

Parenterale Ernährung mit stabilitätsgeprüften, modularen Standardnährlösungen in der Neonatologie

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie

vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von
Claudia Gräflein
aus Steckborn (TG)

Zürich, 2004

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag von

Herrn Prof. Dr. H. Leuenberger

Herrn PD Dr. S. Mühlebach

Herrn PD Dr. G. Imanidis

Basel, den 3. Februar 2004

Prof. Dr. M. Tanner
Dekan

Meiner Familie

Dank

Die vorliegende Arbeit wurde in der Spitalapotheke des Kantonsspitals Aarau unter der Leitung von Herrn PD Dr. S. Mühlebach durchgeführt. Ihm möchte ich für die interessante Aufgabenstellung, die Ermöglichung dieser Arbeit im praxisnahen Umfeld sowie zahlreiche Ideen und Anregungen danken. Aufgrund seines Engagements für die Spitalpharmazie erhielt ich einen breiten Einblick in dieses spannende Fachgebiet.

Bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. H. Leuenberger, bedanke ich mich für die Unterstützung einer externen Dissertation.

Herrn PD Dr. G. Imanidis, meinem Korreferenten, danke ich für das Interesse an meiner Arbeit und seinen Einsatz bei der prompten Korrektur des Manuskripts.

Dem Fonds W&W des Kantonsspitals Aarau sowie den Firmen Abbott, Fresenius Kabi, Globopharm, Laboratorium Dr. G. Bichsel, Pfizer (vormals Pharmacia) und Roche danke ich für die finanzielle Unterstützung des Weiterbildungsprojektes und meiner Dissertation.

Ein grosses Dankeschön geht an meine Vorgängerin Frau Dr. U. Schmid, die mich sehr kompetent einführte und jederzeit für fachliche Diskussionen zu begeistern war. Sie hat eine kritische Durchsicht des Manuskripts übernommen.

Dem Team der neonatologischen Abteilung des Kantonsspitals Aarau danke ich für die Offenheit für Neuerungen sowie für die Mitarbeit bei den Datenerhebungen. Bei Frau Dr. S. Pasquier und Herrn Dr. G. Zeilinger bedanke ich mich für die konstruktiven Diskussionen zur Standardisierung der Nährmischungen. Ein besonderer Dank geht an Herrn Dr. G. Zeilinger. Er hat mit seiner Begeisterung für das Projekt und seinen aufmunternden Worten viel zu meiner Motivation beigetragen.

Ich danke dem ganzen Team der Spitalapotheke KSA für die gute Zusammenarbeit während meiner Dissertation und Postgraduate Ausbildung in Spitalpharmazie. Speziell möchte ich Herrn M. Stump wegen seiner grossen Hilfsbereitschaft im analytischen Labor sowie Herrn Dr. C. Schmutz und Herrn O. Grässli wegen ihrer Unterstützung in der Sterilproduktion erwähnen.

Herrn PD Dr. W. Berchtold danke ich für die wertvollen Hinweise zur statistischen Auswertung der experimentellen Daten.

Und last but not least bin ich meinem Partner Oliver, meiner Familie sowie all meinen Freunden sehr dankbar für die unermüdliche, moralische und tatkräftige Unterstützung sowie ihr Verständnis während dieser anstrengenden Zeit.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	VI
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis	IX
Summary	XI
Zusammenfassung	XIII

A. Allgemeine Einleitung und Zielsetzungen

A.1 Allgemeine Einleitung	1
A.1.1 Besonderheiten von Neugeborenen	1
A.1.1.1 Definition der Neonatologie	1
A.1.1.2 Physiologische Besonderheiten Neugeborener mit Blick auf Ernährung	1
A.1.2 Parenterale Ernährung von Neugeborenen	2
A.1.2.1 Grundlagen der parenteralen Ernährung in der Neonatologie	2
A.1.2.2 Indikationen zur parenteralen Ernährung in der Neonatologie	2
A.1.2.3 Nährstoffe für die parenterale Ernährung in der Neonatologie	3
A.1.2.4 Applikation der parenteralen Ernährung in der Neonatologie	6
A.1.2.5 Monitoring der parenteralen Ernährung in der Neonatologie	7
A.1.2.6 Komplikationen der parenteralen Ernährung	7
A.1.3 Ausgangslage: Individuelle Verordnung und dezentrale Produktion der PN	8
A.1.4 Individuelle Verordnung versus Standardisierung	8
A.1.5 Qualitätssicherung im pharmazeutischen Umfeld: Zentralisierung Herstellung	9
A.1.5.1 Rolle des Pharmazeuten im interdisziplinären Ernährungsteam	10
A.1.6 Pharmazeutische Stabilität der PN-Zubereitungen	11
A.1.6.1 Physikalische Stabilität	11
A.1.6.1.1 Präzipitate	11
A.1.6.1.2 Physikalische Stabilität der Lipidemulsion	11
A.1.6.2 Chemische Stabilität	14
A.2 Zielsetzungen	17
A.3 Statistik	19

