

Aus dem Institut für Hygiene und Umweltmedizin

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

der Medizinischen Fakultät der Ernst - Moritz - Arndt - Universität –
Greifswald

Thema:

**Neurotoxizitätsprüfung ausgewählter Desinfektionsmittel
und Antiseptika im Labyrinthversuch mit Ratten**

Inaugural Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin

(Dr. med.)

der

Medizinischen Fakultät

der

Ernst-Moritz-Arndt-Universität

Greifswald

2001

vorgelegt von:

Olaf Gilgenast

geb. am: 29.11.1971

in: Dresden

Dekan:

1.Gutachter:

2.Gutachter:

(3.Gutachter:)

Raum:

Tag der Disputation:

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung und Problemstellung	6
1.1. <i>Problemstellung</i>	6
1.2. <i>Neurotoxizität</i>	7
1.3. <i>Neurotoxikologische Untersuchungsverfahren</i>	9
1.3.1. Verhaltenstests	9
1.3.2. Elektrophysiologische Untersuchungen	11
1.3.3. Biochemische Untersuchungen	11
1.3.4. Pathohistologische Untersuchungen	12
1.4. <i>Nebenwirkungen von Antiseptika und Desinfektionsmittel unter besonderer Berücksichtigung der Neurotoxizität</i>	14
2. Eigene Untersuchungen	23
2.1. <i>Material und Methoden</i>	
2.1.1. Auswahl der geprüften antimikrobiellen Wirkstoffe und Fertigpräparate	23
2.1.2. Versuchstiere und Versuchstierhaltung	23
2.1.3. Dosisvergleich Tierversuch mit Anwendungssituation im Krankenhaus für Händedesinfektionsmittel	25
2.1.4. Labyrinth-Versuch	26
2.1.5. Pathohistologische Untersuchungen	29
2.1.6. Statistik	29
2.2. <i>Ergebnisse</i>	29
2.2.1. Wasser	30
2.2.2. Spitaderm®	31
2.2.3. Poly Alcohol Hände Antisepticum®	32

2.2.4. Octenisept®	32
2.2.5. Betailsodona®	33
2.2.6. Hexachlorophen	33
2.3. <i>Ergebnisse der pathohistologischen Untersuchungen</i>	38
2.3.1. Wasser	38
2.3.2. Spitaderm®	38
2.3.3. Poly Alcohol Hände Antisepticum®	38
2.3.4. Octenisept®	39
2.3.5. Betailsodona®	39
2.3.6. Hexachlorophen	39
3. Diskussion	40
3.1. <i>Methoden</i>	40
3.2. <i>Ergebnisse</i>	42
3.3. <i>Schlußfolgerungen und weiterführende Gedanken</i>	48
4. Zusammenfassung	49
5. Literatur	52
6. Thesen	61
7. Originaldaten	65

ABKÜRZUNGEN

dest. Wasser	destilliertes Wasser
FDA	Food and Drug Administration
HET-CAM	Hühnereitest an der Chorioallantois - Membran
ip	intraperitoneal
KM	Körpermasse
LD ₅₀	letale Dosis 50
m	männlich
MHK	minimale Hemmkonzentration
MMK	minimale mikrobiostatische Konzentration
MW	Mittelwert
NOEL	No observed effect level
PBI	Protein bound iodine (proteingebundenes Iod)
PVP - Iod	Polyvidon-Iod
po	per os
sc	subcutan
w	weiblich
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung und Problemstellung

1.1. Problemstellung

Im medizinischen Bereich, speziell in operativen Fächern, kommt das Personal kontinuierlich mit Desinfektionsmitteln und Antiseptika in Kontakt. Dabei sind die akuten und die unmittelbar folgenden Wirkungen dieser Präparate detailliert untersucht worden, aber das Wissen um die Langzeitwirkungen ist z.T. gering. So stellten LANDRIGAN et al. 1991 fest, daß nur etwa 10% der Desinfektionsmittel auf neurotoxische Nebenwirkungen getestet wurden. In dieser Arbeit wurden daher verschiedene handelsübliche Desinfektionsmittel bzw. Antiseptika auf ihre neurotoxische Wirkung am Merkmal der kognitiven und motorischen Fähigkeiten bei dermalen Exposition an Versuchstieren (Ratten) getestet. Desinfektionsmittel und Antiseptika töten bestimmungsgemäß Mikroorganismen ab. Diese Eigenschaft ergibt sich u.a. aus der Lipophilie dieser Stoffe. Diese bedingt eine Penetration einschließlich der Wirkstoffanreicherung in lipophilen Strukturen z.B. der Haut und auch des Nervensystems. Deshalb sind für einige Desinfektionswirkstoffe und Antiseptika neurotoxische Risiken gesichert oder zumindest wahrscheinlich.

Da das Nervensystem ein sehr komplexes System mit vielen Regulationsmechanismen ist, können gerade hier Störungen lange Zeit unauffällig bleiben und dadurch besonders gefährlich werden. Das ZNS reagiert sehr empfindlich und dabei u.U. lange Zeit unspezifisch auf Noxen, dadurch wird die Beurteilung des Ausmaßes der Schädigung erschwert. Merkmale der Schädigung können Abgeschlagenheit, erhöhte Reizbarkeit, Schlafstörungen und Demenz sein. Deshalb sind orientierende Untersuchungen zum Risiko der Neurotoxizität bei der Anwendung von Desinfektionsmitteln und Antiseptika unerlässlich. Die Wirkungen können

funktionelle Störungen, verursacht durch Steigerung oder Hemmung der elektrischen Aktivität oder der Transmitterfreisetzung sein. Es können aber auch morphologische Veränderungen, spinale Degeneration und Zerstörung dopaminerger Strukturen zugrunde liegen, ohne daß der detaillierte Pathomechanismen bekannt ist.

Um einige bekannte und zur Zeit in der klinischen Praxis häufig angewandte Desinfektionsmittel und Antiseptika auf ihre ZNS-Wirkung zu untersuchen, bedienen wir uns des Labyrinth-Versuches. Mit Hilfe dieses Tests ist es möglich, das Lernvermögen und die Beeinflussung von Gelerntem zu untersuchen.

Neben der Untersuchung der exponierten Tiere im Labyrinthversuch wurden Leber, Nieren, Lunge und Gehirn histopathologisch aufgearbeitet.

1.2. Neurotoxizität

Tilson (59) definierte Neurotoxizität als jegliche Veränderung von Struktur oder Funktion des zentralen und/oder peripheren Nervensystems.

Das Nervensystem gehört besonders im Hinblick auf seine Einheit von Struktur und Funktion zu den kompliziertesten Organen des menschlichen Körpers, und es überrascht nicht, daß sich diese Komplexität in einer Vielzahl von Reaktionsmöglichkeiten auf toxische Substanzen widerspiegelt. Noxen bzw. Neurotoxine können spezifische Regionen des zentralen und peripheren Nervensystems und spezielle Zelltypen (Neuronen, Astrozyten, Schwannzellen, Oligodendrogliazellen, Mikroglia) angreifen sowie subtile Funktionen innerhalb der Zelle verändern. Der Angriff metabolischer Basisprozesse wie Energie- und Lipidstoffwechsel, RNA- und Proteinsynthese ist ebenso möglich wie die Beeinflussung biochemischer Reaktionen im Hinblick auf Membranpermeabilität,

Membrantransportprozesse, Höhe des Aktionspotentials und Vorgänge der synaptischen Transmission (67).

Durch Neurotoxine können akute und chronische Schäden hervorgerufen werden. Erstere führen in der Regel zu funktionellen Veränderungen des Nervensystems, sind oft reversibel und können insbesondere nach einmaliger Applikation größerer Dosen des Neurotoxins auftreten. Man teilt sie, soweit es bekannt ist, nach ihrem Wirkungsmechanismus ein. Falls keine Kenntnis darüber vorhanden ist, erfolgt die Zuordnung auf Grund der Symptomatologie (67).

Im Gegensatz dazu bewirken die nach wiederholten Dosen auftretenden chronischen Effekte Strukturveränderungen mit Degeneration von Zellelementen und sind oft irreversibel. Diese Schädigungen können metabolische Störungen in den Neuronen, Axonen und umgebenden Zellen (Schwanzellen, Gliazellen) sowie Störungen der zerebralen Durchblutung zur Folge haben (67).

Spencer und Schaumburg (55) teilen chronische Schäden nach ihrem Manifestationsort ein in

-Haupttypen in Form von Neuropathien, Axonopathien, Myelinopathien und Neurovaskulopathien sowie

-in Subtypen mit proximalen und distalen Alterationen.

Oft folgen den primären Veränderungen sekundäre und tertiäre Schädigungen.

Ein weiterer Aspekt ist die Dosisabhängigkeit akuter bzw. chronischer neurotoxischer Effekte.

Insgesamt ist die Klassifikation neurotoxischer Nebenwirkungen trotz der in den letzten Jahren erheblich gewachsenen Kenntnisse über biochemische Vorgänge, auf denen viele neuropathologische Prozesse beruhen, oft schwierig.

1.3. Neurotoxikologische Untersuchungsverfahren

Aufgrund der vielfältigen Manifestationsmöglichkeiten neurotoxischer Nebenwirkungen gibt es für die Neurotoxizitätstestung keine Screeningmethode, die generell anwendbar wäre und allgemeingültige Aussagen zuließe (34). Oftmals ist es noch heute so, daß stillschweigend vorausgesetzt wird, daß sich neurotoxische Nebenwirkungen bereits bei Routineuntersuchungen (LD₅₀-Prüfung, Langzeittierversuche) zeigen und spezifische Tests deshalb nicht durchgeführt werden müssen.

Neurotoxische Untersuchungsmethoden sollten folgende Kriterien erfüllen:

- akute und chronische Exposition mit der Noxe,
- Untersuchung an verschiedenen Tierspezies,
- Untersuchung an neugeborenen und an erwachsenen Tieren (67).

Zur Erfassung neurotoxischer Schädigungen steht ein breites Spektrum an Methoden zur Verfügung, beginnend mit der Zell- und Gewebekultur, fortgesetzt über einfache klinische Beobachtungen, spezielle Verhaltenstests, elektrophysiologische, pathophysiologische und biochemische Untersuchungen u.a. Es erscheint deshalb sinnvoll, die verschiedenen Methoden je nach Art, Aufwand, Ziel und Ergebnis einem bestimmten System zuzuordnen z.B. nach Dewar in Neurotoxizitätstests 1., 2. und 3.Ordnung.

1.3.1. Verhaltenstests

Eine besondere Bedeutung bei der Erkennung neurotoxischer Gefährdungen kommt den Verhaltenstests zu, unter anderem wegen ihrer breiten Anwendbarkeit. Das Verhalten ist Ausdruck der sensorischen, motorischen und kognitiven Funktionen des Nervensystems, was es zu einem sensitiven Marker für chemisch induzierte Neurotoxizität macht (42). Hieraus ergibt sich, daß eine sorgfältige Beobachtung des Verhaltens von exponierten

Versuchstieren eine der wichtigsten Methoden zur initialen Erfassung der Neurotoxizität ist, da spezielle Aspekte des Verhaltens repräsentativ für das Vorhandensein oder Fehlen von Neurotoxizität sein können. Außerdem ist es in manchen Fällen so, daß Verhaltensänderungen sensitiver als andere Indikatoren für neurotoxische Schädigung, wie z.B. morphologische Veränderungen sind, und daß erstere möglicherweise auch früher beobachtet werden können (68).

Die National Academy of Sciences, Washington, empfiehlt deshalb in jedem Fall Verhaltenstests zur Risikoeinschätzung neurotoxischer Gefährdungen (60).

Auch hier sollte ein abgestuftes Testprogramm zur Anwendung kommen, angefangen mit einfachen, wenig aufwendigen Untersuchungen wie z.B. Messung der motorischen Aktivität (50). Bei Messung allein der motorischen Aktivität mangelt es jedoch an Spezifität und eine genauere Differenzierung der Schädigungen ist nicht möglich (39). Allerdings wird generell akzeptiert, daß solche Untersuchungen als Screeningverfahren sensitiv, realisierbar und effizient sind (41), da in einer großen interlaborativen Studie eine hohe Übereinstimmung der Untersuchungsergebnisse zu verzeichnen war (13).

Zu den Untersuchungsmethoden der 2. Stufe zählt Tilson (1993) Methoden, mit deren Hilfe motorische, sensorische und kognitive Dysfunktionen erkannt werden können.

Etwa 20% der neurotoxischen Effekte lassen sich als motorische Dysfunktionen klassifizieren (6), die nach Newland (43) den vier Kategorien Tremor, Spasmen, Mattigkeit und Dyskoordination zugeordnet werden.

Sensorische Dysfunktionen, die etwa 14% der neurotoxischen Schädigungen betragen (6), lassen sich mit Hilfe von Verhaltenstests feststellen, die auf psycho-physikalischen Prinzipien basieren und auf den

Beziehungen zwischen einem physikalischen Stimulus und der entsprechenden Antwort des Organismus beruhen (38).

