

Aus dem Institut für Hygiene und Umweltmedizin
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. A. Kramer)
der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

**Ermittlung der Resorption von Chlorhexidin, p-Chlornitrobenzen und
p-Chloranilin über Schleimhäute und Gastrointestinaltrakt bei klinisch
üblicher prä- und postoperativer Mundspülung in der Oralchirurgie**

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des akademischen
Grades

Doktor der Medizin
(Dr. med.)

der
Medizinischen Fakultät
der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität
Greifswald
2010

vorgelegt von:
Ulrike Hildebrandt
geb. am: 08.06.1971
in: Neubrandenburg

Dekan:	Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer
1. Gutachter:	Prof. Dr. med. habil. A. Kramer
2. Gutachter:	Prof. Dr. med. habil. Dr. med. dent. J. Klammt
Ort, Raum:	Greifswald, Neue Zahnklinik
Tag der Disputation:	16.07.2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Chlorhexidin als antibakterieller Wirkstoff	1
1.2	Problemstellung	11
2	Methode	14
2.1	Studiendesign	14
2.1.1	Ein-und Ausschlusskriterien	14
2.1.2	Abbruch der Studie	15
2.2	Präparate und Anwendung	16
2.3	Studienablauf	16
2.3.1	Spülung	16
2.3.2	Speichelproben.....	17
2.3.3	Blutproben.....	18
2.3.4	Urinproben	18
2.3.5	Aufbewahrung und Transport der Proben.....	19
2.4	Analytik.....	20
2.4.1	Chemikalien	20
2.4.2	Geräte	20
2.4.3	Laborglas.....	20
2.4.4	Analysenmethoden.....	21
2.4.4.1	Bestimmung von p-CA und p-CNB.....	21
2.4.4.2	Bestimmung von CHD durch Derivatisierung und HPLC	21
2.4.4.3	Hydrolyse von CHD und GC-Bestimmung des gebildeten p-CA	22
2.5	Statistische Auswertung.....	22
3	Ergebnisse	23
3.1	Probanden	23
3.2	Analytik.....	24
3.2.1	CHD- und Octenisept-Mundspüllösung	25
3.2.2	Speichel.....	26
3.2.2.1	CHD im Speichel	26
3.2.2.2	p-CA im Speichel.....	29
3.2.2.3	p-CNB im Speichel	35
3.2.3	Serum	40

3.2.3.1	CHD	40
3.2.3.2	p-CA.....	40
3.2.3.3	p-CNB	41
3.2.4	Urin	41
3.2.4.1	CHD	41
3.2.4.2	p-CA.....	41
3.2.4.3	p-CNB	41
4	Diskussion.....	42
4.1	Methodenkritik.....	42
4.2	CHD im Speichel	47
4.3	p-CA im Speichel.....	54
4.4	p-CNB im Speichel	63
4.5	Resorption	66
5	Zusammenfassung.....	69
6	Literaturverzeichnis	70
Anhang	78

Abkürzungsverzeichnis

ADI	Acceptable Daily Intake
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
CHD	Chlorhexidin; im Kontext Spüllösung: Chlorhexidindigluconat
CHD x 2glu	Chlorhexidindigluconat
DCM	Dichlormethan
GC	Gaschromatographie
GC-ECD	Gaschromatographie mit Elektronen-anlagerungs-detektor
GC-FID	Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektor
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCl	Chlorwasserstoff (Salzsäure)
HFBA	Heptafluorbuttersäureanhydrid
HI-Virus	Humanes Immundefizienz-Virus
HPLC	engl.: high performance liquid chromatographie, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HSV 1 und 2	Herpes simplex-Virus 1 (labialis) und 2 (genitalis)
MHK	Mittlere Hemmkonzentration
MRSA	Methicillin-Resistenter-Staphylococcus-Aureus
MSSA	Methicillin-Sensitiver-Staphylococcus-Aureus
NaOH	Natriumhydroxid
NWG	Nachweisgrenze
OTC	Oxytetracyclin
PBI	Papillen-Blutungs-Index
p-CA	Parachloranilin
p-CNB	Parachlornitrobenzen
TFA	Trifluoressigsäureanhydrid
TRK	Technische Richtkonzentration
VRE	Vancomycin-Resistente-Enterokokken

1 Einleitung

1.1 Chlorhexidin als antibakterieller Wirkstoff

Die Anfänge der Antiseptik in der Medizin werden im Allgemeinen mit dem letzten Drittel des 19. Jahrhunderts und den Namen Semmelweis und Lister, die Chlorkalk bzw. Karbolsäure als Antiseptika in der Händedesinfektion und Wundantiseptik anwendeten, verbunden. Doch schon bei Ausbruch der ersten Choleraepidemie in Europa 1831 wurden die Aufenthaltsbereiche Erkrankter mit desinfizierenden Essigdämpfen behandelt und Kontaktpersonen unterzogen ihre Hände einer Waschung mit verdünnter Essig- und Chlorkalklösung in dem Bemühen, die Neuerkrankungsraten auf diesem Weg zu minimieren. Auch im Handelsverkehr wurden eingeführte Waren und Briefe mit Chlorgas behandelt und Geldmünzen in Chlorkalklösung gewaschen, um einem weiteren Einschleppen der Seuche entgegenzuwirken (Nolte-Schuster 2007).

Die biologischen Unverträglichkeiten der Präparate bedingten jedoch neben dem gewünschten Bakterien- auch den allgemeinen Zelltod des mit den Substanzen in Kontakt kommenden Gewebes und wiesen allgemein so hohe Nebenwirkungsraten auf, dass ihre Akzeptanz und Anwendbarkeit erheblich eingeschränkt wurden. So kam es nach revolutionären Anfangserfolgen der Antiseptika zu schweren Rückschlägen.

Bis zur Entdeckung des Penicillins und seiner ersten Anwendung 1941 wurden vor allem Perubalsam (Balsamum peruvianum), Azofarbstoffe (Rivanol[®]) und Sulfonamide (Cibazol) als Antiseptika eingesetzt. Mit dem Beginn des Antibiotikazeitalters zeigten sich deutlich die Grenzen der verfügbaren lokal einsetzbaren Therapeutika. Bei eingeschränkter Wunddurchblutung war die therapeutische Wirksamkeit der lokal applizierten Antiseptika und Antibiotika nicht selten geringer als der durch sie verursachte Schaden, so dass der Suche nach neuen wirksamen Substanzen mit verbessertem Nutzen/Risiko Verhältnis große Bedeutung zukam.

1954 wurde Chlorhexidin als Antiseptikum patentiert und eingeführt. Chlorhexidin (1,1'-Hexamethylen-bis-[5-(p-chlorphenyl)]-biguanid, CHD) ist ein symmetrisch gebautes Biguanid-Derivat. CHD ist eine Base und in der Salzform am stabilsten.

Die freie Base und ihre Salze Dihydrochlorid und Diacetat sind nur gering in Wasser löslich (0,008 %, 0,06 % bzw. 1,9 %), während das Digluconat zu etwa 70 % wasserlöslich ist und daher überwiegend als Ausgangsstoff für Chlorhexidinrezepturen Verwendung findet (Kramer und Roth 2008).

CHD zeigt in vitro in wässriger und alkoholischer Lösung abhängig von der Konzentration eine bakterio-statische oder bakterio-zide Wirkung, wobei das Diacetat etwas wirksamer ist als das Dihydrochlorid und das Digluconat (Kramer und Wallhäußer 1993). In hohen Konzentrationen > 20 µg/ml besteht ein bakterio-zides Wirkprofil mit hohen Speciesdifferenzen (Wallhäußer 1995), dass aus der Schädigung der Zellmembran der Bakterien unter kontinuierlicher Absorption von CHD an die Zelle und damit verbundener Ausfällung von Nucleinsäuren und Proteinen im Zytoplasma sowie dem Verlust von Zellbestandteilen resultiert (Hugo und Longworth 1964). In Konzentrationen um 1 µg/ml wirkt CHD dagegen nur bakterio-statisch (Honigman 1983), dabei geht das positiv geladene CHD mit den negativen Ladungszentren der Zellwand Wechselwirkungen ein, die in Zellmembranschädigung mit irreversiblen Cytoplasmaefflux und Enzymhemmung (z.B. membranständige und lösliche ATPase) resultieren (Gjeremo 1978). CHD und seine Salze erfassen grampositive Bakterien generell deutlich effektiver als gramnegative (Bruchhausen et al. 1983). So beträgt die Minimale Hemmkonzentration (MHK) für *S. aureus* bzw. *E. coli* 0,2 µg/ml und 0,5 µg/ml, für *K. pneumoniae* bereits 3,9 µg/ml und für *Proteus mirabilis* bzw. *P. aeruginosa* 15,6 µg/ml (Honigman 1983; Kramer und Roth 2008).

Auf Bakteriosporen besteht kein Einfluss (Bruchhausen et al. 1983), nur bei Erhitzung auf 98-100 °C ist bei 0,01 %igem CHD eine sporozide Wirkung zu verzeichnen. Dieser Effekt wird bei der Herstellung hitzestabiler Augentropfen genutzt (Wallhäußer 1995). Erweitert wird das antimikrobielle Spektrum von CHD durch eine nur begrenzt fungi- und virustatische Wirksamkeit, wobei unbehüllte Viren gegen CHD resistent sind. Gegen das HI-Virus ist CHD innerhalb 15-30 s wirksam (≥ 4 lg), HSV 1 und 2 erfordern eine Einwirkdauer von 2 min, HBV > 2 min (Rudolf und Kampf 2003). Adeno- und Polioviren werden durch CHD nicht erfasst und gegen Rotaviren besteht eine nur geringe Wirksamkeit (Bruchhausen et al. 1983).

Die antimikrobielle Effektivität wird durch das Vorhandensein von Serum, Blut und

Eiter herabgesetzt, was die erforderlichen Hemmkonzentrationen um das 100- bis 1000-fache erhöht und den Einsatz als alleiniges Wundantiseptikum limitiert (Honigman 1983). Kein Einfluss auf das Wirkprofil besteht dagegen in Gegenwart von Speichel (Pitten et al. 2003). In der Dekontamination biologischen Materials erwies sich CHD gegenüber Povidon-Iod (PVP-Iod) und einer antibiotischen Lösung überlegen (Molina et al. 2000), es weist jedoch eine höhere Zytotoxizität als PVP-Iod auf (Müller und Kramer 2000).

Für CHD sind zwei pKa-Werte (2,2 und 10,3) bekannt. Die Verbindung ist somit über einen weiten pH-Bereich einfach bzw. zweifach positiv geladen, was die sehr gute Bindung an alle negativ geladenen Strukturen erklärt (Tsuchiya et al. 1999). Aufgrund dieser ausgeprägten Adsorption an nahezu allen Oberflächen entsteht eine remanente Wirkung, die beim Einsatz des Chlorhexidindigluconats als wirkungsverbessernder Zusatz in alkoholischen Präparaten zur chirurgischen Händedesinfektion und zur präoperativen Hautantiseptik genutzt wird.

CHD-haltige Waschlotionen sind signifikant schlechter hautverträglich als alkoholische Einreibepreparate (Kramer und Roth 2008), weisen aber eine geringere hautschädigende Tendenz als PVP-Iod basierte Präparate auf (Kobayashi 1986). Das 0,05 %ige Acetat wird im dermalen Patch-Test (Kaninchen) als mildes Irritans eingestuft (Greener et al. 1985).

Als alleiniger Wirkstoff in der Hautantiseptik ist CHD Alkoholen aufgrund des verzögerten Wirkungseintritts, der bekannten Gram- Lücke und der Gefahr der bakteriellen Resistenzentwicklung unterlegen. Auch kam es bei wiederholter Anwendung gehäuft zur Entwicklung von Kontaktdermatiden (Kampf und Kramer 2004).

Im Bereich der Wundantiseptik und der Antiseptik in Körperhöhlen wird CHD im Vergleich mit anderen zur Verfügung stehenden Antiseptika als entbehrlich bzw. obsolet eingeschätzt. In tierexperimentellen Untersuchungen wurden in Abhängigkeit von Konzentration und Anwendungsdauer peritoneale Blutungen, chemische Peritonitis und fibrinöse Adhäsionen an der Serosa abdominalis induziert (Kramer et al. 2004). Nur die einmalige intraperitoneale Anwendung einer 0,05-0,1 %igen Digluconatlösung erzeugte bei Ratte und Kaninchen keine Nebenwirkungen (Buckle und Seabridge 1963; Kamazaki 1981; Greener et al. 1985).

CHD darf laut EG-Liste in Konzentrationen von max. 0,3 % in Puder und anderen

Externa zur Antiseptik aus dermatologischer Indikation beigelegt werden und ist als Zusatz zu Cremes auf nichtionogener Basis in 0,05 % sowie in Zahnpasten, Deodorants und Antiperspirants in 0,1 % enthalten (Kramer und Roth 2008). In Kosmetika und Augentropfen wird CHD als Konservierungsmittel eingesetzt (Marengo et al. 2004).

Antiseptische Waschungen mit CHD-Zusatz wurden als erfolgreicher Baustein in der Eradikationstherapie von MRSA und VRE kolonisierten Patienten beurteilt (Vernon et al. 2006; Simor et al. 2007), wobei frühere Untersuchungen eine signifikant schlechtere Abtötung von MRSA versus MSSA sahen und VRE praktisch Resistenz zeigte (Kampf et al. 1998; Kampf et al. 1999). Bei Neugeborenen bewirkte die Nabelpflege mit 1 % CHD Puder einen kontinuierlichen Rückgang des Nachweises von MSSA (Wilcox et al. 2004), so dass eine Kombination von antiseptischer Waschung und Nabelbehandlung als ein möglicher Beitrag zur Reduzierung der Säuglingssterblichkeit in Entwicklungsländern angesehen werden kann (Mullany et al. 2006). Zu beachten bleibt jedoch, dass neben den bereits erwähnten Unverträglichkeitsreaktionen im Sinne von Kontaktdermatitiden (Kampf und Kramer 2004) nach großflächigen Anwendungen wie bei Hauttransplantationen oder Verbrennungswunden auch allergische Reaktionen bis zum anaphylaktischen Schock beobachtet wurden (Bruchhausen et al. 1983; Cheung 1985). Diese schwer verlaufenden Nebenwirkungen waren Anlass für die Entwicklung eines Prick-Tests mit CHD (Aalto-Korte und Makinen-Kiljunen 2006).

In der Behandlung von Hochrisikopatienten der Herzchirurgie und Intensivmedizin wurde unter prophylaktischer Anwendung von oraler und nasaler Dekontamination mittels CHD ein Rückgang nosokomialer Infektionen einschließlich beatmungsinduzierter Pneumonien gefunden (Segers et al. 2006; Ruest und Cook 2006), wohingegen in einer Metaanalyse keine Auswirkungen auf die Morbidität nosokomialer Pneumonien oder Mortalität bei beatmeten Patienten gesehen wurde (Pineda et al. 2006).

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit zur Vermeidung nosokomialer Infektionen wird in der Kombination von Kathetermaterialien und CHD gesehen. So zeigten mit CHD beschichtete Harnblasenkatheter eine über 4 Wochen wirksame Konzentrationsabgabe und erzielten damit einen Schutz vor Oberflächenbesiedlung und aufsteigenden Infektionen (Whalen et al. 1997). Auch Versuche mit

Silber-Sulfadiazin-Chlorhexidin beschichteten intravasalen Kathetern ergaben kulturell eine Wachstumshemmung von Bakterien (Schierholz et al. 2000), ohne dass die über die Katheter parenteral applizierten Substanzen selbst in ihrer Konzentration beeinflusst wurden (Xu et al. 2000). Um den mikrobiellen Abbau von zur Analyse anstehenden Substanzen zu verhindern, können Antiseptika als Konservierungsmittel organischen Proben wie Urin zugesetzt werden, wenn sie wie für CHD gezeigt werden konnte, keinen Einfluss auf den Nachweis der zu untersuchenden Analytate ausüben (Gaffney et al. 1984; Imai 1992). Eine Stabilität von CHD im Urin wurde für 318 h gefunden (Wainwright und Cooke 1986).

Für Chlamydia trachomatis Infektionen der Augen konnte die Gleichwertigkeit einer 0,005 %igen CHD Anwendung gegenüber OTC-Augensalbe gezeigt werden (Nisbet et al. 1979). In der Anwendung als Aufbewahrungs- und Spüllösung für Kontaktlinsen konnte eine Stabilität von CHD von 3 Monaten bei Temperaturen bis 45 °C nachgewiesen werden (Hu et al. 1990).

Die Mundhöhle beherbergt eine Vielzahl von Mikroorganismen, wobei die residente Mundhöhlenflora (Standortflora) wesentlich an der Infektionsabwehr beteiligt ist, die potentiell pathogenen Mikroorganismen aber selbst Auslöser lokaler Infektionen sein können oder durch hämatogene Streuung Infektionen anderer Organe hervorrufen können (z.B. Endokarditis). Durch antiseptische Mundspülungen wird eine Reduktion der Keimzahlen im Speichel und auf der Schleimhaut erreicht. Die Mundspülung ist daher wirksamer Therapiebestandteil vor und nach operativen Eingriffen oder bei bakteriell kontaminierten Wundflächen in der Mundhöhle, zur Wurzelkanalantiseptik und zur Sanierung von Keimträgern (Kramer und Wallhäüßer 1993).

Im Gegensatz zur äußeren Haut stellen sich bei der Antiseptik der Mundschleimhaut einige Probleme dar. Die Besiedlung ist vergleichsweise hoch, die Wirkung der Antiseptika wird durch den Verdünnungs- und Spüleffekt des Speichels und evtl. vorhandenes Blut oder Eiter beeinträchtigt und die anwendbare Konzentration des Antiseptikums ist durch eine mögliche lokale Irritation und systemische Intoxikation aufgrund der hohen Resorptionsrate der Mundschleimhaut limitiert. Daher müssen in der Mundhöhle zum Einsatz kommende Antiseptika in den applizierbaren Konzentrationen gegen Bakterien und auch gegen Viren wirksam sein; die

Wirksamkeit sollte durch eine ausreichende Adhäsion an die Mukosa möglichst lange anhalten, lokale Irritationen und systemische Intoxikationen dürfen nicht auftreten.

CHD ist der am besten bekannte und am meisten verbreitete Vertreter in der Mundhöhlenantiseptik und gilt bei indikationsgerechter Anwendung als Wirkstoff der Wahl zur Plaquehemmung (Loe et al. 1976; Lang und Brex 1986). Die Eignung neuentwickelter Präparate wird daher durch Vergleich mit diesem Standard beurteilt. CHD gehört mit einer Keimzahlverminderung in der Mundhöhle von 1 bis >2 lg zu den effektivsten Wirkstoffen für die antiseptische Mundspülung (Roberts und Addy 1981; Bruchhausen et al. 1983; Gundermann 1989) und kommt in Konzentrationen von 0,1-0,2 % als Spülung zur Anwendung. Es zeichnet sich durch eine hohe Substantivität in der Mundhöhle aus und entwickelt aufgrund einer ausgeprägten Adsorption an nahezu allen oralen Oberflächen eine remanente Wirkung (Bonesvoll 1977; Tsuchiya et al. 1999) mit Erzielung von antimikrobiell wirksamen Konzentrationen über mindestens 8 h (Musteata und Pawliszyn 2005), wobei eine Effektivitätszunahme innerhalb 5 bis 120 min zu beobachten ist und nach einmaliger Anwendung noch nach 24 h geringe Chlorhexidindmengen im Speichel nachweisbar sind (Greenstein et al. 1986). Nach nur einmaliger Anwendung konnte eine Reduzierung der Bakterienzahlen im Speichel für 7 h festgestellt werden, bis die Ausgangswerte wieder erreicht wurden (Roberts und Addy 1981). Eine langfristige Behandlung mit CHD über 2 Jahre führte zu einer 30-50 %igen Reduzierung der Anzahl der Speichelbakterien, ohne gezielt in eine Richtung zu wirken (Schiött et al. 1976). Beobachtet wurde lediglich ein leichter Selektionsdruck auf die Speichel-Mikroflora in Richtung einer Verschiebung zu weniger CHD empfindlichen Bakterien (Schiött et al. 1976). Langzeitanwendungen werden jedoch bereits ab einer Dauer von 14 Tagen als kritisch angesehen, da es in tierexperimentellen Untersuchungen bereits nach 14 Tagen zu einer Induktion prämaligener Alterationen in der Mundhöhle kommt (Splieth und Kramer 2000).

In der Prävention von Karies und Gingivitis besteht das Hauptziel in der Reduktion der supra- und subgingivalen Plaque. Durch antibakterielle Effekte und Adhäsionshemmung der Mikroorganismen können antibakterielle Mundspülungen auch eine unzureichende mechanische Plaqueentfernung partiell kompensieren.

CHD wird als antiseptische Mundspülung im Rahmen zahnärztlicher Behandlung

sowie parodontalchirurgischer Eingriffe genutzt und trägt darüber hinaus postoperativ zur Förderung der Wundheilung über verbesserte Epithelisierung zur Abheilung aphthöser Ulzerationen bei (Sanz et al. 1989). Eine Rückbildung von Ulcera und oraler Candidose konnte auch bei Patienten unter Chemotherapie mit oraler Weichteilinfektion gesehen werden (Ferretti et al. 1990), wohingegen bei prophylaktischer Anwendung von CHD bei leukopenischen Patienten trotz Nachweis einer signifikanten Reduzierung der anaeroben und aeroben Bakterienzahlen eine erhöhte Rate an Schleimhautentzündungen und CRP-Erhöhungen auftrat (Pitten et al. 2003).

Durch Bindung an Copolymere kann eine Abgabe wirksamer Mengen von CHD für 30 d erzielt werden (Mirth et al. 1989). Die Einbringung eines PerioChips in Zahnfleischtaschen führte über 9 d zur Abgabe signifikanter CHD Konzentrationen mit Aufrechterhaltung klinisch wirksamer Titer im Sulkusfluid (Soskolne et al. 1998).

Um die Effektivität des Chlorhexidineinsatzes zu optimieren, wird zunehmend von chlorhexidinhaltigen Lacken Gebrauch gemacht, die über eine Depotwirkung die Aufrechterhaltung höherer Konzentrationen in der Mundhöhle und auch eine gezieltere Anwendung z.B. in Zahnfleischtaschen und zur Prävention der Fissurenkaries ermöglichen sollen (Skold Larsson et al. 2004). Dabei werden aber die in der Mundhöhle üblicherweise angewendeten Konzentrationen von 0,1-0,2 %igem CHD deutlich überschritten. So waren bei Anwendung eines Caprolacton-Films mit einem Gehalt von 20 % CHD lokal erhöhte Konzentrationen im Speichel über 4 d nachweisbar (Medlicott 1999). Während bei Kindern nach sequentieller Anwendung eines 40 %igen CHD-Lackes eine Reduktion der Inzidenz von Karies bei den Prämolaren gefunden wurde (Chestnutt 2006), zeigte sich der Einsatz eines CHD-Thymol-Lackes bei geriatrischen Patienten ohne Einfluß auf den Plaque- und Gingivitisindex (Clavero et al. 2006).

Unter Berücksichtigung der breiten Anwendung von CHD sind Berichte über unerwünschte Wirkungen relativ selten. Bei intraoraler Anwendung wird neben in der Regel nur kurzfristig anhaltenden Geschmacksirritationen am häufigsten eine reversible intraorale Verfärbung gesehen, die auf der bereits erwähnten Eigenschaft des CHD beruht, negativ geladene Stoffe, in diesem Fall Farbstoffe aus Tee, Kaffee

und Nahrungsmitteln, an sich zu binden. Für Lacke wird eine geringere Verfärbungstendenz beschrieben (Chestnutt 2006), nicht jedoch bei der Anwendung als Kaugummi (Cosyn und Verelst 2006). Vereinzelt werden Schleimhautläsionen beobachtet, die als Desquamation oder auch Ulceration manifest werden. Ein erhöhter Anteil von Entzündungsreaktionen war bei leukopenischen Patienten auffällig (Pitten et al. 2003). Dies deckt sich mit Untersuchungen an Ratten, bei denen nach 14tägiger oraler Anwendung von 0,2 %iger Lösung reversible Hyperkeratosen, Ulzerationen und Dysplasien auftraten, die weniger stark ausgeprägt auch bei einer Konzentration von 0,02 % induziert wurden (Sonis et al. 1972). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen wurden bei Probanden in einem Zeitraum der Anwendung von 2 Jahren keine lokalen Nebenwirkungen beobachtet (Rushton 1977; Schiött et al. 1976).

Nach großflächiger Anwendung von CHD bei Hauttransplantationen wurden schwere systemische allergische Reaktionen mit Blutdruckabfall und generalisiertem Erythem gesehen, die ursächlich auf eine erhöhte Resorption bei aufgehobener Hautbarriere zurückzuführen sein dürften (Cheung 1985).

Es finden sich Berichte über Patienten, die akzidentell CHD inkorporiert hatten und verstarben (Kudo et al. 2002; Hirata und Kurokawa 2002).

Anaphylaktische Reaktionen bis zum Schock wurden mehrfach unter Anwendung von Gefäßkathetern, die mit CHD imprägniert waren, ausgelöst. Ursache dieser Reaktionen sind IgE-Antikörper, wobei das gesamte Chlorhexidinmolekül als komplementärer Partner für die Antikörper identifiziert wurde (Pham et al. 2000).

Bei der Einordnung dieser Befunde ist allerdings zu berücksichtigen, dass nur wenige Wirkstoffe weltweit so häufig angewendet werden wie CHD. Das könnte eine Erklärung dafür sein, dass seltene Ereignisse wie anaphylaktische Reaktionen vergleichsweise häufig beobachtet und publiziert wurden (Wallhäußer 1995).

Bei Einsatz von CHD am Auge trat bei direkter topischer Anwendung einer 0,02 %igen CHD-Lösung eine progressive ulzeröse Keratitis auf (Murthy et al. 2002). Nach ungewollter Kontamination bei präoperativer periorbitaler Anwendung von 4 % CHD am anästhesierten Patienten wurden irreversible Corneaschäden gesehen (Phinney 1988). Weiterführende Untersuchungen konnten zeigen, dass bereits bei 0,1 %iger Konzentration ein Verlust der oberflächlichen Schichten des Corneaepithels und der Mikrovilli der 2. Schicht auftritt (Zheng H 1994) und schon

0,005-0,05 %ig eine beginnende konjunktivale Reaktion feststellbar ist (Hammill et al. 1984). Daher ist die Anwendung am Auge $> 0,05$ % bzw. bei Kombination mit anderen Wirkstoffen $> 0,02$ % kontraindiziert.

Nach Anwendung von CHD am Mittelohr wurde ein Fall sensorischer Taubheit beschrieben (Rushton 1977). Innenohrschäden nach otochirurgischen Eingriffen beim Menschen wurden auf eine neurotoxische Wirkung von CHD zurückgeführt (Bicknell 1971). Durch Chlorhexidinanwendung am Mittelohr bei Meerschweinchen bzw. Sandratte konnte die neurotoxische Wirkung sowohl auf die cochleäre als auch vestibuläre Nervenfunktion bestätigt werden (Aursnes 1981; Perez et al. 2000). Es besteht daher eine absolute Kontraindikation für die Anwendung von CHD an allen bradytrophen Geweben (kapillarfreie Gewebe wie Sehnen und Sehnenscheiden sowie offene Frakturen) und nervalen Strukturen (freigelegte Nerven und ZNS) sowie der Anwendung am Mittel- und Innenohr.

Ein vergleichsweise hohes gefäßschädigendes Potential von CHD fand sich im Vergleich mit mehreren antiseptischen Lösungen im Hühner-Ei-Test an der Chorionallantoismembran (HET-CAM). Dabei ergaben sich für CHD die höchsten Toxizitätswerte, so dass bei der Anwendung als Wundantiseptikum eine mögliche Verschlechterung der Wundperfusion postuliert werden könnte (Kalteis et al. 2003). Ferner wurde eine Hemmung des Gewebewachstums in vitro gesehen (Schnuch et al. 1998), was bei tierexperimentellen Wunden zu einer zum Teil verzögerten Wundheilung führte (Kramer et al. 1993). Dabei zeigte sich die Wirkung auf Wunden abhängig von verschiedenen Einflussfaktoren einschließlich der Tierspezies und es wurden sowohl Hemmung der Granulation und Verzögerung der Wundheilung, insbesondere bei tiefen Wunden, als auch keine Wundheilungsverzögerung bzw. nur zwischenzeitliche Hemmung ohne Einfluss auf den weiteren Wundheilungsverlauf beobachtet (Kramer et al. 1993). Beim Menschen wurde bei kontaminierten chirurgischen Wunden kein Hinweis für eine Heilungsbeeinträchtigung gefunden (Crossfill et al. 1969).

Bei Daueranwendung zur Instillation vor intermittierendem Katheterismus der Harnblase ergibt sich wegen der Zytotoxizität ein hohes Risiko für chronische Schleimhautveränderungen (Kramer et al. 2000).

In Kulturen menschlicher Osteoblasten lässt sich in Abhängigkeit von Konzentration und Einwirkungsdauer ein zunehmender zytotoxischer Effekt bis zum Zelltod

nachweisen (Patel et al. 2006). Bei Konzentrationen > 0,004 % CHD wird an humanen gingivalen und neonatalen Fibroblasten eine Störung von Biosynthese und Zellfunktionen mit resultierendem Zelltod beschrieben (Goldschmidt et al. 1977). In der Untersuchung an Peritonealexplantaten neonataler Ratten führte die Behandlung mit 0,5 % CHD zur Unterdrückung jeden weiteren Zellwachstums (Kramer et al. 1998). Auf kultivierte buccale Epithelzellen des Hamsters wirkten bei 1stündiger Exposition bereits Konzentrationen von > 0,005 % zytotoxisch (Zheng H 1994).