B. Standardisierung der neonatologischen PN

B.1 Einleitung zur Standardisierung	21
B.1.1 Formulierung von neonatologischen Standardnährlösungen	21
B.1.2 Definition von Modulen zur rationellen Produktion	22
B.1.3 Zentralisierung der Herstellung der Nährlösungen	22
B.1.4 Acetat anstelle von Bicarbonat zur Azidose-Therapie	22
B.1.5 Fragestellungen zur Standardisierung	22

B.2	Material und Methoden zur Standardisierung	23
B.2.1	Risikoanalyse der individuellen, dezentralen PN-Zubereitung	23
B.2.2	Datenerfassung zum Nährstoffbedarf in der Neonatologie	23
B.2.2.1	Datenerhebung klinischer Parameter als Anhaltspunkte	23
B.2.2.2	Literaturstudium zum parenteralen Nährstoffbedarf in der Neo	24
B.2.3	Formulierung der Standardnährlösungen für die Neonatologie	24
B.2.3.1	Definition der Module für die Standardnährlösungen	24
B.2.3.2	Erlaubte Zusätze zu den Standardnährlösungen	24
B.2.4	Definition des Prozessablaufs bei zentraler Herstellung der PN	24
B.3	Resultate zur Standardisierung	25
B.3.1	Risikoanalyse der individuellen, dezentralen PN-Zubereitung	25
B.3.2	Datenerfassung zum Nährstoffbedarf in der Neonatologie	25
B.3.2.1	Datenerhebung klinischer Parameter als Anhaltspunkte	25
B.3.2.2	Literaturstudium zum parenteralen Nährstoffbedarf in der Neo	27
B.3.3	Formulierung der Standardnährlösungen für die Neonatologie	27
B.3.3.1	Definition der Module für die Standardnährlösungen	29
B.3.3.2	Erlaubte Zusätze zu den Standardnährlösungen	30
B.3.4	Definition des Prozessablaufs bei zentraler Herstellung der PN	31
B.4	Diskussion zur Standardisierung	32
B.4.1	Risikoanalyse der individuellen, dezentralen PN-Zubereitung	32
B.4.2	Datenerfassung zum Nährstoffbedarf in der Neonatologie	32
B.4.2.1	Datenerhebung klinischer Parameter als Anhaltspunkte	32
B.4.2.2	Literaturstudium zum parenteralen Nährstoffbedarf in der Neo	33
B.4.3	Formulierung der Standardnährlösungen für die Neonatologie	34
B.4.3.1	Definition der Module für die Standardnährlösungen	36
B.4.3.2	Erlaubte Zusätze zu den Standardnährlösungen	37
B.4.3.3	Nahrungsaufbau mit den Standardnährlösungen	37
B.4.4	Definition des Prozessablaufs bei zentraler Herstellung der PN	38
B.4.5	Folgerungen zur Standardisierung der PN	39
B.5	Pharmakoökonomische Aspekte der PN	40
B.5.1	Einleitung zur Pharmakoökonomie	40
B.5.2	Material und Methoden zur Pharmakoökonomie	41
B.5.2.1	Kostenkalkulation für die dezentrale PN-Zubereitung	41
B.5.2.2	Kostenkalkulation für die zentrale PN-Herstellung	42
B.5.3	Resultate zur Pharmakoökonomie	44
B.5.3.1	Kostenkalkulation für die dezentrale PN-Zubereitung	44
B.5.3.2	Kostenkalkulation für die zentrale PN-Herstellung	45
B.5.4	Diskussion zur Pharmakoökonomie	46
B.5.4.1	Kostenkalkulation für die dezentrale PN-Zubereitung	46
B.5.4.2	Kostenkalkulation für die zentrale PN-Herstellung	47
B.5.4.3	Folgerungen zur Pharmakoökonomie	48