Alternationen der Lern- und Gedächtnisfunktionen lassen sich, da es sich um kognitive Fähigkeiten handelt, durch Gedächtnistests z.B. nach Heise (22), Peele und Vincent (46) und den Labyrinthtest untersuchen.

Durch Verhaltenstests können Informationen gewonnen werden, die mit alternativen Methoden wie z.B. in vitro-Tests nicht zu erhalten sind. Das betrifft insbesondere neurotoxische Erscheinungen wie Stimmungswandel, Bewegungseinschränkungen und Gedächtnisstörungen. Verhaltenstests gehören daher heute zum festen Bestandteil neurotoxischer Untersuchungen.

1.3.2. Elektrophysiologische Untersuchungen

Unerlässlich für klinische Studien neuropathologischer Veränderungen sind elektrophysiologische Methoden zur Aufzeichnung neurophysiologischer Funktionen bei potentiell neurotoxisch exponierten Personen. Viele dieser Methoden sind in das Tierexperiment übertragbar, und es können damit spezielle neurologische Fragestellungen bearbeitet werden. Der Wert als Screeningmethode ist aber durch die Spezifität begrenzt. Außerdem haben einige Versuchsmethoden eine zu geringe Sensitivität, z.B. die Messung der maximalen motorischen Nervenleitgeschwindigkeit (19). Elektrophysiologische Untersuchungen bieten ebenso Verhaltenstests die Möglichkeit der wiederholten Messung an demselben Tier über einen bestimmten Zeitraum. Auf diese Weise erhält man Angaben über die Entstehung und Ausbreitung von neurotoxischen Effekten.

1.3.3. Biochemische Untersuchungen

Mit in vitro-Modellen, die ein klares Strukturmodell des Zielsystems aufweisen, können einzelne Probleme gut bearbeitet werden, aber die

Komplexität der Neurotoxizität kann dabei nicht erfasst werden. Einzelne Bereiche gerade der funktionellen Störungen können nicht untersucht werden. Biochemische Neurotoxizitätstestungen sollten mit einem primären Screening zu generellen zytotoxischen und metabolischen Effekten (Membranschädigungen, mitochondriale respiratorische Funktionen, etc.(19)) beginnen und dabei Neuroblastom- oder Gliom-Zelllinien nutzen (40).

Bei weiteren Testungen ist die Anwendung von komplexen Kulturen, wie z.B. primäre embryonale Mittelhirne von Ratten (Glia-Co-Kultur, Reaggregat-Kultur) möglich, die für die in vivo-Populationen von Zellen repräsentativer sind als Zelllinien oder Einzelzellkulturen (40).

Messungen der Zytotoxizität werden ebenso genutzt wie Untersuchungen der Morphologie, des Neuritenwachstums und der Bestimmung neurofilamentärer Proteinspiegeln mittels ELISA-Technik (1). Wichtige Informationen in Hinblick auf spezifische neurotoxische Effekte können sich bei detaillierteren Untersuchungen von Neurotransmittersynthese (z.B. Acetylcholin), Rezeptorexpression (z.B. GABA-Rezeptoren) und Marker-Enzymen (z.B. Tyrosinhydroxylase oder neuronenspezifische Enolase) so wie auch durch Anwendung von Neuronenkulturen aus unterschiedlichen Hirnregionen ergeben (40).

1.3.4. Pathohistologische Untersuchungen

Mit Hilfe von pathohistologischen Untersuchungen nach Exposition mit Neurotoxinen lassen sich strukturelle Veränderungen sowie deren Lokalisation innerhalb des peripheren oder zentralen Nervensystems nachweisen. Neben den lichtmikroskopischen Untersuchungen kommt der Elektronenmikroskopie eine große Bedeutung bei der Erkennung von Läsionen in der Tiefe der Nervenfasern zu, während z.B. mit Hilfe der Histochemie der Einfluß von Neurotoxinen auf neuronale Strukturen, die

biogene Amine enthalten, untersucht werden kann. Fluoreszenz-Histochemie und Mikrofluorimetrie sind ebenfalls für detaillierte Fragestellungen anwendbar (32).

1.4. *Nebenwirkungen von Antiseptika und Desinfektionsmitteln unter besonderer Berücksichtigung der Neurotoxizität*

Octenidindihydrochlorid

Chemie und Wirkungsmechanismus(17,20): Die Bispyridine enthalten im Molekül 2 kationenaktive Zentren und unterscheiden sich damit von einfachen kationenaktiven Verbindungen. Vom Chlorhexidin unterscheidet sich Octenidin durch die fehlende Guanidinstruktur. Der Wirkstoff ist oberflächenaktiv, im pH-Bereich von 1,6-12,2 sowie unter Lichteinfluß stabil und nicht wie z.B. Chlorhexidin hydrolyseempfindlich.

Octenidindihydrochlorid reagiert mit Polysacchariden der Zellwand von Mikroorganismen, greift dort in die enzymatischen Systeme ein und stört die Zellfunktion.

Wirkungen(17,20): Breites antimikrobielles Wirkungsspektrum mit annähernd gleich hoher Effektivität gegen grampositive und gramnegative Bakterien sowie Pilze; mikrobiozide Wirksamkeit etwa 5 bis 10fach höher als von Chlorhexidindigluconat, MMK nach 5 min für S.aureus, E.coli, P.mirabilis und P.aeruginosa 250 µg/ml, C.albicans 100 µg/ml; wirksam gegen HBV und HSV, nicht gegen Adenoviren; remanente Wirkung.

Anwendung(53): Zur wiederholten, zeitlich begrenzten antiseptischen Behandlung von Schleimhaut und angrenzender Haut vor diagnostischen und operativen Maßnahmen, z.B. im Ano-Genitalbereich, von Vagina, Vulva, Glans penis, vor Katheterisierung der Harnblase und in der Mundhöhle. Zur zeitlich begrenzten unterstützenden Therapie bei Pilzinfektionen der Haut zwischen den Zehen sowie zur unterstützenden antiseptischen Wundbehandlung.

Lokale Verträglichkeit(20,29): Hohe Zytotoxizität im Zellkulturtest und im Explantationstest, tendentiell noch zytotoxischer als Chlorhexidin(11,23); Reizschwelle von Octenisept® (der handelsüblichen Kombination von Octenidin mit Phenoxyethanol) im HET-CAM 10-100fach niedriger als bei

Lavasept® (Wirkstoffbasis Polihexanid); Hautirritationen bei der Maus ab 0.5%, keine Wundheilungsstörungen bei artifiziellen Hautwunden der Ratte; wird in der Mundhöhle schlechter als Chlorhexidin akzeptiert(8); tierexperimentell nicht sensibilisierend.

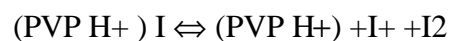
Systemische Toxizität und Langzeitrisiken(20,29): LD₅₀ Ratte po 800mg/kg KM bzw. >15 ml Octenisept® /kg KM, Quotient LD₅₀/MMK

(5 min- Wert) für S.aureus und P.aeruginosa 3,2(11), NOEL Hund und Ratte 0,5mg/kg KM; kein Anhalt für mutagene, carcinogene und teratogene Risiken.

Neurotoxische Wirkung nicht bekannt.

Polyvidon-Iod

Chemie und Wirkungsmechanismus(5,9,20,51): Im Polyvinylpyrrolidon ist Iod über H-Brücken an die Helix des Makromoleküls gebunden, in wäßriger Lösung stellt sich ein Gleichgewicht zwischen freiem und gebundenem Iod gemäß folgender Formel ein:



Das pH-Optimum liegt zwischen 2,5 und 5,5.

Durch seine stark oxidative Potenz reagiert molekulares Iod rasch mit Aminosäuren (vor allem den darin enthaltenen OH- und SH- Gruppen) und ungesättigten Fettsäuren, führt so zur Veränderung räumlicher Strukturen sowie zu Funktionsstörungen von Proteinen und anderen Bausteinen der Erreger. Elektronenmikroskopisch konnte nachgewiesen werden, daß PVP-Iod an der Zellwand von Mikroorganismen Porenbildung mit Ausstrom von Enzymen und Nucleotiden induziert. Möglicherweise werden durch Oxidation von Doppelbindungen der Phospholipide in der Zellwand fest-flüssige Grenzonen gebildet, an denen entlang die Poren entstehen.

Wirkungen(9,16,20,51): Die mikrobiozide Wirkung umfaßt alle vegetativen Erreger einschließlich Mykobakterien, Hefen und andere Pilze sowie Viren,

Protozoen und bei längerer Einwirkungszeit (2-4 h) auch Bakteriensporen, in Kombination mit Ethanol effektiv gegen HBV; keine Resistenzentwicklung auf Grund des Wirkmechanismus, antiseptisch im Genitalbereich derzeit verfügbaren Antiseptika an Wirksamkeit überlegen bei zugleich deutlich besserer lokaler Verträglichkeit als z.B. Chlorhexidin und Octenisept(25,35); in der Mundhöhle wird die Effektivität von Chlorhexidin bezüglich Reduktion der aeroben Gesamtzahl nicht erreicht, vor allem nicht in der remanenten Wirkung, bezüglich Reduktion der Bakteriämie nach Zahnextraktion zum Teil jedoch wirksamer als Chlorhexidin, wird daher bei antiseptischer Ergänzung der Antibiotikaprophylaxe als Mittel der ersten Wahl zur Endokarditisprophylaxe empfohlen(48,63). Auf Wunden können durch Reaktion mit physiologischen H_2O_2 -Peroxidase-Systemen Oxidationsprodukte mit höherer Wirksamkeit als molekulares Iod entstehen.

In vitro Inhibition von Entzündungsmediatoren (Expression bakterieller Exotoxine, Hemmung überschießender Mediatorfreisetzung, Inaktivierung gewebezerstörender Enzyme).

Anwendung(18): Einmalige Anwendung: Antiseptik der intakten äußeren Haut oder Schleimhaut z.B. vor Operationen, Biopsien, Injektionen, Punktionen, Blutentnahmen und Blasenkatheterisierungen. Wiederholte zeitlich begrenzte Anwendung: Antiseptische Wundbehandlung, Verbrennungen (nur vor der Transplantation), infizierte und superinfizierte Dermatosen, hygienische und chirurgische Händedesinfektion.

Lokale Verträglichkeit(11,23): PVP-Iod-Lösung ist 1,25-10%ig am Auge anwendbar; $\geq 2\%$ PVP-Iod tierexperimentell Wundheilungsstörungen möglich; 0,5% PVP-Iod unverträglich zur Harnblasendauerspülung, 0,25% PVP-Iod wurde überwiegend toleriert; bei ip Instillation tierexperimentell Fettgewebenekrosen; tierexperimentell nicht sensibilisierend und photosensibilisierend.

Systemische Toxizität und Langzeitriskien(16,20,21,51): LD₅₀ Ratte po 6g/kg KM, Kaninchen ip ~360 mg/kg KM; Maus ip 400-600mg/kg KM, Ratte und Hund ip 400 mg/kg KM, Ratte sc 2g/kg KM, Kaninchen iv 110mg/kg KM; Quotient po LD₅₀/MMK (5 min-Wert) für *P. aeruginosa* 1000(11), für *S. aureus* 500; subchronische und chronische Toxizitätsprüfungen wurden u.a. an Ratten in Form der Beimischung von PVP-Iod (10% verfügbares Iod) zum Futter in Dosierungen zwischen 75 und 750 mg PVP-Iod pro Tag und kg KM über bis zu 12 Wochen durchgeführt, nach Absetzen der PVP-Iod-Zufuhr lediglich weitgehend reversible und dosisabhängige Anstiege des PBI und unspezifische, histopathologische Veränderungen der Schilddrüse; Hyperthyreose bei längerem Gebrauch nicht auszuschließen, aber bei Schilddrüsengesunden offenbar eine Rarität, von der FDA wird daher Anwendung ≤7d sogar in der Selbstmedikation als sicher selbst in der Nutzung auf Schleimhäuten von Mund und Rachen eingestuft(52); in einfachen Prüfsystemen Mutagenität positiv, am Ganztier negativ; bei indikationsgerechter Applikation und Dosis wird beim Menschen kein carcinogenes bzw. mutagenes Risiko gesehen(28).

Bei Hautantiseptik vor Operationen "Pfützenbildung" unter dem Patienten (wegen möglicher Hautreizungen) vermeiden.

Neurotoxische Wirkung nicht bekannt.

Chlorhexidindigluconat

Chemie und Wirkungsmechanismus(2,29): Chlorhexidin ist ein kationisches, in wässriger Lösung gering oberflächenaktives Biguanid, als Digluconat zu etwa 70% in Wasser löslich; oberhalb 70°C instabil. Der Wirkungsmechanismus ist wie bei allen kationenaktiven Wirkstoffen unspezifisch: bis etwa 200µg/ml Zellmembranschädigung mit irreversiblen Cytoplasmaefflux und Enzymhemmung (z.B. membranständige und

lösliche ATPase), in höheren Konzentrationen Ausfällung von Nucleinsäuren und Proteinen im Cytoplasma, ausgeprägte Adsorption an Mikroorganismen mit Veränderung der elektrophoretischen Mobilität, Vergrößerung der mikrobiellen Adhäsion an Öltröpfchen bzw. Polymere, dadurch Beeinflussung des mikrobiellen Attachments. In der Mundhöhle wird eine Bindung an anionische Säuregruppen der Speichelglykoproteine angenommen, wodurch die Plaquebildung und Plaquekolonisation reduziert wird.

