0,03	5,08

10.7 MRM-Spektren

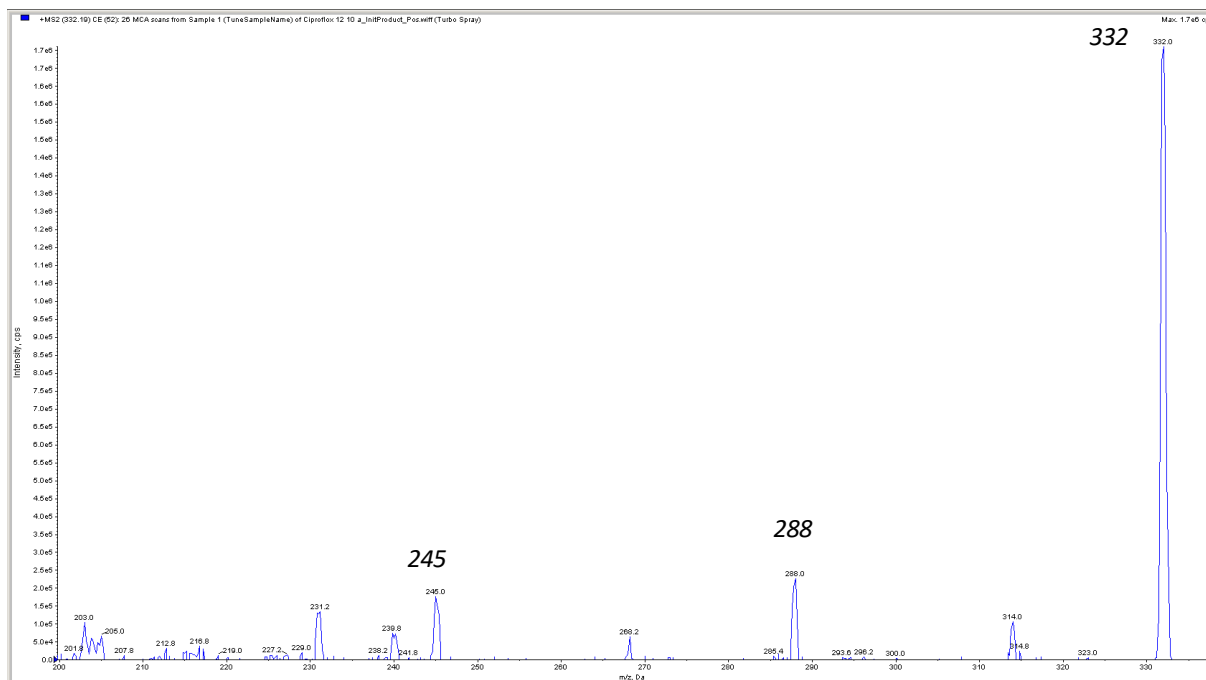


Abbildung 19: MRM von Ciprofloxacin; Precursor-Ion bei m/z 332; quantifier bei m/z 288 Da und qualifier bei m/z 245 vor der Optimierung

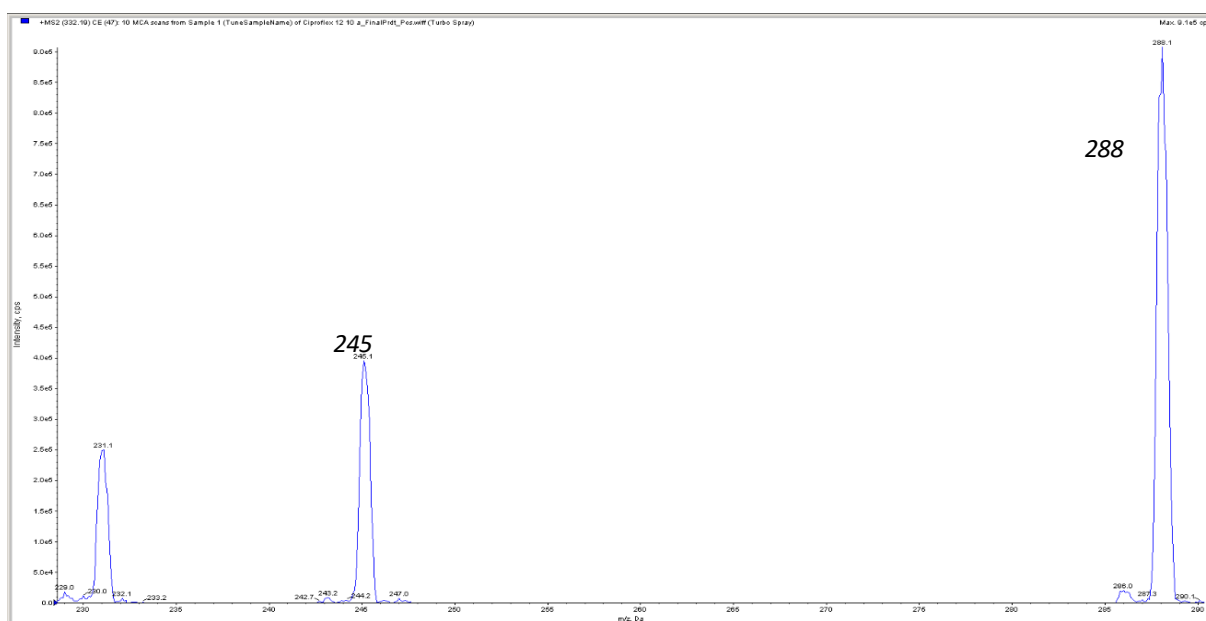


Abbildung 20: MRM von Ciprofloxacin nach der Optimierung der Fragmentierung; quantifier bei m/z 288,1 und qualifier bei m/z 245,1