C. Lagerungsstabilität der wässrigen Phase	
C.1 Stabilität der Glucose-Elektrolyt-Konzentrate	49
C.1.1 Einleitung zur Stabilität der GluEI-Konzentrate	49
C.1.1.1 Experimentelle Fragestellungen zur Stabilität der GluEI-Konzentrate	49
C.1.2 Material und Methoden zur Stabilität der GluEI-Konzentrate	50
C.1.2.1 Quantifizierung von 5-HMF in GluEI-Konzentraten	50
C.1.3 Resultate zur Stabilität der GluEI-Konzentrate	52
C.1.3.1 Quantifizierung von 5-HMF in GluEI-Konzentraten	52
C.1.4 Diskussion zur Stabilität der GluEI-Konzentrate	53
C.1.4.1 Toxikologische Relevanz von 5-HMF	53
C.1.4.1.1 Grenzwert für 5-HMF der Pharmacopöe	53
C.1.4.2 Einfluss der Sterilisation auf den 5-HMF-Gehalt	54
C.1.4.3 Folgerungen zur Stabilität der GluEI-Konzentrate	54
C.2 Lagerungsstabilität der wässrigen Phase der Standardnährlösungen	55
C.2.1 Einleitung zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase	55
C.2.1.1 Physikalische Stabilität der wässrigen Phase der PN	55
C.2.1.1.1 Partikel- und pH-Kontrolle	55
C.2.1.1.2 Stabilität von organischem Phosphat in der wässrigen Phase	55
C.2.1.2 Chemische Stabilität der wässrigen Phase der PN	56
C.2.1.2.1 Oxidation von Cystein und Ellman-Reaktion	56
C.2.1.3 Experimentelle Fragestellungen zur Lagerungsstabilität	58
C.2.2 Material und Methoden zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase	59
C.2.2.1 Physikalische Stabilität der wässrigen Phase der PN	59
C.2.2.1.1 Partikel- und pH-Kontrolle	59
C.2.2.1.2 Stabilität von organischem Phosphat in der wässrigen Phase	61
C.2.2.2 Chemische Stabilität der wässrigen Phase der PN	63
C.2.2.2.1 Versuchsdesign	63
C.2.2.2.2 Ellman-Methode zur Quantifizierung von Cystein	63
C.2.3 Resultate zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase	65
C.2.3.1 Physikalische Stabilität der wässrigen Phase der PN	65
C.2.3.1.1 Partikel- und pH-Kontrolle	65
C.2.3.1.2 Stabilität von organischem Phosphat in der wässrigen Phase	66
C.2.3.2 Chemische Stabilität der wässrigen Phase der PN	67
C.2.3.2.1 Ellman-Methode zur Quantifizierung von Cystein	67
C.2.4 Diskussion zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase	71
C.2.4.1 Physikalische Stabilität der wässrigen Phase der PN	71
C.2.4.1.1 Partikel- und pH-Kontrolle	71
C.2.4.1.2 Stabilität von organischem Phosphat in der wässrigen Phase	72
C.2.4.2 Chemische Stabilität der wässrigen Phase der PN	73
C.2.4.2.1 Validierung mit N-Acetylcystein	73
C.2.4.2.2 Probenlösungen der wässrigen Phase	73

C.2.4.2.3 Vergleich mit Cystein-Oxidation durch H ₂ O ₂	74
C.2.4.2.4 Grenzwert für oxidiertes Cystein in der wässrigen Phase	74
C.2.4.2.5 Extrapolation auf die gesamte PN	75
C.2.4.3 Folgerungen zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase	75