Das Risiko von Mutagenität und Karzinogenität kann derzeit nicht abschließend bewertet werden. In den aktuellen Listen wird CHD nicht als Karzinogen aufgeführt (Alfa Aesar 2009) mit der Einschränkung, dass dieses Risiko derzeit nicht sicher abgeklärt ist (Deutsche Forschungsgemeinschaft 2006). Keine Hinweise fanden sich für Teratogenität, Embryotoxizität oder Fertilitätsbeeinflussung (Honigman 1983). Während die an Zellkulturen embryonaler Hamsterzellen unter Iod-Anwendung beobachteten Chromosomenaberrationen für CHD nicht gefunden wurden (Hikiba et al. 2005), führte die 18tägige Anwendung einer 0,12 %igen CHD Mundspüllösung zu einem signifikanten Anstieg von DNA-Schäden in Zellen der Wangenschleimhaut und peripheren Lymphozyten beim Menschen, wobei sich die Schädigung der Lymphozyten aufgrund der nur minimalen Absorption geringer darstellte (Eren et al. 2002). Vergleichbare Resultate mit Nachweis eines signifikanten Anstiegs von DNA-Schäden wurden auch nach 8tägiger oraler Anwendung analoger Konzentrationen bei der Untersuchung von Leukozyten und Nierenzellen von Ratten gesehen (Grassi et al. 2007). Bei Mäusen wurde ein Anstieg chromosomaler Aberrationen im Knochenmark unter dermalen Applikation von 0,5 %iger CHD-Lösung über 28 Tage induziert (Paldy et al. 1984).

Die in den beschriebenen Untersuchungen unter oraler oder dermalen Anwendung nachgewiesenen DNA-Veränderungen an applikationsfernen Zellen wie Nierenzellen, Knochenmark und peripheren Blutzellen sind hinweisend auf eine Resorption von CHD oder toxischer Metabolite.

1.2 Problemstellung

Unter Berücksichtigung der breiten und zum Teil auch langfristigen Anwendung von Chlorhexidinzubereitungen und den steten Versuchen der Ausweitung der Anwendungsgebiete kommt der Frage nach der Resorption von CHD, aber auch seiner Metabolite, große Bedeutung zu.

Im Rahmen von Mundspülungen werden ca. 4 % der Lösung zuzüglich des adsorbierten Anteils verschluckt. Davon werden 90 % unverändert über die Fäzes ausgeschieden, 0,2 % des resorbierten CHD passieren den enterohepatischen Kreislauf mit Nachweis in der Gallenflüssigkeit und 10 % werden nach intestinaler Resorption renal eliminiert (Greenstein et al. 1986). Die Menge des aufgenommenen CHD nach oraler Anwendung wird durch den pH-Wert und die Ionenstärke beeinflusst, wobei eine Verminderung des pH der Spüllösung die Absorption reduziert und eine Erhöhung der Ionenstärke nach der Spülung die Freisetzung erhöht (Bonesvoll 1977).

Bei Neugeborenen, die präventiv einem Vollbad mit 4 % Chlorhexidin-Zusatz unterzogen wurden, ließ sich im Blut bis 1 mg/l CHD nachweisen (Cowen et al. 1979). Dagegen konnte eine Resorption über die intakte Haut bei erwachsenen Probanden ausgeschlossen werden (Wang et al. 1990). Ein Fehlen bzw. eine Verletzung des Stratum corneum der Haut wurde als ursächlich für den Nachweis von CHD in Serum und Urin bei mit chlorhexidinhaltiger Salbe behandelten Verbrennungspatienten angesehen (Brougham et al. 1986). Im Bereich der Zahnheilkunde wurden Resorption und Diffusion in Zahnhartsubstanzen sowie die Penetration um Amalganfüllungen beschrieben (Helmus et al. 1990; Kidd und Joyston Bechal 1991). In tierexperimentellen Studien an Hamstern wurde markiertes CHD nach buccaler Applikation in Leber und Nieren nachgewiesen (Luostarinen et al. 1977). Im Gegensatz dazu ergab sich nach 9 d kontinuierlicher Anwendung eines Perio-Chips kein Nachweis von CHD in Serum oder Urin (Soskolne et al. 1998). Auch bei vaginaler Anwendung (4 %ig) war innerhalb 60 min keine Resorption (NWG 0,1 mg/l) feststellbar (Vorherr et al. 1984).

Nach oraler Ingestion mit nachfolgendem Erbrechen und Aspiration fand sich bei einer 80jährigen Patientin eine hohe Chlorhexidinbelastung im Blut; die Patientin verstarb nach Entwicklung eines schweren ARDS. Da die Resorption gastrointestinal wie beschrieben gering sein soll, vermuteten die Autoren die Aufnahme über die

Alveolen der Lunge (Hirata und Kurokawa 2002).

In CHD wurden bis zu 11 herstellungsbedingte Verunreinigungen nachgewiesen (Revelle et al. 1993), und es konnten 7 bzw. 11 Abbauprodukte identifiziert werden (Doub et al. 1996; Ha und Cheung 1996). Darunter nimmt p-Chloranilin (p-CA, Parachloranilin, 4-Chlorphenylamin, 4-Chloro-benzenamin, 1-Amino-4-chlorbenzol) eine Sonderstellung ein. Es kommt als herstellungsbedingte Verunreinigung im CHD vor und entsteht als Abbauprodukt bei der Lagerung (Ciarlone et al. 1976; Kohlbecker 1989).

P-CA gehört zu den aromatischen Aminen und ist ein farbloser, fester und in vielen organischen Lösungsmitteln löslicher Stoff, der als Zwischenprodukt bei der Herstellung von Phenylharnstoff-Herbiziden auftritt und als Ausgangs- oder Zwischenprodukt bei der Herstellung von Farbstoffen, Pigmenten und Arzneimitteln Verwendung findet. P-CA wird durch Reduktion aus p-Chlornitrobenzen (p-CNB, 1-Chlor-4-nitrobenzen) hergestellt. Unter oxidativen Bedingungen wandelt sich p-CA wieder zu p-CNB um. Diese oxidative Umwandlung ist der Grund, warum p-CA keine hohe Persistenz in der Umwelt aufweist und auch in Organismen schwer nachzuweisen ist.

P-CA kann über die Haut, per os und per inhalationem aufgenommen werden. Bei geschädigter Haut ist die perkutane Resorption wesentlich erhöht (Wolf 1992). P-CA wirkt als Methämoglobinbildner akut toxisch und wird als kanzerogen eingestuft, da bei Ratten und Mäusen Milztumore, Hämangiome und Hämangiosarkome der Milz im Zusammenhang mit chronischen Belastungen beobachtet wurden (National Toxicology Program 1979). In Tests an isolierten menschlichen Lymphozyten zeigte sich eine konzentrationsabhängige Hemmung der Mitoseaktivität (Vassileva und Kazakowa 1978). Untersuchungen zur Toxikokinetik am Menschen liegen nicht vor (Wolf 1992; Merck 2007).

Die zulässige Höchstgrenze ist in Chlorhexidindigluconatlösung auf 0,25 mg p-CA/100mg CHD festgesetzt (Kohlbecker 1989). In handelsüblichen Spüllösungen wurden Konzentrationen zwischen 1,7-8,5 mmol p-CA je mol CHD (0,024-0,121 mg p-CA/100 mg CHD) gefunden. Abhängig von Lichteinstrahlung, Wärme und Lagerungsdauer kommt es zur Zunahme der p-CA-Bildung. Dabei ist die Temperatur der entscheidende Parameter (Kohlbecker 1989). Bei dunkler Lagerung von 1 g CHD/l wurde nach 10 d bis zu 1 mg p-CA/l gebildet, unter

Tageslichtbedingungen wurden 1 mg p-CA/l bereits nach 170 h (7,1 d) nachgewiesen. Durch Lagerung bei 50 °C wurden bereits nach 35 h Werte von 0,3-0,8 mg p-CA/l erreicht, bei 90 °C nach 1,5 h Werte von 62,9 mg p-CA/l auf 1 g CHD/l (Zhang et al. 1995).

Der Nachweis einer Resorption hängt von der Empfindlichkeit des eingesetzten Analysenverfahrens ab. Für CHD stehen einige Analysemethoden zur Verfügung, standardmäßig wird die HPLC angewendet. Mit den bisher für p-CA zur Verfügung stehenden analytischen Methoden konnte bei der gewählten Applikationsart in vorliegenden Studien kein Nachweis von p-CA in Urin, Serum und Speichel geführt werden. Problematisch gestaltet sich hierbei der Umstand, dass als Analysenmethode die Gaschromatographie mit Elektronenanlagerungsdetektor (GC-ECD) eingesetzt wurde, die normalerweise das empfindlichste Analysenverfahren für halogenhaltige Verbindungen darstellt. Diese Methode wird sogar im Englischen Arzneibuch als Standardmethode festgelegt (British Pharmacopoeia 2001). Wie Untersuchungen zeigten, ist die GC-ECD aber im Fall des p-CA ausgesprochen unempfindlich (Wittke et al. 2001). In eigenen Untersuchungen sollten diese Aussage und neue Nachweismethoden überprüft werden.

In bisherigen Resorptionsstudien wurde weiterhin nicht beachtet, dass sich p-CA im Körper zu p-CNB umwandelt und somit eine Resorption oder temporäre Bildung von p-CA verschleiert werden kann.

Unter dem Einsatz von neuen Analysenverfahren sollte daher in der anhängigen Studie eine Neubewertung der Frage nach dem systemischen Nachweis von CHD, p-CA und p-CNB in Zusammenhang mit der Anwendung von CHD erfolgen. Als Modell wurde dabei der Einsatz von Chlorhexidindigluconatlösung als perioperative Anwendung in der Oralchirurgie gewählt. Es sollte geprüft werden, ob bei der Verwendung von CHD als antiseptische Mundspülung eine messbare Resorption von CHD in die Blutbahn sowie eine Elimination über den Urin stattfindet. Im Mittelpunkt stand jedoch die Überprüfung der Hypothese einer in-vivo Bildung von p-CA und dem damit gemeinsam vorkommenden p-CNB aus CHD.

Hauptziel war damit der Ausschluss einer potentiellen Gefährdung von Patienten bei Anwendung CHD-haltiger Präparate.

2 Methode

2.1 Studiendesign

Nach Erstellung eines Studienprotokolls und Zulassung durch die Ethikkommission der Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald im September 2004 wurde die Studie als prospektive, randomisierte, verblindete, monozentrische, offen kontrollierte Studie mit dem Präparat Sol. Chlorhexidini SR und einem CHD-freien Kontrollpräparat in der Klinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie am Dietrich-Bonhoeffer-Klinikum Neubrandenburg durchgeführt (Reg.-Nr.: III UV 56/04).

Die Gruppengröße wurde im Studienprotokoll unter statistischen Gesichtspunkten mit mindestens 20 und maximal 30 Patienten je Gruppe geplant. Die Studiendauer wurde für den einzelnen Probanden auf insgesamt 7 d festgelegt, mit Anwendung des Prüf- bzw. des Kontrollpräparats über insgesamt 6 d.

Alle stationär aufgenommenen Patienten, die die Kriterien des Prüfplans erfüllten, wurden bei Zustimmung als Probanden mit aufsteigender fortlaufender Nummer in die Studie aufgenommen. Entsprechend einem Zufallsgenerator erfolgte per Briefwahl die Zuordnung zur Versuchs- bzw. aktiven Kontrollgruppe.

Vor der ersten Anwendung der Prüfsubstanz wurden bei den Patienten der Papillen-Blutungs-Index (PBI) und der pH-Wert im Speichel als Indikatoren gingivaler und periodontaler Gesundheit erhoben. Für alle Patienten einheitlich ermittelt wurden neben dem Geschlecht auch Größe und Körpermasse als Grundlage für die Errechnung des BMI. Protokolliert wurde für alle Patienten der routinemäßig bei stationärer Aufnahme ermittelte Creatininwert im Serum als Grundlage für die Berechnung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) der Niere, die einen aussagefähigen Marker für die Nierenfunktion darstellt.

Die Anwendung der Spüllösungen erfolgte nach einem einheitlichem Schema. Zu ebenfalls einheitlichen Zeitpunkten wurden für die weitere Analytik Speichel-, Serum- und Urinproben gewonnen.

2.1.1 Ein-und Ausschlusskriterien

In die klinische Prüfung wurden ausschließlich freiwillige Probanden ohne Einschränkung hinsichtlich Geschlecht und ethnischer Zugehörigkeit eingeschlossen. Art und Umfang der kieferchirurgischen Behandlung wurden nicht als

Selektionsmerkmal berücksichtigt, aber protokolliert. Die Ein- und Ausschlusskriterien sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien der Studie

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
weibliche bzw. männliche Probanden im Alter ab 18 Jahren	gleichzeitige Teilnahme an einer anderen klinischen Prüfung
vorliegende schriftliche Einverständniserklärung	Schwangerschaft und Stillzeit
Bereitschaft und Fähigkeit, die Anforderungen des Prüfplans zu erfüllen	Mangelnde Compliance
	Vorbestehende Chlorhexidinbehandlung
	Alkohol-, Medikamenten-, Drogenabhängigkeit
	bekannte Überempfindlichkeit bzw. Sensibilisierung im Verlauf der Anwendung gegen einen Inhaltsstoff des Prüf- bzw. Kontrollpräparats

2.1.2 Abbruch der Studie

Im Studienprotokoll wurden für eine vorzeitige Beendigung der klinischen Prüfung folgende Kriterien festgelegt:

Jeder Proband konnte jederzeit ohne Angaben von Gründen seine Einwilligung zur Teilnahme an der Studie widerrufen. Bei Auftreten nicht tolerabler, unerwünschter Ereignisse wie allergischer Reaktionen, dem Notwendigwerden der Anwendung von chlorhexidinhaltigen Medikamenten aus anderer Indikation und bei mangelnder Compliance sollte die Teilnahme des einzelnen Patienten an der Studie ebenfalls beendet werden.

Als mögliche Gründe für den Abbruch der gesamten klinischen Prüfung wurden definiert: Ein Bekanntwerden von neuen Erkenntnissen und/oder Risiken; das vermehrte Auftreten schwerwiegender unerwünschter oder unerwarteter Ereignisse, die auf das Prüfpräparat zurückzuführen sind und die die Sicherheit aller Probanden

gefährden sowie der toxikologisch bedenkliche systemische Nachweis von p-CA in den analysierten Proben mit Erreichen oder Überschreiten der BAT-Werte für Anilin (> 1 mg/l ungebundenes Anilin im Urin bzw. > 100 µg/l Anilin im Serum) (Deutsche Forschungsgemeinschaft 2006).

2.2 Präparate und Anwendung

Prüfpräparat: Sol. Chlorhexidini SR. 0,2 %
Kontrolle: Octenisept®

Die Anfertigung von Sol. Chlorhexidini SR (Chlorhexidindigluconat-Mundspüllösung 0,2 %) erfolgte in der Apotheke des Klinikum Neubrandenburg (Tab. Anhang A1). Die Charge wurde unmittelbar vor Studienbeginn hergestellt, für die Studie verblindet und bis zur Ausgabe an den Patienten in lichtgeschützten Glasflaschen (Inhalt 90 ml) im Kühlschrank bei maximal 7 °C gelagert.

Das Präparat Octenisept wurde als Fertigpräparat von der Firma Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, bezogen und wie das Prüfpräparat in identischen Glasflaschen zu 90 ml von der Apotheke verblindet abgefüllt.

2.3 Studienablauf

2.3.1 Spülung

Patienten, die sich einer operativen Therapie zu unterziehen hatten, führten die Mundspülung einmalig präoperativ und dann über eine Dauer von 5 d dreimal täglich postoperativ (morgens, mittags und abends) durch (Tab. 2).

Dies entspricht dem üblichen Vorgehen im klinischen Alltag. Auf konservativ behandelte Patienten wurde dieses Schema analog übertragen.

Die Patienten erhielten nach Zuordnung in die Versuchs- oder Kontrollgruppe 90 ml der entsprechenden Prüfsubstanz in einer verblindeten, für beide Gruppen identischen Abpackung ausgehändigt. Lediglich der Hinweis auf Spüllösung A bzw. B war auf dem Etikett ersichtlich. Der Flaschenverschluss fungierte gleichzeitig als Messbecher für die 15 ml je Spülung anzuwendender Lösung.

Die Probanden wurden genauestens darüber informiert, welche Schritte das studiengerechte Spülen erfordert.

Die Spülung erfolgte über eine Gesamtdauer von 30 s, wobei die Gesamtspülmenge von 15 ml innerhalb dieser Zeit in Teilschritten aufgenommen werden konnte. Zur Spülung wurde die Prüfsubstanz im Mund bewegt und anschließend die verbrauchte Spülflüssigkeit ausgespuckt. Die Einhaltung der Zeitdauer wurde durch einen Kurzzeitwecker und die Überwachung des morgendlichen Spülvorgangs durch den Prüfarzt sichergestellt.

Tabelle 2: Zeitpunkt der Spülungen

	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6
morgens	X	X	X	X	X	X	
mittags	Operation	X	X	X	X	X	
abends		X	X	X	X	X	

2.3.2 Speichelproben

Der Patient wurde angewiesen, nach Ausspeien der Spülflüssigkeit und vor Gewinnung jeder Speichelprobe 1 min nicht zu schlucken. Anschließend wurde die gesamte Speichelmenge durch den Probanden direkt in ein 5 ml fassendes Röhrchen mit Schraubdeckel gegeben.

Die Entnahmezeitpunkte wurden einheitlich auf den Zeitpunkt der morgendlichen Spülung festgelegt. Die im Studienablauf vorgeschriebenen Spülungen zum Mittag und Abend blieben ohne Probenentnahme. 12 h nach der letzten Mundspülung wurde die letzte Speichelprobe (entspricht damit Tag 6 morgens) entnommen. Bei vollständiger Studienteilnahme wurden damit je Patient 22 Speichelproben gewonnen (Tab. 3).

Die Speichelproben erhielten als Kennzeichnung die Probandennummer und Sp für Speichel, den Tag der Probennahme (0 für Tag vor OP, Tag 1 mit 1, Tag 2 mit 2 usw.) sowie die Entnahmezeitpunkte in zeitlicher Beziehung zur Mundspülung. So entspricht z.B. Sp12 einer Speichelprobe zum Zeitpunkt „Tag 1, 30 min nach Spülung“, Sp 43 der Probe „Tag 4, 60 min nach Spülung“.

Tabelle 3: *Schema für die Entnahme der Speichelproben*

Zeitpunkt		Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6
morgens	vor Spülung	0	0	0	0	0	0	0
	nach Ausspucken		1	1	1	1	1	
	nach 30 min		2	2	2	2	2	
	nach 60 min		3	3	3	3	3	

2.3.3 Blutproben

Die Blutentnahme erfolgte konventionell mit einem Monovettensystem der Firma Braun Melsungen. Die Blutmonovetten wurden zentrifugiert und das Serum abpipettiert. Für die Hautantiseptik kam AHD 2000, ein Ethanol basiertes Präparat ohne Chlorhexidinanteil, zur Anwendung.

Es wurde nur eine Blutprobe pro Versuchstag genommen. Die Probenahme erfolgte vor der ersten präoperativen Mundspülung und postoperativ ab Tag 1 vor der morgendlichen Mundspülung (Tab. 4). Die Proben wurden mit Probandennummer und Se für Serum beschriftet. Zusätzlich erfolgte die Kodierung von Versuchstag und Entnahmezeitpunkt analog des für Speichelproben verwendeten Schemas.

Tabelle 4: *Schema für die Entnahme der Blutproben*

Zeitpunkt	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6
vor Spülung, morgens	0	0	0	0	0	0	0

2.3.4 Urinproben

Die morgendliche Gesamturinmenge wurde durch die Probanden jeweils in einem Sammelgefäß mit Millilitereinteilung aufgefangen, wobei eine Blasenverweildauer von mindestens 4 h gefordert wurde. Durch den Prüfarzt erfolgten die Ermittlung des Volumens und die Entnahme der Proben zur Analytik nach vorheriger Durchmischung des Urins. Im klinikinternen Labor wurde in der entnommenen Probe die spezifische Urinosmolarität ermittelt.

Die Proben wurden mit Probandennummer und U für Urin beschriftet. Zusätzlich erfolgte die Kodierung von Versuchstag und Entnahmezeitpunkt analog des für Speichelproben verwendeten Schemas (Tab. 5).

Tabelle 5: Schema für die Entnahme der Urinproben

Zeitpunkt	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6
vor Spülung, morgens	0	0	0	0	0	0	0

2.3.5 Aufbewahrung und Transport der Proben

Die Speichel-, Serum- und Urinproben wurden unverzüglich nach Gewinnung verblindet und im Labor des Klinikums Neubrandenburg bei -20 °C tiefgefroren. Die Verblindung erfolgte so, dass für das untersuchende Labor lediglich die Patientenummer sowie Art des Materials (Serum, Speichel oder Urin) und der Zeitpunkt der Probengewinnung erkennbar waren, nicht jedoch die Zuordnung zur Behandlungs- oder Kontrollgruppe. Innerhalb von 2 Wochen nach dem Einfrieren erfolgte unter Aufrechterhaltung der Kühlkette in Polystyrolboxen mit Trockeneis die Überführung in das analysierende Labor.

Die Entblindung der Studie erfolgt erst nach Zusendung aller Untersuchungsergebnisse durch den Prüfarzt.

Bei vollständiger Studienteilnahme wurden je Patient 22 Speichel-, 7 Urin- und 7 Serumproben gewonnen. Nach Analyse jeder Probe auf CHD, p-CA und p-CNB wurden damit insgesamt 66 Messwerte im Speichel und je 21 Messwerte in Urin und Serum für jeden Patienten erhoben.

2.4 Analytik

2.4.1 Chemikalien

Entionisiertes Wasser wurde mit der Seradest SR-1400 Anlage gewonnen und nachgereinigt mit dem Reinstwassersystem RS 40 EZ (beide Wasseraufbereitung und Regenerierstation GmbH).

Alle eingesetzten Chemikalien hatten, wenn nicht anders ausgewiesen, den Reinheitsgrad p. a. (zur Analyse).

Als Kalibrier- und Kontrollstandards wurden p-CA (Fluka und VWR, Gehalt jeweils 99 %), p-CNB (VWR, Gehalt 99 %), CHD (Aldrich) sowie Chlorhexidindiacetat Monohydrat (Fluka) eingesetzt. Es wurden jeweils Stammlösungen mit Gehalten von 1 mg/ml durch Einwaage der Substanzen hergestellt. Aus den Stammlösungen wurden durch weitere Verdünnung die Kalibrierstandards hergestellt.

Als Derivatisierungsreagenzien wurden Heptafluorbuttersäureanhydrid (HFBA) und Trifluoressigsäureanhydrid (TFA, beide Fluka) eingesetzt.

2.4.2 Geräte

Die gaschromatographischen Untersuchungen erfolgten an einem GC 5890 Serie II, ausgestattet mit Flammen-Ionisations- (FID) sowie Elektronen-Anlagerungs-Detektor (ECD). Für die HPLC-Messungen wurde ein Liquid Chromatograph 1090 Serie II mit Dioden-Array-Detektor (DAD) (beide Hewlett Packard) eingesetzt. Als Zentrifugen fanden eine Universal 30 F Zentrifuge (Hettich) und eine TH 11 (Janetzki) Verwendung. Weiterhin eingesetzt wurde ein TCS-Metallblock-Thermostat (Labortechnik Barkey).

2.4.3 Laborglas

CHD weist ein hohes Absorptionsvermögen an Glasgeräte auf (Brougham et al. 1986). Beim Arbeiten im Spurenbereich macht sich das durch Blindwerte bemerkbar. Die Glasgeräte wurden zur Entfernung von CHD-Resten vor der Analyse mit Essigester gereinigt. Dazu wurden 1 ml Essigester in die zu reinigenden Röhrchen gefüllt und diese für 1 h bei 75 °C in den Metallblockthermostat gestellt. Nach dem

Abkühlen wurde das Lösungsmittel verworfen, die Röhrchen mit Wasser gespült und bei 105 °C getrocknet.

2.4.4 Analysenmethoden

Die unmittelbar nach Gewinnung tiefgefrorenen Urin-, Serum- und Speichelproben wurden bis zu ihrer Untersuchung bei -20 °C gelagert. Die Proben wurden erst unmittelbar vor der Untersuchung aufgetaut und anschließend nach gründlichem Durchmischen für die Analyse aufbereitet.

Die Analyse der Proben auf CHD erfolgt mittels HPLC. P-CNB und p-CA wurden nach Derivatisierung mittels GC-ECD bestimmt.

2.4.4.1 Bestimmung von p-CA und p-CNB

0,5 ml Probe oder Standard wurden mit 0,5 ml gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt. Vom entstandenen Niederschlag wurde abzentrifugiert, 0,8 ml Überstand entnommen und mit 0,5 ml Cyclohexan extrahiert. 300 µl des Cyclohexanextrakts wurden in ein 1,5 ml Vial gegeben und mit 10 µl HFBA versetzt. Das Vial wurde verschlossen und 15 min bei 60 °C inkubiert. Nach dem Abkühlen wurde 1 ml Puffer pH 7,0 zugesetzt und intensiv geschüttelt. Abschließend wurde die organische Phase in ein mit getrocknetem Na₂SO₄ beschicktes Vial überführt. Der getrocknete Extrakt wurde in ein Mikrovial überführt und 1 µl in den GC injiziert.

Die Parameter der GC waren wie folgt: Säule DB 624 (J&W Scientific), 30 m x 0,32 mm; 1,8 µm Filmdicke; Trägergas: Stickstoff 5.0; Injektortemperatur: 250 °C; Temperaturprogramm: 100 °C (1 min), 20 °C/min auf 200 °C, 200 °C (14 min); Splitt off time: 0,5 min; Säulenvordruck: 45 kPa; Fluß über die Säule 1,16 ml/min; Septum Spülung: 3,2 ml/min; Gesamtfluss: 51 ml/min; aux gas: 50 ml/min und ECD Spülgas 6,3 ml/min. Die Retentionszeiten betragen 12,3 min (p-CNB) und 16,3 min (p-CA-Derivat).

2.4.4.2 Bestimmung von CHD durch Derivatisierung und HPLC

Zu 1 ml CHD-Standard oder Probe wurde 1 ml 1 N NaOH gegeben. Anschließend wurde mit 4 ml Dichlormethan (DCM) extrahiert. Vom Extrakt wurden 3 ml abgenommen. Hierzu wurde 0,1 ml TFA zugesetzt und das Ganze bei 75 °C für

1 min im Thermoblock erhitzt. Danach wurden 10 µl Wasser zugefügt und das Ganze gut durchmischt. Anschließend gab man das Röhrchen bei 75 °C für 30 min in den Thermoblock. Dabei dampfte das DCM vollständig ab und Wasser wurde ausgetrieben. Nach dem Abkühlen des Röhrchens wurde der Rückstand in 100 µl Methanol/2 % Ameisensäure aufgenommen. Nach einer Standzeit von mindestens 2 h bei Raumtemperatur erfolgte die Injektion von 20 µl in die HPLC.

2.4.4.3 Hydrolyse von CHD und GC-Bestimmung des gebildeten p-CA

1 ml CHD-Standard oder Kalibrierlösung wurde nach Zusatz von 1 ml 6 M HCl für 16 h bei 100 °C im Metallblock-Thermostat hydrolysiert. Zu 1,5 ml saurer Reaktionslösung wurde 1 ml 10 N NaOH gegeben und das Ganze mit 1 ml Cyclohexan extrahiert. 0,8 ml des Cyclohexanextrakts wurden in ein 1,5 ml Vial gegeben und mit 10 µl HFBA versetzt. Das Vial wurde verschlossen und 15 min bei 60 °C inkubiert. Nach dem Abkühlen wurde 1 ml Puffer pH 7,0 zugesetzt und intensiv geschüttelt. Abschließend wurde die organische Phase in ein mit trockenem Na₂SO₄ beschicktes Vial überführt. Der getrocknete Extrakt wurde in ein Mikroviaal überführt und 1 µl in den GC injiziert.

2.5 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung der erhobenen Daten wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biometrie und medizinische Informatik der Universität Greifswald das Standardprogramm der statistischen Datenanalyse SAS (Statistical Analysis Software) genutzt. Die Auswertung erfolgt als deskriptive Statistik (Mittelwerte, Minimum, Maximum, Standardabweichung und Quantile) sowie durch die Berechnung von Kennzahlen (Flächenintegrale). Die Integrale wurden als Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve berechnet und geben Auskunft über die Pharmakodynamik der betrachteten Substanz. Die Angabe erfolgt als metrischer Wert ohne Einheit unter der Bezeichnung AUC (Area under the curve).

Die Integrale wurden mittels Wilcoxon-Rangsummentest und Kruskal-Wallis Test auf Gruppen- und Geschlechtsunterschiede getestet. Als Signifikanz-Niveau wurde < 0,01 festgesetzt.

3 Ergebnisse

3.1 Probanden

Die klinische Studienphase fand von Oktober bis November 2004 in der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie des Klinikum Neubrandenburg statt. In diesem Zeitraum konnten 43 Patienten in die klinische Prüfung eingeschlossen werden, bei denen im Rahmen einer operativen oder konservativen Therapie antiseptische Mundspülungen durchgeführt werden mussten. Alle Patienten, die im genannten Zeitraum zur stationären Aufnahme kamen, willigten in die Teilnahme an der klinischen Prüfung ein, nur eine Patientin versagte ihre Zustimmung. Die Responserate lag damit bei 97 %.

Ein Patient musste im Studienverlauf als Einzelfallentscheidung aus der klinischen Prüfung entfernt werden, da eine nicht bekannte Alkoholabhängigkeit vorlag und erst mit Auftreten deliranter Zustände bekannt wurde (Ausschlusskriterium). Weitere Verlustraten traten während der klinischen Prüfung nicht auf.

Das Durchschnittsalter der 24 männlichen und 18 weiblichen Patienten betrug 42 Jahre (min. 19, max. 83, Standardabweichung 19,2). Detaillierte Aussagen zur Altersgruppenverteilung finden sich im Anhang (Tab. A10 und A11).

Die Patienten wurden randomisiert auf beide Gruppen verteilt, wobei 23 Patienten CHD anwendeten und 19 Patienten der aktiven Kontrolle mit Octenisept zugeteilt waren (Tab. A2). Die Patienten weiblichen Geschlechts waren mit jeweils 9 Probanden in beiden Gruppen vertreten, 14 Patienten der CHD- und 10 Patienten der Octenisept-Gruppe waren männlich (Tab. A12).

Von den 42 Patienten unterzogen sich 31 einer operativen Therapie, davon 21 Patienten in der CHD-Gruppe und 10 Patienten der Octenisept-Kontrollgruppe. 11 Patienten (2 der CHD-Gruppe, 9 der Octeniseptgruppe) wurden rein konservativ behandelt, d.h. in der Regel war eine antibiotische Therapie bei intraoralen Läsionen erforderlich. Detaillierte Angaben zu Diagnosen, Behandlungsindikationen und Therapien sind dem Anhang zu entnehmen (Tab. A4).