Wirkungen(2,29): Reine Chlorhexidinpräparate auf wässriger Basis oder in Salbengrundlage sind nur bakteriostatisch wirksam. MHK für grampositive Bakterien 0,5-64µg/ml, für gramnegative Bakterien 1-500µg/ml und für C.albicans 20µg/ml, klinische Isolate sind z.T. weitaus resistenter, z.B. Proteus und Pseudomonas spp. 800-1600µg/ml, S. marcescens bis 20 mg/ml, nur gering wirksam gegen M. tuberculosis, wirksam gegen HSV, gering wirksam gegen Rotaviren, praktisch unwirksam gegen Polio-, Adeno- und Hepatitis B-Viren, chromosomale und plasmidische Resistenzentwicklung ist aufgrund der mikrobiostatischen Wirkungsweise in vitro nachgewiesen(29,52).

Chlorhexidindigluconat gilt wegen seiner hohen antiseptischen Sofort- und Remanenzwirkung bei gleichzeitiger Plaquehemmung als "Goldstandard" für die Bewertung von Mundhöhlenantiseptika und wird nur von Octenidindihydrochlorid an Effektivität übertroffen(8,63). Auf genitalen Schleimhäuten und am Orificium urethrae ist Chlorhexidin in Kombination mit Milchsäure und H₂O₂ (Skinsept® mucosa) Octenidin-haltigen Präparaten (Octenisept®) an Wirksamkeit gleichwertig(12).

Anwendung(53): Schleimhaut- und Wundantiseptik, remanenter Wirkstoffzusatz in Präparaten zur hygienischen und chirurgischen Händedesinfektion sowie zur Hautantiseptik.

Lokale Verträglichkeit(29): Mäßige bis hohe Zytotoxizität(29), 0,05%ig identische Toxizität für kultivierte humane epidermale Zellen und Mikroorganismen in einem kombinierten Assay(57), >0,005% zytotoxisch für buccale Epithelzellen des Hamsters bei 1h Exposition, <0,01% für 5 min keine zytotoxische Wirkung, wobei diese Zelllinie vergleichsweise unempfindlicher als andere Zelllinien ist(69); ausgeprägte Hemmung von Gewebewachstum in vitro(11,23), was z.T. bei tierexp. Wunden mit verzögerter Heilung verbunden ist(3). 0,05%ig (als Acetat) mildes Irritans im dermalen Patch-Test/Kaninchen, 1%ig bei 21-tägiger dermalen Applikation bei Probanden keine Hautreizung. Tierexperimentell (Acetat) keine sensibilisierende Potenz. 0,01-0,02%ig (Acetat) erosive Cystitis/Ratte; ≤ 0,05%ig keine Augenreizung beim Menschen; 0,1 und 0,5%ig Verlust der oberflächlichen Schichten des Corneaepithels und der Mikrovilli der 2. Schicht, 0,005-0,05%ig (Acetat) beginnende konjunktivale Reaktion. Einmalige ip-Applikation (Digluconat) 0,05-0,1%ig bei Ratten und Kaninchen keine Nebenwirkung, ≥0,5% Adhäsionen und leichte bis schwere peritoneale Blutungen; 20 mg/kg KM ip/Ratte einmal/d 5d lang schwere chemische Peritonitis, z.T. mit Exitus; bei Hunden durch einmalige ip-Gabe als Peritoneallavage von 10 oder 15 mg Chlorhexidingluconat/kg KM leichte, bei 20 mg/kg KM deutlich fibröse Adhäsionen an Serosa abdominaler Organe. Bei Applikation im Mittelohr des Meerschweinchens Innenohrschädigung am Cortischen Organ und z.T. am Vestibularapparat, möglicherweise standen damit Innenohrschäden nach otochirurgischen Eingriffen im Zusammenhang.

Systemische Toxizität und Langzeitrisk(2,21,29): LD₅₀ Maus po 2,5 g/kg KM, sc 635 mg/kg KM, iv 25 mg/kg KM, Ratte po 1,8 g/kg KM, sc >1 g/kg KM, iv 22 mg/kg KM; Quotient LD₅₀/MMK (5 min-Wert) für S.aureus und P.aeruginosa 0,9, d.h. geringe therapeutische Breite(11). Im 6-Monate und 1-Jahres-Test/Ratte 0,2%ig bzw. 158 mg/kg KM/d im Trinkwasser keine

Nebenwirkungen; außer gelegentlichem Erbrechen bei oraler Dosis von 150 mg/kg KM/d 7 Wochen lang bei Hunden ebenfalls keine Nebenwirkungen.

Nach 14-tägiger oraler Anwendung bei der Ratte Induktion reversibler Hyperkeratosen, Ulcerationen und Dysplasien weniger schwer bei 0,02%, ausgeprägt bei 0,2%; beim Hamster als einzige Veränderung erhöhte Formazan-Einlagerung in oberflächliche Mucosazellager; im Gegensatz dazu bei oraler 2-Jahres-Studie an Probanden keine Hinweise auf lokale Nebenwirkungen.

Mutagenität im Ames-Test und DNA-repair-Test positiv, im Bone-marrow-Test/Maus bei dermalen Applikation von 0,2 ml 0,5%iger Chlorhexidindigluconatlösung in Aqua dest. Zweimal/d 28 d lang (50 mg/kg KM) Anstieg chromosomaler Abberationen; Risiko von Mutagenität und Carzinogenität kann derzeit als nicht ausreichend abgeklärt eingeschätzt werden.

In der Dosis 50 mg/kg KM kein Anhalt für Teratogenität, Embryotoxizität und Fertilitätsbeeinflussung.

Neurotoxische Wirkung nicht bekannt.

Hexachlorophen

Chemie und Wirkungsmechanismus(15): Hexachlorophen ist ein chloriertes Diphenol mit der Summenformel $C_{13}H_6Cl_6O_2$. Die Molekularmasse beträgt 406,9 Dalton. Unlöslich in Wasser, löslich in alkalischen Lösungen, in Säuren unter Erwärmen, in pflanzlichen Ölen und in Propylenglykol. Optimaler pH-Wert für bakteriozide Wirkung ist pH 5 - 6.

Wirkungen(15): Hexachlorophen wirkt auf grampositive Bakterien stärker bakteriostatisch als auf gramnegative Keime. Gegen letztere, wie beispielsweise Salmonellen, Escherichia coli, Proteus spp. oder Pseudomonas aeruginosa ist Hexachlorophen nur schwach und für eine Antiseptik unzureichend wirksam. Die antiseptische Wirkung von

Hexachlorophen läßt sich durch anionen- und kationenaktive Tenside in Abhängigkeit vom Durchmischungsverhältnis erhöhen. Die Anwendung auf der Haut vermindert die Besiedelung der Haut mit Staphylokokken stark. Die isolierte Dezimierung von grampositiven Keimen kann möglicherweise zur Vermehrung gramnegativer Keime führen und damit eine Selektion anderer problematischer Keime, z.B. E. coli, Proteus, Pseudomonas und Salmonellen einleiten.

Anwendung(15):

Lokale Verträglichkeit: Auf rasierter Meerschweinchenhaut führte die wiederholte topische Applikation (50mg/kg, 7, 15 oder 30 d) zu biochemischen und histopathologischen Hautschäden.

Systemische Toxizität und Langzeitriskien: Die systemische Hexachlorophen-Belastung durch wiederholtes Händewaschen oder Ganzkörperwaschungen liegt zwischen 1/250 und 1/14 der Grenzkonzentration, bei der man bei der Ratte nach oraler Hexachlorophen-Gabe mit Gehirnschäden rechnen muß. Bei wiederholter falscher topischer Anwendung auf mittelgroß bis großflächigen Hautarealen (>10%) können erhebliche Mengen an Hexachlorophen aufgenommen werden. Bei krankhaft veränderter Haut mit reduzierter Barrierefunktion erhöht sich diese Menge nochmals erheblich. Die LD₅₀ beträgt bei der Ratte 56 - 87mg/kg po., 21,4 - 40mg/kg ip. bzw. 7,5mg/kg iv. Diese Dosen schwanken in Abhängigkeit von Stamm, Geschlecht und Alter der Tiere. Ratten, die mit hochdosiertem Hexachlorophen in der Nahrung (400mg/kg Futter) oder dermal behandelt wurden, entwickelten deutliche Symptome, die sich in der Anfangsphase charakteristisch in einer Schwäche oder Lähmung der Hinterpfoten äußerten. Die gleiche Symptomatik wurde bei Mäusen, Hunden, Kaninchen und Affen beobachtet. Der Effekt war teilweise reversibel, wenn die Hexachlorophen-Zufuhr unterbrochen oder Hexachlorophen aus dem Organismus eliminiert wurde. Die

Hexachlorophen - induzierten Schäden in der weißen Substanz des Gehirns und im Nervus ischiadicus manifestierten sich als ödematöse Intramyelinvakuolisierung.

Nach wiederholtem, täglichen Baden in Hexachlorophen-haltigem Wasser wurde bei Neugeborenen eine Resorption nachgewiesen. Das Ausmaß der gesundheitlichen Störungen korrelierte mit der Anzahl von Hexachlorophen-Expositionen. Bei Kleinkindern führten 3 %ige bis 6 %ige externe Hexachlorophen-Applikationen zur Schädigung der Haut und dadurch möglicherweise zu erhöhter Penetration des Stoffes. Im Blut traten nach dermalen Resorption unterschiedliche Hexachlorophen-Konzentrationen auf. Bei einigen Neugeborenen lag die Wirkstoffkonzentration im Blut über 1 µg/ml, also Konzentrationen, die im Tierexperiment zu einer Vakuolisierung der weißen Gehirnsubstanz führten. Nach dermalen und vaginalen Applikation waren folgende neurologische Merkmale vorherrschend: Kopfschmerzen, lokale und generalisierte motorische Schwäche oder Lähmung, Muskelzuckungen, Verhaltensänderungen, Krämpfe oder Bewusstseinsstörung bis Koma oder Tod.

2-Propanol

Wirkungen (49): Es wirkt bakteriozid einschließlich *M. tuberculosis*, fungizid und virusinaktivierend, in Kombination mit Butandiol auch gegen HBV.

Anwendung (49): Hygienische und chirurgische Händedesinfektion, Hautantiseptik.

Systemische Toxizität und Langzeitriskien bei dermalen Anwendung nicht bekannt.

2. Eigene Untersuchungen

2.1. *Material und Methodik*

2.1.1. Geprüfte antimikrobielle Wirkstoffe und Fertigpräparate(53)

Octenisept® (Schülke & Mayr, Hamburg)

100ml enthalten: Octenidin-2HCL 0,1g; Phenoxyethanol 2g

Betaisodona® Lösung (Mundipharma, Limburg)

100ml enthalten: Povidon-Iod 10g; mit 11% verfügbarem Iod

Spitaderm® (Henkel Hygiene , Düsseldorf)

100ml enthalten: 2-Propanol 70g; Chlorhexidindigluconat 0,5g;
Wasserstoffperoxid 0,45g

Poly Alcohol Hände Antisepticum® (Antiseptica, Pulheim)

100 ml enthalten: 2- Propanol 63,14g; 1,3-Butanidol 0,115g

Hexachlorophen in Olivenöl

100ml enthalten: 0,5% Hexachlorophen

2.1.2. Versuchstiere und Versuchstierhaltung

Die Tiere wurden jeweils mit 0,5ml des Prüfpräparats exponiert.

Der Versuch wurde mit 126 Ratten (60 weibliche und 66 männliche) des Stammes LEW 1A aus dem Institut für Diabetes "Gerhard Katsch" Karlsburg durchgeführt. Zu Beginn des Versuches waren die Tiere ca. 16 Wochen alt und wogen zwischen 100-140g (Weibchen) bzw. zwischen 120-160g (Männchen). Die Untersuchungen wurden im Tierlabor des Institutes für Hygiene und Umweltmedizin der Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald durchgeführt. Die Ratten wurden im Laminar Flow Kabinett der Firma Ehret gehalten. Jeweils 3 bzw. 5 Ratten wurden in einem Plastikkäfig

mit Metallgitteraufsatz aufgestellt. Die Grundfläche des Käfigs betrug 520mm x 320mm, die Höhe 200mm. Der zirkadiane Rhythmus wurde durch automatische Lichtregulation für 12h/d in einem abgedunkelten Raum abgestimmt. Die Raumtemperatur betrug $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, die relative Luftfeuchtigkeit $55\% \pm 5\%$. Die Tiere bekamen während des gesamten Versuches regelmäßig morgens von der selben Person etwa 20g Trockenfutter (Standardpellets für Ratten, Altromin Corp.) und Wasser nach Bedarf. Die KM der Ratten wurde einmal wöchentlich gemessen (Tab.1). Die Nahrungsaufnahme wurde jeden Morgen kontrolliert. Die Tiere wurden unabhängig vom Geschlecht in die verschiedenen Gruppen randomisiert (männliche/weibliche Untergruppen der 6 Gruppen). Zugang zum Labor hatten nur zwei Personen. Alle Versuche wurden von derselben Person durchgeführt, diese bestimmte die Laufzeit und die Fehler der Tiere im Labyrinth.