D. Stabilität der PN bei Applikationssimulation

D.1 Validierung der FOX-Methode	77
D.1.1 Einleitung zur Validierung der FOX-Methode	77
D.1.1.1 Bildung von Peroxiden in vitro	77
D.1.1.2 Methodenwahl zur Peroxid-Quantifizierung	78
D.1.1.2.1 FOX-Methode: Eisen-oxidiertes Xylenorange	79
D.1.1.2.2 Iodometrische Titration	80
D.1.1.3 Experimentelle Fragestellungen zur Validierung der FOX-Methode	80
D.1.2 Material und Methoden zur Validierung der FOX-Methode	81
D.1.2.1 Spektrophotometrische Bestimmung mittels FOX-Methode	81
D.1.2.1.1 Vorgehen der FOX-Methode allgemein	81
D.1.2.1.2 Validierung der FOX-Methode	82
D.1.2.2 Iodometrische Titration	84
D.1.2.2.1 Vorgehen iodometrische Titration nach Folch-Extraktion	84
D.1.2.2.2 Vorgehen modifizierte iodometrische Titration nach Fluka	85
D.1.2.2.3 Validierung der iodometrischen Titration	85
D.1.2.3 Vergleich zwischen FOX-Methode und iodometrischer Titration	86
D.1.3 Resultate zur Validierung der FOX-Methode	87
D.1.3.1 Spektrophotometrische Bestimmung mittels FOX-Methode	87
D.1.3.1.1 Komplexbildungskinetik der Referenzsubstanzen	87
D.1.3.1.2 Linearer Absorptionsbereich und Bestimmungsgrenze	87
D.1.3.1.3 Präzision der FOX-Methode	88
D.1.3.1.4 Interaktionspotential der FOX-Methode	88
D.1.3.2 Iodometrische Titration	89
D.1.3.2.1 Wiederfindung nach einfacher Folch-Extraktion	89
D.1.3.2.2 Wiederfindung nach Folch-Mehrfachextraktion	89
D.1.3.2.3 Wiederfindung bei erhöhter Inkubationszeit	89
D.1.3.2.4 Wiederfindung mittels modifizierter Methode nach Fluka	89
D.1.3.3 Vergleich zwischen FOX-Methode und iodometrischer Titration	90
D.1.4 Diskussion zur Validierung der FOX-Methode	91
D.1.4.1 Spektrophotometrische Bestimmung mittels FOX-Methode	91
D.1.4.1.1 Validierung der FOX-Methode	91
D.1.4.1.2 Entscheid für definitive Referenzsubstanz	92
D.1.4.1.3 Interaktionspotential der FOX-Methode	92
D.1.4.2 Iodometrische Titration	93
D.1.4.3 Vergleich zwischen FOX-Methode und iodometrischer Titration	94
D.1.4.4 Folgerungen zur Validierung der FOX-Methode	95

D.2 Stabilität bei Applikationssimulation kompletter Standardnährlösungen	97
D.2.1 Einleitung zur Stabilität bei Applikationssimulation	97
D.2.1.1 Pharmazeutisch-praktische Aspekte zur Stabilität	97
D.2.1.1.1 Physikalische Stabilität von parenteralen Nährlösungen	97
D.2.1.1.2 Chemische Stabilität von parenteralen Nährlösungen	98
D.2.1.2 Simulation der klinischen Anwendung der PN in vitro	99
D.2.1.2.1 Applikation der PN auf der neonatologischen Intensivpflegestation	99
D.2.1.3 Heparin: Nutzen oder Risiko?	101
D.2.1.4 Experimentelle Fragestellungen zur Stabilität bei Applikationssimulation	101
D.2.2 Material und Methoden zur Stabilität bei Applikationssimulation	102
D.2.2.1 Versuchsdesign zur Stabilität der PN bei Applikationssimulation	102
D.2.2.2 Versuchsanordnung zur Applikationssimulation in der Spitalapotheke	103
D.2.2.3 Analysenmethoden zur Stabilitätsbeurteilung	104
D.2.2.3.1 Physikalische Emulsionsstabilität mittels Lichtmikroskopie	104
D.2.2.3.2 Chemische Stabilität mittels FOX-Methode	105
D.2.2.4 Serien des Hauptversuchs	106
D.2.2.4.1 Two-plus-one Ansatz	107
D.2.2.4.2 Lipidphase	108
D.2.2.4.3 All-in-one Ansatz	109
D.2.3 Resultate zur Stabilität bei Applikationssimulation	110
D.2.3.1 Serien des Hauptversuchs	110
D.2.3.1.1 Two-plus-one Ansatz	110
D.2.3.1.2 Lipidphase	111
D.2.3.1.3 All-in-one Ansatz	116
D.2.4 Diskussion zur Stabilität bei Applikationssimulation	118
D.2.4.1 Versuchsanordnung zur Applikationssimulation in der Spitalapotheke	118
D.2.4.2 Analysenmethoden zur Stabilitätsbeurteilung	118
D.2.4.2.1 Physikalische Emulsionsstabilität mittels Lichtmikroskopie	118
D.2.4.2.2 Chemische Stabilität mittels FOX-Methode	119
D.2.4.3 Serien des Hauptversuchs	120
D.2.4.3.1 Two-plus-one Ansatz	120
D.2.4.3.2 Lipidphase	121
D.2.4.3.3 All-in-one Ansatz mit Zusatz von Heparin	125
D.2.4.4 Extrapolation auf die niederkalorische Standardnährlösung	126
D.2.4.5 Zusammenhang zwischen physikalischer und chemischer Stabilität	126
D.2.4.6 Folgerungen zur Stabilität bei Applikationssimulation	127