Die vorgesehenen Erhebungen des Papillen-Blutungs-Index und des pH-Werts im Speichel noch vor erster Anwendung einer antiseptischen Mundspülung erwiesen sich im klinischen Alltag als nicht durchführbar, da Akutaufnahmen unter zeitlichen Zwängen ein Abweichen von dieser Festlegung bedingten. Die Anzahl der Fehlwerte

lässt daher eine Berücksichtigung als Ergebnis nicht zu, die erhobenen Werte sind aber im Anhang aufgeführt (Tab. A2).

Der durchschnittliche Body-mass-Index der Patienten betrug $26,4 \text{ kg/m}^2$ (19,1-42,7). Nierenfunktionsstörungen mit einer rechnerisch bestimmten Clearance unter 60 ml/min , einer leichtgradigen Niereninsuffizienz entsprechend, wiesen 2 weibliche Patienten auf (55 ml/min und 41 ml/min), für die übrigen Patienten wurden unauffällige Retentionsparameter erhoben (Creatinin-Clearance min. 41 ml/min , max. 335 ml/min , MW 109 ml/min) (Tab. A2).

Für die 23 Patienten der CHD-Gruppe konnten insgesamt 139 (erwartet 161; 86,3 %) Studientage registriert werden, die Kontrollgruppe kam bei 19 Patienten auf 117 (erwartet 133; 88 %) Studientage. Die Teilnahmedauer an der Studie belief sich damit bei den Patienten der CHD-Gruppe auf durchschnittlich $6,0 \text{ d}$ und in der Kontrollgruppe auf $6,2 \text{ d}$ (max. mögliche Studiendauer 7 d) (Tab. A2).

Als Abbruchkriterium definierte unerwünschte Ereignisse oder Nebenwirkungen der Therapie wurden in keiner Gruppe beobachtet.

3.2 Analytik

In den eigenen Untersuchungen wurden im Vorfeld Nachweisgrenzen der eingesetzten Analysenmethoden ermittelt, die in Tabelle 6 wiedergegeben werden.

Die Ermittlung der Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen für p-CA und p-CNB erfolgte über die Kalibrierkurvenmethode nach DIN 32645 (DIN 32645 1994). Überprüft wurde in einem nächsten Schritt, inwieweit sich durch Extraktion und Derivatisierung in Verbindung mit GC-ECD eine weitere Absenkung der Nachweisgrenzen erreichen lässt.

Die Nachweisgrenze von p-CA lag bei der GC-ECD mit $0,777 \text{ mg/l}$ deutlich über der Nachweisgrenze der GC-FID ($0,037 \text{ mg/l}$). Gezeigt werden konnte, dass sich bei der GC-ECD mit Extraktion und Derivatisierung die Nachweisgrenze noch erheblich auf $0,003 \text{ mg/l}$ verbessern lässt.

Für p-CNB wurden die Nachweisgrenzen mit $0,003 \text{ mg/l}$ bei der GC-ECD gegenüber $0,065 \text{ mg/l}$ bei der GC-FID bestimmt. Die GC-ECD mit Extraktion und Derivatisierung ergab beim p-CNB eine Verbesserung des Grenzwerts auf

0,002 mg/l, wobei sich die durch GC-ECD bestimmten Nachweisgrenzen nur unwesentlich unterscheiden.

Die Nachweisgrenzen konnten für CHD mit 0,08 mg/l, für p-CA mit 0,003 mg/l und für p-CNB mit 0,002 mg/l angegeben werden (Tab. 6).

Tabelle 6: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen für Chlorhexidin, p-Chloranilin und p-Chlornitrobenzen (mg/l)

Verbindung	Methode	Bemerkung	Nachweisgrenze	Erfassungsgrenze	Bestimmungsgrenze
CHD	HPLC	Extraktion	0,08	0,16	0,24
p-CA	GC-ECD	Methanolische Standards	0,777	1,55	3,22
	GC-FID		0,037	0,074	0,109
	GC-ECD	Extraktion und Derivatisierung	0,0030	0,0061	0,0064
p-CNB	GC-ECD	Methanolische Standards	0,003	0,007	0,011
	GC-FID	Standards	0,065	0,131	0,171
	GC-ECD	Extraktion	0,0025	0,0049	0,0056
	GC-ECD	Extraktion und Derivatisierung	0,0021	0,0042	0,0051

HPLC=Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. high performance liquid chromatography) GC-ECD =Gaschromatographie mit Elektronenanlagerungsdetektor , GC-FID = Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektor

3.2.1 CHD- und Octenisept-Mundspüllösung

In einer ab Studienbeginn bei Raumtemperatur gelagerten CHD-Lösung aus der für die Studie hergestellten Charge wurde an den Tagen 3, 24, 36 und 64 nach Herstellungsdatum die Konzentration von p-CA bestimmt. Dabei zeigte sich unter Lagerungsbedingungen ein Anstieg des p-CA von einem Ausgangswert von 1,5 mg/l auf bis 4,54 mg/l nach 9 Wochen (Tab. 7).

In der Octenisept-Lösung wurde kein p-CA nachgewiesen.

Tabelle 7: p-CA in der CHD-Spüllösung

Lagerungsdauer [d]	p-CA [mg/l]	mg p-CA/100 mg CHD x 2glu	mmol p-CA/mol CHD x 2glu
3	1,5	0,075	5,29
24	2,68	0,013	9,42
36	2,76	0,014	9,72
64	4,54	0,227	15,96

Molekulargewicht von p-CA: 127,6 g/mol; Molekulargewicht von Chlorhexidindigluconat: 897,8 g/mol

Molekulargewicht von Chlorhexidin: 505,5 g/mol

3.2.2 Speichel

In den Speichelproben beider Gruppen konnten insgesamt 2256 Analysen durchgeführt werden, davon entfielen 770 auf den CHD-Nachweis und je 743 auf den Nachweis von p-CA und p-CNB (Tab. 16).

Bei den insgesamt erreichten 139 Studientagen/23 Patienten in der CHD-Behandlungsgruppe und 117 Studientagen/19 Patienten in der Octenisept-Kontrollgruppe wurden 2694 Analysen erwartet (3 Analysen Tag 0, ab Tag 1-5 je 12 Analysen, Tag 6 3 Analysen), so dass die Fehlwertquote mit 16,4 % anzugeben ist.

3.2.2.1 CHD im Speichel

Zum CHD-Nachweis im Speichel konnten in der CHD-Gruppe 412 (487/15,4 %) und in der Octenisept-Kontrolle 358 (411/12,9 %) Proben ausgewertet werden (erwartete Zahl bei 139 bzw. 117 Studientagen/Fehlwertquote).

Während in der Octenisept-Kontrollgruppe in keiner Probe CHD nachgewiesen werden konnte, wurden in der CHD-Gruppe in 348 Proben (84,5 %) CHD-Werte oberhalb der Nachweisgrenze gefunden. Der Wirkstoff wurde erst nach Aufnahme der antiseptischen Mundspülung im Speichel nachgewiesen, in der Baseline-Probe war auch bei allen Probanden der CHD-Gruppe kein CHD-Nachweis zu führen (Tab. 9).

Die geringsten Konzentrationen von CHD wurde jeweils zum Zeitpunkt vor erneuter Spülung mit Werten zwischen 1,2-3,1 mg/l (Tage 1-6) gesehen. Unmittelbar nach Spülung war ein Anstieg auf 8,7-29,4 mg/l CHD (Tage 1-5) mit den höchsten Werten an Tag 4 zu verzeichnen. Zum Zeitpunkt 30 min nach Spülung fielen die Konzentrationen von CHD auf 4,7-7,4 mg/l (Tag 1-5) ab, 60 min nach Spülung

waren noch 1,6-4,9 mg/l CHD (Tag 1-5) nachweisbar (Tab. 8) (Abb. 1).

Die Maximalwerte bewegten sich im Bereich zwischen 27-97 mg/l CHD. Extremwerte bei einzelnen Probanden wurden zum Zeitpunkt unmittelbar nach Spülung an den Tagen 2, 3 und 4 mit 179,8 mg/l, 234,50 mg/l und 178,8 mg/l ermittelt (Tab. 8; Tab. A5).

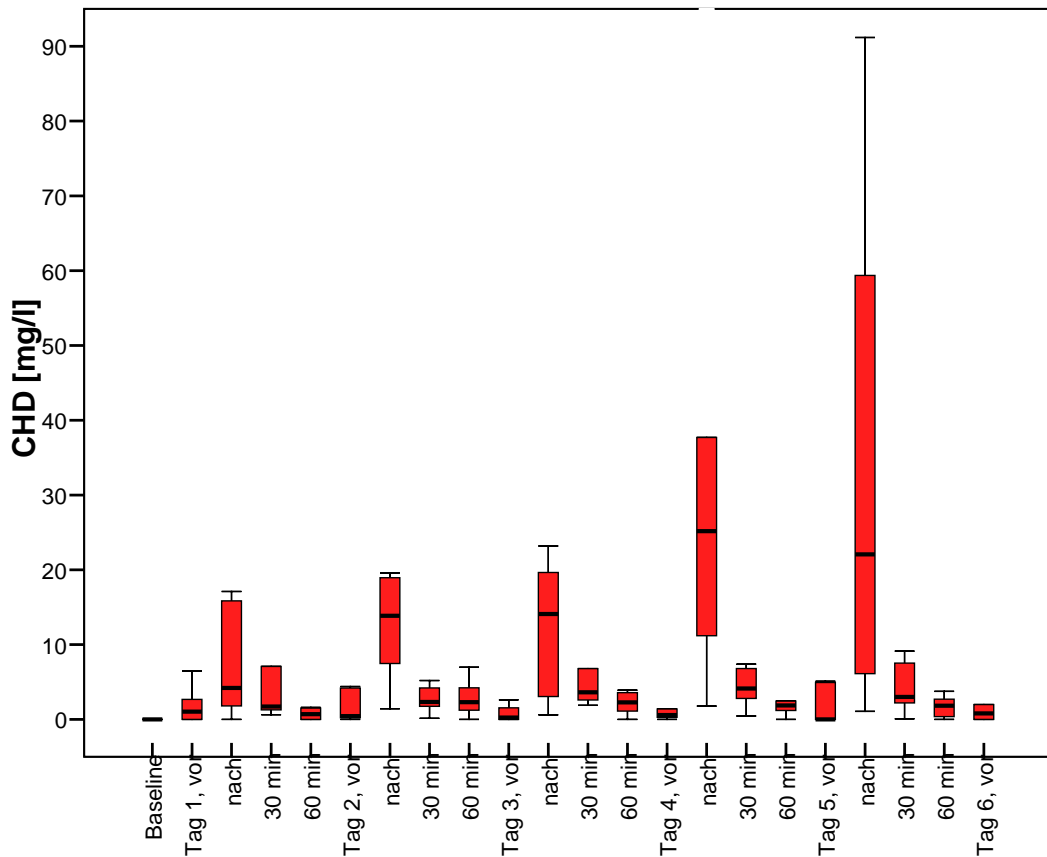


Abb. 1: CHD im Speichel in der CHD-Behandlungsgruppe ohne Ausreißer und Extremwerte

Zeitpunkte der Probenentnahme am Morgen: vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung

Tabelle 8: CHD im Speichel (mg/l) in der CHD-Gruppe (Median, 25 % Perzentil, 75 % Perzentil, Mittelwert, STBW, Minimum, Maximum)

Tag	Probenzeitpunkt	Anzahl n	Median	25 % Perz.	75 % Perz.	MW	STBW	Min.	Max.
0	Baseline	22	0	0	0	0	0	0	0
1	vor	21	1,55	0,31	6,39	6,05	10,14	0	38,69
	nach	22	8,72	3,35	25,34	19,62	23,29	0	79,73
	30 min	21	7,08	1,51	23,60	14,32	16,78	0,63	57,78
	60 min	20	1,56	0,11	6,33	9,57	18,91	0	69,67
2	vor	19	2,87	0,22	10,49	9,74	18,85	0	69,77
	nach	19	15,20	6,25	31,93	30,86	46,09	0	179,79
	30 min	18	4,71	1,88	15,17	11,68	15,14	0,15	51,29
	60 min	18	4,85	1,91	20,97	10,59	11,72	0	35,16
3	vor	22	2,60	0,25	18,28	9,30	13,57	0	46,97
	nach	20	18,72	8,06	33,63	33,33	51,80	0	234,50
	30 min	21	5,89	3,35	28,44	15,52	17,77	1,34	58,41
	60 min	20	3,74	1,47	18,53	10,84	12,64	0	40,81
4	vor	18	2,34	0,34	7,78	8,48	18,32	0	76,57
	nach	18	29,44	11,20	57,62	46,14	51,25	0	178,84
	30 min	18	6,53	3,24	13,55	11,10	12,28	0	39,76
	60 min	18	3,26	1,35	19,84	11,38	14,06	0	39,36
5	vor	16	3,05	0	7,59	6,22	9,03	0	28,21
	nach	16	27,73	13,87	59,68	37,84	31,18	1,08	97,99
	30 min	16	7,39	2,71	18,09	14,01	18,68	0,08	67,97
	60 min	16	2,68	1,12	9,51	6,08	7,77	0	26,83
6	vor	13	1,16	0,00	14,71	10,08	17,66	0	57

Zeitpunkte der Probenentnahme am Morgen: vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung

STBW = Standardabweichung, MW = Mittelwert

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,08 mg/l

Tabelle 9: Ergebnisse der Untersuchung auf CHD im Speichel im direkten Vergleich beider Gruppen

CHD [mg/l]	CHD-Gruppe					Octenisept-Gruppe				
	N	Median	75 %	Bereich	pos. Befund	N	Median	75 %	Bereich	pos. Befund
gesamt	412			< NWG – 234,50	84,5 %	358			< NWG	0 %
Baseline	22	0	0	< NWG	0 %	19	0	0	< NWG	0 %
vor	109	2,26	10,87	< NWG – 76,57	78,9 %	80	0	0	< NWG	0 %
nach	95	19,96	41,64	< NWG – 234,50	94,7 %	83	0	0	< NWG	0 %
30 min	94	6,32	19,77	< NWG – 67,97	98 %	85	0	0	< NWG	0 %
60 min	92	3,22	15,04	< NWG – 69,67	85,9 %	91	0	0	< NWG	0 %

Bildung der Mittelwerte für Median und 75 % Perzentil nach Summation der Werte der Tage 1-5 („vor“ einschließlich Tag 6)
NWG: 0,08 mg/l

3.2.2.2 p-CA im Speichel

In der CHD-Gruppe konnten 394 Proben (487/19,1 %) und in der Octenisept-Kontrollgruppe 349 Proben (411/15,1 %) auf p-CA analysiert werden (erwartete Zahl/Fehlwertquote).

In beiden Gruppen war p-CA nachweisbar (Tab. 12).

In der CHD-Gruppe wurde in 110 Proben (27,9 %) bei 22 der 23 Patienten (95,7 %) p-CA nachgewiesen, aber niemals in der Baseline-Probe vor Aufnahme der CHD-Mundspülung.

An den Tagen 1 bis 5 wurde zum Zeitpunkt vor morgendlicher Mundspülung in 19 der 104 analysierten Proben (18,3 %) p-CA mit Werten zwischen 0,01 - 0,29 mg/l nachgewiesen, die Mediane und Mittelwerte lagen jedoch jeweils bei 0 mg/l (Tab. 10; Tab.12).

Unmittelbar nach Spülung fand sich in 65 % aller analysierten Proben p-CA mit den

jeweils höchsten im Tagesverlauf gemessenen Werten. Die Maximalwerte betragen dabei 0,31 mg/l an Tag 1, 0,28 mg/l an Tag 2, 0,25 mg/l an Tag 3, dem höchsten in der Studie gemessenen Wert an Tag 4 mit 0,55 mg/l und 0,20 mg/l an Tag 5. Die Mediane wurden mit 0,04 mg/l an Tag 1, 0,03 mg/l an Tag 2, 0,02 mg/l an Tag 3, dem höchsten Wert von 0,06 mg/l an Tag 4 und 0,00 mg/l an Tag 5 gesehen (Tab. 10) (Abb. 2).

30 min nach Spülung wurde noch in 27,8 % der untersuchten Proben ein p-CA Nachweis mit Maximalwerten zwischen 0,09 bis 0,51 mg/l geführt, die Mediane wurden aber jeweils mit 0 mg/l berechnet und die Mittelwerte betragen zwischen 0,01 mg/l an den Tagen 1-3 und maximal 0,04 mg/l am Tag 4.

Auch zum Probenzeitpunkt 60 min nach Spülung wurde noch in 7,9 % aller analysierten Proben p-CA mit Werten zwischen 0,01 bis 0,08 mg/l nachgewiesen. Die Mediane und Mittelwerte lagen jeweils bei 0 mg/l (Tab. 10; Tab.12) (Abb. 2).

Die Maximalwerte wurden mit 0,548 mg/l, 0,515 mg/l und 0,513 mg/l an Tag 4 (Zeitpunkt unmittelbar nach und 30 min nach Spülung) bei 3 verschiedenen Patienten gesehen (Tab. 10, Tab. A6).

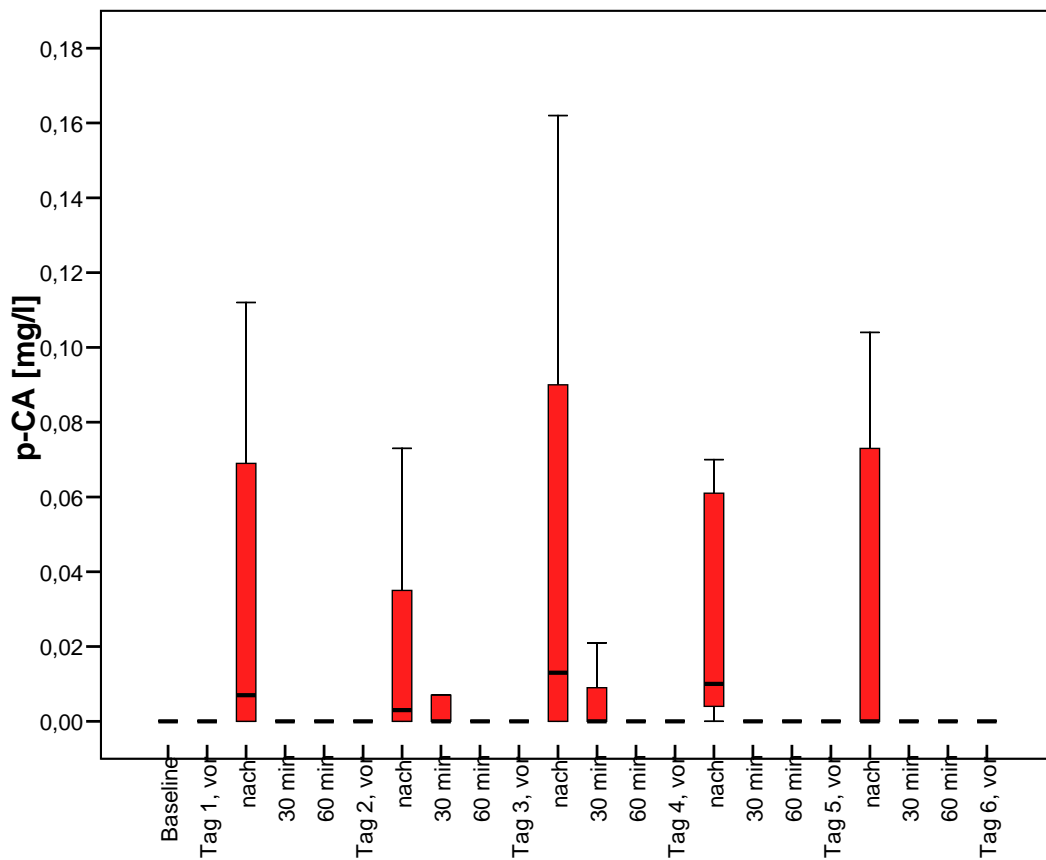


Abb. 2: *p-Ca im Speichel in der CHD-Behandlungsgruppe ohne Ausreißer und Extremwerte*

Zeitpunkte der Probenentnahme am Morgen: vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung

Ein p-CA Nachweis in der Octenisept Kontrollgruppe wurde bei 11 von 19 Patienten (57,9 %) in 32 Proben (9,2 %) erbracht (Tab. 12). Die 32 Nachweise für p-CA verteilten sich dabei auf 18 der 22 Probenzeitpunkte. Bei 3 Patienten erfolgte der positive Nachweis bereits in der Baseline-Untersuchung (0,005-0,011 mg/l). Bei 6 Patienten wurden 1 bis max. 2 Werte erhoben, bei 3 Patienten fanden sich 3 bzw. 4 Werte zwischen 0,003-0,05 mg/l p-CA. Zwei Patienten hatten 6 bzw. 8 positive p-CA Werte im Speichel, wobei sich die Werte zwischen 0,003-0,013 mg/l bewegten. Der Extremwert in der Octenisept Kontrollgruppe lag bei 0,213 mg/l und wurde am 3.Tag vor Spülung bei einem Patienten als einziger positiver Wert erhoben (Tab. 11; Tab. A7).

Die Mediane betragen zu allen Zeitpunkten 0,0 mg/l. Nur die Mittelwerte wurden an

11 von 22 Untersuchungszeitpunkten mit 0,001-0,013 mg/l erhöht festgestellt (Tab. 11) (Abb. 3).

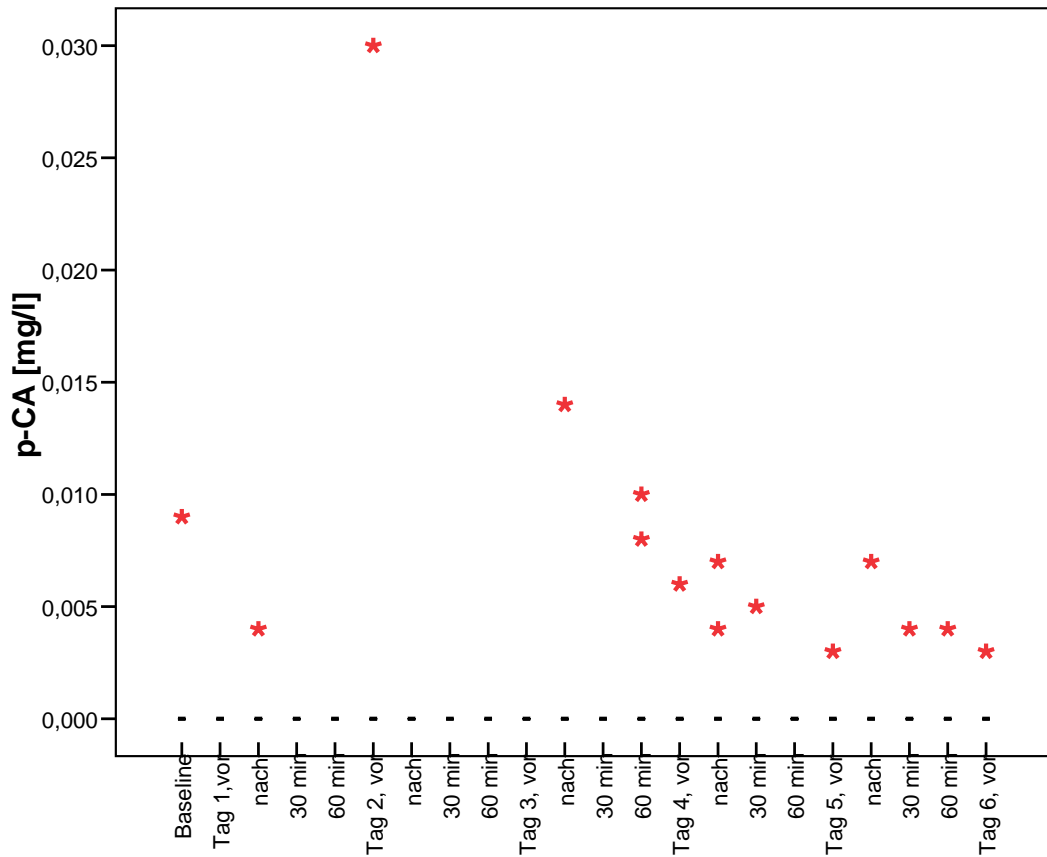


Abb. 3: *p-CA im Speichel in der Octenisept-Kontrollgruppe (Einzelmesswerte ohne Ausreißer und Extremwerte, Mediane zu allen Zeitpunkten 0)*

Zeitpunkte der Probenentnahme am Morgen: vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung

Tabelle 10: p-CA im Speichel (mg/l) in der CHD-Gruppe (Median, 25 % Perzentil, 75 % Perzentil, Mittelwert, STBW, Minimum, Maximum)

Tag	Probenzeitpunkt	Anzahl n	Median	25 % Perz.	75 % Perz.	MW	STBW	Min.	Max.
0	Baseline	21	0	0	0	0	0	0	0
1	vor	21	0	0	0	0,014	0,041	0	0,164
	nach	21	0,043	0	0,101	0,069	0,086	0	0,310
	30 min	20	0	0	0	0,006	0,021	0	0,094
	60 min	20	0	0	0	0,006	0,019	0	0,077
2	vor	18	0	0	0	0,021	0,069	0	0,291
	nach	17	0,028	0	0,073	0,053	0,073	0	0,275
	30 min	17	0	0	0,006	0,010	0,023	0	0,090
	60 min	17	0	0	0	0,004	0,013	0	0,053
3	vor	19	0	0	0	0,001	0,003	0	0,015
	nach	19	0,019	0	0,162	0,075	0,085	0	0,250
	30 min	19	0	0	0,009	0,012	0,028	0	0,106
	60 min	19	0	0	0	0,003	0,010	0	0,044
4	vor	17	0	0	0	0,019	0,076	0	0,315
	nach	17	0,061	0,004	0,120	0,115	0,172	0	0,548
	30 min	18	0	0	0	0,036	0,123	0	0,513
	60 min	17	0	0	0	0,001	0,002	0	0,011
5	vor	16	0	0	0	0,001	0,004	0	0,013
	nach	16	0	0	0,090	0,044	0,064	0	0,202
	30 min	16	0	0	0	0,031	0,095	0	0,368
	60 min	16	0	0	0	0	0	0	0
6	vor	13	0	0	0	0	0	0	0,003

Zeitpunkte der Probenentnahme am Morgen: vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung

STBW = Standardabweichung, MW = Mittelwert

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,003 mg/l

Tabelle 11: p-CA im Speichel (mg/l) in der Octenisept-Kontrollgruppe (Median, 25 % Perzentil, 75 % Perzentil, Mittelwert, STBW, Minimum, Maximum)

Tag	Probenzeitpunkt	Anzahl n	Median	25 % Perz.	75 % Perz.	MW	STBW	Min.	Max.
0	Baseline	18	0	0	0	0,001	0,003	0	0,011
1	vor	14	0	0	0	0	0	0	0
	nach	17	0	0	0	0	0,001	0	0,004
	30 min	18	0	0	0	0	0	0	0
	60 min	16	0	0	0	0	0	0	0
2	vor	17	0	0	0	0,002	0,007	0	0,030
	nach	18	0	0	0	0,001	0,002	0	0,006
	30 min	18	0	0	0	0	0,001	0	0,005
	60 min	18	0	0	0	0,001	0,003	0	0,009
3	vor	16	0	0	0	0,013	0,053	0	0,213
	nach	18	0	0	0	0,002	0,004	0	0,014
	30 min	18	0	0	0	0	0,001	0	0,004
	60 min	18	0	0	0	0,006	0,019	0	0,084
4	vor	15	0	0	0	0,001	0,002	0	0,006
	nach	15	0	0	0	0,001	0,002	0	0,007
	30 min	15	0	0	0	0,003	0,012	0	0,047
	60 min	13	0	0	0	0	0	0	0
5	vor	14	0	0	0	0	0,001	0	0,003
	nach	14	0	0	0	0,001	0,002	0	0,007
	30 min	13	0	0	0	0	0,001	0	0,004
	60 min	13	0	0	0	0	0,001	0	0,004
6	vor	13	0	0	0	0	0	0	0,003

Zeitpunkte der Probenentnahme am Morgen: vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung

STBW = Standardabweichung, MW = Mittelwert

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,003 mg/l

Tabelle 12: Ergebnisse der Untersuchung auf p-CA im Speichel im direkten Vergleich beider Gruppen

p-CA [mg/l]	CHD-Gruppe					Octenisept-Gruppe				
	N	Median	75 %	Bereich	pos. Befund	N	Median	75 %	Bereich	pos. Befund
gesamt	394			< NWG – 0,55	27,9 %	349			< NWG – 0,213	9,2 %
Baseline	21	0	0	< NWG	0 %	18	0	0	< NWG – 0,011	16,6 %
vor	104	0	0	< NWG – 0,32	18,3 %	89	0	0	< NWG – 0,213	7,9 %
nach	90	0,03	0,11	< NWG – 0,55	65,0 %	82	0	0	< NWG – 0,014	12,2 %
30 min	90	0	0,004	< NWG – 0,51	27,8 %	82	0	0	< NWG – 0,047	6,1 %
60 min	89	0	0	< NWG – 0,08	7,9 %	78	0	0	< NWG – 0,084	9,0 %

Bildung der Mittelwerte für Median und 75 % Perzentil nach Summation der Werte der Tage 1-5 („vor“ einschließlich Tag 6)
NWG: 0,003 mg/l

3.2.2.3 p-CNB im Speichel

In der CHD-Behandlungsgruppe konnten 394 (487/19,1 %) und in der Octenisept-Kontrollgruppe 349 (411/15,1 %) Proben auf p-CNB analysiert werden (erwartete Werte/Fehlwertquote).

Sowohl in der Behandlungs- als auch Kontrollgruppe war p-CNB nachweisbar (Tab. 15).

In der CHD-Gruppe wurde in 13 Proben (3,3 %) bei 6 von 23 Patienten (26,1 %) p-CNB oberhalb der Nachweisgrenze von 0,002 mg/l gefunden, die Werte lagen zwischen 0,007 bis maximal 0,06 mg/l. Die Mediane und Mittelwerte betragen zu allen Zeitpunkten 0 mg/l (Tab. 13).