2.1.3. Dosisvergleich Tierversuch mit Anwendungssituation im Krankenhaus für Händedesinfektionsmittel

Exposition beim Menschen unter Anwendungsbedingungen

KM eines durchschnittlichen Erwachsenen etwa 70kg = 70000g

Exposition mit 3ml Desinfektionsmittel (vorgeschriebene Menge an Desinfektionsmittel pro chirurgischer Händedesinfektion), entspricht 0.00004ml/ g KM

5 Operationen mit je 3ml Exposition eines Händedesinfektionsmittels

(5x3ml Exposition 0.00004ml = maximale Exposition/Tag) = **0.0002ml = 2×10^{-4} ml/ g KM**

Exposition bei den Versuchstieren

KM etwa 270g (männliche Tiere 320g; weibliche Tiere 220g)

Exposition mit 0.5ml Desinfektionsmittel pro Versuch = 0.002ml/ g KM

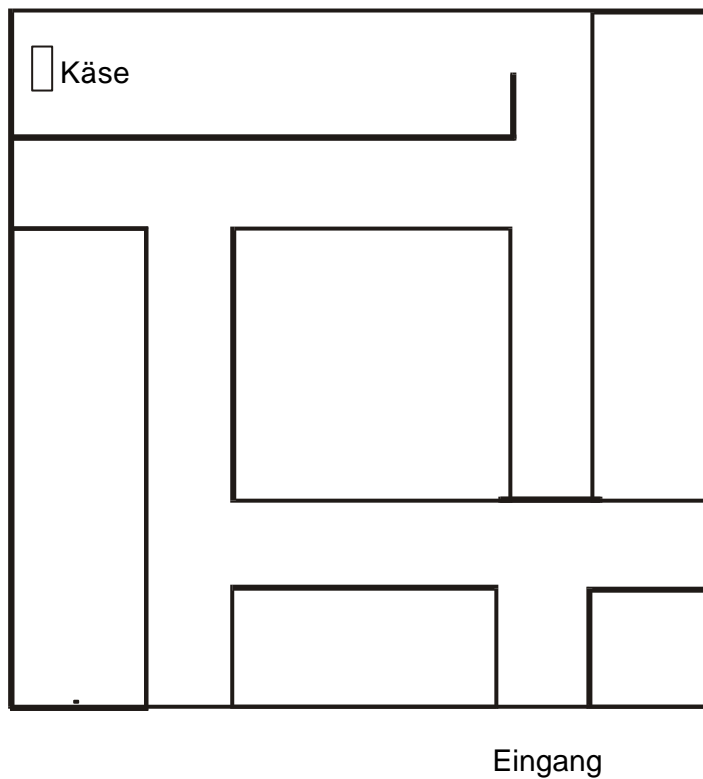
2 Expositionen/Tag, d.h. **0.004ml = 4×10^{-3} ml**

Das heißt, daß die Ratten in diesem Versuch einer **20** mal höheren Belastung mit Desinfektionsmitteln und Antiseptika ausgesetzt waren. Das stellt eine hohe Mehrbelastung dar. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Tiere bei der percutanen Applikation vergleichbar inhalativ wie der Mensch exponiert werden, wobei das nicht vermeidbare Schlecken der Tiere die Exposition noch erhöht.

2.1.4. Labyrinth – Versuch

Aufbau des Labyrinths:

Das Labyrinth ist ein in der Grundfläche 100 x 100 cm großer Sperrholzkasten mit einer Höhe von 15 cm, der mit einem Maschengitter abgedeckt ist (Abb.1).



Labyrinth

Abb.1 Aufbau des Labyrinths

Die Ratten wurden am Labyrintheingang ins Labyrinth gesetzt. An das Labyrinthende wurde ein 0,5*0,5*0,5cm großes Käsestück gelegt, das die Tiere finden mußten. Die Tiere erlernten das Finden des Ziels (den Käse) in der Trainingsphase vor der Exposition mit den Desinfektionsmitteln bzw. Antiseptika. Die Laufzeit, die die Tiere nach Einlaß ins Labyrinth bis zum

Erreichen des Ziels benötigen, sowie die Anzahl der Fehler, die die Tiere auf dem Weg zum Ziel machten, waren die zu untersuchenden Parameter. Ein Fehler wurde gezählt, wenn sich die Ratte mit ihrer halben Körperlänge (Trennpunkt war hinter den Vorderläufen) in die falsche Richtung bewegte. Frisches Futter (Käse) wurde bei jedem Tier und bei jedem Versuch neu in das Labyrinth gelegt.

Den Versuch teilten wir in die Trainingszeit, die Konditionierungszeit, die Expositionszeit sowie die Nachbeobachtungszeit.

Nach einer Trainingszeit von 10 d begann die Konditionierung mit 11 d, später die Exposition der Tiere mit den Desinfektionsmitteln bzw. Antiseptika von 90 d und die Nachbeobachtungszeit von 35 d.

Trainings- und Konditionierungszeit

Während der Trainingszeit wurden die Tiere mit dem Labyrinth vertraut gemacht. Sie suchten den Käse ohne Zeit- und Fehlerkontrolle einmal pro Tag. In der folgenden Konditionierungszeit von 11 d wurden die Laufzeit- und Fehlerdifferenzen dokumentiert, die die Tiere benötigten, um den Käse zu finden. Dabei bekamen die Tiere keine Hilfe mehr vom Untersucher. Die Versuche wurden nur von diesem Untersucher durchgeführt. Der Raum, in dem die Versuche stattfanden, war getrennt vom Aufenthaltsraum der Tiere. Unmittelbar nach dem Erreichen des Ziels wurden die Tiere zurück in den Käfig gesetzt, in dem sie vorher waren. Das Labyrinth wurde mit einem Wasserschwamm nach jedem Durchlaufen der Tiere (Laufstrecke) gereinigt. Die Exkremente wurden entfernt, und erst wenn das Labyrinth trocken war, begann der nächste Versuch.

Nach der angegebenen Trainingszeit wurden die Versuchstiere folgenden 6 Gruppen randomisiert zugeordnet:

10 Weibchen, 11 Männchen - destilliertes Wasser (Negativkontrolle)

10 Weibchen, 12 Männchen – Hexachlorophen (Positivkontrolle)

Gruppe 1 10 Weibchen, 12 Männchen - Spitaderm®

Gruppe 2 10 Weibchen, 10 Männchen - Poly Alcohol Hände Antisepticum®

Gruppe 3 10 Weibchen, 11 Männchen - Octenisept®

Gruppe 4 10 Weibchen, 10 Männchen - Betaisodona®.

Exposition

Das jeweilige Prüfpräparat bzw. die Kontrolle wurde auf einem Hautareal von 2x2cm in einer Menge von 0,5ml per Pipette aufgetragen. Das Hautareal wurde alle 4 Wochen rasiert. Die Exposition dauerte 90 d. Die Tiere wurden mit den Substanzen in Kontakt gebracht und in einem Intervall von 7 d im Labyrinth untersucht.

Die Exposition erfolgte auf dem dafür rasierten Rückenareal der Ratten 2/d, das erste Mal zwischen 7 und 8 Uhr morgens, das zweite Mal zwischen 18 und 19 Uhr abends. An den Untersuchungstagen wurde die Exposition erst nach dem Labyrinthversuch im Zeitraum zwischen 16 und 19 Uhr durchgeführt.

In der auf den Expositionszeitraum folgenden Nachbeobachtungszeit von 35 d wurde wiederum an jedem 7. Tag das Verhalten der Tiere im Labyrinth kontrolliert.

Anschließend wurden die Tiere histopathologisch untersucht, um eventuelle Organschäden durch die aufgetragenen Mittel herauszufinden.

Während der gesamten Versuchsdauer unterlagen die Tiere einer ständigen Kontrolle in Bezug auf die Nahrungsaufnahme, die Körpermassezunahme und die artspezifische Verhaltensweise. Um für alle Tiere gleiche Verhältnisse zu schaffen, wurde die Anzahl der im Käfig zusammenlebenden auf 3 bzw. 5 festgesetzt.

2.1.5. Pathohistologische Untersuchungen

Nach Abschluss des Versuchs wurden die Tiere mit Ether eingeschläfert. Danach wurden Milz, Leber, Nieren, Pankreas, Gehirn und Rückenhautareal (1x1cm) entnommen und in 9% Formalin konserviert. Nach Einbettung in Paraffin wurden von jedem Organ Stufenschnitte durchgeführt. Die Färbung erfolgte mit Hämatoxylin-Eosin. Die mikroskopische Untersuchung der Präparate wurde bei maximal 400facher Vergrößerung im Institut für Pathologie der Humaine Klinik in Bad Saarow durchgeführt.

2.1.6. Statistik

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe von Fehlerbalken dargestellt. Dabei werden die auszuwertenden Gruppen in einem Konfidenzintervall von 95% als Baslinie dargestellt. Der Mittelwert wird durch die innere Markierung dargestellt, die Größe des Konfidenzintervalls 95% aller untersuchten Tiere zeigt die Länge der Fehlerbalken.

Alle Auswertungen wurden mit EXCEL bzw. SPSS FOR WINDOWS durchgeführt.

2.2. *Ergebnisse*

Die ersten 11 Meßwerte wurden täglich in der Konditionierungsphase (Training ohne Exposition), die nächsten 12 Meßwerte in wöchentlichem Abstand während des eigentlichen Versuchszeitraums und die letzten 6 Werte ebenfalls in wöchentlichem Abstand während der Nachbeobachtungsphase ohne Exposition erhoben (Abb. 1 – 24).

Anhand der Graphiken ist bei allen Versuchsgruppen deutlich die Abnahme der Spannweite der Fehlerbalken während der Konditionierung erkennbar. Das hat seine Ursache darin, dass sich die Laufzeit der Tiere von Tag zu

Tag bis zum Erreichen des Zieles verringert, das heißt die Tiere erlernten den Weg zum Käse.

Analog nahm die Fehlerzahl bei allen Tieren während der Konditionierung aus dem gleichen Grund ab. Die Gruppen hatten somit eine vergleichbare Ausgangssituation.

Ausgangspunkt für Veränderungen während der Expositionszeit war die Analyse der letzten beiden Werte der Konditionierungsphase. Als Kontrollwert wurde der Wert herangezogen, der die größere Spannweite und damit die größere Fehlerzahl sowie die längere Laufzeit darstellt. Die Fehlerbalken geben die arithmetischen Mittelwerte und die zugehörigen 95%-Konfidenzintervalle an. Wir verglichen die Spannweite dieser beiden Intervalle mit den Konfidenzintervallen der Exposition, um eine Aussage über die Abweichung zu bekommen. Eine Lage außerhalb der Spannweite der Werte bedeutet, daß die zu vergleichenden Werte signifikant unterschiedlich sind. Das einmalige signifikante Abweichen in der Exposition ordneten wir als biologische Streuung ein, da es auch in der nur mit Wasser behandelten Gruppe beobachtet wurde.

2.2.1. Wasser

Bei den Fehlern sowie der Laufzeit kam es zur signifikanten Abweichung in der 9. Woche der Exposition bei den männlichen Tieren (Abb. 1 und 2). Insgesamt nahm auch die Fehlerbalkenlänge der Laufzeit zu. Das bedeutet, die Tiere wurden nach 9 Wochen langsamer. Diese Veränderungen nahmen aber über den weiteren Versuchsverlauf nicht weiter zu. In der Nachbeobachtungsphase zeigte sich keine deutliche Abnahme der Laufzeit. Das bedeutet, die Verlangsamung ist nicht abhängig von der Exposition, sondern von der allgemeinen Vergessensrate. Die signifikante Abweichung

in der 9. Woche sowie die Fehlerbalkenlänge in der 11. Woche sind als „Ausreißer“ zu werten, weil nur jeweils ein Tier langsam lief.

Die weiblichen Tiere zeigten zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Abweichung. Die Fehlerbalkenlänge nahm während der Exposition dezent zu (Abb. 3 und 4).

2.2.2. Spitaderm®

Die Spitaderm exponierten Männchen wichen dreimal bei der Laufzeit und zweimal bei der Fehleranzahl signifikant ab. Des weiteren vergrößerte sich die Streuung nach der Exposition erheblich. Die Fehlerbalken sind weit auseinandergewichen (Abb. 5 und 6).

Die weiblichen Tiere zeigten ein ähnliches Bild. Bei der Laufzeit kam es einmal und bei der Fehlerzahl viermal zur Abweichung. Die Streuung der Fehlerzahl nahm bei Exposition erheblich zu (Abb. 7 und 8).