E. Schlussfolgerungen und Ausblick	129
---	-----

F. Literaturverzeichnis	133
--------------------------------	-----

G. Anhang	143
------------------	-----

Abkürzungsverzeichnis

A	Absorption
a	Steigung der Eichgeraden
Ac ⁻	Acetat
AIO	All-in-one (Nährlösung bestehend aus GluEI + AS + LIP)
AS	Aminosäure(n)
A.S.P.E.N.	American Society for Parenteral and Enteral Nutrition
b	y-Achsenabschnitt der Eichgeraden
BE	Base Excess (Basenüberschuss) in [mmol·l ⁻¹]
BHT	Butylhydroxytoluol
BoH	Borhydrid
Ca ²⁺	Calcium
CaGlyP	Calciumglycerophosphat
Cl ⁻	Chlorid
CuOOH	Cumolhydroperoxid
Cys	Cystein
d	Tag
3-DG	3-Deoxyglucoson
DTNB	5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoesäure)
EVA	Ethylvinylacetat
FOX	Ferrous oxidation xylenol orange (Eisen-oxidiertes Xylenolorange)
g	Gramm (g, mg, µg)
GF	Gesichtsfeld
GG	Geburtsgewicht
GluEI	Glucose-Elektrolyt(-Konzentrat)
GMP	Good manufacturing practice (Gute Herstellungspraxis)
GSASA	Gesellschaft schweizerischer Amts- und Spitalapotheker
h	Stunde
HCl	Salzsäure
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
5-HMF	5-Hydroxymethylfurfural
IU	International units (Internationale Einheiten)
K ⁺	Kalium
kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KHAS	Nährlösung bestehend aus Kohlenhydraten und Aminosäuren
KHASLI	Nährlösung bestehend aus Kohlenhydraten, Aminosäuren und Lipiden
KS	Kühlschrank

KSA	Kantonsspital Aarau
l	Liter (l, ml, μ l)
LAF	Laminar Air Flow (reine Werkbank)
LCT	Long-chain triglycerides (langkettige Triglyceride)
LIP	Lipidphase
LipEm20%	20%-ige Lipidemulsion
LOOH	Lipidhydroperoxid
LT	Lipidtröpfchen
Max	Maximum
MCT	Medium-chain triglycerides (mittelkettige Triglyceride)
Mg ²⁺	Magnesium
min	Minute
Min	Minimum
MLT _{max}	gemittelter, maximaler Lipidtröpfchen-Durchmesser
mol	Mol (mol, mmol, μ mol, nmol)
M _r	relative Molekülmasse in [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]
MWST	Mehrwertsteuer
Na ⁺	Natrium
Nabic	Natriumbicarbonat = Natriumhydrogencarbonat
NAC	N-Acetylcystein
NaCl	Natriumchlorid
Neo	Neonatologie, neonatologisch
Neo-IPS	Neonatologische Intensivpflegestation
nsig	nicht signifikant
O	aktiver Sauerstoff
O/W	Öl-in-Wasser(-Emulsion)
P _i	Orthophosphat
PN	Parenteral nutrition (parenterale Ernährung)
POZ	Peroxidzahl in [$\text{m}\ddot{\text{A}}\text{q O}\cdot\text{kg}^{-1}$]
PUFA	Polyunsaturated fatty acid (mehrfach ungesättigte Fettsäure)
r	Korrelationskoeffizient
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
SD	Standard deviation (Standardabweichung)
SDMLT _{max}	SD des gemittelten, maximalen Lipidtröpfchen-Durchmessers
sig	signifikant
TBH	<i>tert</i> -Butylhydroperoxid
TK	Tiefkühler
TPN	Total parenteral nutrition (total parenterale Ernährung)
TPO	Two-plus-one (Nährlösung aus GluEI + AS, LIP separat)
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
WF	Wiederfindung