Die 13 erhobenen Befunde verteilten sich auf 11 der 22 Entnahmezeitpunkte, wobei zu jedem Zeitpunkt maximal ein Wert erhoben wurde (vor Spülung an Tag 1 und 4; nach Spülung Tag 1, 4 und 5; 30 min nach Spülung an Tag 1 und 2 sowie 60 min

nach Spülung an Tag 4 und 5), nur an den Tagen 2 und 5 wurden zum Zeitpunkt vor Spülung je 2 positive Werte gesehen. Die Baseline-Probe blieb immer ohne p-CNB-Nachweis (Tab. 13, Tab. A8).

Bei 3 Patienten fanden sich Einzelwerte (0,02/0,03/0,04 mg/l), bei zwei Patienten wurden 2 bzw. 3 Werte (0,025/0,29 bzw. 0,020-0,061 mg/l) erhoben und ein Patient wies in 5 von 21 Proben Werte zwischen 0,007-0,055 mg/l p-CNB auf (Tab. A8).

In der Octenisept Kontrollgruppe wurde in 26 Proben (7,4%) bei 10 der 19 Patienten (52,6 %) p-CNB mit Werten zwischen 0,030,209 mg/l bestimmt. Während die Mediane zu allen Zeitpunkten mit 0 mg/l berechnet wurden, lagen die Mittelwerte zu den Zeitpunkten vor Spülung an Tag 2 und 3, nach Spülung an Tag 4 und 5, sowie 30 und 60 min nach Spülung an Tag 4 bei 0,01 mg/l und zum Zeitpunkt vor Spülung am Tag 4 bei 0,02 mg/l (Tab. 14) (Abb. 4).

Die 26 Nachweise für p CNB verteilten sich auf 17 der 22 Entnahmezeitpunkte mit überwiegend je einer positiven Probe, nur zu den Zeitpunkten vor Spülung an Tag 4, nach Spülung an Tag 2 und 4 sowie 30 und 60 min nach Spülung an Tag 4 wurden je 2 Werte und zu den Zeitpunkten nach Spülung an Tag 1 und 5 je 3 Werte erhoben (Tab. 14; Tab. A9).

In dieser Gruppe wurde bereits in der Baseline-Probe ein positiver Wert mit 0,023 mg/l bei einem Patienten gefunden, der in 2 seiner 19 Proben positiv war (2.Wert 0,016 mg/l).

Bei 3 Patienten wurden je ein Wert (0,007, 0,011, 0,015 mg/l), bei 4 Patienten 2 Werte (0,003-0,02 mg/l), bei 2 Patienten 3 Werte (0,005-0,208 mg/l) und bei einem Patienten 9 Werte zwischen 0,003 bis maximal 0,209 mg/l gemessen, wobei dieser zugleich den maximal erhobenen Wert in der Kontrollgruppe darstellte (Tab. A9).

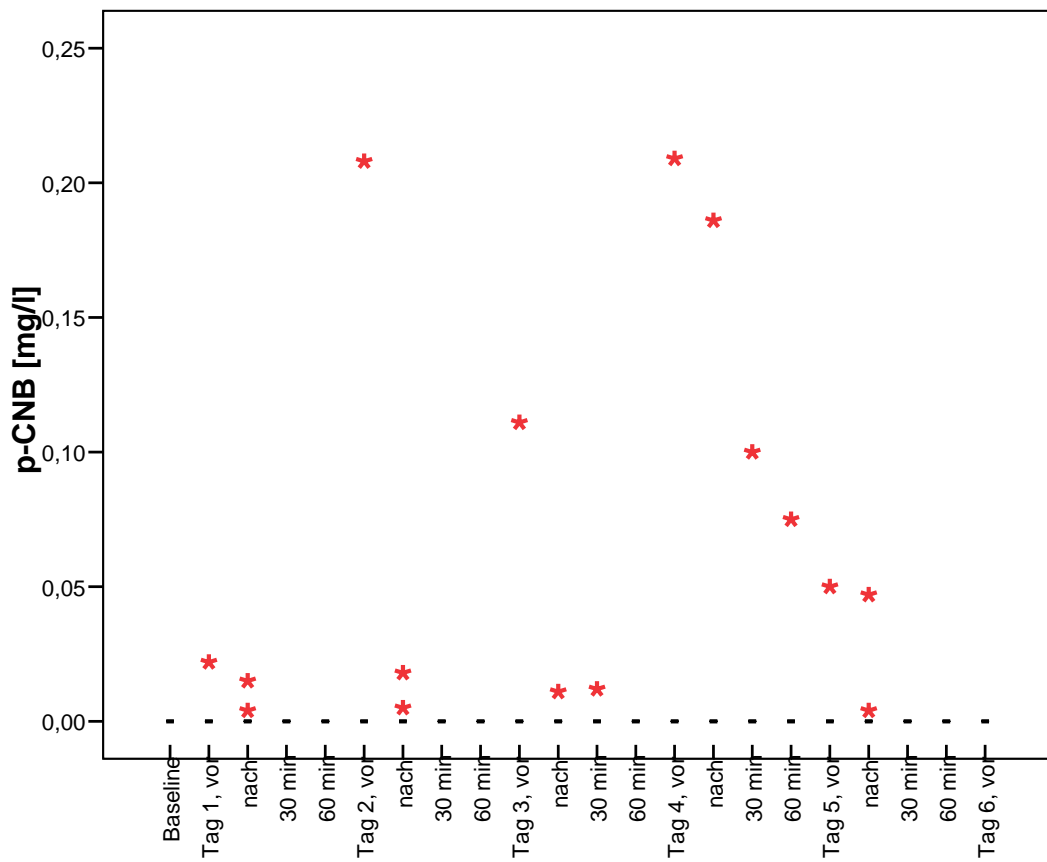


Abb. 4: *p-CNB im Speichel in der Octenisept-Kontrollgruppe (Einzelmesswerte ohne Ausreißer und Extremwerte, Mediane zu allen Zeitpunkten 0)*

Zeitpunkte der Probenentnahme am Morgen: vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung

Tabelle 13: p-CNB im Speichel (mg/l) in der CHD-Gruppe (Median, 25 % Perzentil, 75 % Perzentil, Mittelwert, STBW, Minimum, Maximum)

Tag	Probenzeitpunkt	Anzahl n	Median	25 % Perz.	75 % Perz.	MW	STBW	Min.	Max.
0	Baseline	21	0	0	0	0	0	0	0
1	vor	21	0	0	0	0,001	0,005	0	0,025
	nach	21	0	0	0	0,002	0,010	0	0,048
	30 min	20	0	0	0	0,003	0,014	0	0,061
	60 min	20	0	0	0	0	0	0	0
2	vor	18	0	0	0	0,002	0,005	0	0,020
	nach	17	0	0	0	0	0	0	0
	30 min	17	0	0	0	0,002	0,009	0	0,041
	60 min	17	0	0	0	0	0	0	0
3	vor	19	0	0	0	0	0	0	0
	nach	19	0	0	0	0	0	0	0
	30 min	19	0	0	0	0	0	0	0
	60 min	19	0	0	0	0	0	0	0
4	vor	17	0	0	0	0,002	0,007	0	0,029
	nach	17	0	0	0	0,003	0,013	0	0,052
	30 min	18	0	0	0	0	0	0	0
	60 min	17	0	0	0	0,001	0,005	0	0,019
5	vor	16	0	0	0	0,004	0,013	0	0,050
	nach	16	0	0	0	0,002	0,007	0	0,029
	30 min	16	0	0	0	0	0	0	0
	60 min	16	0	0	0	0,003	0,014	0	0,055
6	vor	13	0	0	0	0	0	0	0

Zeitpunkte der Probenentnahme am Morgen: vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung

STBW = Standardabweichung, MW = Mittelwert

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,002 mg/l

Tabelle 14: p-CNB im Speichel (mg/l) in der Octenisept-Kontrollgruppe (Median, 25 % Perzentil, 75 % Perzentil, Mittelwert, STBW, Minimum, Maximum)

Tag	Probenzeitpunkt	Anzahl n	Median	25 % Perz.	75 % Perz.	MW	STBW	Min.	Max.
0	Baseline	18	0	0	0	0,001	0,005	0	0,023
1	vor	14	0	0	0	0,002	0,006	0	0,022
	nach	17	0	0	0	0,001	0,004	0	0,015
	30 min	18	0	0	0	0	0	0	0
	60 min	16	0	0	0	0	0	0	0
2	vor	17	0	0	0	0,012	0,050	0	0,208
	nach	18	0	0	0	0,001	0,004	0	0,018
	30 min	18	0	0	0	0,001	0,005	0	0,020
	60 min	18	0	0	0	0,001	0,005	0	0,021
3	vor	16	0	0	0	0,007	0,028	0	0,111
	nach	18	0	0	0	0,001	0,003	0	0,011
	30 min	18	0	0	0	0,001	0,003	0	0,012
	60 min	18	0	0	0	0,001	0,004	0	0,016
4	vor	15	0	0	0	0,015	0,054	0	0,209
	nach	15	0	0	0	0,013	0,048	0	0,186
	30 min	15	0	0	0	0,008	0,026	0	0,100
	60 min	13	0	0	0	0,007	0,021	0	0,075
5	vor	14	0	0	0	0,004	0,013	0	0,050
	nach	14	0	0	0	0,005	0,013	0	0,047
	30 min	13	0	0	0	0	0	0	0
	60 min	13	0	0	0	0	0	0	0
6	vor	13	0	0	0	0	0	0	0

Zeitpunkte der Probenentnahme am Morgen: vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung

STBW = Standardabweichung, MW = Mittelwert

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,002 mg/l

Tabelle 15: Ergebnisse der Untersuchung auf p-CNB im Speichel im direkten Vergleich beider Gruppen

p-CNB [mg/l]	CHD-Gruppe					Octenisept-Gruppe				
	N	Median	75 %	Bereich	pos. Befund	N	Median	75 %	Bereich	pos. Befund
gesamt	394	0	0	< NWG – 0,06	3,3 %	349	0	0	< NWG – 0,21	7,4 %
Baseline	21	0	0	< NWG	0 %	18	0	0	< NWG – 0,02	5,5 %
vor	104	0	0	< NWG – 0,05	6,6 %	89	0	0	< NWG – 0,21	7,9 %
nach	90	0	0	< NWG – 0,05	3,3 %	82	0	0	< NWG – 0,19	13,4 %
30 min	90	0	0	< NWG – 0,06	2,2 %	82	0	0	< NWG – 0,10	4,9 %
60 min	89	0	0	< NWG – 0,06	2,2 %	78	0	0	< NWG – 0,08	5,1 %

Bildung der Mittelwerte für Median und 75 % Perzentil nach Summation der Werte der Tage 1-5 („vor“ einschließlich Tag 6)
NWG: 0,002 mg/l

3.2.3 Serum

Es konnten insgesamt 764 Analysen (768/0,5 %) im Serum durchgeführt werden, davon entfielen auf die CHD-Gruppe 415 (417/0,5 %) und auf die Octenisept-Kontrollgruppe 349 (351/0,6 %) Untersuchungen (erwartete Zahl/Fehlwertquote).

3.2.3.1 CHD

Sowohl in der Behandlungs- als auch in der Kontrollgruppe wurde in keiner Serumprobe CHD nachgewiesen.

3.2.3.2 p-CA

Nur für einen Probanden der CHD-Gruppe wurde in den Proben zum Zeitpunkt vor Spülung an den Tagen 4 und 5 ein Nachweis von p-CA im Serum erbracht (0,05/0,03 mg/l). Sämtliche Proben der Octenisept-Kontrollgruppe blieben ohne Nachweis von p-CA im Serum.

3.2.3.3 p-CNB

Für den unter 3.2.2.2. genannten Patienten der CHD-Gruppe wurde ebenfalls zum Zeitpunkt vor Spülung an den Tagen 4 und 5 p-CNB in Höhe von 0,012 bzw. 0,003 mg/l nachgewiesen. In den Proben der Kontrollgruppe konnte dagegen im Serum kein p-CNB-Nachweis erbracht werden.

3.2.4 Urin

Es konnten insgesamt 765 (768/0,4 %) Analysen durchgeführt werden, 417 (417/0,0 %) in der CHD-Gruppe und 348 (351/0,9 %) in der Octenisept-Kontrollgruppe (erwartete Zahl/Fehlwertquote).

3.2.4.1 CHD

Sowohl in der CHD- als auch Kontrollgruppe wurde in keiner Urinprobe Chlorhexidin nachgewiesen.

3.2.4.2 p-CA

Sowohl in der CHD- als auch Kontrollgruppe wurde in keiner Urinprobe p-CA nachgewiesen.

3.2.4.3 p-CNB

Sowohl in der CHD- als auch Kontrollgruppe wurde in keiner Urinprobe p-CNB nachgewiesen.

4 Diskussion

4.1 Methodenkritik

Um der Frage der Sicherheit der CHD-Anwendung nachzugehen, wurde als Modell die antiseptische Mundspülung gewählt, da eine Resorption über Schleimhäute wahrscheinlicher stattfindet als z.B. bei Applikation von CHD auf der Haut. Ein weiterer Grund für die Wahl des Vorgehens lag darin, dass es sich bei der antiseptischen Mundspülung um eine ergänzend zur normalen Mundhygiene häufig praktizierte Anwendung im häuslichen Bereich handelt, die nicht überwacht werden kann und deshalb sicher sein muss. Durch Verschlucken von Spüllösung kann zudem ein zusätzlicher Resorptionsmechanismus über die Schleimhäute des Gastrointestinaltraktes bestehen.

Nach bisherigen Studien und klinischen Erfahrungen sollte die Teilnahme an der Studie selbst kein Gefährdungspotential für die Patienten darstellen, wie es z.B. die invasive Anwendung in Körperhöhlen oder über Kathetermaterialien mit sich bringen kann.

Die Konzentration der eingesetzten CHD-Mundspüllösung wurde mit 0,2 % Chlorhexidindigluconatlösung gewählt, da dies eine klinisch übliche und vor allem auch im häuslichen Bereich häufig zur Anwendung kommende Darreichungsform darstellt. In der Gelben Liste 2009 werden 14 Chlorhexidindigluconat-Zubereitungen für den Mundraum von 9 Anbieterfirmen aufgeführt, wobei die überwiegende Zahl der freiverkäuflichen Produkte eine Konzentration von 0,2 % oder höher aufweist (10 von 14). Darunter befinden sich auch 3 Gele mit einem Gehalt von 1 % CHD. Nach Angaben eines Herstellers soll das Gel wie eine Zahncreme 2-3mal täglich für 2 min zum Bürsten von Zähnen und Zahnfleisch mit einer Anwendungsdauer über 4 bis 10 Wochen hintereinander eingesetzt werden können (Hager & Werken GmbH 2005). Das überschreitet die in dieser Studie zur Anwendung gebrachte Dosierung bei weitem. Für 0,1 und 0,2 %ige CHD-Mundspülungen wird allgemein die 2-3x tägliche Anwendung von 10 bis 15 ml Lösung über die Spüldauer von 1 min empfohlen (Deutscher Arzneimittel-Codex 2003).

Unter Berücksichtigung der differenten Dosierungsempfehlungen wurde im Studienprotokoll eine 3x tägliche Anwendung von 15 ml 0,2 %iger CHD-Lösung über die Spüldauer von 0,5 min festgelegt.

Die Untersuchungen wurden an 42 Probanden durchgeführt, die sich aufgrund verschiedenster Erkrankungen des stomatognathen Systems einer stationären Therapie unterziehen mussten. In der Geschlechtsverteilung auf die Gruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ($p=0,21$) (Tab. A12). Da in der CHD-Gruppe 11 von 23 Patienten der Altersgruppe bis 40 Jahre zuzuordnen waren, aber nur 5 von 19 Patienten in der Octenisept-Kontrollgruppe, ergab sich ein signifikanter Unterschied in der Altersgruppenverteilung auf die Gruppen ($p=0,0012$) (Tab. A11). In beiden Gruppen war aber in jeder Altersgruppe (bis 20, bis 30,..., bis 80 Jahre) mindestens ein Patient vertreten (Tab. A10).

Von den 42 an der Studie teilnehmenden Patienten wurden 31 (72,1 %) in verschiedenem Umfang operativ versorgt (21 Patienten der CHD-Gruppe, 10 Patienten der Kontrollgruppe). Die übrigen Patienten unterzogen sich einer konservativen Therapie, so dass Unterschiede hinsichtlich des Vorhandenseins und der Größe von Wundflächen vorlagen (Tab. A4). Da eine Resorption von CHD beim Vorhandensein von Wundflächen wahrscheinlicher ist als bei rein konservativer Therapie, kann diese Ungleichverteilung der Patienten auf die Gruppen für die Aussage der Studie sogar als vorteilhaft angesehen werden.

Bei der operativen Therapie wurde immer ein primärer Wundverschluss angestrebt. Eine eingehende Dokumentation oder weitergehende Klassifizierung über das Ausmaß der Wundflächen wurde bei unseren Patienten jedoch nicht vorgenommen. Diese Kenntnisse wären im Falle einer nachgewiesenen Resorption bei der Interpretation der Werte nützlich gewesen.

Beim Vorhandensein von Blut kommt es zu einer nachgewiesenen Beeinträchtigung der Wirksamkeit von CHD durch teilweise Adsorption (Honigman 1983). Postoperative Blutungen und eine damit verbundene Adsorption des CHD könnten damit auch in dieser Studie Einfluss auf die Höhe des ungebundenen CHD gehabt haben, das für eine Resorption aus der Mundhöhle zur Verfügung steht. Diesem Umstand wurde mit Ansetzung einer Studiendauer von 6 postoperativen Tagen Rechnung getragen. Physiologisch wird die Blutstillung durch die primäre Hämostase (Vasokonstriktion und Thrombozytenaggregation) innerhalb von 1-3 min eingeleitet und durch die parallel ablaufende sekundäre Hämostase (Blutgerinnung) innerhalb von 10 min mit Bildung eines Thrombus abgeschlossen (Klinke et al. 2005). Aktive Blutungen liegen im Regelfall dann nicht mehr vor. Dennoch kann es

postoperativ durch Retraktion des entstandenen Thrombus zur Freisetzung von Erythrozyten kommen, die den Speichel blutig tingiert erscheinen lassen. Das konnte auch bei den Proben der Patienten in dieser Studie in Einzelfällen allerdings nur am Tag 1 beobachtet werden. Eine Beeinflussung der Resorption sollte aber aus den beschriebenen Gründen ab dem 1. postoperativen Tag nicht mehr auftreten.

Verschiedene Parameter wurden nur in Hinblick auf den möglichen Nachweis einer Resorption erhoben. Da diese auf die Höhe der Analysate im Speichel selbst keinen Einfluss haben und eine Resorption nicht nachgewiesen werden konnte, erübrigt sich daher eine umfassende Betrachtung. Auf die Körpermasse der Probanden und Aussagen zur Nierenfunktion (Creatinin, Urinmenge, spezifisches Gewicht des Urins) wird daher im Folgenden nur kurz eingegangen, alle erhobenen Parameter sind aber in Tabelle A2 im Anhang abgebildet.

Die erhobenen Werte für den Body Mass Index (BMI) lagen mit durchschnittlich 26,4 (min. 19, max. 42) im Bereich eines leichten Übergewichts (Übergewicht: BMI 26-30). Für die Abschätzung der Nierenfunktion der Patienten wurde als wichtigste Größe die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) berechnet. In unserem Patientengut wurde die GFR im Mittel mit 109 ml/min bestimmt (normale GFR: >90 ml/min), nur bei zwei Patienten wurde mit 55 bzw. 41 ml/min eine gering- bis mittelgradige Einschränkung der Nierenfunktion gesehen. Die GFR wurde rechnerisch über die 1973 entwickelte Näherungsformel nach Cockcroft-Gault aus dem endogenen Marker Kreatinin im Serum bestimmt (Thomas und Thomas 2009). Dieses im klinischen Alltag praktizierte Vorgehen wird in der Literatur bei nierengesunden Patienten allerdings als nicht sensitiv genug beurteilt und die Bestimmung über den 24h-Sammelurin oder den endogenen Marker Cystatin C als aussagefähiger angesehen (Rossing et al. 2006). Der Einsatz dieser genannten Methoden wäre aber aus logistischen bzw. Kostengründen dieser Studie nicht angemessen gewesen, da die GFR des einzelnen Patienten überhaupt nur bei einer nachgewiesenen Resorption von Bedeutung für die Interpretation dieser Werte gewesen wären.

Durch Akutaufnahmen von Patienten, die zeitnah in den Abend- oder Nachtstunden operativ versorgt werden mussten, ergaben sich Abweichungen vom vorab erstellten Studienprotokoll (Erhebung von pH-Wert und Papillen-Blutungs-Index/PBI vor

Aufnahme der Spülung), so dass Fehlwert-bedingt die Merkmale pH-Wert und PBI nicht in die Auswertung einbezogen werden können. Die bei einem Teil der Patienten vor Spülung erhobenen pH-Werte bewegten sich im Bereich zwischen 5,3-7,0 (Tab. A2). Der für die Wirkung von CHD optimale pH-Wert wird zwischen 5-8 angegeben, wobei der Neutralbereich am günstigsten ist (Kramer und Roth 2008). Das auch bei den nicht darauf untersuchten Patienten adäquate pH-Werte gefunden worden wären, ist anzunehmen, da in der Literatur für den Ruhespeichel pH-Werte zwischen 6,5-7,0 angegeben werden und auch der stimulierte Speichel sich mit Werten zwischen 7,0-7,8 im Bereich der angegebenen optimalen Wirksamkeit von CHD befindet (Nikiforuk 1985).

Der PBI sollte als Marker für eine vorbestehende entzündliche Zahnfleischerkrankung herangezogen werden und wäre wie die Nierenfunktion nur im Falle einer nachgewiesenen Resorption für die Diskussion der Werte von Bedeutung gewesen.

Bei keinem Patienten lagen Erfahrungen hinsichtlich früherer Teilnahmen an Studien vor. Auch wenn vorab eine umfassende Aufklärung über das Studienprotokoll, den Zweck und die Wichtigkeit der korrekten Durchführung erfolgte und nur freiwillige Probanden in die Studie eingeschlossen wurden, gestalteten sich Compliance und Kompetenz in der Einhaltung des Studienplanes doch unterschiedlich in Abhängigkeit von Alter, Intellekt und Einsichtsfähigkeit in die allgemein üblichen und notwendigen Therapiemaßnahmen.

Da nur die morgendliche Spülung überwacht werden konnte, war die korrekte Durchführung der zwei weiteren Spülungen (Einhaltung von anzuwendender Menge der Spülflüssigkeit und Spüldauer) im Tagesverlauf in höchstem Maße von der Compliance abhängig. Es ist durchaus wahrscheinlich, dass einzelne Patienten Modifikationen der Anwendung vorgenommen haben. Da die Flaschen mit der Spüllösung alle 2 d durch den Prüfarzt ausgetauscht wurden (Verbrauch 3x15 ml, Inhalt 90 ml), wäre ein erhöhter Verbrauch an Spülflüssigkeit aufgefallen. Die Restlösung in der Flasche wurde aber nicht protokolliert, so dass keine Aussagen zu einer eventuellen Reduzierung der angewendeten Spülmenge gemacht werden können.

Kurze Krankenhausverweilzeiten wirkten sich unmittelbar auf die Teilnahmedauer der einzelnen Patienten an der Studie (85,1 % der erwarteten Studientage in der CHD-Gruppe und 88 % in der Octenisept-Kontrollgruppe) und damit auf die Zahl der zur Analytik zur Verfügung stehenden Proben aus (Tab. A2). Die entsprechend dem Studienprotokoll zu erwartende Zahl von 2772 Analysen im Speichel (42 Patienten x 22 Proben x 3 Analysen je Probe) musste in Bezug auf die erreichten Studientage in den beiden Gruppen (139 Tage CHD-Gruppe/117 Tage Octenisept-Gruppe) auf 2694 zu erwartende Analysen korrigiert werden. Tatsächlich durchgeführt wurden im Speichel insgesamt 2256 Analysen (83,6 %).

Für die Fehlwertquote von 16,4 % sind im wesentlichen zwei Gründe anzuführen:

Bei einigen Speichelproben war das Gesamtvolumen der abgegebenen Speichelmenge so gering, das nicht genügend Material für alle analytisch notwendigen Schritte zum Nachweis von CHD, p-CA und p-CNB zur Verfügung stand. Daraus resultierten Differenzen in der Zahl der auf CHD vs. p-CA/p-CNB analysierten Proben in beiden Gruppen (412 vs. 394/2,9 % CHD-Gruppe; 358 vs. 349/1,7 % Octenisept-Kontrollgruppe). Dieser Umstand wäre eventuell vermeidbar gewesen, wenn eine längere Sammeldauer angesetzt worden wäre. Die Probanden sollten vor Gewinnung der Speichelprobe 1 min nicht schlucken. In dieser Zeitspanne kommt es bei Normsalivation zur interindividuellen Bildung von 1,0-3,5 ml stimuliertem Speichel, wobei die Fließraten vielfältigen Einflüssen unterliegen. Bei Gewinnung der Speichelprobe verbleibt hiervon eine Restspeichelmenge von 0,8-1 ml als die Schleimhäute benetzend im Mund zurück (Stratmann 2000), so dass bei der von uns angesetzten Sammeldauer von 1 min zwischen 0,2-2,7 ml Speichel gewonnen werden konnten. Für sialometrische Untersuchungen zur stimulierten Speichelproduktion wird daher allgemein eine Stimulations- bzw. Sammeldauer von 2-4 min empfohlen (Stratmann 2000), womit sich in dieser Studie vermutlich 4,6 % der entstandenen Fehlwerte im Speichel hätten vermeiden lassen.

Die verbleibenden Fehlwerte im Speichel sind auf von den Probanden überwiegend zu den Zeitpunkten 30 und 60 min nach Spülung vergessene Probenentnahmen zurückzuführen, da sich die Überwachung der Speichelgewinnung bei laufendem Stationsbetrieb zum Teil mit deutlichen Einschränkungen gestaltete.

Dagegen ergab sich bei der unmittelbar im Verantwortungsbereich des Prüfarztes

liegenden Gewinnung der Proben von Serum und Urin eine Fehlwertquote von nur 0,5 % (Serum) bzw. 0,4 % (Urin).

Für die statistische Auswertung standen aber eine ausreichende Anzahl von Analysen zur Verfügung. Die Gruppengröße in der Analytik des Speichels betrug zu jedem Untersuchungszeitpunkt mindestens 78 bis maximal 109 Proben (Tab. 16).

Tabelle 16: *Zahl der Analysen auf CHD, p-CA und p-CNB im Speichel im Vergleich beider Gruppen (Baseline, vor, nach, 30 min, 60 min), Anzahl [N]*

	CHD-Gruppe			Octenisept-Kontrolle		
	CHD	p-CA	p-CNB	CHD	p-CA	p-CNB
Baseline	22	21	21	18	18	18
vor	109	104	104	91	89	89
nach	95	90	90	83	82	82
30 min	94	90	90	85	82	82
60 min	92	89	89	81	78	78
gesamt	412	394	394	358	349	349

Zeitpunkte der Probenentnahme: Baseline Tag 0 entsprechend; vor Spülung, direkt nach Spülung, 30 min nach Spülung, 60 min nach Spülung an den Tagen 1-5 („vor“ einschließlich Tag 6)

4.2 CHD im Speichel

Bei klinisch üblicher Anwendung der Mundspüllösung konnte in der CHD-Gruppe nach Aufnahme der antiseptischen Mundspülung mit 0,2 %iger CHD-Lösung eine vom Zeitpunkt zur Spülung und der Studiendauer abhängige signifikante Zunahme der CHD-Konzentration im Speichel festgestellt werden. Die Anwendung eines CHD-haltigen Präparates vor Studienbeginn konnte ausgeschlossen werden, da in dieser Gruppe die Baseline-Untersuchung auf CHD in allen Proben negativ blieb.

In der Octenisept-Kontrollgruppe wurde zu keinem Zeitpunkt der Studie CHD im Speichel nachgewiesen, was als Beweis für die Einhaltung des Ausschlusskriteriums

„Vorbestehende Chlorhexidinbehandlung“ und auch für die Nichtanwendung CHD-haltiger Lösungen im Studienverlauf anzusehen ist.

In der Baseline-Untersuchung bestand daher zwischen den Gruppen statistisch kein Unterschied. Mit Beginn der Mundspülung wurde ein zu erwartender Anstieg von CHD im Speichel in der CHD-Gruppe beobachtet, der rechnerisch durch Bestimmung der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC; area under curve) erfasst und übersichtlich dargestellt werden kann und zugleich auch Grundlage für den statistischen Vergleich beider Gruppen ist (Tab. 17) (Abb.5).

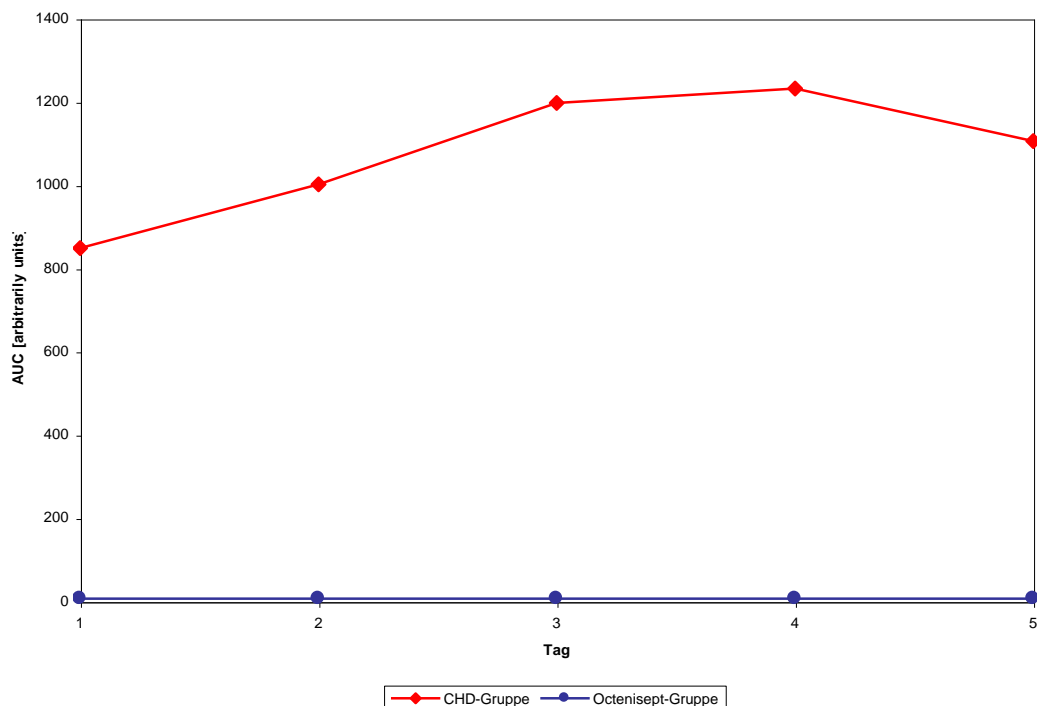


Abb. 5: AUC für CHD im Speichel im Vergleich beider Gruppen

Mit Beginn der Anwendung der Mundspülung wird erwartungsgemäß CHD in statistisch signifikanter Höhe im Speichel der CHD-Gruppe nachgewiesen ($p < 0,0001$) (Tab. 17).