Das bedeutet, die Tiere werden langsamer, begehen mehr Fehler und die Leistungen der einzelnen Tiere unterscheiden sich deutlich voneinander. Die während der Exposition aufgetretenen Veränderungen waren während der Nachbeobachtung wieder rückläufig, erreichten aber nicht mehr die Ausgangswerte vor der Exposition. Besonders auffällig war die Vergrößerung der Laufzeitfehlerbalken sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Tieren; das zeigt, die Tiere benötigten bedeutend mehr Zeit zum Finden des Ziels nach Exposition mit Spitaderm als vor der Exposition. Die Leistungsverschlechterung bei beiden Parametern setzte ab der 4. Expositionswoche ein. In der Nachbeobachtungsphase kam es zur deutlichen Verbesserung der Laufzeit gegenüber der Exposition (Abb. 6 und 8).

2.2.3. Poly Alcohol Hände Antisepticum®

Die exponierten Männchen wichen in der Fehleranzahl zweimal signifikant ab, in der Laufzeit gab es keine Abweichung. Es kam zur erweiterten Spannweite der Fehlerbalken, d.h. die Fehler nehmen zu und die Fehler und die Laufzeiten der einzelnen Tiere variieren stärker (Abb. 9 und 10).

Die weiblichen Tiere zeigten während der Exposition keine signifikante Änderung der Fehleranzahl und keine signifikante Änderung der Laufzeit. Auch die Abweichungen der einzelnen Tiere untereinander waren zwar während der Exposition zunehmend, aber doch nicht so auffällig wie bei den männlichen Tieren (Abb. 11 und 12). Die tendenzielle Zunahme der Laufzeit und der Fehleranzahl setzte ab der 4. Woche ein. Die männlichen Tiere zeigten in der Nachbetrachtungsphase eine Verringerung der Fehlerzahl und eine Verkürzung der Laufzeit gegenüber der Expositionszeit (Abb. 9 und 10).

2.2.4. Octenisept®

Die Octenidin exponierten Männchen wichen zweimal signifikant in der Laufzeit und dreimal bei der Anzahl der Fehler signifikant von den anderen während der Exposition erhobenen Werten ab. Damit verlangsamte sich die Laufzeit und die Zahl der Fehler nahm zu (Abb. 13 und 14).

Die weiblichen Tiere zeigten einmalig sowohl bei den Laufzeiten als auch bei der Fehleranzahl eine signifikante Abweichung der Werte (Abb. 15 und 16). Auch das zeigt, dass die Tiere langsamer werden und gleichzeitig mehr Fehler machen.

Die Fehlerbalkenweite nahm ab der 4. Expositionswoche sowohl bei der Fehleranzahl als auch bei der Laufzeit der männlichen und der weiblichen Tiere zu. Das spricht für eine größere Streuung innerhalb der beiden Gruppen. In der Nachbeobachtungszeit zeigt sich in der Laufzeit und in der

Fehleranzahl der Männchen und der weiblichen Tiere eine Abnahme der Laufzeit und der Fehleranzahl (Abb. 13 - 16)

2.2.5. Betaisodona®

Die Männchen zeigten je zweimal bei der Laufzeit und bei der Fehleranzahl eine signifikante Abweichung. Die Tiere wurden auch hier langsamer und begingen mehr Fehler (Abb. 17 und 18).

Die weiblichen Tiere zeigten weder in der Laufzeit noch in der Fehleranzahl eine signifikante Abweichung (Abb. 19 und 20).

Die Vergrößerung der Fehlerbalkenweite zeigt, daß die Streuung der einzelnen Tiere der Gruppen nach Exposition zunahm. Bei der männlichen Gruppe begann die Streuung mit dem Tag der Exposition, bei der weiblichen Gruppe ab der 5. Expositionswoche. In der Nachbeobachtungsphase ging die Fehlerbalkenweite zurück (Abb. 17 – 20).

2.2.6. Hexachlorophen

Die Männchen zeigten achtmal eine signifikante Abweichung in den Laufzeitwerten, bei der Fehleranzahl waren alle Werte signifikant abweichend (Abb. 21 und 22). Das zeigt, daß die Tiere deutlich langsamer in der Expositionsphase wurden und die Anzahl der Fehler stark zunahm. Die Tiere verschlechterten eindeutig ihre Leistung nach Exposition mit Hexachlorophen.

Bei den weiblichen Tieren zeigte sich eine signifikante Abweichung dreimal bei den Laufzeiten, allerdings gab es keine signifikante Abweichung bei der Fehleranzahl (Abb. 23 und 24).

Die ebenfalls gut sichtbare Vergrößerung der Fehlerbalken nach Einsetzen der Exposition spricht für eine sehr große Streuung innerhalb der beiden

Gruppen. Bei den männlichen Tieren beginnt die Streuung sofort nach der Exposition mit Hexachlorophen. In der weiblichen Gruppe vergrößern sich die Fehlerbalken ab der 2. Expositionswoche. In der Nachbeobachtungszeit zeigt sich in der Laufzeit und in der Fehleranzahl der Männchen und der weiblichen Tiere keine so deutliche Abnahme der Laufzeit und der Fehleranzahl (Abb. 21 – 24). Das unterscheidet diese Gruppe zusätzlich von allen anderen.

In Tabelle 1 ist die Anzahl signifikanter Abweichungen zusammengefasst.

Tabelle 1 Anzahl signifikanter Abweichungen auf Grund der Auswertung der Fehlerbalken

Gruppen	Merkmal	Signifikante Anzahl	Zeitpunkt der Abweichung
Wasser	Laufzeit	1 x m	9. Woche
	Fehler	1 x m	9. Woche
	Σ	2	
Poly Alcohol Hände Antisepticum®	Laufzeit	0	
	Fehler	2 x m	ab 6. Woche
	Σ	2	
Betaisodona®	Laufzeit	2 x m	ab 6. Woche
	Fehler	2 x m	ab 6. Woche
	Σ	4	
Octenisept®	Laufzeit	3 (2 x m, 1 x m)	ab 9. Woche
	Fehler	4 (3 x m, 1 x w)	ab 5. Woche
	Σ	7	
Spitaderm®	Laufzeit	4 (3 x m, 1 x w)	ab 2. Woche
	Fehler	6 (2 x m, 4 x w)	ab 2. Woche
	Σ	10	
Hexachlorophen	Laufzeit	11 (8 x m, 3 x w)	ab 2. Woche
	Fehler	12 x m	Gesamte Expositionsdauer
	Σ	23	

Wasser zeigte insgesamt 2 signifikante Abweichungen in der 9. Woche. Poly Alcohol Hände Antisepticum® zeigte 2 signifikante Abweichungen bei der Fehleranzahl ab der 6. Woche. Betaisodona® zeigte 4 signifikante

Abweichungen ab der 6.Woche. Octenisept® zeigte 7 signifikante Abweichungen ab der 5.Woche. Spitaderm® zeigte 10 signifikante Abweichungen, 4 in der Laufzeitzunahme und 6 in der Fehlerzunahme, ab der 2.Woche. Hexachlorophen zeigte 23 signifikante Abweichungen sofort nach Beginn der Exposition.

Im Vergleich zwischen den Geschlechtern kam es bei den männlichen Tieren zu deutlich mehr signifikanten Abweichungen.

Die Hexachlorophen exponierten Tiere zeigten eine geringere KM – Zunahme während des gesamten Versuchszeitraum als alle anderen exponierten Tiere(Tab. 2).

Tab. 2 Körpermasse (MW) der Tiere unmittelbar vor und während der Exposition (E)

Versuchsgruppen	KMG	KMG	KMG	KM Differenz (%) Mitte zu Ausgangswert	KM Differenz (%) Ende zu Ausgangswert
	E beginn	E mitte	E Ende		
<u>weiblich</u>					
Wasser	214	233	250	9	17
Betaisodona	208	216	248	4	19
Poly Alcohol Hände Antisepticum	208	216	248	4	19
Octenisept	203	222	246	9	21
Spitaderm	199	218	239	9	20
Hexachlorophen	209	219	233	5	11
<u>männlich</u>					
Wasser	315	346	401	10	27
Betaisodona	262	318	343	21	31
Poly Alcohol Hände Antisepticum	268	323	344	20	28
Octenisept	315	368	404	17	28
Spitaderm	306	348	398	14	30
Hexachlorophen	286	306	334	7	11

2.3. Ergebnisse der pathohistologischen Untersuchungen

2.3.1. Wasser (n = 21)

Die untersuchten Organe zeigten keinerlei Veränderungen im Sinne pathologischer Befunde.

2.3.2. Spitaderm® (n = 18)

Leber: Ausgedehnte, zumeist großflächige Vakuolisierung der Leber. Hyperämie von Zentralvenen und Lebersinusoiden. Fibrinthromben in einzelnen Zentralvenen. Das Befundbild ist als chronische Hepatose infolge ausgeprägter metabolischer Belastung zu interpretieren.

Nieren: Tubulonephrose der Nieren.

Haut: Minimale Hautveränderungen mit leichter Kondensation oberflächlicher Gewebeschichten.

Hirn: Unauffällig

2.3.3. Poly Alcohol Hände Antisepticum® (n = 15)

Leber: Nahezu alle Versuchstiere zeigten eine ausgedehnte Blutstauung der Sinusoide und Zentralvenen mit Ausbildung sog. Stauungsseen. Sehr häufig waren kleinherdige Hepatozytengruppennekrosen mit granulozytärer Abraumreaktion. Darüber hinaus zeigten die Hepatozyten eine kleinherdige Vakuolisierung. Das Bild entspricht einer schweren chronischen Hepatose.

Nieren: Mäßiggradige chronische Tubulonephrose.

Haut: Geringe bis mäßige Alteration des Hautareals im Sinne einer Kondensation oberflächlicher Epidermis- und Dermissschichten.

Hirn: Unauffällig.

2.3.4. Octenisept® (n = 18)

Leber: Zentrolobuläre Vakuolisierung der Hepatozyten bei fast allen Versuchstieren. Ein Versuchstier (1/18) zeigt beginnende Hepatozytengruppennekrosen. Es besteht eine Hyperämie der Zentralvenen und der Periportalfelder. Der Befund ist insgesamt als mäßiggradige chronische Hepatose einzuordnen.

Nieren: Leichte Tubulonephrose.

Haut: Geringgradige Kondensation der oberflächlichen Hautschichten bei 11/18.

Hirn: Unauffällig.

2.3.5. Betaisodona® (n = 14)

Leber: Geringe chronische und akute Blutstauung. Kein Anhalt für chronische Hepatose.

Nieren: Regelrechter Nierenbefund.

Haut: Im Hautareal bestand überwiegend eine mäßige (5/14), teils auch eine hochgradige Alteration (Kondensation) oberer Hautschichten (6/14).

Hirn: Unauffällig.

2.3.6. Hexachlorophen (n = 18)

Leber: Alle Hepatozyten zeigen eine basophile Tüpfelung des Zytoplasmas (zytoplasmatische Basophilie) und feine Vakuolisierungen. Die Periportalfelder waren unauffällig, die Zentralvenen leicht hyperämisch, die von Kupfer'sche Sternzellen unauffällig. Keine Cholestase. Der Befund ist einer geringgradigen chronischen Hepatose als Zeichen für metabolische Belastungen zuzuordnen.

Nieren: Leichte Tubulonephrose und Hyperämie.

Milz: Geringe chronische Blutstauung.

Haut: Der überwiegende Anteil der Versuchstiere (16/18) zeigt eine Kondensation und Schrumpfung der gesamten Epidermis und Dermis. Es tritt ein vollständiger Verlust von Epidermisschichten auf. Ferner besteht eine gesteigerte Desquamation der Hornhaut. Keine Entzündungsreaktion.

Hirn: Unauffällig.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß sich bei keinen Tieren ein Anhalt für eine pathohistologisch nachweisbare Schädigung des Gehirns ergab. Es kam allerdings zu verschiedenen Schädigungen anderer Organe.

3. Diskussion

3.1. Methode

Neurotoxische Testmethoden dienen der Überprüfung, ob ein Wirkstoff die normale Funktion bzw. die Struktur des Nervensystems stört.

Das Nervensystem ist in struktureller und funktioneller Hinsicht eines der komplexesten und empfindlichsten Organe des Organismus. Seine Komplexität und Struktur bedingen eine Vielzahl neurotoxischer Schädigungsmöglichkeiten, z.B. Schädigung des motorischen, sensorischen oder autonomen Teils des Nervensystems, Veränderungen von Appetit, Schlaf oder Gedächtnisleistungen.

Neurotoxische Nebenwirkungen können auf verschiedenen physiologischen, pharmakologischen und biochemischen Mechanismen beruhen. Als mögliche Schädigungsmechanismen werden morphologische Veränderungen, Veränderungen der Transmitterfreisetzung, Störung des Metabolismus der Nervenzellen, Permeabilitätsveränderungen der Zellmembranen und Behinderungen des axonalen Transportes diskutiert

(56). Damit wird deutlich, daß es nicht möglich ist, einen einzigen universell gültigen Test für Neurotoxizitätsprüfungen zu finden. Es gibt aber Möglichkeiten, einzelne Aspekte neurotoxischer Wirkungen zu erkennen. Eine Möglichkeit ist die Beobachtung, Analyse und Beeinflussung von Verhaltensweisen. Verhaltensparameter sind das motorische, sensorische, emotionale, soziale und kognitive Verhalten. Diese können in speziell gestalteten Verhaltenstests quantitativ und qualitativ erfasst werden. Die kognitive Funktion beinhaltet die Einschätzung des Lern- und Gedächtnisverhaltens, und läßt sich im Labyrinth überprüfen (61). Vorhees und Dewar haben in ihren Veröffentlichungen den Labyrinth-Versuch beschrieben. Kognitive Fähigkeiten definierten sich in diesem Versuch in der Fähigkeit der Tiere, ein Stück Käse in einer bestimmten Zeit an einem immer gleichen Ort im Labyrinth zu finden, bei gleichzeitiger Ermittlung der Fehlerzahl. Als Fehler wurde gewertet, wenn eine Ratte mit den Vorderläufen über eine Wegaufzweigung hinweg in die falsche Richtung lief.