Abbildungsverzeichnis

	Seite
Abb. 1: Destabilisierungsvorgänge in einer Lipidemulsion	12
Abb. 2: Flussdiagramm zu geplantem Prozessablauf zentrale PN-Produktion	29
Abb. 3: Schema zum Nahrungsaufbau mit Standardnährlösung Neo KSA	35
Abb. 4: Zeitaufwand für Berechnung und Produktion der PN dezentral	42
Abb. 5: Kosten für Komponenten, Einwegmaterial und Personal dezentral	42
Abb. 6: Mechanismus der Ellman-Reaktion	55
Abb. 7: Mikroskopische Bilder der wässrigen Phase	63
Abb. 8: Verlauf Cystein-Konzentration in wässriger Phase über 30 d	65
Abb. 9: Vergleich Thiol-Oxidation durch H ₂ O ₂ in N-Acetylcystein und Cystein	68
Abb. 10: Mechanismus der Lipidperoxidation in vitro am Beispiel PUFA	74
Abb. 11: Zusammenhang zwischen Resultaten FOX-Methode und Iodometrie	87
Abb. 12: Schwarzes und orangefarbenes Applikationssystem	96
Abb. 13: Versuchsanordnung zur Applikationssimulation (Isolette)	99
Abb. 14: Versuchsanordnung Applikationssimulation mit Schema Probenzug	100
Abb. 15: Verlauf gemittelte, maximale Lipidtröpfchen-Durchmesser über 24 h	108
Abb. 16: Verlauf der Peroxid-Konzentration über 24 h Applikationssimulation	110
Abb. 17: Aggregierte Lipidtröpfchen nach Zugabe von Heparin (mikroskopisch)	112
Abb. 18: Mikroskopische Bilder einer stabilen Lipidemulsion	112
 <i>Anhang</i>	
Abb. 19: Formular Erfassung Komponenten, Einwegmaterial und Zeit	143
Abb. 20: Formular Erfassung mikroskopischer Parameter Lipidemulsion	149

Tabellenverzeichnis

	Seite
Tab. 1: Resultate zur Datenerhebung auf der Neo-IPS KSA 2001	24
Tab. 2: Zusammensetzung der Standardnährlösungen Neo KSA	26
Tab. 3: Zusammensetzung der Glucose-Elektrolyt-Konzentrate Neo KSA	28
Tab. 4: Maximaldosen für einwertige Ionen in Standardnährlösungen Neo KSA	28
Tab. 5: Kostenzusammensetzung bei dezentraler PN-Produktion 2001	39
Tab. 6: Bereiche Sensitivitätsanalyse zu Kosten zentrale PN-Herstellung	41
Tab. 7: Geschätzte Kosten für zentrale PN-Herstellung	43
Tab. 8: Vergleich Kostenerhebungen dezentrale Produktion 1994 und 2001	45
Tab. 9: Absorption bei 284 nm (5-HMF) der Glucose-Elektrolyt-Konzentrate	50
Tab. 10: Zusammensetzung Proben Lagerungsstabilität wässrige Phase	57
Tab. 11: Faktorielles 2 ³ -Design zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase	58
Tab. 12: Resultate Validierung Molybdänblau-Methode für Orthophosphat	59
Tab. 13: Resultate Validierung Ellman-Methode für Cystein-Stabilität	61
Tab. 14: pH-Wert in wässriger Phase bei Lagerung über 30 d	64
Tab. 15: Orthophosphat in wässriger Phase bei Lagerung	64
Tab. 16: Berechnung Effekte von Anionen, Glucose und Temperatur	66
Tab. 17: Berechnung Effekte von Anionen, Glucose, Temperatur und Zeit	67
Tab. 18: Vor- und Nachteile FOX-Methode und iodometrische Titration	75
Tab. 19: Eigenschaften Referenzsubstanzen Validierung FOX-Methode	78
Tab. 20: Linearer Bereich der Referenzsubstanzen zur FOX-Methode	84
Tab. 21: Linearer Bereich einer mit Referenzsubstanzen gespickten Lipidemulsion	85
Tab. 22: Wiederfindung Iodometrie nach Folch-Mehrfachextraktion	86
Tab. 23: Faktorielles 2 ² -Design zur Auswirkung von Fluss und Licht	98
Tab. 24: Beleuchtungsstärke auf den Infusionsleitungen	100
Tab. 25: Grenzspezifikationen zur Lichtmikroskopie nach Schmutz	101
Tab. 26: Mikroskopische Hauptparameter zur TPO-Simulation	106
Tab. 27: Mikroskopische Hauptparameter zur Lipidphase	107
Tab. 28: Berechnung Effekte von Fluss und Licht	110
Tab. 29: Berechnung Effekte von Fluss, Licht und Zeit	111
Tab. 30: Peroxid-Konzentration u. Lipidtröpfchengrösse Lipovenös® u. Vitalipid®	112
Tab. 31: Mikroskopische Hauptparameter zur AIO-Simulation mit Heparin	113
Tab. 32: Mikroskopische Parameter Kontrollversuche zu Heparin	113