Tabelle 17: Flächenintegrale (AUC) für CHD im Speichel, Signifikanzen für CHD-Nachweis im Speichel im Vergleich zur Kontrollgruppe

Tag	Kennzahl	CHD-Gruppe	Kontrolle	Signifikanz (p)
0	Ausgangswert	0	0	-
1	Flächenintegral 1	849,29	0	<0,0001
2	Flächenintegral 2	1002,33	0	<0,0001
3	Flächenintegral 3	1197,95	0	<0,0001
4	Flächenintegral 4	1232,19	0	<0,0001
5	Flächenintegral 5	1105,61	0	<0,0001

AUC: Area under curve [arbitrarily units] der Tage 1-5

In der CHD-Gruppe wurde bereits nach erster Anwendung der Mundspüllösung am Folgetag vor erneuter Spülung eine CHD-Konzentration im Median von 1,6 mg/l gemessen (Tab. 8). Diese als remanente Wirkung von CHD bekannte Eigenschaft lässt sich auf die hohe Affinität zu verschiedenen oralen Oberflächen, wie Schleimhaut, Zähne und Plaque sowie die Bindung an Proteine, Bakterien und extrazelluläre Polysaccharide bakteriellen Ursprungs zurückführen (Bonesvoll 1977, Gjermo 1978). Über den Mechanismus der Bindung von Chlorhexidin-Molekülen an die anionischen Makromoleküle der oralen Oberfläche werden nach und nach alle Retentionsstellen besetzt und nur zeitverzögert wieder freigegeben. Mit zunehmender Studiendauer und absolvierten Spülungen nehmen daher die für eine Bindung zur Verfügung stehenden Retentionsstellen ab, was zu einem in unseren Ergebnissen nachweisbaren Anstieg des unmittelbar nach Spülung gemessenen CHD im Speichel führte. So konnten unmittelbar nach Spülung nicht nur die erwartungsgemäß höchsten Messwerte für CHD ermittelt werden, sondern auch ansteigende Mediane von initial 8,7 mg/l am Tag 1 auf 29,4 bzw. 27,8 mg/l an den Tagen 4 und 5 gesehen werden. Innerhalb 30 min nach Spülung fiel die Konzentration von CHD im Median auf 4,7-7,4 mg/l ab. 60 min nach Spülung lag die Konzentration bei 1,6-4,9 mg/l CHD (Tag 1-5). Zum Zeitpunkt 0, der durch eine mindestens 12stündige Latenzzeit zur vorherigen Spülung gekennzeichnet war, wurden die Mediane für CDH im Speichel zwischen 1,6 mg/l an Tag 1 ansteigend bis auf max. 3,1 mg/l an Tag 5

ermittelt und unterschieden sich damit nicht wesentlich von den 60 min nach Spülung erhobenen Messwerten (Abb. 6). Das spricht für eine Stabilität von CHD in der Mundhöhle über einen Zeitraum von 12 h und übertrifft damit den in früheren Studien mit 9 h angegebenen Wert (Tsuchiya et al. 1999).

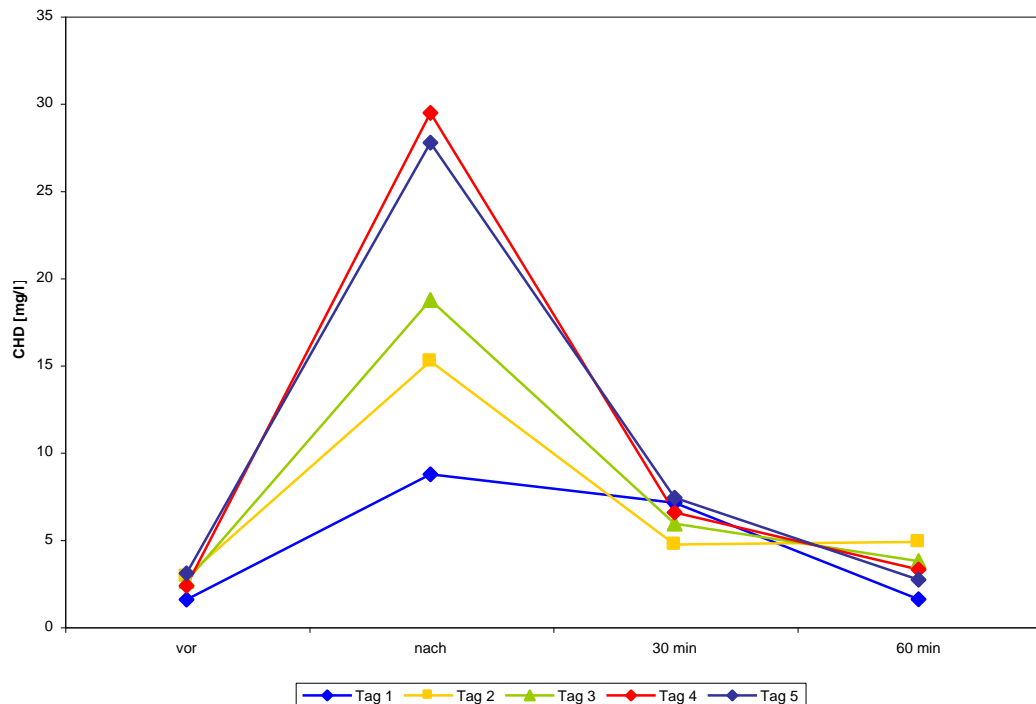


Abb. 6: CHD im Speichel in der CHD-Gruppe an den Tagen 1-5 im zeitlichen Bezug zur Spülung

Zeitpunkte: vor Spülung, unmittelbar nach Spülung, 30 und 60 min nach Spülung

Mit jedem Spülvorgang wurden 30 mg CHD in 15 ml Lösung zugeführt. Nach Greenstein verbleiben nach dem Auspeien ca. 4 % (1,2 mg) der Lösung über Absorption und Verschlucken im Körper (Greenstein et al. 1986). Die Patienten sollten vor Gewinnung der Speichelprobe 1 min nicht schlucken, so dass in dieser Zeitspanne unter vorausgesetzten Bedingungen der Normsalivation 1,0-3,5 ml stimulierter Speichel gebildet wurde (Stratmann 2000). Die resultierende Konzentration des CHD in der Speichelprobe ist damit abhängig vom Verdünnungseffekt der individuell gebildeten Speichelmenge, so dass unmittelbar nach der ersten antiseptischen Mundspülung rechnerisch eine Gesamt-CHD-Konzentration im Speichel zwischen 343-1200 mg/l CHD (in 3,5 bzw. 1 ml Speichel) erwartet werden konnte. Der Anteil des CHD, der in unserer Studie

gemessen wurde, liegt aber deutlich niedriger, da in der Analytik nur das CHD abgebildet wird, das nicht an Retentionsstellen gebunden ist. In einer Studie von Musteata wurden bei Spülung mit 10 ml einer 0,1 %igen CHD-Lösung die Gesamt-CHD-Konzentrationen zu verschiedenen Zeitpunkten bis 8 h nach Spülung ermittelt. Die Konzentration fiel dabei exponentiell von initial 295 mg/l (0,25 h) innerhalb 45 min auf 39,93 mg/l (1,0 h) ab. 4 bis 8 h nach Spülung wurden nur noch Konzentrationen von 12,8 mg/l bis 2,0 mg/l gemessen (Musteata und Pawliszyn 2005). Dieser schnelle Konzentrationsabfall wurde auch in anderen Studien so gesehen (Tsuchiya et al. 1999) und deckt sich mit den Ergebnissen dieser Untersuchung (Abb. 7).

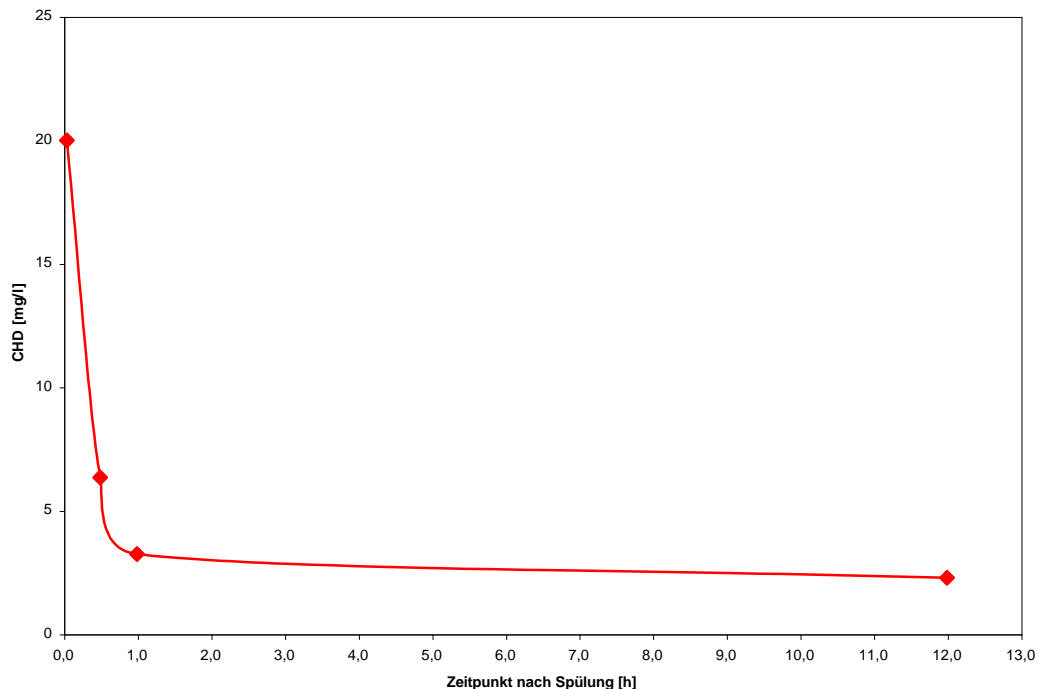


Abb. 7: *CHD im Speichel in der CHD-Gruppe (Mittelwerte der Mediane, interpolierter Kurvenverlauf)*

Zeitpunkte: 0 (den Proben unmittelbar nach Spülung entsprechend), 30 und 60 min nach Spülung, ca. 12 h nach letzter Spülung (entspricht den Proben unmittelbar vor morgendlicher Spülung, die in zeitlicher Latenz von ca. 12 h zur vorhergehenden abendlichen Spülung stehen)

Der von Musteata initial gemessene Wert von 295 mg/l liegt innerhalb der rechnerisch zu erwartenden Konzentration von 114-400 mg/l CHD, wenn die angegebenen Anwendung von 10 mg CHD in 10 ml Spüllösung als Berechnungsgrundlage herangezogen wird. Aus den gemessenen Werten für das

Gesamt-CHD wurde rechnerisch der Anteil an freiem CHD bestimmt. Dieses zeigte im Unterschied zum Gesamt-CHD bis 1,5 h nach Spülung relativ konstante Werte, die mit 0,64-0,72 mg/l angegeben wurden. Ab dem Zeitpunkt 2 h nach Spülung wurde ein langsamer und kontinuierlicher Abfall über 0,34 mg/l (4,0 h) bis 0,14 mg/l (8 h) angegeben (Musteata und Pawliszyn 2005). Damit lag der rechnerisch ermittelte Anteil des freien CHD am Gesamt-CHD in der ersten Stunde bei <2 % (0,2-1,8 %) und stieg auf maximal 7 % nach 8 h an. Diese Stabilität des freien CHD in den ersten Stunden wurde bereits in Untersuchungen von Tsuchiya gesehen und spricht dafür, dass die Mundhöhle wie ein CHD- Reservoir wirkt (Tsuchiya et al. 1999).

In unserer Studie lag die CHD-Konzentration unmittelbar nach Spülung am Tag 1 bei 8,7 mg/l, das entspricht einem Anteil von 0,73-2,54 % am berechneten Gesamt-CHD-Gehalt, der mit einer Spülmenge von 15 ml 0,2 %iger CHD-Lösung zugeführt wird (343-1200 mg/l). Damit kommen beide Studien zu dem Ergebnis, dass ca. 2 % des zugeführten CHD unmittelbar nach Spülung frei im Speichel vorliegen (Musteata und Pawliszyn 2005).

In der Mundhöhle ist keine Unterscheidung zwischen residenter - und Infektionsflora erforderlich, da im Gegensatz zu anderen Körperregionen der überwiegende Anteil infektiöser bzw. entzündlicher Prozesse durch Vertreter der Standortflora ausgelöst wird (Slots 1984). Diese Mikroorganismen werden als potentiell pathogen bezeichnet. Neben den immer vorzufindenden alpha-hämolysierenden Streptokokken (u.a. *Streptococcus mutans*), sind vor allem die beta-hämolysierenden Streptokokken, *Hämophilus influenzae*, Enterobakterien, *Staph. aureus* und *Candida albicans* bei 10-80 % aller Erwachsenen in der Mundhöhle nachweisbar (Wunderer 1986).

Zur Erzielung einer bakteriostatischen Wirkung werden in der Literatur für das CHD Konzentrationen von > 1 mg/l als notwendig angesehen (Honigman 1983), wobei die Mittlere Hemmkonzentration (MHK) der Mikroorganismen hohe Speziesdifferenzen aufweist. Die Effektivität von CHD ist gegen grampositive Bakterien deutlich höher (MHK 0,5-64 mg/l) als gegen gramnegative (MHK 1-500 mg/l) (Kramer und Wallhäußer 1993). So wird die MHK für *S. mutans* mit 0,19 mg/l, für beta-hämolysierende Streptokokken mit 0,29 mg/l und für *Staph. aureus* mit 1,17 mg/l angegeben. Enterobakterien und *Candida albicans* als Hefe erfordern dagegen bereits

CHD-Konzentrationen von 8,33 bzw. 11,0 mg/l (Engelhard Arzneimittel 2003).

In dieser Studie wurden nach Beginn der Spülungen zu jedem Zeitpunkt, insbesondere auch nach mindestens 12stündiger Latenz zur vorhergehenden Spülung, Konzentrationen von minimal 1,6 mg/l festgestellt, die für eine bakteriostatische Wirkung auf Strepto- und Staphylokokken ausreichend sind. Unmittelbar nach Spülung werden mit Konzentrationen von 8,7-29,4 mg/l alle genannten Mikroorganismen mit Ausnahme von *Candida albicans* am 1. Tag zuverlässig gehemmt. Damit ist von dem in unserer Studie durchgeführten Therapieregime von 3 Spülungen je 15 ml 0,2 %iger CHD Lösung/d eine über 24 h durchgehende bakteriostatische Wirkung auf Strepto- und Staphylokokken, nicht aber z.B. auf Enterobakterien und *Candida albicans* zu erwarten.

Die Maximalwerte lagen im Bereich von 27-97 mg/l CHD im Speichel, Extremwerte wurden bei 3 Patienten unmittelbar nach Spülung mit 235 mg/l und zweimal mit 179 mg/l gemessen. Akut toxikologisch bedenkliche Konzentrationen wurden damit in dieser Studie nicht nachgewiesen. Die mittlere letale Dosis LD 50 (oral, Ratte) wird mit 2000 mg/kg Körpergewicht angegeben und wird damit bei einem 70 kg schweren Menschen nach oraler Verabreichung von 140 g CHD erreicht (Alfa Aesar 2009). Mit jeder Spülung werden wie berechnet ca. 2,4 mg CHD incorporiert.

Für Chlorhexidindigluconat ist durch den „Gemeinsamen FAO/WHO-Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe“ kein ADI-Wert festgelegt (JECFA). Das Bundesinstitut für Risikobewertung führt CHD nur in der „Verordnung über Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln“ im Verzeichnis der pharmakologischen Stoffe auf, für die keine Höchstmengen für Rückstände festgelegt sind, mit der Einschränkung, dass CHD „Nur zur äußerlichen Anwendung“ zugelassen ist (Bundesinstitut für Risikobewertung 2002).

4.3 p-CA im Speichel

In der Analytik der Speichelproben wurde besonderes Augenmerk auf den Nachweis von p-CA gelegt, das nach Literaturrecherchen bisher in keiner Untersuchung im Speichel nachgewiesen wurde. Allgemein gilt, dass für halogenhaltige Verbindungen (wie p-CA) die GC-ECD die empfindlichste Analysenmethode der Gaschromatographie darstellt und als Standardmethode im Englischen Arzneibuch festgelegt ist (British Pharmacopoeia 2001). Im Fall des p-CA ist sie jedoch eine ausgesprochen unempfindliche Methode (Wittke et al. 2001). Mit den vorab durchgeführten Untersuchungen konnte diese Aussage von Wittke durch die gefundene hohe Nachweisgrenze von 0,77 mg/l bestätigt werden. Damit hätte der Einsatz dieser Methode auch in der vorliegenden Studie keinen p-CA-Nachweis im Speichel erbracht, da der höchste gemessene Wert mit 0,55 mg/l noch deutlich unterhalb dieser Nachweisgrenze liegt.

In den vorangestellten eigenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass mit Einsatz des Flammenionisationsverfahrens (GC-FID) die Nachweisgrenze auf 0,037 mg/l gesenkt werden kann und dieses Verfahren damit um den Faktor 21 empfindlicher ist als die GC-ECD. Das als Grundlage für die vorliegende Arbeit aber entscheidende Ergebnis war der Nachweis, dass für einen empfindlichen p-CA-Nachweis durch GC-ECD eine Derivatisierung erforderlich ist. Damit kann die Nachweisgrenze auf 0,003 mg/l gesenkt werden.

Damit steht erstmals ein Analysenverfahren für p-CA zur Verfügung, das noch einmal um das 12-Fache empfindlicher ist als die GC-FID und sogar 259-Fach empfindlicher ist als die bisherige Standardmethode GC-ECD.

Mit dieser Methode konnte sowohl in der CHD-Behandlungsgruppe als auch in der Octenisept-Kontrollgruppe p-CA in den Speichelproben nachgewiesen werden. In der Baseline-Untersuchung unterschieden sich die Gruppen jedoch statistisch nicht ($p=0,23$) (Tab. 18).

CHD-Gruppe:

Nach Aufnahme der Mundspülung mit CHD wurden in der Behandlungsgruppe statistisch signifikant höhere Werte für p-CA als in der Kontrollgruppe gemessenen (Tab. 18). Bei 95,7 % aller Patienten der CHD-Gruppe traten Werte auf und nur bei einem Patienten wurde in keiner der analysierten Proben ein p-CA-Nachweis

erbracht, wobei Berücksichtigung finden muss, dass dieser Patient aufgrund frühzeitiger stationärer Entlassung auch aus der Studie ausschied und nur 3 Proben untersucht werden konnten.

Bei der Erhebung der Baseline-Werte wurde bei keinem Patienten p-CA nachgewiesen. Aber schon am Tag 1 nach erster Mundspülung wiesen 7 Patienten p-CA Konzentrationen im Mittel von 0,014 mg/l auf. Nach Spülung steigerte sich bei diesen Patienten in 5 Fällen die p-CA Konzentration zum Teil deutlich (von 0,004 auf 0,064 mg/l; 0,003 auf 0,101 mg/l; 0,009 auf 0,310 mg/l), bei einem Patienten blieb die Konzentration konstant und bei einem Patienten wurde zum Zeitpunkt nach Spülung kein p-CA mehr nachgewiesen. In der gesamten Behandlungsgruppe wurden am Tag 1 nach Spülung 71 % aller Proben positiv getestet (15 von 21). Ähnliche Resultate wurden auch an den Folgetagen mit 70 % (12 von 17), 63 % (12 von 19) und 76 % (13 von 17) an Tag 4 gesehen. Nur am Tag 5 fiel der Anteil der unmittelbar nach Spülung positiv analysierten Proben auf 43 % ab (7 von 16).

Auch 30 und 60 min nach Spülung wurde noch in 27,8 bzw. 7,9 % aller Proben p-CA nachgewiesen, wobei allerdings ein deutlicher Abfall der gemessenen Konzentrationen zu beobachten war. Lag der Median zum Zeitpunkt nach Spülung zwischen 0,02-0,06 mg/l, wurde er zu den Zeitpunkten 30 und 60 min mit 0,00 mg/l berechnet und nur für den Zeitpunkt 30 min war noch der Mittelwert mit 0,01-0,04 mg/l erhöht (Tab. 12).

Hinweise auf eine Kumulation von p-CA im Studienverlauf ergaben sich im Unterschied zum Nachweis von CHD im Speichel nicht.

Zwischen der Spülung mit CHD und dem Nachweis von p-CA im Speichel besteht ein signifikanter Zusammenhang, der sich deutlich unter Betrachtung der Konzentrationsänderungen im zeitlichen Verlauf zur Spülung zeigt (Abb.2) und sich rechnerisch mit Bestimmung der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) erfassen und statistisch beurteilen lässt (Tab. 18) (Abb.8).

Tabelle 18: *Flächenintegrale (AUC) für p-CA im Speichel, Signifikanzen für p-CA-Nachweis im Speichel im Vergleich zur Kontrollgruppe*

Tag	Kennzahl	CHD-Gruppe	Kontrolle	Signifikanz (p)
0	Ausgangswert	0	0,01	0,229
1	Flächenintegral 1	1,29	0,01	<0,0001
2	Flächenintegral 2	1,16	0,03	0,0001
3	Flächenintegral 3	1,62	0,14	0,0046
4	Flächenintegral 4	3,04	0,03	0,0003
5	Flächenintegral 5	1,69	0,03	0,0038

Ausgangswert: Signifikanztest der p-CA-Nachweise in beiden Gruppen mittels Exakter Test nach Fisher

AUC: Area under curve, [arbitrarily units] der Tage 1-5

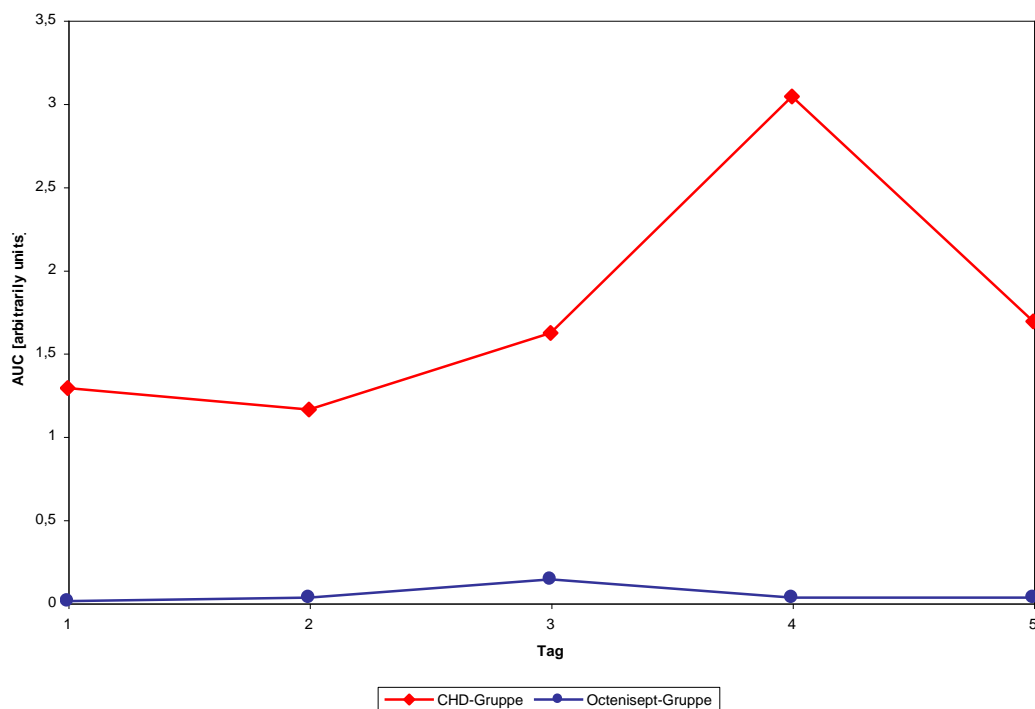


Abb. 8: AUC für p-CA im Speichel im Vergleich beider Gruppen

In handelsüblichen Spüllösungen darf p-CA in Konzentrationen bis maximal 0,25 mg/100 mg Chlorhexidindigluconat enthalten sein (Kohlbecker 1989). Ein p-CA Gehalt von $\leq 0,25\%$ wird auch vom Hersteller des CHD-Grundstoffes angegeben, der Ausgangsstoff für die in dieser Studie zur Anwendung gebrachte CHD-Lösung ist (Tab. A1) (BUFA 2003). In den Untersuchungen von Kohlbecker fanden sich bei 3 Präparaten verschiedener Hersteller Konzentrationen zwischen 0,024-0,121 mg p-CA/100 mg Chlorhexidindigluconat (1,7–8,5 mmol p-CA/mol Chlorhexidindigluconat), die in Abhängigkeit von Lagerungsdauer und insbesondere Temperatur eine weitere Zunahme zeigten (Kohlbecker 1989).

Untersuchungen der in dieser Studie eingesetzten CHD-Lösung ergaben für das p-CA einen Ausgangswert von 0,075 mg/100 mg Chlorhexidindigluconat (5,29 mmol p-CA/mol Chlorhexidindigluconat), der sich damit unter dem zulässigen Grenzwert und im Bereich der in den Untersuchungen von Kohlbecker nachgewiesenen Ausgangskonzentrationen befand. Bereits nach einer Dauer von nur 3 Wochen unter den auch im häuslichen Bereich üblichen Lagerungsbedingungen (Lagerung im Hellen bei 20-25 °C) war ein deutlicher Anstieg der

p-CA-Konzentration auf fast das Doppelte zu verzeichnen (0,13 mg p-CA/100 mg Chlorhexidindigluconat). Nach einer Lagerungsdauer von 9 Wochen wurde mit 0,23 mg p-CA/100 mg Chlorhexidindigluconat eine Konzentration im Grenzwertbereich ermittelt (Abb. 9), was in den Untersuchungen von Kohlbecker erst nach 1,5 Jahren der Lagerung bei Raumtemperatur gesehen wurde; konkrete Zwischenmessdaten zum Vergleich werden in der Studie aber nicht angeführt (Kohlbecker 1989).

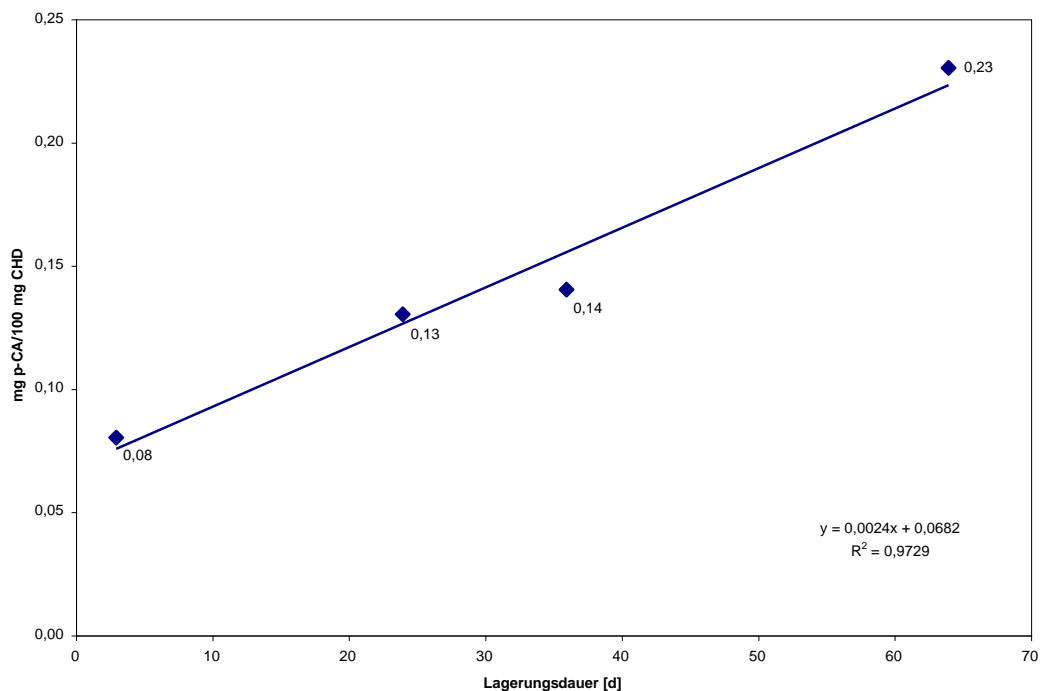


Abb. 9: *p-CA in der CHD-Mundspüllösung (lineare Regression)*

Untersuchungszeitpunkte: Tag 3, 24, 36 und 64 nach Herstellung der Lösung

Eine sichere Erklärung für diese erheblichen Unterschiede zwischen beiden Untersuchungen kann nicht gegeben werden. In beiden Studien erfolgte die Lagerung der Lösungen bei Raumtemperatur. Eine möglicherweise unterschiedliche Lichteinstrahlung hat nach den Untersuchungen von Kohlbecker keine relevanten Auswirkungen auf den Anstieg des p-CA. Zwischen der Lagerung im Dunkeln und im Hellen bei Raumtemperatur und sogar im direkten Sonnenlicht wurden nur geringe Unterschiede gefunden, was vermutlich durch eine Begrenzung der Lichteinwirkung durch die dunklen Glasflaschen bedingt ist (Kohlbecker 1989).