Das in unserem Versuch verwendete Labyrinth setzt sich aus fünf aneinandergereihten T-Labyrinth zusammen, läßt sich also vom Schwierigkeitsgrad her zwischen dem einfachen und dem achtarmigen radialen Labyrinth einordnen.

Ziel der Durchführung dieses Versuchs ist es, abweichende Verhaltensmuster als empfindliche Parameter zu nutzen, da Verhalten sich in der Regel schon ändert, bevor sich physiologische, morphologische oder andere Wirkungen der geprüften Desinfektionsmittel und Antiseptika zeigen (45). So kann man Hinweise zu veränderten Funktionen des ZNS erhalten, die durch mögliche neurotoxische Wirkungen der geprüften Substanzen entstanden sein können.

Wir wählten den Labyrinth-Test mit Ratten aus zwei Gründen:

- Er ist eine geeignete Screeningmethode zur Erkennung einer neurotoxischen Exposition (4,47,61,64,65)
- In der Greifswalder Arbeitsgruppe wurden gute Erfahrungen mit dem Labyrinth bei der Testung mit Peressigsäure und Formaldehyd gesammelt (31,47).

Für den tierexperimentellen Versuch wurden Ratten verwendet. Diese stellen nach übereinstimmender Auffassung ein geeignetes Modell für verhaltensbiologische Analysen dar (7,33). Die geprüften Substanzen sind handelsübliche Desinfektionsmittel und Antiseptika aus der Roten Liste (53).

3.2. *Ergebnisse*

Die tierexperimentellen Untersuchungen lassen sich in verschiedene Abschnitte unterteilen. Nach einer sogenannten Trainingsphase, in der die Tiere mit der neuen Umgebung des Laminar Flow Kabinetts und des Labyrinths vertraut gemacht werden, erfolgt die Aufnahme der ersten Ergebnisse (Laufzeit und Fehlerzahl) in der Phase der Konditionierung. Durch den täglichen Kontakt mit dem Labyrinth ist zu erwarten, daß sich die Laufzeit und die Fehleranzahl bei der Labyrinthpassage kontinuierlich verringern. Das bestätigte sich. Die Streuung der Messwerte verringerte sich ebenfalls in der Phase des Erlernens eines neuen Sachverhalts. Diese Lernphase ist bei den meisten Tieren am 10. Tag abgeschlossen. Es folgt die Phase, in der die Aktionsrate auf einem stabilen Niveau bleibt. Die Tiere werden nicht mehr schneller bei der Durchquerung des Labyrinths und begehen auch nicht mehr weniger Fehler, d.h. die Meßwerte schwanken um einen konstanten Wert.

Bei Messungen mit biologischem Material ist immer eine Streuung vorhanden. Damit zuverlässige Aussagen gewonnen werden können, ist bei der Auswertung der Ergebnisse für jeden Meßwert zu entscheiden, ob er als

repräsentativ für die Grundgesamtheit angesehen werden kann. Aus diesem Grund entschlossen wir uns, die Werte des 10. und 11. Meßtages zu vergleichen und den Wert mit dem höheren Fehlerbalken und damit dem Wert mit der höheren Standardabweichung für die weiteren Betrachtungen als Ausgangswert zu nehmen. Alle Graphiken zeigen in der Phase der Konditionierung eine deutliche Abnahme der Fehlerbalkenhöhe, das zeigt in Hinblick auf die später erfolgte willkürliche Einteilung der Ratten auf die verschiedenen Gruppen, alle Tiere hatten die gleichen Voraussetzungen und ähnliche Leistungen. Des weiteren bestätigt es die Annahme, alle Tiere lernten im Rahmen der biologischen Abweichung gleich gut und das psychomotorische Muster funktioniert, wenn es erst einmal ausgebildet ist, stabil und zuverlässig, das heißt wir erhalten gleichmäßige Leerwerte.

Der Übergang zur Expositionsphase ist für die Tiere in doppelter Hinsicht schwer. Entgegen der vorhergehenden Phase wird auf tägliches Training verzichtet, die Tiere werden 2 mal täglich (7.00-8.00Uhr und 18.00-19.00Uhr) mit den entsprechenden Desinfektionsmitteln bzw. Antiseptika exponiert, der Labyrinthversuch findet nur noch im Abstand von 7 d vor der abendlichen Exposition mit den zu untersuchenden Materialien statt. Daher ist bei allen Tieren zunächst mit Irritationseffekten zu rechnen. Diese manifestieren sich in einer Zunahme der Laufzeit und der Fehlerzahl sowie durch eine Zunahme der Fehlerbalkenweite. Die Irritationseffekte, die durch den neuen Versuchsablauf bedingt sind, werden durch die größer werdenden Abstände zwischen den Labyrinthpassagen verstärkt. Im Laufe der Exposition werden aber die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen deutlicher, diese Unterschiede schreiben wir der Wirkung der verschiedenen Substanzen zu.

Die Expositionseffekte überlagern die allgemeinen Irritationsphänomene. Dies wird im Vergleich zur Positiv- und zur Negativkontrollgruppe durch die sofortige signifikante Fehlerbalkenweite (Hexachlorophengruppe) in

Gegensatz zum allmählichen Anstieg der Fehlerbalkenweite (Wassergruppe) deutlich.

Nach 90 d schloß sich eine Nachbeobachtungsphase von 35 d an. In diesem Abschnitt erfolgte für alle Tiere wieder eine Umstellung des Tagesablaufs. Die Tiere wurden keiner Exposition mehr ausgesetzt und alle 7 d erfolgte ein Labyrinthversuch. Hier zeigte sich zum Teil ein Rückgang der Fehlerbalkenweite der Fehlerzahl und der Laufzeit, dieser Rückgang zeigte sich bei allen Gruppen außer bei der Wassergruppe. Das spricht für den Einfluß der Prüfsubstanzen.

Unsere Beobachtungen zeigen, daß eine Exposition mit den geprüften Desinfektionsmitteln und Antiseptika einen mehr oder weniger großen Einfluß auf das Lernverhalten der Ratten im Labyrinth hat.

Die exponierten Tiere machten mehr Fehler und benötigten eine längere Zeit zum Erreichen des Ziels als die Kontrollgruppe mit Wasser. Die Fehleranzahl und die Laufzeit nahm im Laufe der Exposition deutlich zu, es zeigten sich signifikante Unterschiede ab der 2. Woche bei den Spitaderm® exponierten Tieren, ab der 5. Woche bei mit Octenisept® exponierten Tieren, ab der 6. Woche bei Poly Alcohol Hände Antisepticum®, ab der 9. Woche bei Betaisodona® exponierten Tieren und sofort nach der 1. Exposition in der positiven Kontrollgruppe (Hexachlorophen). Des weiteren werden die Fehlerbalken deutlich länger, was für die Zunahme der interindividuellen Unterschiede bei der Erfüllung der Aufgabe spricht. Das zeigt die Unterschiede bei der Kompensation der Fehler des Gedächtnisses und der Fehler der Orientierung. Diese können nur bis zu den oben genannten Zeitpunkten kompensiert werden, dann treten signifikante Unterschiede auf.

Alle Versuchsgruppen, außer der positiven Kontrollgruppe, zeigten in der Nachbeobachtungszeit einen Rückgang der Fehlerbalkenweite, was die Reversibilität der aufgetretenen Störungen belegt.

Die exponierten Tiere wiesen keine Abnahme des Appetits auf, hatten die gleiche KM und nahmen dieselbe Menge an Nahrungsmitteln zu sich.

In der Gesamtwertung ergibt sich, daß bei den Tieren der Hexachlorophen- und der Spitaldermgruppe neurotoxische Einflüsse nachweisbar waren.

Bei den männlichen Versuchstieren lies sich dieses zum Teil deutlicher nachweisen.

Die weiblichen Tiere zeigten tendentiell eine Bestätigung der bei den männlichen Tieren herausgefundenen Ergebnisse. Dieses stellte sich durch die verstärkte Streuung dar.

Neben der neurotoxischen Schädigung der positiven Kontrollgruppe (Hexachlorophen) war eine Beeinflussung am deutlichsten bei den Spitalderm® exponierten Tieren nachweisbar. Hier kam es bereits in der 2. Expositionswoche zu signifikanten Veränderungen. Ab der 4. Woche zeigte die Fehlerbalkenweite, daß es innerhalb der Gruppe zur Zunahme des Erinnerungsverlustes und zur Abnahme der Orientierung kam.

Octenisept® und Betaisodona® zeigten während der Exposition zwar auch eine geringe Zunahme der Fehlerzahl und der Laufzeit, diese war aber in der Nachbeobachtungszeit deutlich rückläufig und auch während der Exposition nicht so deutlich wie bei den oben genannten Gruppen.

Die Poly Alcohol Hände Antisepticum® Gruppe verhielt sich während der Exposition ähnlich der Wassergruppe (Negativkontrollgruppe), beide zeigten 2 signifikante Abweichungen, was als normale biologische Streuung gewertet werden muß.

Im Anschluß an den Labyrinthversuch wurden pathohistologische Untersuchungen durchgeführt, um mögliche organische Korrelate für die Verhaltensänderungen nachzuweisen. Die Befunde zeigten unspezifische Veränderungen an den verschiedenen Organen (Leber, Nieren, Haut und zum Teil an der Milz). Diese morphologischen Veränderungen lassen sich

aber auch bei vielen anderen Expositionen nachweisen (nach Narkose mit Kohlenwasserstoffderivaten (Ether), chronischem Proteinmangel und bei Überernährung) (27,47).

Die Kontrollgruppe zeigte keine histopathologischen Veränderungen.

Die Hexachlorophen-Gruppe zeigte in der Leber eine geringgradige chronische Hepatose als Zeichen einer metabolischen Belastung. Des Weiteren zeigten die Nieren eine leichte Tubulonephrose und eine Hyperämie. In der Milz wurde eine geringe chronische Blutstauung nachgewiesen. Die Haut zeigte eine Kondensation und Schrumpfung der gesamten Epidermis und Dermis, sowie ein vollständiger Verlust von Epidermisschichten, es besteht eine gesteigerte Desquamation der Hornhaut gegenüber allen anderen Versuchsgruppen.

Die Spitaderm® exponierten Tieren zeigten in der histopathologischen Auswertung in der Leber das Befundbild einer chronischen Hepatose infolge ausgeprägter metabolischer Belastung, in den Nieren eine Tubulonephrose und in der Haut minimale Hautveränderungen mit leichter Kondensation oberflächlicher Hautschichten.

Die Poly Alcohol Hände Antisepticum® Gruppe zeigte in der Leber das Bild einer schweren chronischen Hepatose, in den Nieren eine mäßiggradige chronische Tubulonephrose und in der Haut eine geringe bis mäßige Alteration im Sinne einer Kondensation oberflächlicher Epidermis- und Dermissschichten.

In der Octenisept® Gruppe sind die Leberveränderungen insgesamt als mäßiggradige chronische Hepatose einzuordnen, die Nierenveränderungen als leichte Tubulonephrose und die Hauterscheinungen bei der Mehrzahl der Tiere als geringgradige Kondensation der oberflächlichen Hautschichten zu werten.

Die Betaisodona® Gruppe zeigte Veränderungen auf der Haut, es bestand eine mäßige, teilweise auch eine hochgradige Alteration oberer Hautschichten. Die restlichen untersuchten Organe waren unauffällig.

Das untersuchte Gehirn (Klein- und Großhirn) zeigte bei allen exponierten Tieren keine pathohistologischen Veränderungen.

Allerdings beobachteten wir, dass in der Hexachlorophen-Gruppe als einzige Gruppe Milzveränderungen auftraten.

Des Weiteren zeigte die Leber in der Poly Alcohol Hände Antisepticum® Gruppe eine schwere chronische Hepatose, in der Spitaderm® Gruppe eine chronische Hepatose, in der Octenisept® Gruppe eine mäßiggradige chronische Hepatose und in der Hexachlorophen Gruppe eine geringgradige chronische Hepatose als Zeichen einer metabolischen Belastung.

Die Nieren zeigten in der Spitaderm® Gruppe eine Tubulonephrose, in der Poly Alcohol Hände Antisepticum® Gruppe eine mäßiggradige Tubulonephrose und in der Octenisept® Gruppe und in der Hexachlorophen Gruppe eine leicht Tubulonephrose.