<i>Anhang</i>		Seite
Tab. 33:	Bisherige Richtlinie für individuelle PN auf Neo-IPS KSA	137
Tab. 34:	Überblick Richtlinien zur PN in anderen neonatologischen Zentren	138
Tab. 35:	Überblick Richtlinien zur PN von Fachgesellschaften	139
Tab. 36:	Überblick publizierter Artikel zur neonatologischen PN	140
Tab. 37:	Detaillierte Zusammensetzung Standardnährlösungen Neo KSA	141
Tab. 38:	Nahrungsaufbau mit Standardnährlösungen Neo KSA	142
Tab. 39:	Preise Komponenten und Einwegmaterial für PN-Produktion	144
Tab. 40:	Zeitaufwand für Berechnungen und Produktion der PN dezentral	145
Tab. 41:	Produktionskosten der PN dezentral	145
Tab. 42:	Verwendete Geräte	146
Tab. 43:	Verwendete Chemikalien	147
Tab. 44:	Verwendete Komponenten und Einwegmaterial zur PN-Produktion	148
Tab. 45:	Stabilitätsrelevante Parameter zur Mikroskopie aller Versuchsserien	150
Tab. 46:	Stabilitätsrelevante Parameter Mikroskopie Lipovenös [®] und Vitalipid [®]	151
Tab. 47:	Peroxid-Konzentrationen aller Versuchsserien	151

Summary

Parenteral nutrition with stability tested, modular standard nutrition solutions in neonatology.

To improve the efficiency and safety of parenteral nutrition (PN) at the neonatal intensive care unit (NICU), stability tested standard nutrition solutions for the centralized compounding in the hospital pharmacy were designed and documented pharmaceutically.

On the basis of guidelines and literature references on nutrient requirements for neonates as well as an investigation on the NICU, two **standard nutrition solutions** were formulated. The high caloric standard contains in 140 ml 15 g glucose, 2.5 g amino acids (Vaminolact[®]), 3.0 g lipids (Lipovenös[®] 20%), 3.0 mmol Na⁺, 1.5 mmol Ca²⁺, 0.25 mmol Mg²⁺, 3.0 mmol Cl⁻, 1.5 mmol phosphate (as calcium glycerophosphate) and 2.0 mmol acetate. The daily dosis of 140 ml·kg⁻¹ body weight of the child provides around 90 kcal·kg⁻¹·d⁻¹. Trace elements (Peditrace[®]), water - (Soluvit[®] N), and lipid soluble vitamins (Vitalipid[®] N Infant) are also included. Moreover, the low caloric Standard with 10 g of glucose in the same volume is provided. Up to 4 mmol K⁺·kg⁻¹·d⁻¹ may be added to both standards. The ready-to-use standard regimens are aseptically compounded from 5 to 6 stable solutions (modules) in the hospital pharmacy. To rationalize production, final sterilized, stable glucose-electrolyte concentrates (glucose, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻, phosphate, acetate) were developed as base module.

The standards are administered as two-plus-one (TPO) system. For this purpose, the lipid emulsion (including vitamins) is admixed with the aqueous phase (glucose, amino acids, electrolytes, trace elements) via a three-way stopcock and infused by central venous access over 24 h.

A pharmaco-economical evaluation on variable and personnel costs of a complete, ward-prepared nutrition admixture added up to total expenses of CHF 114.55. The estimation for a centralized production resulted in CHF 103.00.

Storage stability of the high and low caloric **standard aqueous phase** with addition of 4 mmol K⁺·kg⁻¹ as chloride or acetate was analyzed in a factorial design over 30 days at -20, +4, and +22°C.