Analog zur Berechnung des CHD-Gehaltes je Spülung (siehe 4.2) kann auch für das p-CA eine maximal zugeführte p-CA Konzentration je Spülvorgang rechnerisch näherungsweise ermittelt werden. Bei der zu Studienbeginn bestimmten p-CA-Konzentration von 0,075 mg p-CA/100 mg Chlorhexidindigluconat in der angewendeten Spüllösung werden mit jeder Spülung maximal 0,023 mg p-CA/15 ml CHD-Lösung (0,2 %) aufgenommen. Da für p-CA keine Untersuchungen über die Kinetik im Rahmen von Mundspülungen bekannt sind, werden modellhaft die von Greenstein für das CHD publizierten Daten herangezogen (Greenstein et al. 1986). Nach dem Ausspeien wird ein verbleibender Anteil von ca. 4 % (0,9 µg) p-CA in der Mundhöhle angenommen, so dass im Speichel Konzentrationen von maximal 0,25-0,9 mg/l p-CA (in 3,5 bzw. 1 ml Speichel) nachweisbar sein sollten. Zum Studienende nach einer Lagerungsdauer von 36 d betrug die Konzentration in der angewendeten Mundspüllösung 0,14 mg p-CA/100 mg Chlorhexidindigluconat und im Speichel konnten damit Konzentrationen von 0,49-1,7 mg/l p-CA erwartet werden. Der höchste gemessene Wert bei den Patienten dieser Studie lag mit 0,55 mg/l im berechneten Konzentrationsbereich. Insgesamt wurden 9 Werte im Bereich >0,25 mg/l p-CA bestimmt. Damit ist wahrscheinlich, dass für die in unserer Studie nachgewiesenen p-CA-Werte im Speichel allein der zulässige p-CA-Gehalt in der Spüllösung verantwortlich zeichnet.

Octenisept-Kontrolle:

Die Werte in der Kontrollgruppe traten nur bei 9,2 % aller Proben gegenüber 27,9 % in der CHD-Gruppe auf und erreichten mit Medianen von 0 mg/l ein signifikant geringeres Niveau als die CHD-Gruppe (Tab. 12; Tab. 18). Die gemessenen Extremwerte zeigten allerdings mit 0,084 mg/l und 0,213 mg/l eine vergleichsweise deutliche Höhe und die Mittelwerte wurden zu 11 von 22 Zeitpunkten zwischen 0,001 und maximal 0,013 mg/l berechnet.

Der Nachweis von p-CA bei den Patienten der Kontrollgruppe ist durch die Mundspülung selbst nicht erklärbar, da das angewendete Präparat Octenisept weder eine Guanidinstruktur wie das CHD noch eine Ester-, Amid- oder Säureanhydridstruktur aufweist, die notwendige Voraussetzung für die Hydrolyse und Chloranilinabspaltung wie beim CHD wäre. Damit müssen für den p-CA Nachweis bei den Patienten der Kontrollgruppe andere Ursachen vorliegen.

Chloraniline gehören zu den aromatischen Aminen (Arylamine). Diese sind eine wichtige Gruppe von Chemikalien, die in vielfältiger Weise als Ausgangs- oder Zwischenprodukte insbesondere für die Herstellung von Farbstoffen, Pigmenten, Arzneistoffen und Herbiziden Verwendung finden. Zahlreiche Vertreter dieser Stoffgruppe werden als kanzerogen eingestuft (Deutsche Forschungsgemeinschaft 2006). Da die aromatischen Amine zu den gut hautresorbierbaren Stoffen gehören, macht bei beruflich exponierten Arbeitnehmern die Aufnahme über die Haut einen bedeutenden Beitrag an der Gesamtaufnahme aus (Weiß et al. 2004). Doch auch bei der beruflich nicht exponierten Allgemeinbevölkerung ist eine Belastung mit aromatischen Aminen zu finden. So lag in Untersuchungen im Rahmen des Biomonitorings zur Überwachung beruflicher Exposition die mittlere Belastung von in der Produktion von Gummiteilen für die Autoindustrie exponierten Arbeitnehmern beim Anilin nur etwa doppelt so hoch wie die entsprechende Hintergrundbelastung der Allgemeinbevölkerung (Weiß et al. 2004). Als Quellen einer solchen Hintergrundbelastung mit Arylaminen spielt allgemein die Exposition gegenüber Tabakrauch eine große Rolle. Im Falle der Aniline zeigen Untersuchungen aber, dass diese zwar im Tabakrauch enthalten sind, die messbare Belastung jedoch nicht durch den individuellen Tabakkonsum beeinflusst wird. Der nicht vorhandene Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern ist hinweisend darauf, dass zur Gesamtbelastung der Allgemeinbevölkerung andere Quellen entscheidend beitragen müssen. Untersuchungen zur Belastung und Beanspruchung mit chlorierten Aminen, wie das p-CA, zeigen, dass diese in der Regel gar nicht im Tabakrauch enthalten sind, dafür aber in Struktureinheiten von verschiedenen Pestiziden, die in relevanten Mengen ausgebracht werden. So ist p-CA z.B. ein Bestandteil der Herbizide Monuron, Monulinuron und Guturon, die als Insektizide auf Nadel- und Laubbäumen sowie Champignons eingesetzt werden (Weiß 2005). Beim natürlichen Abbau werden auch die bei der Synthese eingesetzten Amine wieder frei und lassen sich in Spuren z.B. in Grundwasser und Flüssen nachweisen (Franke et al. 2004). Per os über die Nahrungskette, über die Aufnahme von Schadstoffen aus der Luft oder dermal gelangen die Substanzen dann in den menschlichen Organismus, wobei die perkutane Resorption bei geschädigter Haut wesentlich erhöht ist (Wolf 1992). Aus Rückstandsdaten in Lebensmitteln lässt sich schließen, dass für die gefundenen Belastungen und Beanspruchungen mit chlorierten Aminen den Rückständen von

Pflanzenschutzmitteln in Nahrungsmitteln in der Summe eine größere Bedeutung zukommt als dem Einfluss des Rauchens (Weiß 2005) (Weiß et al. 2000). So konnte bei beruflich nicht exponierter Allgemeinbevölkerung für das p-CA eine Belastung bei 99,5 % aller Blutproben in Höhe von 31,1 ng/l und 85,8 % aller Urinproben in Höhe von 185 ng/l gefunden werden (Weiß 2005).

Auch für die Patienten der CHD-Gruppe muss natürlich eine Hintergrundbelastung mit Anilinen angenommen werden, wie sie in der Kontrollgruppe nachgewiesen werden konnte. Eine Einschätzung, in welcher Höhe die in der Studie gemessenen Werte durch Umweltbelastungen mitbedingt sind, lässt sich aber nicht sicher treffen. Im Vergleich beider Gruppen lagen die nachgewiesenen p-CA Werte unter Betrachtung der Mittelwerte zu allen Zeitpunkten in der CHD-Gruppe aber um den Faktor 23 höher.

Der Umstand eines p-CA-Nachweises im Speichel ist neu und wurde nach unseren Kenntnissen bisher in keiner Studie erbracht. Ob toxikologisch relevante Konzentrationen erreicht wurden, kann nicht beurteilt werden, da keine Untersuchungen zur Toxikokinetik von p-CA am Menschen vorliegen (Wolf 1992). Die akute Toxizität von p-CA besteht vordergründig in der Induktion einer Oxidation des Hämoglobin zu Hämoglobin (Methämoglobin, Met-Hb). Das Met-Hb enthält Eisen in III-wertiger Form, das Sauerstoff nicht mehr übertragen kann, und ruft konzentrationsabhängig über die damit eingeschränkte Sauerstoffbindungskapazität des Bluts Defizite in der Zellatmung hervor. Der physiologische Met-Hb-Gehalt des Bluts liegt bei < 1,5 % des Gesamthämoglobins. Eine Methämoglobinämie von > 10 % des Gesamt-Hb führt beim Menschen zu einer sichtbaren Zyanose, klinische Symptome wie Atemnot, Schwäche und Schwindel treten bei Spiegeln > 35 % des Gesamt-Hb auf. Konzentrationen von 70-80 % führen zum Tod (Herold 2004). Das Potential, Met-Hb zu bilden, ist beim p-CA im Vergleich zu den anderen aromatischen Aminen besonders hoch (Weiß 2005).

Bei einer bestehenden Belastung mit p-CA führt schon der Genuss einer geringen Menge Alkohol zu einer verstärkten Met-Hb-Bildung (Weiß 2005).

Intoxikationen führen zusätzlich über oxidative Proteindenaturierung zur Verklumpung des roten Blutfarbstoffs (Hämoglobin) mit Anlagerung an die innere

Zellmembran der roten Blutkörperchen (Erythrozyten), die mikroskopisch als Heinz-Innenkörperchen sichtbar wird. Heinz-Körperchen führen zu einer direkten Schädigung der Erythrozyten und ihrer Lebenszeit, da die veränderten Erythrozyten in der Milz abgebaut werden. Bei chronischer Belastung kann so eine hämolytische Anämie resultieren (Klinke et al. 2005).

Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass der Gebrauch einer CHD-haltigen Mundspüllösung zur Belastung mit p-CA im Speichel führt. Da die Produkte regelhaft auch über Wochen angewendet werden, ist die damit einhergehende wiederholte Belastung mit p-CA mit Hinblick auf die chronische Toxizität als noch kritischer einzuschätzen. Unter chronischen Belastungen mit p-CA wurde tierexperimentell die Induktion von Milztumoren, Hämangiomen und Hämangiosarkomen beobachtet (National Toxicology Program 1979) und auch an isolierten menschlichen Lymphozyten wurde eine konzentrationsabhängige Hemmung der Mitoseaktivität gesehen (Vassileva und Kazakowa 1978).

Für Substanzen, die beim Menschen oder im Tierversuch erwiesenermaßen zur Krebserzeugung führen, werden keine MAK-Werte aufgestellt, da in diesem Fall nicht von einer aus toxikologischer Sicht unbedenklichen Schwellenkonzentration ausgegangen werden kann. An die Stelle des MAK-Wertes tritt dann die Technische Richtkonzentration (TRK) dieser Substanz, die die geringstmögliche Luftkonzentration eines Stoffes am Arbeitsplatz darstellt, die nach dem jeweils aktuellen Stand der Technik erreicht werden kann. Die TRK-Werte werden vom "Ausschuss für Gefahrstoffe" (AGS) festgelegt. Unter arbeitsmedizinischen Aspekten wird neben der Anwendung von Schutzmaßnahmen (Ventilation, Atemmasken etc.) als Idealfall der Ersatz des Gefahrstoffes durch weniger gefährliche Substanzen angestrebt (Weiß 2005).

Für p-CA wird die TRK mit 0,2 mg/m³ angegeben (Merck 2007).

In Zusammenschau aller Fakten sollte daher, nicht nur wie bisher schon, von einem unkritischen Langzeitgebrauch von CHD-Lösungen abgeraten werden. Es stellt sich vielmehr die Frage, ob die Mundspülung mit CHD eine unter diesen Erkenntnissen noch tragbare und zu verantwortende Maßnahme darstellt.

4.4 p-CNB im Speichel

In dieser Studie sollte auch der Frage nachgegangen werden, inwieweit eine oxidative Umwandlung des instabilen p-CA zu p-CNB in bisherigen Studien eine Resorption oder temporäre Bildung von p-CA einfach nur verschleiert hat. Für das p-CNB konnte in den vorab durchgeführten eigenen Untersuchungen bestätigt werden, dass die GC-ECD mit einer Nachweisgrenze von 0,003 mg/l gegenüber 0,065 mg/l bei der GC-FID die Methode der Wahl darstellt (Unterschied Faktor 21). Wie auch beim p-CA konnte unter Extraktion und Derivatisierung in Verbindung mit GC-ECD eine weitere Reduzierung der Nachweisgrenze von 0,003 mg/l auf 0,002 mg/l erzielt werden, womit sich hier die durch GC-ECD bestimmten Nachweisgrenzen im Unterschied zum p-CA nur unwesentlich unterscheiden.

Der Nachweis von p-CNB in der CHD-Gruppe erfolgte bei 3,3 % der Speichelproben in Höhe von 0,007 bis maximal 0,06 mg/l, während in der Kontrollgruppe Werte von 0,03-0,209 mg/l bei 7,4 % der Proben gesehen wurden (Tab. 15). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bestand aber weder in der Baseline-Untersuchung noch an den Tagen 1-5, so dass der Nachweis von p-CNB nicht in Zusammenhang mit der Anwendung der CHD-Mundspülung gesehen werden kann (Tab. 19). Die für beide Gruppen berechneten Flächenintegrale (AUC) zur Darstellung des Konzentrations-Zeit-Verlaufs von p-CNB im Speichel zeigen am Tag 1 noch höhere Werte für die CHD-Gruppe, ab dem Tag 3 dagegen sind für die Kontrollgruppe zum Teil deutlich höhere Werte berechnet (Abb. 10).

Tabelle 19: Flächenintegrale (AUC) für p-CNB im Speichel, Signifikanzen für p-CNB-Nachweis im Speichel im Vergleich zur Kontrollgruppe

Tag	Kennzahl	CHD-Gruppe	Kontrolle	Signifikanz (p)
0	Ausgangswert	0	0,01	0,46
1	Flächenintegral 1	0,10	0,02	0,2269
2	Flächenintegral 2	0,08	0,08	0,3089
3	Flächenintegral 3	0	0,05	0,0645
4	Flächenintegral 4	0,07	0,67	0,3439
5	Flächenintegral 5	0,08	0,1	0,2003

Ausgangswert: Signifikanztest der p-CA-Nachweise in beiden Gruppen mittels Exakter Test nach Fisher

AUC: Area under curve, [arbitrarily units] der Tage 1-5

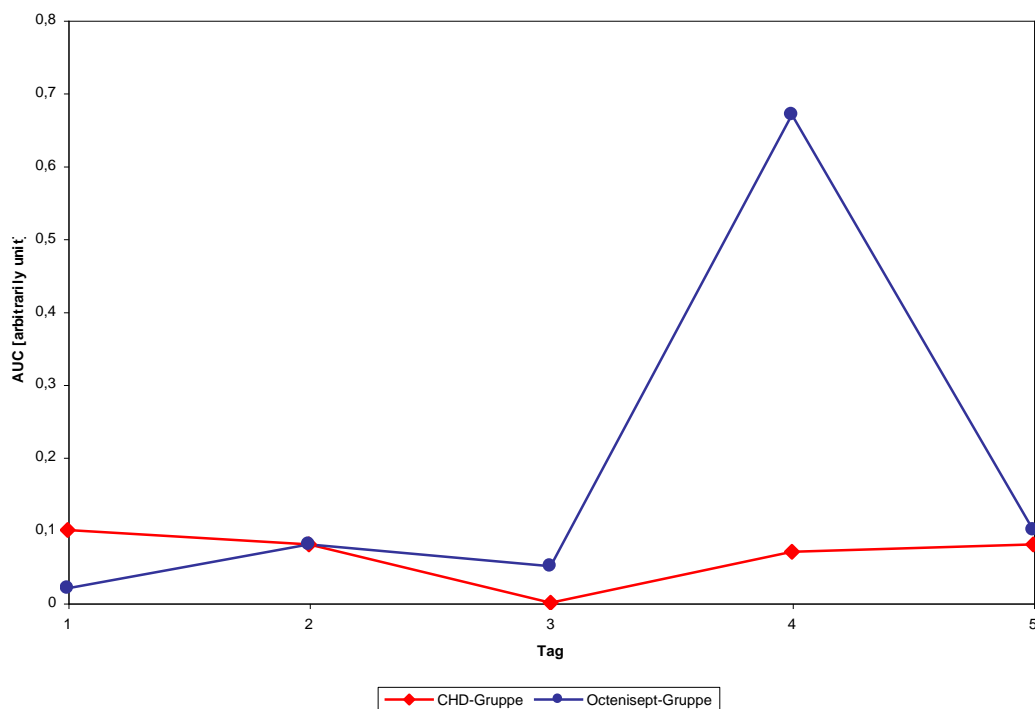


Abb. 10: AUC für p-CNB im Speichel im Vergleich beider Gruppen

Ein Zusammenhang zum p-CA Nachweis lässt sich in der CHD-Gruppe nicht sicher herstellen. Während bei 95,7 % aller Patienten der CHD-Gruppe p-CA nachgewiesen wurde, verteilten sich die p-CNB Werte auf 6 von 23 Patienten (26,1 %). Auch im Vergleich beider Substanzen wurde p-CNB in einem viel geringeren Prozentsatz als p-CA nachgewiesen (3,3 % vs. 27,9 % aller Speichelproben).

In der Octenisept-Kontrollgruppe dagegen fanden sich bei 9 der 19 Patienten (47,4 %) sowohl p-CA als auch p-CNB Werte, bei 2 Patienten wurde nur p-CA und bei einem Patienten allein p-CNB nachgewiesen. Auf die 9 Patienten entfielen damit je 25 Werte von p-CA und p-CNB (78,1 % aller p-CA, 96,2 % aller p-CNB Werte der Kontrollgruppe). Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis von p-CA und p-CNB lässt sich jedoch im Symmetrietest nach Bowker (McNemar-Test) nicht nachweisen ($p=0,56$).

Auch die in der Zielstellung hypothetisch formulierte oxidative Umwandlung von p-CA in p-CNB lässt sich mit den Daten dieser Studie nicht beweisen.

Die nachgewiesenen p-CNB Werte in beiden Gruppen sind daher am ehesten als Ausdruck einer allgemeinen Hintergrundbelastung der Bevölkerung mit Nitrobenzen anzusehen.

p-CNB gehört zu den Nitroaromaten, die zu den wichtigsten Ausgangsverbindungen der chemischen Industrie zählen und im wesentlichen industrielle Zwischenprodukte darstellen. Sie sind biologisch nicht leicht abbaubar, fast immer mutagen und bei Säugern z.T. kanzerogen.

Nitrobenzen ist dabei eine der bedeutendsten Industriechemikalien und wird durch weitere Substitution zu Zwischenprodukten wie Chlornitrobenzen verarbeitet, sowie als Löse- und Oxidationsmittel, bevorzugt aber zur Herstellung von Anilin verwendet (Weissermel und Arpe 1990). Chlornitrobenzene werden hauptsächlich zu Farbstoffen weiterverarbeitet. Bei Herstellung und Verarbeitung der Nitroaromaten fallen Waschwässer an, die schwerpunktmäßig im Bereich angesiedelter Industrie zu Nachweisen in Kläranlagen und Oberflächengewässern führen. Daneben kann Nitrobenzol auch über Lösemittelanwendungen in anderen Industriebereichen in Abwasser/Oberflächengewässer gelangen. Bei der Herkunft von Chlornitrobenzen werden zusätzlich diffuse Einleitungen in Höhe von 30 Prozent angegeben, die u.a. durch militärische Altlasten bedingt sind (Haberer 1991).

Allen Nitroaromaten ist eine mutagene Wirkung zuzuschreiben (Richter und Pfau 2004). Als Maß für die akute Toxizität wird die LD₅₀ (oral; Ratte, Maus) mit 294-440 mg/kg p-CNB angegeben (Alfa Aesar 2009). Die in dieser Studie maximal nachgewiesenen Konzentrationen von 0,2 mg/l p-CNB sind daher ohne akut gefährdendes Potential. Im Sicherheitsdatenblatt von p-CNB wird darauf verwiesen, dass nach derzeitigem Wissenstand die akute und chronische Toxizität dieses Stoffes nicht gänzlich bekannt ist, aber im Tierversuch reproduktionstoxische, mutagene und karzinogene Effekte nachgewiesen wurden. Die durchgeführten epidemiologische Studien können aber kein erhöhtes Krebsrisiko bei exponierten Menschen bestätigen (Alfa Aesar 2009).

4.5 Resorption

Bisherige Studien zur Frage einer Resorption von CHD kommen zu dem Ergebnis, dass bei intakter Haut keine Resorption stattfindet, aber bei Fehlen des Stratum corneum eine Resorption nachgewiesen werden kann (Wang et al. 1990). So konnte

bei Verbrennungspatienten, die mit einer CHD haltigen Salbe behandelt wurden, nicht nur CHD im Serum (128 und 20,5µg/l) und im Urin (22,6 und 646µg/l) nachgewiesen werden, sondern bei 2 Patienten sogar auch p-CA im Urin (150, 800 µg/l) (Brougham et al. 1986). Einzig bei Neugeborenen wurde auch bei intakter Haut nach einem Vollbad mit CHD-Zusatz eine Resorption mit Konzentrationen bis zu 1 mg/l CHD im Blut nachgewiesen (Cowen et al. 1979). Im Rahmen der Mundhöhlenantiseptik blieben die Studien bisher aber immer ohne Nachweis einer Resorption von CHD. So wurde nach 9d kontinuierlicher Anwendung eines Perio-Chips weder in Serum noch Urin CHD nachgewiesen (Soskolne et al. 1998).

Auch in unseren Untersuchungen wurde in keiner Urinprobe ein Nachweis für CHD, p-CA oder p-CNB geführt. Statistisch nicht signifikant blieb der einzelne Nachweis von p-CA und p-CNB in den Serumproben eines Patienten der Behandlungsgruppe am Tag 4 und 5.

Eine Resorption konnte im Rahmen dieser Studie demzufolge nicht nachgewiesen werden. Da aber für die aromatischen Amine bekannt ist, dass sie über den Gastrointestinaltrakt und über die Haut sehr gut resorbiert werden (Kennzeichnung „H“ für Hautgängigkeit in der MAK- und BAT-Liste) (Deutsche Forschungsgemeinschaft 2006), hätte zumindest bei den Patienten mit p-CA-Nachweis im Speichel auch eine Wiederfindung in Blut und Urin erwartet werden können. Es ist daher anzunehmen, dass die eingesetzten Methoden trotz zum Teil deutlich verbesserter Nachweisgrenzen einfach immer noch nicht sensitiv genug sind, eine Resorption nachzuweisen.

Gestützt wird diese Annahme durch die Ergebnisse einer Untersuchung an 200 Probanden in Süddeutschland (Stichprobe von Stadt- und Landbevölkerung) im Rahmen eines umweltmedizinischen biochemischen Monitorings. Bei dieser beruflich nicht exponierten Allgemeinbevölkerung wurde in 85,8 % der Urinproben und sogar 99,5 % der Blutproben p-CA im Median von 185 ng/l im Urin und von 31,1 ng/l im Serum nachgewiesen (Weiß 2005). Im Vergleich dazu stieg bei beruflich exponierten Probanden die Belastung im Blut um den Faktor 35 erheblich auf im Mittel 1100 ng/l p-CA an (Riffelmann et al. 1995).

Der GC-ECD mit Derivatisierung (NWG 0,003 mg/l) entziehen sich Werte dieser Größenordnung und selbst die maximal nachgewiesenen Konzentrationen bei der städtischen Allgemeinbevölkerung mit 2,56 µg/l im Urin und 2,4 µg/l im Blut

vollständig. Nur der bei der ländlichen Bevölkerung angegebene Maximalwert im Urin von 39,1 µg/l p-CA hätte mit dieser Methode überhaupt erfasst werden können (Weiß 2005).

Die Ergebnisse o.g. Untersuchungen von Weiß wurden als umweltmedizinisches Anwendungsbeispiel unter Einsatz zweier neuentwickelter Verfahren jeweils auf der Grundlage der Kapillargaschromatographie und massenspektroskopischen Detektion erhoben. Beide Verfahren gestatten die zuverlässige und spezifische Quantifizierung einer Vielzahl chemisch-physikalisch unterschiedlicher Arylamine in arbeits- und umweltmedizinisch relevanten Konzentrationen, die sich im Ultraspurenbereich bewegen. Die Nachweisgrenzen dieser Methode werden im Urin mit 0,05 µg/l und im Blut mit 0,5 ng/l angegeben (Weiß 2005). Die nachweisbaren Konzentrationen liegen damit im Urin um den Faktor 60 und im Blut sogar um den Faktor 6000 unter den Nachweisgrenzen, die mittels der für unsere Studie modifizierten GC-ECD erzielt werden. Ein Vergleich mit den in früheren Studien angewendeten Methoden erübrigt sich damit.

Es kann davon ausgegangen werden, dass bei nahezu allen Probanden auch in dieser Studie eine Hintergrundbelastung mit p-CA bestehen wird, deren Nachweis aber an eine entsprechend sensitive Methode gebunden ist.

Die Anwendung einer CHD-Mundspülung bedeutet eine zusätzlich einwirkende Belastung mit p-CA. Für die als Basisausscheidung bei der Allgemeinbevölkerung in den Urinproben nachgewiesenen Pflanzenschutzmittelmetabolite 3- und 4-Chloranilin (p-CA) werden Rückstände auf oder in Nahrungsmitteln als Hauptursache angesehen (Weiß 2005). Die Aufnahme erfolgt demnach überwiegend oral. Oral präsentiert sich auch das p-CA in CHD-Mundspüllösungen.

Die Frage für zukünftige Studien muss daher nicht lauten, ob sich das in CHD-Mundspüllösungen enthaltene p-CA auch systemisch nachweisbar abbildet, sondern, in welcher Höhe.

5 Zusammenfassung

In einer prospektiven, randomisierten, verblindeten, monozentrischen, offen kontrollierten Studie wurde die unter Anwendung einer CHD-haltigen Mundspüllösung auftretende Konzentrationsänderung von CHD im Speichel untersucht, die mit zunehmender Anwendungsdauer unmittelbar nach Spülung einen kontinuierlichen Konzentrationsanstieg von CHD zeigte. Im Verlauf von 12 Stunden nach Spülung wurde die Aufrechterhaltung konstanter Konzentrationen nachgewiesen.

Es konnte statistisch signifikant der Nachweis erbracht werden, dass mit der Anwendung der Mundspüllösung in allgemein üblicher Dosierung auch messbare Konzentrationen und damit eine Belastung mit dem kanzerogenen p-CA, nicht aber mit p-CNB, im Speichel auftrat.

Eine Resorption von CHD, p-CA oder p-CNB mit Nachweis in Serum und Urin konnte dagegen nicht nachgewiesen werden.

Summary

Changes in the concentration of chlorhexidine in saliva after use of a chlorhexidine-containing mouthwash were analyzed in a prospective, randomized, blinded, single-center, open controlled study.

With increasing duration of the application, a continuous increase in the concentration of chlorhexidine could be shown immediately after rinsing. Concentrations were shown to remain constant over a period of 12 hours after rinsing.

Moreover, it could be statistically demonstrated that during application of the mouthwash in a conventional dosage, measurable concentrations of, and thus an exposure to, carcinogenic p-chloroaniline, but not p-chloronitrobenzene, occurred in saliva.

However, absorption of chlorhexidine, p-chloroaniline or p-chloronitrobenzene with detectable quantities in serum and urine could not be shown.

6 Literaturverzeichnis

- Aalto-Korte K, Makinen-Kiljunen S (2006) Symptoms of immediate chlorhexidine hypersensitivity in patients with a positive prick test. *Contact Derm* 55: (3) 173-7.
- Alfa Aesar (2009) Sicherheitsdatenblatt 1-Chloro-4-nitrobenzen gemäß Verordnung (EG) Nr.1907/2006, Artikel 31. Karlsruhe: 1-4.
- Alfa Aesar (2009) Sicherheitsdatenblatt Chlorhexidine digluconate, 20 % in aqueous solution gemäß Verordnung (EG) Nr.1907/2006, Artikel 31. Karlsruhe: 1-3.
- Aursnes J (1981) Cochlear damage from chlorhexidine in guinea pigs. *Acta Otolaryngol* 92: 259-271.
- Aursnes J (1981) Vestibular damage in guinea pigs from chlorhexidine. *Acta Otolaryngol* 92: 89-100.
- Bicknell P (1971) Sensorineural deafness following myringoplasty operations. *J Laryngol Otol* 85: 957-961.
- Bonesvoll P (1977) Oral pharmacology of chlorhexidine. *J Clin Periodontol* 4: (5) 49-65.
- British Pharmacopoeia (2001) London Pharmaceutical Press.
- Brougham LR, Cheng H, Pittman KA (1986) Sensitive high-performance liquid chromatographic method for the determination of chlorhexidine in human serum and urine. *J Chromatogr* 383: (2) 365 - 373.
- Bruchhausen v, Ebel S, Frahm A, Hackenthal E (1993) Chlorhexidin. In: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis Springer Heidelberg 7: 863-867.
- Buckle R, Seabridge C (1963) The effect of chlorhexidine in the peritoneal cavity. *Lancet* 1: 193-195.
- BUFA B.V. Pharmaceutical Products (2003). Chlorhexidini digluconatis solutio Ph.Eur., Prüfzertifikat gemäß Europäischer Richtlinie 91/356/EEG analog § 6 Abs. 3 ApBetrO.
- Chestnutt IG (2006) Chlorhexidine varnish has caries-reducing potential. *Evid Based Dent* 7: (4) 93.
- Cheung J, O`Leary JJ (1985) Allergic Reaction to Chlorhexidine in an Anesthetized Patient. *Anaest Intens Care* 13: (4) 429-439
- Ciarlone A, Gangarosa L, Fong B (1976) Detection of p-chloroaniline in chlorhexidine solutions using thin-layer chromatography. *J Dent Res* 55: (5) 918.
- Clavero J, Baca P, Paloma Gonzalez M, Valderrama MJ (2006) Efficacy of chlorhexidine-thymol varnish (Cervitec) against plaque accumulation and gingival inflammation in a geriatric population. *Gerodontology* 23: (1) 43-7.
- Cosyn J, Verelst K (2006) An efficacy and safety analysis of a chlorhexidine chewing gum in young orthodontic patients. *J Clin Periodontol* 33: (12) 894-9.
- Cowen J, Ellis SH, McAinsh J (1979) Absorption of chlorhexidine from the intact skin of newborn infants. *Arch Dis Child* 54: 379-383.
- Crossfill M, Hall R, London D (1969) The use of chlorhexidine antiseptic in contaminated surgical wounds. *Br J Surg* 56: 906-908.
- Deutsche Forschungsgemeinschaft (2006). MAK- und BAT-Werte-Liste: maximale Arbeitsplatzkonzentrationen und biologische Arbeitsstofftoleranzwerte. SzPg Arbeitsstoffe, Weinheim: Wiley VCH. Mitteilung 42.