Die Haut der Hexachlorophen Gruppe zeigte eine Kondensation und Schrumpfung der gesamten Epidermis und Dermis, sowie einen vollständigen Verlust von Epidermisschichten und eine gesteigerte Desquamation der Hornhaut, die Hautareale der Betaisodona® Gruppe zeigten überwiegend eine mäßige, teilweise eine hochgradige Kondensation der oberen Hautschichten, bei der Poly Alcohol Hände Antisepticum® Gruppe ließ sich eine geringe bis mäßige Alteration des Hautareals nachweisen, bei der Octenisept® Gruppe eine geringgradige Kondensation der Haut und bei der Spitaderm® Gruppe eine minimale Hautveränderung mit leichter Kondensation oberflächlicher Gewebeschichten.

3.3. *Schlußfolgerungen und weiterführende Gedanken*

Die in der tierexperimentellen Versuchsanordnung hohe Belastung mit Desinfektionsmitteln und Antiseptika (20 x höher als normal) zeigte Auswirkungen auf das Lern- und Gedächtnisverhalten der Ratten, die mit Ausnahme der Positivkontrollgruppe reversiblen Charakter hatte. Man kann daraus schlussfolgern, dass eine hohe Sicherheit bei der Anwendung der geprüften Desinfektionsmittel in der Praxis besteht.

Die geschlechtsspezifischen Unterschiede in Hinblick auf das Lern- und Gedächtnisverhalten waren in diesen Untersuchungen nicht signifikant zueinander.

Als Fazit kann man feststellen, daß die Befunde für eine neurotoxische Potenz durch dermale Applikation von Hexachlorophen sprechen.

Spitaderm® zeigt Veränderungen, die den Verdacht einer neurotoxischen Potenz möglich machen. Gerade deshalb und wegen Hinweisen auf die neurotoxischen Nebenwirkungen aus anderen Untersuchungen (Abschnitt 1.4.) sollte Spitaderm® einer vertieften Prüfung unterzogen werden. Es sollte auch die Möglichkeit einer längeren Exposition in Betracht gezogen werden.

Das in der Arbeit untersuchte alkoholische Desinfektionsmittel Poly Alcohol Hände Antisepticum wies keinerlei neurotoxische Beeinflussung auf.

Für Octenisept® und das Iodophor ist auf Grund der Befunde keine neurotoxische Gefährdung anzunehmen.

In der histopathologischen Untersuchung zeigten sich zum Teil chronische Veränderungen. Das untersuchte Gehirn (Klein- und Großhirn) zeigte bei allen exponierten Tieren keine pathohistologischen Alterationen.

Die Hexachlorophen-Gruppe zeigte in der Milz, in der Leber, in den Nieren und der Haut deutlich chronische Veränderungen, die im Zusammenhang mit der Exposition zu sehen sind.

Die Spitaderm®-, die Poly Alcohol Hände Antisepticum®- und die Octenisept® Gruppe zeigten in der Leber, in den Nieren und in der Haut Veränderungen.

Die Betaisodona® Gruppe zeigte Veränderungen auf der Haut.

Die Veränderungen sind in Anbetracht der hohen Exposition eher als nicht bedrohlich einzustufen. Da aber doch Veränderungen nachweisbar waren, sollten Spitaderm®, Poly Alcohol Hände Antisepticum® und Octenisept® auch auf Ihre Organauswirkungen untersucht werden.

4. Zusammenfassung

Mit dieser Arbeit sollte ein Beitrag zur Risikobewertung verschiedener im Handel üblicher Händedesinfektionsmittel und Hautantiseptika geleistet werden. Geprüft wurde das bisher wenig untersuchte neurotoxische Potential ausgewählter Desinfektionsmittel und Antiseptika(47,54). Die dermale Exposition wurde praxisnah simuliert. Die Beeinflussbarkeit von kognitiven Fähigkeiten wurde im Labyrinthversuch untersucht. Einer 11-tägigen Konditionierungsphase schloß sich eine 90-tägige (12-wöchige) Expositionsphase und eine 35-tägige (5-wöchige) Nachbeobachtungsphase an. Damit kann die Studie als subchronischer Neurotoxizitätstest klassifiziert werden.

Die Einteilung der 6 Versuchsgruppen erfolgte nach dem Zufallsprinzip. Die negative Kontrollgruppe wurde mit destilliertem Wasser, die positive Kontrollgruppe mit Hexachlorophen® exponiert. Untersucht wurden die Händedesinfektionsmittel Spitaderm® und Poly Alcohol Hände

Antisepticum®, sowie die Schleimhautantiseptika Betaisodona® und Octenisept®.

Anhand der Laufzeit und der Fehlerzahl wurden Unterschiede zwischen den Gruppen im Verlauf der Expositionsphase deutlich, wobei die beobachteten Veränderungen z.T. der Wirkung der Desinfektionsmittel und Antiseptika zugeschrieben werden können. Es kam zu einem signifikanten Anstieg von Laufzeit und Fehleranzahl während der Exposition mit Betaisodona®, Octenisept®, Spitaderm® und Hexachlorophen® gegenüber der mit Wasser exponierten Gruppe. Während der Nachbeobachtungsphase zeigte sich eine Reversibilität der Veränderungen, Laufzeit und Fehlerzahl verringerten sich wieder. Zwischen den verschiedenen Desinfektionsmitteln und Antiseptika zeigten sich in der Anzahl der Veränderungen deutliche Unterschiede: die Kontrollgruppe und Poly Alcohol Hände Antisepticum® zeigten 2 signifikante Veränderungen, Betaisodona® 4, Octenisept® 7, Spitaderm® 10 und Hexachlorophen® 23 signifikante Veränderungen. Aufgrund der Befunde erscheint eine vertiefte Prüfung von Spitaderm® angebracht, zumal es Hinweise zu neurotoxischen Nebenwirkungen von Chlorhexidin aus anderen Studien gibt.

In der sich anschließenden pathohistologischen Untersuchung fanden sich keine auf die Exposition mit Desinfektionsmitteln und Antiseptika zurückführbaren morphologischen Veränderungen im ZNS.

Es zeigten sich aber Veränderungen in der Milz, der Leber, der Niere und der Haut. Die Hexachlorophen Gruppe zeigte in der Milz, in der Leber, in den Nieren und der Haut, die Spitaderm®-, die Poly Alcohol Hände Antisepticum®- und die Octenisept® Gruppe in der Leber, in den Nieren und in der Haut Veränderungen.

Die Betaisodona® Gruppe zeigte Veränderungen in der Haut.

Da Veränderungen nachweisbar waren, sollten Spitaderm®, Poly Alcohol Hände Antisepticum® und Octenisept® gegebenenfalls vertieft auf Ihre

Organauswirkungen im Bereich von Anwendungsbelastungen untersucht werden.

Der Einsatz von Desinfektionsmitteln und Antiseptika muß der kontinuierlichen Kontrolle unterliegen, um ein neurotoxisches Risiko so klein wie möglich zu halten.

Diese Ergebnisse zeigen, daß ein unkritischer Umgang mit Desinfektionsmitteln und Antiseptika zu vermeiden ist.

5. Literatur

1. Abdulla E.M., Campbell I.C. (1993): Handbook of Neurotoxicology. Dekker, New York, pp 134-141.
2. Addy M (1986): Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials J Clin Periodontol 13:957-964.
3. Addy M (1977): Hibitane in the treatment of aphthous ulceration. J Clin Periodontol 4:108-116.
4. Akaike M, Ohno H, Tsutsumi S, Omuso M (1994): Comparison of four spatial maze learning tests with methylnitrosorexia-induced microcephaly rats. Teratol 49:83-89.
5. Anderson K, Lillie S, Crompton D (1964): Efficacy of bacteriostats in ophthalmic solutions. Pharm J 192:593-594.
6. Anger W.K. (1984): Neurobehavioral testing of chemicals: Impact of recommended standards. Neurobehav Toxicol Teratol 6:147-153
7. Bhatt HV, Panchal GM (1992): Behavioural change in rats due to chronic oral and systemic formaldehyde. Ind J Physiol Pharmacol 36(4): 270-272 .
8. Bonesvoll P (1977): Oral pharmacology of chlorhexidine. J Clin Periodontol 4:49-65.
9. Budtz-Jørgensen E (1977): Hibitane in the treatment of oral candidiasis. J Clin Periodontol 4:117-128.
10. Carley A., Hawk R.E., Kimbrough R.D., Nathenson G., Finberg L. (1971): Dermal absorption of hexachlorophene in infants (Canclt II:296-297).
11. Conway B, Lertzman M, Krulicki W, Louis TJ (1988):Evaluation of mouthwash preparations to reduce oral microbial contamination of saliva and sputum. Clin Invest Med 11 (Suppl):C 71.

12. Cowen J, Ellis S, McAinsh J (1979): Absorption of chlorhexidine from the intact skin of newborn infants. *Arch Dis Childh* 54:379-383.
13. Crofton M., Howard J., Moser V.C., Gill M.W., Reiter L.W., Tilson H.A., McPhail R.C. (1991): Interlaboratory comparison of motor activity experiments: Implications for neurotoxicological assessments. *Neurotoxicol Teratotoxicol* 13:599-609.
14. Dewar A.J. (1983): Neurotoxicity. In: Balls M., Riddel R.J., Worden A.N. (Hrsg) *Animals and Alternatives in Toxicity Testing*. Academic Press, London, pp.231-340.
15. Dr. Wolff Arzneimittel, Monographie-Entwurf zu Hexachlorophen, Bielefeld (1994) .
16. Esanu V, Profeta A (1987): Antiviral Antiseptics. In: Kramer A, Weuffen W, Krasilnikow AP, Gröschel D, Bulka E, Rehn D (Hrsg) *Antibakterielle, antifungielle und antivirale Antiseptik – ausgewählte Wirkstoffe*. Fischer, Stuttgart New York (Handbuch der Antiseptik, Bd II/3, S 98-122).
17. Fine PD (1985): A clinical trial to compare the effect of two antiseptic mouthwashes on gingival inflammation. *J Hosp Inf* 6(Suppl):189-193.
18. Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K (1996): *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxicologie* Heidelberg; Berlin; Oxford.
19. Fullerton P.H., Barnes J. (1966): Peripheral neuropathy in rats produced by acrylamide. *Brit J Ind Med* 23:210-220.
20. Goldberg S, Konis Y, Rosenberg M (1989): CPC and chlorhexidine enhance microbial adhesion to oil droplets. *J Dent Res* 68 (Suppl):1001.

21. Heeg P, Kramer A (1990): Antiseptik in der Mundhöhle. In Knoll KH (Hrsg) Angewandte Hygiene in der ZMK-Klinik und Praxis. Med. Zentrum für Hygiene und Med. Mikrobiol. Der Philipps-Uni., Marburg, S 203-209.
22. Heise G.A. (1984): Behavioral methods for measuring effects of drugs on learning and memory in animals. *Med Res Rev* 4:535-558.
23. Hirschl A, Stanek G, Rotter M (1981): Antibakterielle Wirkung von Gurgellösungen in vitro. *Zentralbl Bakteriol Hyg I.Abt B* 174:523-529.
24. Igarrashi Y., Oka Y. (1988): Vestibular ototoxicity following intratympanie applications of chlorhexine gluconate in the cat.
25. Inman RJ, Snelling CF, Roberts FJ, Shaw K, Boyle JC (1984): Prospektive comparison of silver sulfadiazine 1 per cent plus chlorhexidine digluconate 0.2 per cent (Silvazine) and silver sulfadiazine 1 per cent (Flamazine) as prophylaxis against burn wound infection. *Burns* 11:35-40.
26. Kimbrough R.D. (1974): Hexachlorophene: Toxicity and use as an Antibacterial Agent. *Arch Environ Health*. 23:99-120.
27. Klinge O (1984): Leber. In: Remmele W (Hrsg.) Pathologie. Bd. 2 Springer, Stuttgart, New York: 590-723.
28. Kramer A. et. al. : Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Springer-Verlag, Berlin.
29. Kramer A, Böttcher I, Böttcher U, Niesler M, Neumann K, Weuffen W (1990): Antiseptische Effektivität ausgewählter Antiseptika zur prophylaktischen Mundhöhlenspülung. In: Knoll KH (Hrsg) Angewandte Hygiene in ZMK-Klinik und Praxis. Med. Zentrum für Hyg u Med Mikrobiol. Der Philipps-Uni., Marburg, S211-217.
30. Kramer A., Rozsahegyi I., Weuffen W. (1985): Chronische Vergiftungen durch Antiseptika. In: Kramer A., Berencsi G.,

- Weuffen W.(Hrsg) Toxische und allergische Nebenwirkungen von Antiseptika. Fischer, Stuttgart New York, Handbuch der Antiseptik Bd I/5:211-278.
31. Kramer A, Zwinger B, Adrian V, Jülich WD (1993): Tierexperimentelle Untersuchungen und Fragebogenerhebungen zu neurotoxischen Risiken durch Peressigsäure. Hyg Med 18: 377-385.
 32. Krinke G, Hess R (1981): The value of the fluorescence histochemistry of biogenic amines in neurotoxicology. Histochem J 13:849-863.
 33. Laininger M (1989): Kann mit einfachen Verhaltenstests das Wohlbefinden von Labortieren beurteilt werden ? Verhaltensuntersuchungen am Beispiel der Ratte. Diss.Med.Fak. FU Berlin.
 34. Landrin P.J., Graham D.G., Thomas R.D. (1993): Strategies for the Prevention of Environmental Neurotoxic Illness. Environm Res 61:157-163.
 35. Lang NP, Brex MC (1986): Chlorhexidine digluconate – an agent for chemical plaque control and prevention of gingival inflammation. J Periodont Res (Suppl) 16:74-89.
 36. Loe H, Schiött RG, Glavind L, Karring T (1976): Two years oral use of chlorhexidine in man. I: General design and clinical effects. J Peridont Res 11:135-144.
 37. Marzulli F.N., Maibach H.I.: Relevance of Animal Models: The Hexachlorophene Story .Animal Models In Dermatology:156-167.
 38. Maurisson J.P. (1988): Quantitative sensory assessment in toxicology and occupational medicine: applications, theory and critical appraisal. Toxicol Lett 43:321-343.
 39. Maurisson J.K., Mattson J.L. (1989): Critical assessment of motor activity as a screen for neurotoxicity. Toxicol Ind Health 5:195-202.

40. McFarlane E., Campbell I.C., Campbell A. (1993): In Vitro Tests of Neurotoxicity. *J Pharmacol Toxicol Methods* 29:67-75.
41. McPhail R.C., Peele D.B., Crofton K.M. (1989): Motor activity and screening for neurotoxicity. *J Am Coll Toxicol* 8: 117-125.
42. National Academy of Sciences (NAS) (1975): Principles for Evaluating Chemicals in the Environment. National Academy of Sciences, Washington, DC.
43. Newland M.C. (1988): Qualification of motor function in toxicology. *Toxicol Lett* 43:295-319.
44. Nisbet IT, Graham DM, Spicer PE, Tibbs GJ (1979): Chlorhexidine as an effective agent against chlamydia trachomatis in vitro and in vivo. *Antimicrob Ag Chemother* 16:855-857.
45. Palissa A, Becker A (1985): Der Chimney-Test. Erfahrungen bei der Anwendung eines Verhaltenstest zur Prüfung von Pharmaka. *Z Versuchstierk* 28: 129-134.
46. Peele D.B., Vincent A. (1989): Strategies for assessing learning and memory, 1978-1987: A comparison of behavioral toxicology, psychopharmacology and neurobiology. *Neurosci Biobehav Rev* 13:33-38.
47. Pitten FA, Kramer A, Herrmann K, Bremer J, Koch S (1999): Formaldehyde Neurotoxicity in Animal Experiments. *Pathol Res Pract* 196: 193-198
48. Platt J, Bucknall RA (1984): An experimental evaluation of antiseptic wound irrigation. *J Hosp Inf* 5:181-188.
49. Poly Alcohol Hände Antisepticum, Antiseptica chem.pharm.Produkte GmbH.
50. Reiter L.W., McPhail R.C. (1982): Factors influencing motor activity measurements in neurotoxicology. In: Mitchell C.L.(Hrsg), *Nervous System Toxicology*. Raven Press, New York, pp 45-65.

51. Richards RM, McCague GJ (1988): In vivo estimation of the antimicrobial activity of proprietary mouthwashes. *Pharm J Suppl R* 26
52. Roberts RM, Addy M (1981): Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of antiseptic mouthrinses containing chlorhexidine, alexidine, cetylpyridinium chloride and hexitidine. *J Clin Periodontol* 8:295-310.
53. Rote Liste® GmbH, Frankfurt/Main (1999), Editio Cantor Verlag für Medizin und Naturwissenschaften GmbH.
54. Simonsen L, Johnson H, Lund SP, Matikainen E, Midtgard U, Wennberg A (1994): Methodological approach to the evaluation of neurotoxicity data and the classification of neurotoxic chemicals. *Scan J Work Environm health* 20: 1-12.
55. Spencer P., Schaumburg H.H. (1978): Distal axonopathy. *Perspect* 26:97-105.
56. Spencer PS, Schaumburg HH (1980): Classification of Neurotoxic Disease: A Morphological Approach. In: Spencer PS, Schaumburg HH (Ed) *Experimental and Clinical Neurotoxicology* Williams & Wilkins, Baltimore London: 352-517.
57. Stickler DJ, Thomas B (1976): Sensitivity of *Providencia* to antiseptics and disinfectants. *J Clin Pathol* 29:815-823.
58. Tilson H.A. (1986): Behavioral indices of neurotoxicity: What can be Measured ? In: Leukroth JR (Hrsg) *Predicting Neurotoxicity and Behavioral Dysfunction from Perclinical Toxicologic Data: Prepared for Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, by Life Sciences Research Office, Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda, Rockville Pike, MD, V51-V54.*

59. Tilson H.A. (1990): Neurotoxicology in the 1990s. *Neurotoxicol Teratol* 12: 293-300.
60. Tilson H.A. (1993): Neurobehavioral methods used in neurotoxicological research. In: *Toxicol Lett* 68:231-240.
61. Tilson HA, Mitchell CL (1984): Neurobehavioral techniques to assess the effects of chemicals on the nervous system. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 24: 425-450.
62. Tripiier M.F. (1981): Hexachlorophene and the central nervous system, *Acta Neuropathol. (Berlin)*53:65-74.
63. Tuominen M, Valtonen VV, Nikki P (1981): The effect of local antiseptic, chlorhexidine, in preventing infection from central venous catheterization. *Ann Clin Res* 13:425-428.
64. Vorhees CV (1987): Reliability, sensitivity and validity of behavioral indices of neurotoxicity. *Neurotox Teratol* 9: 445-464.
65. Vorhees CV (1991): An analysis of factors influencing complex water maze learning in rats: Effects of task complexity, path order and escape assistance on performance following prenatal exposure to phenytoin. *Neurotox Teratol* 4: 213-222.
66. Wallin S., Wallum E. (1992): Effects of carbon tetrachloride on perfused cultures of hepatic and neuronal cells. *Atla* 20:235-239.
67. Weiss B. (1988): Quantitative perspectives on behavioral toxicology. *Toxicol Lett* 43: 285-293.
68. Weiss B., Laties V. (1975): *Behavioral Toxicology*. Plenum Press, New York.
69. Zickert I, Emilson CG, Krasse B (1982): Effects on caries preventative measures in children. *Arch Oral Biol* 27(10): 861-868.

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. A. Kramer für die Überlassung des Themas und die freundliche Betreuung bei der Erstellung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. F.A. Pitten für die wertvollen Ratschläge zu den praktischen und theoretischen Problemstellungen im Verlauf der Arbeit.

Des weiteren gilt mein Dank dem Pathologen Herrn Chefarzt PD Dr. med. habil. St. Koch für die umfangreiche Aufarbeitung der histologischen Präparate.

Für ihre freundliche und hilfsbereite Mitarbeit danke ich allen Mitarbeiterinnen des Instituts für Hygiene und Umweltmedizin, insbesondere Frau Burmeister für ihre Unterstützung im praktischen Teil der Arbeit.

Eidesstattliche Erklärung

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

Diese Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

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

Datum

Unterschrift

6. Thesen:

Zur Dissertation: „Neurotoxizitätsprüfung ausgewählter Desinfektionsmittel und Antiseptika im Labyrinthversuch mit Ratten“

Zielstellung

1. In operativen Fächern, kommt das Personal kontinuierlich mit Desinfektionsmitteln und Antiseptika in Kontakt.
2. Bei der Anwendung moderner Desinfektionsmittel und Antiseptika sind die akuten aber oft nicht die Langzeitwirkungen bekannt.
3. Neurotoxische Nebenwirkungen sind bei der dermalen Exposition von 10% der Desinfektionsmitteln und Antiseptika untersucht worden.
4. In dieser Arbeit wurden daher verschiedene handelsübliche Desinfektionsmittel bzw. Antiseptika auf ihre neurotoxische Wirkung am Merkmal der kognitiven und motorischen Fähigkeiten bei dermalen Exposition an Versuchstieren (Ratten) getestet.

Methodik

1. Die Ratten stellen nach übereinstimmender Auffassung ein geeignetes Modell für verhaltensbiologische Analysen dar.
2. Alternationen der Lern- und Gedächtnisfunktionen lassen sich, da es sich um kognitive Fähigkeiten handelt, durch den Labyrinthtest untersuchen.
3. Mit Hilfe von pathohistologischen Untersuchungen nach Exposition mit Neurotoxinen lassen sich strukturelle Veränderungen sowie deren Lokalisation innerhalb des peripheren oder zentralen Nervensystems, sowie Schädigungen in Organen nachweisen.

Ergebnisse

1. In der Phase der Konditionierung hatten alle Tiere die gleichen Voraussetzungen und ähnliche Leistungen. Alle Tiere lernten im Rahmen der biologischen Abweichung gleich gut und das psychomotorische Muster funktioniert, wenn es erst einmal ausgebildet ist, stabil und zuverlässig.
2. In der Nachbeobachtungszeit zeigte sich ein Rückgang der Fehlerbalkenweite der Fehlerzahl und der Laufzeit, dieser Rückgang zeigte sich bei allen Gruppen außer bei der Wassergruppe. Das spricht für den Einfluß der Prüfsubstanzen.
3. Unsere Beobachtungen zeigen, daß eine Exposition mit den geprüften Desinfektionsmitteln und Antiseptika einen mehr oder weniger großen Einfluß auf das Lernverhalten der Ratten im Labyrinth hat.
4. Die exponierten Tiere machten mehr Fehler und benötigten eine längere Zeit zum Erreichen des Ziels als die Kontrollgruppe mit Wasser. Die Fehleranzahl und die Laufzeit nahm im Laufe der Exposition deutlich zu.
5. Alle Versuchsgruppen, außer der positiven Kontrollgruppe, zeigten in der Nachbeobachtungszeit einen Rückgang der Fehlerbalkenweite, was die Reversibilität der aufgetretenen Störungen belegt.
6. Neben der neurotoxischen Schädigung der positiven Kontrollgruppe (Hexachlorophen) war eine Beeinflussung am deutlichsten bei den Spitaderm® exponierten Tieren nachweisbar.
7. Octenisept® und Betaisodona® zeigten während der Exposition eine geringe Zunahme der Fehlerzahl und der Laufzeit.
8. Die Poly Alcohol Hände Antisepticum® Gruppe verhielt sich während der Exposition ähnlich der Wassergruppe

(Negativkontrollgruppe), beide zeigten 2 signifikante Abweichungen, was als normale biologische Streuung gewertet werden muß.

9. Das untersuchte Gehirn (Klein- und Großhirn) zeigte bei allen exponierten Tieren keine pathohistologischen Veränderungen.
10. In der Hexachlorophen Gruppe traten Milzveränderungen in der histopathologischen Untersuchung auf.
11. Leberveränderungen von einer schweren chronischen Hepatose bis zu einer geringgradigen chronischen Hepatose traten in der Poly Alcohol Hände Antisepticum®, in der Spitaderm®, in der Octenisept®- und in der Hexachlorophen Gruppe auf.
12. Nierenveränderungen im Sinne einer Tubulonephrose zeigten sich in der Spitaderm®, in der Poly Alcohol Hände Antisepticum®, in der Octenisept®- und in der Hexachlorophen.
13. Auf der Haut der Hexachlorophen-, der Betaisodona®, der Poly Alcohol Hände Antisepticum®, der Octenisept®- und der Spitaderm® Gruppe waren Veränderungen nachweisbar.

Schlußfolgerungen

1. Die kontrollierten Präparate auf der Basis von Alkohol, Polyvidon-Iod, Octenidin, Chlorhexidin sind sichere Präparate.
2. Die verwendete Methode ist geeignet, um neurotoxische Störungen nachzuweisen
3. Hexachlorophen ist eindeutig neurotoxisch
4. Spitaderm® bedarf einer genauen Kontrolle
5. Die histopathologische Untersuchung zeigte keine pathologischen Veränderungen im ZNS
6. Hexachlorophen ist organschädigend

vorgelegt von: O. Gilgenast

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Olaf Gilgenast
geboren am 29.11.1971 in Dresden,
verheiratet

Ausbildungsdaten:

1978-1988 POS Ückeritz, 10. Klasse, Abschluss 1988
1988-1990 ABF Halle, Abitur, Erlangung der Hochschulreife,
Abschluss 1990
1990-1991 Bundeswehr, Sanitäter, Abschluss 1991
1991-1992 Alters- und Pflegeheim Adelby, Pfleger
1992-1998 Medizinstudium Ernst-Moritz-Arndt-Universität-
Greifswald, 3.Staatsexamen, Abschluss 1998

Berufspraxis:

1998-2000 AIP, Klinik für Chirurgie, Prof. Dr. med. Lippert
Otto-von-Guericke-Universität-Magdeburg
ab Mai 2000 Assistenzarzt, Klinik für Urologie, Prof. Dr. med.
Allhoff, Otto-von-Guericke-Universität-Magdeburg

Magdeburg, den 11.05.2001
Olaf Gilgenast