- DIN 32645 (1994). Chemische Analytik: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze: Ermittlung unter Wiederholbedingungen, Begriffe, Verfahren, Auswertung, Beuth Verlag, Berlin: 10.
- Doub WH, Ruhl DD, Hart B, Mehelic PR, Revelle LK (1996) Gradient liquid chromatographic method for determination of chlorhexidine and its degradation products in bulk material. *J AOAC Int* 79: (3) 636 - 639.
- Engelhard Arzneimittel GmbH (2003) Fachinformation Chlorhexidindigluconat Fertiglösung 0,2 %. Fachinfo-Service Aulendorf 6259-v878: 1-2.
- Eren K, Ozmeric N, Sardas S (2002) Monitoring of buccal epithelial cells by alkaline comet assay (single cell gel electrophoresis technique) in cytogenetic evaluation of chlorhexidine. *Clin Oral Investig* 6: (3) 150-4.
- Ferretti GA, Brown AT, Raybould TP, Lillich TT (1990) Oral antimicrobial agents-chlorhexidine. *NCI Monogr* 9: 51-5.
- Franke S, Heinzl N, Specht M, Francke W (2004) Organische Schadstoffe im Gebiet der Unteren Mulde-Non Target Screening. In: Schadstoffbelastung nach dem Elbe-Hochwasser 2002 (Hrsg.) Geller W, Ockenfeld K, Böhme M, Knöchel A Hamburg: 206-223.
<http://www.ufz.de/hochwasser/bericht/e/HWEndAP310Franke.pdf>
- Gaffney MH, Cooke M, Simpson R (1984) Improved method for the determination of chlorhexidine in urine. *J Chromatogr* 306: 303 - 313.
- Gjeramo P (1978) Pharmakodynamische Aspekte über die plaquehemmende Wirkung von Chlorhexidin. *Zahnärztl Prax* 87: (7) 337-338.
- Goldschmidt P, Cogen R, Taubman S (1977) Cytopathologic effects of chlorhexidine on human cells. *J Periodontol* 48: (4) 212-5.
- Grassi TF, Camargo EA, Salvadori DM, Marques ME, Ribeiro DA (2007) DNA damage in multiple organs after exposure to chlorhexidine in Wistar rats. *Int J Hyg Environ Health* 210: (2) 163-7.
- Greener Y, McCartney M, Jordan L, Schmitt D, Youkilis E (1985) Assessment of the systemic effects, primary dermal irritation, and ocular irritation of chlorhexidine acetate solutions. *J Am Coll Toxicol* 4: 309-319.
- Greenstein G, Berman C, Jaffin R (1986) Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 57: (6) 370-7.
- Gundermann K (1989) Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg B 187: 382-389.
- Ha Y, Cheung AP (1996) New stability-indicating high performance liquid chromatography assay and proposed hydrolytic pathways of chlorhexidine. *J Pharm Biomed Anal* 14: (8 - 10) 1327 - 1334.
- Haberer K (1991) Über die Herkunft verbreitet auftretender organischer Stoffe im Rhein. *gwf Wasser - Abwasser* 132: 480-487.
- Hammill M, Osato M, Wilhelmus K (1984) Experimental evaluation of chlorhexidine gluconate for ocular antiseptics. *Antimicrob Agents Chemother* 26: 793-796.
- Helmus KW, Seibold G, Wetzel WE (1990) Zur Diffusion von ¹⁴C-Chlorhexidin in Zahnhartsubstanzen. [Diffusion of chlorhexidine-C14 in dental enamel]. *Zahnärztl Prax* 41: (6) 210-2.
- Herold G (2004) Innere Medizin. Eine vorlesungsorientierte Darstellung. Köln Gerd Herold Verlag.
- Hikiba H, Watanabe E, Barrett JC, Tsutsui T (2005) Ability of fourteen chemical agents used in dental practice to induce chromosome aberrations in Syrian hamster embryo cells. *J Pharmacol Sci* 97: (1) 146-52.

- Hirata K, Kurokawa A (2002) Chlorhexidine gluconate ingestion resulting in fatal respiratory distress syndrome. *Vet Hum Toxicol* 44: (2) 89-91.
- Honigman J (1983) Chlorhexidine. Stuttgart/New York Fischer Verlag.
- Hu OY-P, Wang S-Y, Fang Y-J, Chen Y-H, King M-L (1990) Simultaneous determination of thimerosal and chlorhexidine in solutions for soft contact lenses and its applications in stability studies. *J Chromatogr* 523: 321 - 326.
- Hugo WB, Longworth AR (1964) Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *J Pharm Pharmacol* 16: 655-662.
- Imai JI, H.; Gotoh, K.; Mori, H.; Kawai, M. (1992) Bacterial contamination of infant urine samples obtained from filter papers used in neuroblastoma-screening tests. Protective effects of preaddition of chlorhexidine digluconate in filter papers or containers for urine on bacterial breakdown of creatinine, vanillylmandelic acid and homovanillic. *Nippon Koshu Eisei Zasshi* 39: (10) 789 - 798.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/en/>.
- Kalteis T, Lüring C, Schaumburger J, Perlick L, Bähis H, Grifka J (2003) Gewebetoxizität lokaler Antiseptika. *Z Orthop* 141: (2) 233-238.
- Kamazaki M (1981) Studies on the applicability and safety of chlorhexidine gluconate in peritoneal lavage in experimental *E. coli* peritonitis. *Tokyo Joshi Ika Daigaku Zasshi* 51: 425-440.
- Kampf G, Hofer M, Wendt C (1999) Efficacy of hand disinfectants against vancomycin-resistant enterococci in vitro. *J Hosp Infect* 42: (2) 143-150.
- Kampf G, Jarosch R, Rüden H (1998) Limited effectiveness of chlorhexidine based hand disinfectants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Hosp Infect* 38: (4) 297-303.
- Kampf G, Kramer A (2004) Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. *Clin Microbiol Rev* 17: (4) 863-93, table of contents.
- Kidd EA, Joyston Bechal S (1991) Penetration of chlorhexidine around amalgam restorations. *J Dent* 19: (5) 317-318.
- Klinke R, Pape HC, Silbernagl S (2005) *Lehrbuch der Physiologie*. Stuttgart Thieme.
- Kobayashi H (1986) Evaluation of surgical scrubbing. *J Hosp Infect* 18 (Suppl B): 29-34.
- Kohlbecker G (1989) Toxische Verunreinigungen in Chlorhexidin-digluconat. *Dtsch Dtsch Zahnarzt Z* 44: (4) 273 - 276.
- Kommission Deutscher Arzneimittel-Codex (2003) *Deutscher Arzneimittelcodex (DAC) Neues Rezepturformularium*. Eschborn Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag.
- Kramer A, Adrian V, Rudolph P, Wurster S, Lippert H (1998) Explantationstest mit Haut und Peritoneum der neonatalen Ratte als Voraussetzung zur Verträglichkeit lokaler Antiinfektiva für Wunden und Körperhöhlen. *Chirurg* 69: (8) 840-5.
- Kramer A, Daeschlein G, Kammerlander G, Andriessen A, Aspöck C, Bergemann R, Eberlein T, Gerngross H, Görtz G, Heeg P, Jünger M, Koch S, König B, Laun R, Peter RU, Roth B, Ruef C, Sellmer W, Wewalka G, Eisenbeiß W (2004) Konsensusempfehlung zur Auswahl von Wirkstoffen für die Wundantiseptik. *ZfW* 2004: (03) 110-120.

- Kramer A, Heeg P, Harke H, Rudolph H, Koch S, Jülich W, Hingst V, Merka V, Lippert H (1993) Wundantiseptik. Berlin Springer.
- Kramer A, Roth B (2008) Chlorhexidinacetat, Chlorhexidindihydrochlorid und Chlorhexidindigluconat. In: Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. Georg Thieme Verlag (Hrsg.) Kramer A, O A Stuttgart, New York: 793-798.
- Kramer A, Rudolph P, Klebingat K, Werner H (2000) Probleme bei der intermittierenden Harnblasenkatheterisierung - Konsequenzen für das Hygienemanagement. Hyg Med 25: 77-78.
- Kramer A, Wallhäüßer K (1993) Wirkungsspektrum und Anwendungseigenschaften häufig aus prophylaktischer Indikation angewendeter Antiseptika. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hong Kong Barcelona.
- Kudo K, Ikeda N, Kiyoshima A, Hino Y, Nishida N, Inoue N (2002) Toxicological analysis of chlorhexidine in human serum using HPLC on a polymer-coated ODS column. J Anal Toxicol 26: (2) 119-22.
- Lang N, Brex M (1986) Chlorhexidine digluconate. An agent for chemical plaque control and prevention of gingival inflammation. J Periodont Res 16 (Suppl.) 74-89.
- Loe H, Schiött CR, Glavind L, Karring T (1976) Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. J Periodont Res 11: (3) 135-144.
- Luostarinen V, Soderling E, Knuutila M, Paunio K (1977) Effect of chlorhexidine on the hamster cheek pouch. Microcirculation and penetration studies. J Periodontol 48: (7) 421-4.
- Marengo E, Gianotti V, Angioi S, Gennaro MC (2004) Optimization by experimental design and artificial neural networks of the ion-interaction reversed-phase liquid chromatographic separation of twenty cosmetic preservatives. J Chromatogr A 1029: (1-2) 57-65.
- Medlicott NJH, D. W.; Rathbone, M. J.; Jones, D. S.; Tucker, I. G. (1999) Local delivery of chlorhexidine using a tooth-bonded delivery system. J Control Release 61: (3) 337 - 343.
- Merck (2007) Sicherheitsdatenblatt "4-Chloranilin zur Synthese" gemäß Verordnung (EG) Nr.1907/2006. Hohenbrunn: 1-7.
- Mirth DB, Bartkiewicz A, Shern RJ, Little WA (1989) Development and in vitro evaluation of an intra-oral controlled-release delivery system for chlorhexidine. J Dent Res 68: (8) 1285-8.
- Molina ME, Nonweiler DE, Evans JA, Delee JC (2000) Contaminated anterior cruciate ligament grafts: the efficacy of 3 sterilization agents. Arthroscopy 16: (4) 373-8.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (2002) MRL-Tabelle 2002. Anhänge I-IV der VO (EWG) Nr.2377/90, zuletzt geändert durch [VO(EG) Nr.1752/02 v. 01.10.02]. BgVV.
- Mullany LC, Darmstadt GL, Tielsch JM (2006) Safety and impact of chlorhexidine antiseptics interventions for improving neonatal health in developing countries. Pediatr Infect Dis J 25: (8) 665-75.
- Müller G, Kramer A (2000) In vitro action of a combination of selected antimicrobial agents and chondroitin sulfate. Chem Biol Interact 124: (2) 77-85.

- Murthy S, Hawksworth NR, Cree I (2002) Progressive ulcerative keratitis related to the use of topical chlorhexidine gluconate (0.02%). *Cornea* 21: 237-239.
- Musteata FM, Pawliszyn J (2005) Assay of stability, free and total concentration of chlorhexidine in saliva by solid phase microextraction. *J Pharm Biomed Anal* 37: (5) 1015-1024.
- Nikiforuk G (1985) Understanding dental caries. Etiology and mechanisms. Basic and clinical aspects´ (1): 236-260.
- Nisbet IT, Graham DM, Spicer PE, Tibbs GJ (1979) Chlorhexidine as an effective agent against *Chlamydia trachomatis* in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 16: (6) 855-7.
- National Toxicology Program(1979). Technischer Report. Series No.189 National Cancer Inst., Department of Health and Human Services Bethesda MD. <http://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=E87BD4E8-BDB5-82F8-FEA73FC89FF783AB>
- Nolte-Schuster B (2007) Preußen im Kampf gegen die Cholera. *Dtsch Arztebl* 104: (38) 2267-2269.
- Paldy A, Berencsi G, Kramer A, Weuffen W, Spiegelberger E (1984) Mutagene Potenz von Wofasteril, Wofasept, Formaldehyd, Chlorhexidin und Bronopol im Knochenmark an der Maus. In: *Aspekte der Prophylaxe und Bekämpfung des infektiösen Hospitalismus, Schriftenreihe Mikrobielle Umwelt und antimikrobielle Maßnahmen Barth* (Hrsg.) A Kramer, Wigert H, Kemter B Leipzig 8: 349-352.
- Patel P, Ide M, Coward P, Di Silvio L (2006) The effect of a commercially available chlorhexidine mouthwash product on human osteoblast cells. *Eur J Prosthodont Restor Dent* 14: (2) 67-72.
- Perez R, Freeman S, Sohmer H, Sichel JY (2000) Vestibular and cochlear ototoxicity of topical antiseptics assessed by evoked potentials. *Laryngoscope* 110: 1522-1527.
- Pham N, Weiner J, Reisner G, Baldo B (2000) Anaphylaxis to chlorhexidine. Case Report. Implication of immunoglobulin E antibodies and identification of an allergenic determinant. *Clin Exp Allergy* 30: 1001-1007.
- Phinney R, Mondino BJ, Hofbauer JD, Langston RHS, Forstot SL, Benes SC (1988) Corneal Edema Related to Accidental Hibiclens Exposure. *Am J Ophthalmol* 106: (2) 210-215.
- Pineda LA, Saliba RG, El Solh AA (2006) Effect of oral decontamination with chlorhexidine on the incidence of nosocomial pneumonia: a meta-analysis. *Crit Care* 10: (1) R35.
- Pitten FA, Kiefer T, Buth C, Doelken G, Kramer A (2003) Do cancer patients with chemotherapy-induced leukopenia benefit from an antiseptic chlorhexidine-based oral rinse? A double-blind, block-randomized, controlled study. *J Hosp Infect* 53: (4) 283-91.
- Pitten FA, Werner HP, Kramer A (2003) A standardized test to assess the impact of different organic challenges on the antimicrobial activity of antiseptics. *J Hosp Infect* 55: (2) 108-15.
- Revelle LK, Doud W, Wilson R, Harris M, Rutter A (1993) Identification and isolation of chlorhexidine digluconate impurities. *Pharm Res* 10: (12) 1777-1784.
- Richter E, Pfau W (2004) *Aromatische Amine, Nitroaromaten und heterozyklische aromatische Amine*. Stuttgart [WVG].

- Riffelmann M, Müller G, Schmieding W, Popp W, Norpoth K (1995) Biomonitoring of urinary aromatic amines and arylamine hemoglobin adducts in exposed workers and non-exposed control persons. *Int Arch Occup Environ Health* 68: (1) 36-43.
- Roberts WR, Addy M (1981) Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of antiseptic mouthrinses containing chlorhexidine, alexidine, cetyl pyridinium chloride and hexetidine. Relevance to mode of action. *J Clin Periodontol* 8: (4) 295-310.
- Rossing P, Rossing K, Gaede P, Pedersen O (2006) Estimated GFR: Are there limits to its utility? *J Am Soc Nephrol* 17: 2077-2085.
- Rudolf M, Kampf G (2003) Wirkstoffe. In: Hände-Hygiene im Gesundheitswesen. Springer (Hrsg.) G Kampf Berlin: 71-104.
- Ruest A, Cook D (2006) Oral decontamination with chlorhexidine reduced ventilator-associated pneumonia in high-risk patients. *ACP J Club* 145: (3) 68.
- Rushton A (1977) Safety of Hibitane. II. Human experience. *J Clin Periodontol* 4: (5) 73-9.
- Sanz M, Newman MG, Anderson L, Matoska W, Otomo Corgel J, Saltini C (1989) Clinical enhancement of post-periodontal surgical therapy by a 0.12% chlorhexidine gluconate mouthrinse. *J Periodontol* 60: (10) 570-6.
- Schierholz JM, Bach A, Fleck C, Beuth J, König D, Pulverer G (2000) Measurement of ultrasonic-induced chlorhexidine liberation: correlation of the activity of chlorhexidine-silver-sulfadiazine-impregnated catheters to agar roll technique and broth culture. *J Hosp Infect* 44: (2) 141-5.
- Schiött CR, Briner WW, Kirkland JJ, Loe H (1976) Two years oral use of chlorhexidine in man. III. Changes in sensitivity of the salivary flora. *J Periodontal Res* 11: (3) 153-157.
- Schiött CR, Briner WW, Loe H (1976) Two year oral use of chlorhexidine in man. II. The effect on the salivary bacterial flora. *J Periodontal Res* 11: (3) 145-52.
- Schnuch A, Geier J, Uter W, Frosch P (1998) Patch testing with preservatives, antimicrobials and industrial biocides. Results from a multicentre study. *Br J Dermatol* 138: 467-476.
- Segers P, Speekenbrink RG, Ubbink DT, van Ogtrop ML, de Mol BA (2006) Prevention of nosocomial infection in cardiac surgery by decontamination of the nasopharynx and oropharynx with chlorhexidine gluconate: a randomized controlled trial. *JAMA* 296: (20) 2460-6.
- Simor AE, Phillips E, McGeer A, Konvalinka A, Loeb M, Devlin HR, Kiss A (2007) Randomized controlled trial of chlorhexidine gluconate for washing, intranasal mupirocin, and rifampin and doxycycline versus no treatment for the eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization. *Clin Infect Dis* 44: (2) 178-85.
- Skold Larsson K, Fornell AC, Lussi A, Twetman S (2004) Effect of topical applications of a chlorhexidine/thymol-containing varnish on fissure caries assessed by laser fluorescence. *Acta Odontol Scand* 62: (6) 339-342.
- Slots J (1984) *Actinobacillus actinomycetum comitans* and *Bacteroides gingivalis* in advanced periodontitis in man. *Dtsch Zahnarztl Z* 39: 615-622.
- Sonis S, Clark W, Shklar G (1972) Chlorhexidine induced lingual keratosis and dysplasia in rats. *J Periodontol* 49: 585-591.

- Soskolne WA, Chajek T, Flashner M, Landau I, Stabholtz A, Kolatch B, Lerner EI (1998) An in vivo study of the chlorhexidine release profile of the PeroChip in the gingival crevicular fluid, plasma and urine. *J Clin Periodontol* 25: (12) 1017-1021.
- Splieth C, Kramer A (2000) Chlorhexidineinsatz. In: Splieth, C. (Hrsg.), *Professionelle Prävention*, Quintessenz. Berlin, 129-138.
- Stratmann U (2000) Mundtrockenheit-Diagnostik und Therapiekonzepte. *Zahnarzt Mitt* 22: 42-46.
- Thomas Ch, Thomas L (2009) Niereninsuffizienz – Bestimmung der glomerulären Funktion. *Dtsch Arztebl Int* 106(51-52): 849-54.
- Tsuchiya H, Miyazaki T, Onmoto S (1999) High-performance liquid chromatographic analysis of chlorhexidine in saliva after mouthrinsing. *Caries Res* 33: (2) 156 - 163.
- Vassileva L, Kazakowa M (1978) *Scripta Scientifica Media* 14: 43.
- Vernon MO, Hayden MK, Trick WE, Hayes RA, Blom DW, Weinstein RA (2006) Chlorhexidine gluconate to cleanse patients in a medical intensive care unit: the effectiveness of source control to reduce the bioburden of vancomycin-resistant enterococci. *Arch Intern Med* 166: (3) 306-12.
- Vorherr H, Vorherr U, Mehta P, Ulrich J, Messer R (1984) Antimicrobial effect of chlorhexidine and povidone-iodine on vaginal bacteria. *J Infection* 8: 195-199.
- Wainwright P, Cooke M (1986) Direct determination of chlorhexidine in urine by high-performance liquid chromatography. *Analyst* 111: (11) 1343-1344.
- Wallhäußer K (1995) *Praxis der Sterilisation, Desinfektion - Konservierung*. Stuttgart Thieme.
- Wang JC, Williams RR, Wang L, Loder J (1990) In vitro skin permeation and bioassay of chlorhexidine phosphanilate, a new antimicrobial agent. *Pharm Res* 7: (10) 995-1002.
- Weiß T (2005) *Entwicklung und Anwendung analytischer Methoden zum Biologischen Monitoring und Biochemischen Effektmonitoring von aromatischen Aminen im Rahmen arbeits- und umweltmedizinischer Fragestellungen*. Dissertationsschrift Universität Erlangen-Nürnberg: 1-192.
- Weiß T, Ewers U, Flieger A, Angerer J (2000) Innere Belastung der Allgemeinbevölkerung mit Amino- und Nitroaromatischen Verbindungen. *Umweltmed Forsch Prax* 5: (2) 101-106.
- Weiß T, Käfferlein HU, Angerer J, Brüning T (2004) Berufliche Exposition gegenüber aromatischen Aminen - Nutzen des Biological Monitoring als Instrument zur Primärprävention von Arbeitnehmern. *BGFA Info* 3. <http://www.ipa.ruhr-uni-bochum.de/publik/info0304/amine.php>
- Weissermel K, Arpe H-J (1990) *Industrielle Organische Chemie. Bedeutende Vor- und Zwischenprodukte*. Weinheim [VCH].
- Whalen RL, Cai C, Thompson LM, Sarrasin MJ, Dempsey DJ, Bowen MA (1997) An infection inhibiting urinary catheter material. *ASAIO J* 1992 43: (5) M842-7.
- Wilcox MH, Hall J, Gill AB, Fawley WN, Parnell P, Verity P (2004) Effectiveness of topical chlorhexidine powder as an alternative to hexachlorophane for the control of *Staphylococcus aureus* in neonates. *J Hosp Infect* 56: (2) 156-9.

- Wittke K, Hajimiragha H, Dunemann L, Begerow J (2001) Determination of dichloroanilines in human urine by GC-MS, GC-MS-MS, and GC-ECD as markers of low-level pesticide exposure. *J Chromatogr B* 755: (1-2) 215-228.
- Wolf H (1992) Gifte. In: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Springer (Hrsg.) vF Bruchhausen Berlin 3: 276-277.
- Wunderer H (1986) Mund-und Rachentherapeutika. *Dtsch Apoth Ztg* 126: 2281-2292.
- Xu QA, Zhang Y, Trissel LA, Gilbert DL (2000) Adequacy of a new chlorhexidine-bearing polyurethane central venous catheter for administration of 82 selected parenteral drugs. *Ann Pharmacother* 34: (10) 1109-16.
- Zhang D, Liang H, Zeng J, Rao G (1995) A study on the simultaneous HPLC determination of chlorhexidine and its impurity 4-chloroaniline. *Hua Hsi I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao* 26: (4) 447 - 451.
- Zheng H AK (1994) Cytotoxic effects of chlorhexidine and nystatin on cultured hamster buccal epithelial cells. *Int J Pharm* 101: 121-126.

Anhang

Tabelle A 1: *Herstellungsprotokoll Sol.Chlorhexidini SR*

Bestandteil	Menge je 10.000g	Lieferant/Herstellung
Sol. Chlorhexidini dig. 20%	100g	BUFA B.V. Pharmaceutical Products, Holland
Spirit. Menthae pip. 10% ASR	50 g	Eigenanfertigung aus Pfefferminzöl und Ethanol; Apotheke Klinikum Neubrandenburg
Sorbitolum	3000g	Fa. Caesar&Loretz, Hilden/Deutschland
Aqua purificata	6850g	Reinigung des Wassers über Ionenaustausch, Osmose und Bakterienfiltration; Apotheke Klinikum Neubrandenburg

Tabelle A 2: Patienten (Alter/Geschlecht/Größe/Gewicht/BMI/Creatinin/Creatinin-Clearance/Gruppe/pH-Wert/Teilnahmedauer)

Patienten Nr.	Alter	Geschlecht	Größe	Gewicht	BMI	Crea	Clearance	Gruppe		pH	Teilnahme
	[a]	m=1 w=2	[cm]	[kg]	[kg/m ²]	[μmol/l]	[ml/min]	1-CHD	2-Octenisept	vor Spülung	[d]
1	48	1	180	74	22,8	81	103	2		6,1	4
2	31	1	189	83	23,2	91	122	1		5,8	7
3	42	1	181	140	42,7	53	335	2		5,3	7
4	73	2	166	69	25,0	87	55	1		7,0	5
5	45	1	172	78	26,4	76	120	1		7,0	4
6	83	2	148	50	22,8	73	41	2		6,1	7
7	24	2	165	55	20,2	51	131	2		5,5	4
8	80	1	168	90	31,9	76	87	1		7,0	4
9	22	1	190	73	20,2	75	142	1		5,8	7
10	75	1	175	105	34,3	99	85	2		7,0	7
11	23	1	192	100	27,1	76	189	1		7,0	7
12	49	2	155	64	26,6	55	111	1		6,1	7
14	74	2	148	68	31,0	68	69	1		5,3	7
15	23	2	168	54	19,1	58	114	1		7,0	7
16	22	1	178	65	20,5	71	133	1		5,3	7
17	23	1	189	110	30,8	83	192	1		7,0	7
18	65	1	169	68	23,8	91	69	1		7,0	4
19	19	2	166	53	19,2	59	115	1		6,1	7
20	52	1	152	75	32,5	73	111	2		7,0	4
21	57	2	150	62	27,6	53	101	2		5,0	6
22	77	2	168	74	26,2	76	64	2		7,0	7
23	66	2	158	62	24,8	71	67	1		6,1	7
24	52	1	180	115	35,5	99	125	1		7,0	5
25	59	2	163	73	27,5	66	93	2		n.b.	7
26	43	1	184	110	32,5	99	128	1		6,1	3
27	56	1	185	107	31,3	89	123	1		7,0	7
28	50	1	174	92	30,4	79	128	2		n.b.	7
29	29	2	160	50	19,5	57	102	2		5,8	6
30	20	1	180	75	23,1	74	150	2		n.b.	6
31	37	2	160	59	23,0	62	103	1		7,0	7
32	51	1	172	80	27,0	62	140	1		7,0	6
33	44	2	164	59	21,9	91	65	2		n.b.	7
34	73	1	168	65	23,0	85	63	2		7,0	3
35	19	1	174	74	24,4	99	112	1		7,0	6
36	51	1	167	80	28,7	74	118	2		6,1	7
37	36	2	167	72	25,8	58	135	1		n.b.	5
38	60	2	174	88	29,1	76	97	1		7,0	5
39	65	1	178	82	25,9	97	78	2		n.b.	7
40	33	1	174	78	25,8	95	107	2		n.b.	7
41	33	2	171	62	21,2	68	101	2		n.b.	7
42	59	2	168	95	33,7	46	187	2		n.b.	7
43	33	1	187	75	21,4	72	136	1		6,5	6

Tabelle A 3: Urinmenge, Spezifisches Gewicht des Urin

Patienten Nr.	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6
1	150	180	150	220	n.b.	n.b.	n.b.	1.010	1.015	1.010	1.015	n.b.	n.b.	n.b.
2	300	220	300	270	360	360	450	1.010	1.030	1.020	1.020	1.015	1.015	1.015
3	300	400	400	480	300	380	210	1.015	1.005	1.005	1.005	1.005	1.005	1.005
4	225	70	420	330	400	n.b.	n.b.	1.015	1.025	1.010	1.010	1.010	n.b.	n.b.
5	150	260	290	280	n.b.	n.b.	n.b.	1.015	1.020	1.020	1.020	n.b.	n.b.	n.b.
6	100	100	550	150	320	220	150	1.010	1.020	1.015	1.015	1.015	1.015	1.015
7	100	100	150	160	n.b.	n.b.	n.b.	1.025	1.010	1.020	1.010	n.b.	n.b.	n.b.
8	620	600	2250	700	n.b.	n.b.	n.b.	1.005	1.005	1.005	1.005	n.b.	n.b.	n.b.
9	300	300	200	350	450	310	300	1.030	1.005	1.030	1.025	1.025	1.030	1.015
10	100	620	530	450	360	530	70	1.005	1.010	1.010	1.010	1.005	1.010	1.020
11	100	320	300	500	600	370	250	1.015	1.015	1.020	1.020	1.015	1.010	1.015
12	100	270	370	350	350	360	320	1.020	1.020	1.015	1.015	1.020	1.015	1.015
14	60	250	260	320	510	280	40	1.005	1.005	1.005	1.005	1.005	1.005	1.020
15	70	300	250	350	260	320	200	1.015	1.015	1.015	1.015	1.015	1.020	1.025
16	70	200	400	200	470	150	490	1.015	1.020	1.020	1.030	1.015	1.025	1.010
17	150	480	400	450	450	250	460	1.015	1.015	1.015	1.015	1.015	1.020	1.020
18	170	480	520	480	n.b.	n.b.	n.b.	1.005	1.005	1.005	1.005	n.b.	n.b.	n.b.
19	70	150	170	310	25	10	310	1.030	1.020	1.020	1.015	1.025	1.030	1.020
20	150	450	850	800	n.b.	n.b.	n.b.	1.020	1.020	1.015	1.015	n.b.	n.b.	n.b.
21	150	310	430	320	280	290	n.b.	1.005	1.015	1.015	1.015	1.020	1.020	n.b.
22	150	200	280	300	650	510	290	1.010	1.015	1.005	1.010	1.005	1.015	1.015
23	70	250	320	480	360	300	80	1.005	1.015	1.010	1.005	1.015	1.015	1.015
24	150	1000	1500	700	600	n.b.	n.b.	1.025	1.020	1.025	1.010	1.010	n.b.	n.b.
25	200	550	460	650	640	450	620	1.005	1.005	1.010	1.005	1.010	1.015	1.010
26	190	310	420	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	1.015	1.030	1.015	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
27	100	310	310	600	590	550	450	1.015	1.010	1.020	1.015	1.010	1.010	1.015
28	80	400	510	180	200	200	80	1.030	1.010	1.010	1.010	1.010	1.015	1.010
29	150	250	100	180	200	190	n.b.	1.010	1.015	1.010	1.015	1.015	1.015	n.b.
30	150	500	400	500	290	n.b.	n.b.	1.015	1.010	1.010	1.015	1.015	1.015	n.b.
31	210	150	50	270	310	160	240	1.010	1.015	1.025	1.015	1.015	1.020	1.015
32	150	200	350	510	490	340	n.b.	1.025	1.025	1.020	1.010	1.005	1.020	n.b.
33	150	160	150	330	490	650	310	1.025	1.020	1.005	1.005	1.010	1.010	1.015
34	140	250	60	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	1.010	1.010	1.005	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
35	150	360	350	390	350	410	n.b.	1.015	1.015	1.015	1.015	1.015	1.015	n.b.
36	190	200	180	200	170	350	390	n.b.	1.025	1.020	1.025	1.025	1.025	1.020
37	150	160	530	180	90	n.b.	n.b.	1.015	1.005	1.010	1.010	1.005	n.b.	n.b.
38	150	300	380	400	410	n.b.	n.b.	1.015	1.015	1.015	1.010	1.010	n.b.	n.b.
39	350	550	460	440	490	500	380	1.025	1.020	1.020	1.015	1.020	1.015	1.015
40	150	260	900	400	290	380	400	1.015	1.015	1.015	1.010	1.010	1.010	1.015
41	100	250	450	210	400	220	230	1.015	1.015	1.010	1.015	1.010	1.015	1.015
42	600	610	450	500	450	530	510	1.020	1.015	1.015	1.015	1.010	1.015	1.015
43	140	370	380	250	280	250	n.b.	1.015	1.020	1.015	1.025	1.025	1.025	n.b.

Urinmenge Tag 0 bis 6 [ml]; Spezifisches Gewicht des Urin Tag 0 bis 6 [ohne], Normbereich 1005-1020; n.b. - nicht bestimmt

Tabelle A 4: *Behandlungsdiagnosen/dokumentierte Störungen*

Patienten Nr.	Diagnose/Therapie	Störungen
1	ulceriertes Mundboden-Ca, konservative Therapie	U 30 vergessen
2	Gaumenplastik	
3	Wurzelspitzenresektion bei Abszedierung	Sp 42 und 43 je 1h zu spät
4	Kieferhöhlenzyste intraoral, Vollprothese von OK und UK	Sp 20, 23 und 30 zu spät
5	Akut-OP, Nachblutung nach ambulanter Zahnextraktion	
6	Konservative Therapie bei Gingivitis	
7	Extraktion von 4 Zähnen mit SH-Naht	Sp Proben häufiger verzögert
8	Teilexcision Unterlippe bei Ca	Sammelurin gesamte Nacht bei Hemiparese
9	Extraktion 4 Weisheitszähne, Kieferzyste	
10	U60 kein Morgenurin, 2.Portion, kl. Wangentumor	
11	Extraktion 1 Zahn, operative Sanierung Kieferhöhlenzyste, Wurzelspitzenresektion	Sp 12 und 13 ca. 50 min verzögert
12	Kieferhöhlenzyste, Zahnextraktion	Sp-3 immer 90 min nach Spülung
14	kleiner Gaumen-Tm, Vollprothesen OK und UK	Tag 1 nur 20 ml Spülung verbraucht, U60 kein Morgenurin, sondern 2.Portion
15	Retrognathie, UK-Vorverlagerung	Spülung konnte bei Unterkieferverdrahtung erst am 4.postop. Tag begonnen werden
16	Extraktion von 4 Zahnruinen Backenzahnbereich u. gr. UK-Zyste	bereits präoperative mehrere CHD Spülungen erfolgt, da OP-Termin aus mehrfach verschoben
17	Dysgnathie mit OK-Distraktion	Tag 1 nur 25 ml CHD verbraucht
18	Entfernung Restbezahnung-3 Zähne	
19	WSR bei Abszedierung, Zahn postoperativ offen ohne Füllung	U40 und U50 kurze Blasenverweilzeit bei Nykturie; Sp 11, 12 und 13 wurden vom Pat. vergessen
20	primär konservativ bei UK Abszeß, dann Extraktion Backenzahn	Proben Tag 2 entsprechen OP Tag
21	Extraorale Abszessspaltung, Extraktion von 1 Zahn	
22	Extraorale Abszeßinzision	
23	ausgedehnte Zystektomie im OK, Zahnfleischschwund Restbezahnung OK	
24	Extraktion von 11 Restzähnen bei Lockerungsgrad II-III, Plavixpatient	Sp33 90 min nach Spülung, Polyurie bei schlecht eingestelltem Diabetes
25	operative Therapie bei Kieferhöhlenzyste und Wurzelspitzenresektion	
26	Extraktion von 2 Weisheitszähnen	Sp21-23 nicht abgegeben
27	Entfernung OK Zyste, Wurzelspitzenresektion, nur geringe Restbezahnung OK und UK	
28	Abszeßinzision extraoral nach ambulanter Weisheitszahnextraktion	
29	Dentogene Sinusitis	
30	intraorale Metallentfernung im Unterkiefer bei Zustand nach Fraktur	Sp10 vergessen
31	OK-Vorverlagerung mit Verdrahtung	U10 kein Morgenurin sondern 2.Portion
32	initial extraorale Abszessspaltung, 2 Zähne mit ungefüllter Kavität, am Tag 4	Tag 2 nur 20ml CHD verbraucht,
33	Ambulante Extraktion Weisheitszahn, extraorale Abszeßspaltung	
34	Extraktion von 3 Zähnen	Tag 1 fast kein Octenisept verbraucht
35	Kieferhöhlenrevision intraoral	
36	ausgeprägte Peridontitis	Tag 1 fast kein Octenisept verbraucht
37	Zahnextraktion, Zyste UK entfernt	Sp32 nach erneuter Spülung, damit auch Sp33 höhere CHD-Belastung
38	benigner Schleimhauttumor des OK entfernt	
39	Konservativ	
40	Konservativ	
41	Konservativ	
42	Konservativ	
43	OK-Distraktion bei Schmalkiefer	

Tabelle A 5: CHD im Speichel in der CHD-Gruppe [mg/l]

Pat. Nr.	Sp00	Sp10	Sp11	Sp12	Sp13	Sp20	Sp21	Sp22	Sp23	Sp30	Sp31	Sp32	Sp33	Sp40	Sp41	Sp42	Sp43	Sp50	Sp51	Sp52	Sp53	Sp60
2	0	0,52	5,06	2,88	0,91	0,22	18,94	2,51	1,24	0,25	0,61	3,63	1,75	0,35	37,7	4,05	1,35	0	6,11	3,23	0	0
4	n.b.	0	0	23,6	0	n.b.	4,87	n.b.	n.b.	0,38	n.b.	3,7	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
5	0	n.b.	22,96	4,67	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	5,03	17,79	6,57	3,11	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
8	0	n.b.	59,8	n.b.	n.b.	15,39	n.b.	n.b.	n.b.	18,13	28,94	20,13	28,84	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
9	0	1,91	14,11	2,42	1,81	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	1,54	43,98	1,34	13,46	3,66	49,63	6,91	4,06	2,7	38,12	7,25	2,65	20,63
11	0	6,47	79,73	36,76	5,97	4,4	50,97	3,34	4,22	0,53	88,45	3,64	3,57	12,08	154,15	3,24	2,45	4,94	59,36	6,05	1,53	0,97
12	0	2,68	3,35	1,27	0,8	0,22	7,48	2,16	1,52	0,23	4,42	6,79	2,82	0,29	4,23	7,38	1,87	0	7,5	7,56	2,7	0,63
14	0	1,55	0,82	1,94	0	0,65	13,22	1,75	6,98	1,55	1,28	1,89	3,1	0,73	1,79	5,97	1,19	0	1,08	0,47	2,16	0
15	0	1,75	2,71	7,08	1,6	52	15,2	17,33	3,36	27,31	19,64	3,35	3,91	1,09	32,71	1,86	1,88	1,65	20,24	9,13	3,75	1,16
16	0	0	9,99	0,63	0	4,2	1,44	1,88	1,91	0	23,19	14,43	1,18	0	11,2	4,22	1,89	0	2,38	0,081	0	1,99
17	0	0	17,11	0,7	0	0	10,86	0,15	0	0	14,73	2,17	1,12	0	11,2	0,46	0	0	76,71	2,2	20,26	0
18	0	1,35	5,1	11,28	6,69	0,52	27,45	0,39	15,69	3,54	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
19	0	5,14	n.b.	n.b.	n.b.	14	6,25	12,27	25,58	35,13	11,7	5,89	14,26	3,9	6,01	6,24	19,84	4,7	22,48	7,57	8,02	4,12
23	0	0,1	15,85	1,49	1,51	0,24	14,49	5,2	2,7	0,15	14,37	4,35	0	3,61	24,18	13,55	36,17	28,21	31,56	2,63	0,38	0
24	0	1,19	4,86	8,21	4	0	0	6,64	1,93	2,59	0	1,56	0	0	0	0	0,53	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
26	0	0,82	3,97	0,73	0,22	2,87	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
27	0	0	1,81	57,78	0,62	0	2,07	0,71	0	0	13,81	46,33	10,23	0,45	94,83	2,81	0,17	0	91,18	2,79	0,7	57,21
31	0	11,41	0	1,51	0	1,55	19,59	4,21	5,48	2,61	3,06	2,6	0	1,4	26,17	6,81	5,46	5,1	23,9	7,53	2,14	8,79
32	0	26,09	25,34	18,02	10,51	10,49	128,05	10,19	20,97	18,71	49,26	42,92	34,08	6,85	80,86	11,88	13,37	3,39	60	38,37	26,83	n.b.
35	0	1,32	7,44	12,61	3,29	4	16,86	15,17	7,54	3,17	29,13	29,55	24,63	10,56	178,84	17,22	10,82	8,42	97,99	34,34	11,19	n.b.
37	0	19,7	52,89	28,07	46,12	4,63	31,93	51,29	26,42	9,38	29,6	58,41	40,81	3,28	57,62	37,48	31,36	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
38	0	38,69	43,43	39,5	69,67	69,77	36,8	35,41	35,16	46,97	37,65	38,28	7,18	76,57	36,12	39,76	33,1	25,92	45,79	67,97	11	n.b.
43	0	6,31	55,3	39,58	37,67	n.b.	179,79	39,56	29,93	27,36	234,5	28,44	22,8	27,89	23,28	29,87	39,36	14,54	21,1	27,05	4	35,55

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,08 mg/l; n.b.: nicht bestimmt; Sp 00 bis Sp 60 entsprechen den Proben an den Tagen 0-6, Zeitpunkt: vor (0), nach (1), 30 (2) und 60 min (3), siehe auch Tab. 3

Tabelle A 6: p-CA im Speichel in der CHD-Gruppe [mg/l]

Pat. Nr.	Sp00	Sp10	Sp11	Sp12	Sp13	Sp20	Sp21	Sp22	Sp23	Sp30	Sp31	Sp32	Sp33	Sp40	Sp41	Sp42	Sp43	Sp50	Sp51	Sp52	Sp53	Sp60	
2	0	0	0,216	0	0	0,291	0,016	0	0,012	0	0,25	0,021	0,044	0	0,251	0,513	0	0	0	0,368	0	0	
4	n.b.	0	n.b.	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
5	n.b.	n.b.	0,095	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	0,119	0,011	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
8	0	n.b.	0,056	n.b.	n.b.	0,073	n.b.	n.b.	n.b.	0,015	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
9	0	0,164	0,197	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	0	0	0	0	n.b.	n.b.	0	n.b.	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0,094	0,077	0	0	0,09	0	0	0	0,106	0	0	0	0,124	0	0,013	0	0,121	0	0	0
12	0	0,011	0,007	0	0	0	0	0	0	0	0,013	0	0	0	0,01	0	0	0	0,008	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0,006	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0,112	0	0	0	0,073	0,007	0	0	0,09	0,004	0	0	0,07	0	0	0	0,202	0	0	0	0
16	0	0	0,069	0	0	0,005	0,163	0	0	0	0,162	0	0	0	0,061	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0,139	0,011	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	0	0,12	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0,043	0	0	0	0,043	0,019	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
19	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	0	0,073	0	0	0	0,071	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0,004	0,064	0	0	0	0,054	0,043	0	0	0,019	0,009	0	0,005	0,004	0	0	0	0,104	0	0	0	0
24	0	0,003	0,101	0,003	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
26	0	0	0,029	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,011	0	0	0	0,073	0	0	0	0
31	0	0	0,004	0	0	0	0,006	0	0	0	0	0	0	0,004	0,005	0	0	0,009	0	0	0	0	0
32	0	0,003	0,003	0	0	0,013	0,09	0	0	0	0,018	0,003	0	0	0,103	0,004	0	0	0,097	0,003	0	n.b.	n.b.
35	0	0	0	0	0	0	0,028	0	0	0	0,115	0,009	0	0,003	0,168	0	0,011	0	0,083	0	0	n.b.	n.b.
37	0	0	0	0,003	0	0	0,275	0,005	0	0	0,201	0,071	0,006	0,003	0,515	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
38	0	0,009	0,31	0	0	0	0,005	0	0	0	0,187	0	0	0,315	0,548	0,003	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.
43	0	0,107	0	0	0,037	n.b.	0,083	0	0,053	0	0,175	0	0	0	0,082	0	0	0	0,136	0	0	0	0

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,003 mg/l; n.b.: nicht bestimmt; Sp 00 bis Sp 60 entsprechen den Proben an den Tagen 0-6, Zeitpunkt: vor (0), nach (1), 30 (2) und 60 min (3), siehe auch Tab. 3

Tabelle A 7: p-CA im Speichel in der Octenisept-Kontrollgruppe [mg/l]

Pat. Nr.	Sp00	Sp10	Sp11	Sp12	Sp13	Sp20	Sp21	Sp22	Sp23	Sp30	Sp31	Sp32	Sp33	Sp40	Sp41	Sp42	Sp43	Sp50	Sp51	Sp52	Sp53	Sp60	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,213	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	
3	0	n.b.	n.b.	0	n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
6	n.b.	n.b.	0	0	n.b.	n.b.	0	0	0	n.b.	0	0	0	0	0	0	n.b.	0	n.b.	n.b.	n.b.	0	
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,014	0	0,01	0	0,007	0,005	0	0,003	0,007	0	0	0	
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,084	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	
21	0,005	n.b.	0	0	0	0,008	0,005	0,005	0,008	n.b.	0,013	0,004	0,003	0	0	0	0	n.b.	0	0	0	n.b.	
22	0,0111	n.b.	n.b.	0	n.b.	0	0	0	0,009	0	0	0	0	0,005	0	0,047	0	0	0	0	0	0	
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,008	0,006	0,004	0	0	0	0	0	0	0	
29	0,009	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,004	0,004	0,003
30	0	n.b.	0,003	0	0	0	0,006	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	0	0	0	0	n.b.	
33	0	0	0	0	0	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
34	0	0	0	n.b.	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
39	0	0	0,004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,004	n.b.	n.b.	0

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,003 mg/l; n.b.: nicht bestimmt; Sp 00 bis Sp 60 entsprechen den Proben an den Tagen 0-6, Zeitpunkt: vor (0), nach (1), 30 (2) und 60 min (3), siehe auch Tab. 3

Tabelle A 8: p-CNB im Speichel in der CHD-Gruppe [mg/l]

Pat. Nr.	Sp00	Sp10	Sp11	Sp12	Sp13	Sp20	Sp21	Sp22	Sp23	Sp30	Sp31	Sp32	Sp33	Sp40	Sp41	Sp42	Sp43	Sp50	Sp51	Sp52	Sp53	Sp60
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	n.b.	0	n.b.	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
5	n.b.	n.b.	0,048	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
8	0	n.b.	0	n.b.	n.b.	0	n.b.	n.b.	n.b.	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
9	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	0	0	0	0	n.b.	n.b.	0	n.b.	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
19	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0,0608	0	0,0202	0	0	0	0	0	0	0	0	0,052	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
26	0	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0,007	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,019	0,05	0,029	0	0,055	n.b.
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.
37	0	0	0	0	0	0	0	0,041	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
38	0	0,025	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,029	0	0	0	0	0	0	0	n.b.
43	0	0	0	0	0	n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,002 mg/l; n.b.: nicht bestimmt; Sp 00 bis Sp 60 entsprechen den Proben an den Tagen 0-6, Zeitpunkt: vor (0), nach (1), 30 (2) und 60 min (3), siehe auch Tab. 3

Tabelle A 9: p-CNB im Speichel in der Octenisept-Kontrollgruppe [mg/l]

Pat. Nr.	Sp00	Sp10	Sp11	Sp12	Sp13	Sp20	Sp21	Sp22	Sp23	Sp30	Sp31	Sp32	Sp33	Sp40	Sp41	Sp42	Sp43	Sp50	Sp51	Sp52	Sp53	Sp60	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	
3	0	n.b.	n.b.	0	n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	n.b.	n.b.	0	0	n.b.	n.b.	0	0	0	n.b.	0	0	0	0	0	0	n.b.	0	n.b.	n.b.	n.b.	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0,003	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,016	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
21	0	n.b.	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	0	0	0	0,0186	0	0	0,022	n.b.	0,022	0	0	0	n.b.
22	0,023	n.b.	n.b.	0	n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0157	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,011	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	0,018	0	0	0,111	0	0,012	0	0,209	0,186	0,1	0,075	0,05	0,047	0	0	0	0
30	0	n.b.	0	0	0	0	0	0,02	0,021	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	0	0	0	0	n.b.	
33	0	0,022	0	0	0	0,208	0,005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	n.b.	0	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
36	0	0	0,015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0,004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,004	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,007	0	0	0	0	0	n.b.	n.b.	0

Mit 0 ausgewiesene Werte: < NWG 0,002 mg/l; n.b.: nicht bestimmt; Sp 00 bis Sp 60 entsprechen den Proben an den Tagen 0-6, Zeitpunkt: vor (0), nach (1), 30 (2) und 60 min (3), siehe auch Tab. 3

Statistische Größen Patienten

Tabelle A 10: Altersgruppenverteilung der Patienten

Alter [Jahre]	Häufigkeit N	Prozent	Kumulative Häufigkeit	Kumulativer Prozentwert
19	2	4.76	2	4.76
20	1	2.38	3	7.14
22	2	4.76	5	11.90
23	3	7.14	8	19.05
24	1	2.38	9	21.43
29	1	2.38	10	23.81
31	1	2.38	11	26.19
33	3	7.14	14	33.33
36	1	2.38	15	35.71
37	1	2.38	16	38.10
42	1	2.38	17	40.48
43	1	2.38	18	42.86
44	1	2.38	19	45.24
45	1	2.38	20	47.62
48	1	2.38	21	50.00
49	1	2.38	22	52.38
50	1	2.38	23	54.76
51	2	4.76	25	59.52
52	2	4.76	27	64.29
56	1	2.38	28	66.67
57	1	2.38	29	69.05
59	2	4.76	31	73.81
60	1	2.38	32	76.19
65	2	4.76	34	80.95
66	1	2.38	35	83.33
73	2	4.76	37	88.10
74	1	2.38	38	90.48
75	1	2.38	39	92.86
77	1	2.38	40	95.24
80	1	2.38	41	97.62
83	1	2.38	42	100.00

Tabelle A 11: Altersgruppenverteilung in den Gruppen

Altersgruppe		CHD-Gruppe	Octenisept-Kontrolle	Summe
Bis 20	Anzahl n	2	1	3
	Prozent [%]	4,76	2,38	7,14
Bis 30	Anzahl n	5	2	7
	Prozent [%]	11,90	4,76	16,66
Bis 40	Anzahl n	4	2	6
	Prozent [%]	9,52	4,76	14,28
Bis 50	Anzahl n	3	4	7
	Prozent [%]	7,14	9,52	16,66
Bis 60	Anzahl n	4	5	9
	Prozent [%]	9,52	11,90	21,42
Bis 70	Anzahl n	2	1	3
	Prozent [%]	4,76	2,38	7,14
Bis 80	Anzahl n	3	3	6
	Prozent [%]	7,14	7,14	14,28
Über 80	Anzahl n		1	1
	Prozent [%]		2,38	2,38
Summe	Summe	23	19	42

Die Angabe Prozent bezieht sich immer auf den Anteil am gesamten Patientenkollektiv.

Tabelle A 12: Geschlechtsverteilung in den Gruppen

Geschlecht		CHD-Gruppe	Octenisept-Kontrolle	Summe
männlich	Anzahl n	14	10	24
	Prozent [%]	33,33	23,81	57,14
weiblich	Anzahl n	9	9	18
	Prozent [%]	21,43	21,43	42,86
Gesamt	Anzahl n	23	19	42
	Prozent [%]	54,76	45,24	100

Die Angabe Prozent bezieht sich immer auf den Anteil am gesamten Patientenkollektiv.

Flächenintegrale der Tage 1 bis 5 (Area under the Curve/AUC)

Tabelle A 13: Integrale CHD in der CHD-Gruppe

Patient Nr.	Integral Tag 1	Integral Tag 2	Integral Tag 3	Integral Tag 4	Integral Tag 5
2	175,95	378,00	144,30	707,25	188,55
4	708,00	0	0	0	0
5	0	0	510,60	0	0
8	0	0	1470,60	0	0
9	311,40	0	901,80	1012,65	829,05
11	2388,30	928,05	1489,50	2446,20	1094,85
12	100,35	199,80	312,30	312,90	379,80
14	70,50	355,50	122,40	223,80	62,70
15	277,05	798,30	453,75	574,65	633,75
16	168,75	106,65	798,45	322,95	38,13
17	277,65	167,40	302,85	181,80	1520,55
18	515,25	658,80	0	0	0
19	0	845,55	566,10	574,95	684,60
23	305,10	413,85	346,05	1311,75	558,00
24	379,20	228,15	46,80	7,95	0
26	84,75	0	0	0	0
27	1769,85	52,35	1750,50	1509,30	1461,90
31	45,30	502,35	123,90	678,75	616,50
32	1078,35	2541,00	2537,70	1769,85	2453,55
35	539,25	821,10	1692,90	3361,50	2667,90
37	2327,25	2413,95	2808,45	2459,10	0
38	2881,50	2141,70	1820,85	2231,10	2890,95
43	2581,95	4332,60	4712,70	1835,70	1188,00

mit 0 ausgewiesene Werte: Integral < 0,00

Tabelle A 14: Integrale p-CA in der CHD-Gruppe

Patient Nr.	Integral Tag 1	Integral Tag 2	Integral Tag 3	Integral Tag 4	Integral Tag 5
2	3,24	0,42	5,04	19,16	11,04
5	0	0	2,12	0	0
8	0	0	0	0	0
9	2,96	0	0	0	0
11	3,98	2,70	3,18	3,72	3,63
12	0,11	0	0,20	0,15	0,12
14	0	0,18	0	0	0
15	1,68	1,31	1,47	1,05	3,03
16	1,04	2,45	2,43	0,92	0
17	2,42	0	0	1,80	0
18	0,65	1,22	0	0	0
19	0	1,10	1,07	0	0
23	0,96	2,10	0,56	0,06	1,56
24	1,61	0	0	0	0
26	0,44	0	0	0	0
27	0	0	0	0,17	1,10
31	0,06	0,09	0	0,08	0
32	0,05	1,35	0,36	1,67	1,55
35	0	0,42	2,00	2,69	1,25
37	0,09	4,28	5,24	7,73	0
38	4,65	0,08	2,81	8,31	0,00
43	0,56	2,04	2,63	1,23	2,04

es fehlt Pat. 4 (nur 3 Werte, jeweils 0); mit 0 ausgewiesene Werte: Integral <0,00

Tabelle A 15: Integrale p-CA in der Octenisept-Kontrollgruppe

Patient Nr.	Integral Tag 1	Integral Tag 2	Integral Tag 3	Integral Tag 4	Integral Tag 5
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
10	0	0	0,36	0,26	0,11
20	0	0	1,26	0	0
21	0	0,35	0,36	0	0
22	0	0,14	0	1,41	0
25	0	0	0	0	0
28	0	0	0,12	0,06	0
29	0	0	0	0	0,18
30	0,045	0,09	0	0	0
33	0	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0
39	0,06	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0
41	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0

es fehlt Pat. 34 (nur 3 Werte, jeweils 0); mit 0 ausgewiesene Werte: Integral <0,00

Tabelle A 16: Integrale p-CNB in der CHD-Gruppe

Patient Nr.	Integral Tag 1	Integral Tag 2	Integral Tag 3	Integral Tag 4	Integral Tag 5
2	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0
24	1.82	0	0	0.78	0
26	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0.29	1.26
35	0	0	0	0	0
37	0	1.23	0	0	0
38	0	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0

es fehlt Pat. 4 (nur 3 Werte, jeweils 0); mit 0 ausgewiesene Werte: Integral <0,00

Tabelle A 17: Integrale p-CNB in der Octenisept-Kontrollgruppe

Patient Nr.	Integral Tag 1	Integral Tag 2	Integral Tag 3	Integral Tag 4	Integral Tag 5
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
20	0.05	0	0.24	0	0
21	0	0	0	0.33	0.33
22	0	0	0	0.47	0
25	0	0	0	0	0
28	0	0	0.17	0	0
29	0	0.27	0.36	6.92	0.71
30	0	0.92	0	0	0
33	0	0.08	0	0	0
36	0.23	0	0	0	0
39	0.06	0	0	0	0.06
40	0	0	0	0	0
41	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0.11	0

es fehlt Pat. 34 (nur 3 Werte, jeweils 0); mit 0 ausgewiesene Werte: Integral <0,00

Eidesstattliche Erklärung

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

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

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

19.04.2010

Ulrike Hildebrandt

Lebenslauf

Name:	Ulrike Hildebrandt, geb. Strobel
Wohnort:	Eberhard-Wenzel-Weg 34 17033 Neubrandenburg
Geburtstag und -ort:	08.06.1971, Neubrandenburg
Familienstand:	verheiratet, drei Kinder
Nationalität:	deutsch
Schulbildung	
09.1978 - 08.1988	Allgemeinbildende Oberschule, Neubrandenburg
09.1988 - 08.1990	Erweiterte Oberschule, Neubrandenburg
06.07.1990	Abitur
Studium/ Berufsausbildung	
09.1990 - 08.1991	Vorklinisches Jahr / Klinikum Neubrandenburg
10.1991 - 09.1993	Vorklinisches Studium / Universität Rostock
10.1993 - 10.1997	Klinisches Studium / Universität Greifswald
04.1998 - 03.1999	Praktisches Jahr / Klinikum Neubrandenburg
05.1999	Ärztliche Prüfung
07.1999 – 06.2002	Ärztin im Praktikum (AiP) im Klinikum Neubrandenburg, Fachgebiete Orthopädie, Urologie
05.2002	Approbation
08.2002 – 11.2005	Assistenzärztin im Klinikum Neubrandenburg. Fachgebiete Notfallmedizin, Innere Medizin, Pädiatrie, Radiologie
12.2005 – 11.2007	Assistenzärztin in der ambulanten Versorgung. Fachgebiete Pädiatrie und Allgemeinmedizin
01.2008	Fachärztin für Allgemeinmedizin
02.2008	Zulassung der KV Mecklenburg/Vorpommern als Fachärztin für Allgemeinmedizin in Neubrandenburg
Zusatzqualifikationen	
07.2006	Fachkunde der Ärztekammer Mecklenburg/Vorpommern: Ultraschalldiagnostik Abdomen, Retroperitoneum, Thorax, Schilddrüse
06.2008	Zertifikat „Manuelle Medizin/Chirotherapie“ der Deutschen Gesellschaft für Manuelle Medizin/Ärztevereinigung für Manuelle Medizin (DGMM/ÄMM), Zusatzbezeichnung „Chirotherapie“ der Ärztekammer Mecklenburg/Vorpommern

Danksagung

Das ich am Ende dieses über Jahre währenden Prozesses mit Freude und Stolz auf meine abgeschlossene Dissertation blicken kann, ist vielen Menschen zu verdanken, die Entscheidungen getroffen haben, mich fachlich begleitet, unterstützt oder auch ermutigt haben.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Kramer für die Vergabe einer Thematik zu einer wissenschaftlich wertvollen Fragestellung, die klar strukturierte Aufgaben beinhaltete und für mich als klinisch tätige Ärztin auch hohe praktische Relevanz aufgezeigt hat. Das die Ergebnisse dieser Untersuchungen nicht in einer Schublade verschwinden, sondern weitere wissenschaftliche Verwendung finden und eventuell Bedeutung erfahren werden, erfüllt mich mit besonderem Stolz und es zeichnet Herrn Prof. Dr. Kramer aus, dass er seinen Promovenden eine solche Erfahrung zuteil werden lässt.

Die vorgestellte Studie fußt auf einer neuen analytischen Methode, die durch Herrn Dr. Below entwickelt wurde und damit die wesentliche Grundlage dieser Arbeit darstellt. Herr Dr. Below zeichnete auch hauptverantwortlich für die fachliche Betreuung; er war mein Ansprechpartner für alle Fragen rund um die Promotion und hat überaus flexibel jeden Gesprächstermin möglich gemacht. Die insbesondere in der Endphase intensive fachliche Zusammenarbeit trotz der beiderseitigen beruflichen Verpflichtungen war nur durch dieses Entgegenkommen möglich, was ich überaus zu schätzen weiß.

Frau Zellmer danke ich für die Unterstützung bei der Analyse des umfangreichen Probenmaterials.

Nicht unerwähnt lassen möchte ich auch Frau Sümnick, die im entscheidenden Moment ein offenes Ohr für mich hatte und in organisatorischen Fragen schnelle Hilfe leistete.

Herrn Dr. Jäger verdanke ich, dass die Statistik in der Planung und Auswertung auf sichere Füße gestellt wurde.

Die praktische und zeitnahe Umsetzung dieser Studie war nur durch die unkomplizierte Erteilung einer Genehmigung durch die Geschäftsführung des Dietrich-Bonhoeffer-Klinikums Neubrandenburg sowie durch meine vorübergehende

Freistellung von der Arbeit in der Klinik für Innere Medizin durch Herrn Chefarzt Dr. Pietruschka und den Hauptbereichsleiter Personalwesen Herrn Möller möglich, die meinem Anliegen ausgesprochen aufgeschlossen gegenüberstanden.

Herr Chefarzt Dr. Liebermann gab wertvolle Hinweise zu Fragen der Methodik und ermöglichte mit entscheidender Unterstützung durch den damaligen Oberarzt und jetzigen Chefarzt Herrn Dr. Dittes und das Stationspersonal die Durchführung der Untersuchungen in der Klinik für Mund-Kiefer-und Gesichtschirurgie.

Die für die Einhaltung des Studiendesigns erforderliche Herstellung und Verblindung des Prüf- und Kontrollpräparates wurde durch die Krankenhausapotheke und ihre Mitarbeiterin Frau Hanka realisiert, die mir auch Zugang zu pharmazeutischer Basisliteratur verschaffte.

Mit freundlicher Unterstützung von Herrn Prof. Dr. Werle und seinen Mitarbeiterinnen war mir die selbständige Aufbereitung, Untersuchung und Lagerung der Proben im krankenhausinternen Labor als unmittelbare Voraussetzung für alle folgenden analytischen Untersuchungen möglich.

Trotz aller Unterstützung wäre dieses Projekt in der Endphase durch unvermutet auftauchende, nicht kontrollierbare Ereignisse beinahe zum Scheitern verurteilt worden. Meiner Familie und Freunden verdanke ich, dass sie mir die nötige Kraft und innere Stärke verliehen haben, den Stürmen des Lebens zu trotzen und diese mir so wichtige Angelegenheit zu einem glücklichen Abschluss zu bringen.

Meinen Kindern möchte ich daher auf ihren Lebensweg mitgeben:

Nicht der Wind, sondern das Segel bestimmt die Richtung!

Ich danke allen, die mich bei meiner Promotion begleitet haben!