A qualitative, light microscopic examination showed no precipitates. The pH-value remained unchanged.

Orthophosphate (P_i) concentration as hydrolysis product of glycerophosphate was examined spectrophotometrically at 890 nm as molybdenum blue in the high caloric aqueous phase. P_i concentration remained constant at 1.054 ± 0.0168 mmol·l⁻¹ and was not dependent on temperature (+4 and +22°C) or the presence of trace elements. Therefore, a latent precipitation of poorly soluble phosphate salts can be excluded.

Cysteine (cys) concentration as a very sensitive marker for chemical stability (oxidation) of the aqueous phase was quantified spectrophotometrically at 412 nm via Ellman reaction. Cys content showed a highly significant decrease over 30 days. Depending on

test conditions, cys concentration dropped to 68 to 13% of the initial value. Time of storage had the strongest impact on cys concentration in the aqueous phase, followed by glucose concentration, anion configuration and temperature (-20 or +4 °C). These four factors significantly affected cys content.

Based on cys stability and on the solubility of its oxidation product cystine, practical storage life of the aqueous phase is either 7 days at +4 °C or 30 days at -20 °C.

The **application stability of complete standard nutrition solutions** was examined by simulating the administration via syringe pumps into an infant incubator (36 ± 0.5 °C) with a phototherapy lamp (425 - 475 nm). Orange colored syringes and infusion lines were used for light protection. According to clinical practice, examinations took place over 24 h.

Lipid emulsion stability (physical stability) was investigated by an established, light microscopic method (lipid droplets (LT) ≥ 1 μm). Peroxide concentration (chemical stability) was detected spectrophotometrically at 560 nm by the FOX (ferrous oxidation xylenol orange) method. The FOX assay was validated against the iodometric titration as reference method. Both assays produce only relative values. The FOX method is more adequate to quantify peroxide concentration differences with the conditions given in neonatology (small volumes). The results of the FOX assay were presented in $\mu\text{mol tert-butyl hydroperoxide equivalents (TBH-eq)}$.

Different approaches for stability determination were selected:

- In a *TPO system*, physical stability after mixing the two phases was examined. There was no aggregation of LT. The mean value of the largest LT per visual field (MLT_{max}) amounted to 2.6 ± 1.2 μm and exhibited no trend to increase during 24 h.
- In the *lipid phase*, the influence of exposition time (0 - 24 h), flow rate (0.1 $\text{ml}\cdot\text{h}^{-1}$ or 0.7 $\text{ml}\cdot\text{h}^{-1}$), and light (daylight with and without phototherapy) on the physico-chemical stability was determined in a factorial approach. The microscopic LT distribution was not dependent on any of the three influence factors. The MLT_{max} averaged 3.9 ± 0.56 μm . Depending on the affecting factors, peroxide concentration in the lipid phase rose from 24 - 37 to 119 - 596 $\mu\text{mol TBH-eq}\cdot\text{l}^{-1}$ within 24 h. There was a significant difference in peroxide content between the factors. Peroxide concentration was much stronger affected by exposition time than by flow rate or light.
- An *all-in-one (AIO) admixture* (lipid emulsion admixed with aqueous phase) showed an analogous LT distribution with a slightly increased MLT_{max} of 3.0 ± 1.00 μm compared to the TPO system. There were a few aggregated LT, however. Addition of 0.5 $\text{IU}\cdot\text{ml}^{-1}$ heparin to the AIO admixture lead to an instant, vast aggregation of LT and therefore must not be made.

Lipid Peroxidation turned out to be the limiting factor for application stability. It was not possible to judge whether the peroxide load was already critical for neonates, because limits are missing.

Zusammenfassung

Zur Verbesserung der Effizienz und Sicherheit der parenteralen Ernährung (PN) auf der neonatologischen Intensivpflegestation (Neo-IPS) wurden stabilitätsgeprüfte Standardnährlösungen für die Herstellung zentral in der Spitalapotheke konzipiert und pharmazeutisch dokumentiert.

Anhand der Fachliteratur zum Nährstoffbedarf Neugeborener sowie einer Datenerhebung auf der Neo-IPS wurden zwei **Standardnährlösungen** formuliert. Der hochkalorische Standard enthält in 140 ml 15 g Glucose, 2.5 g Aminosäuren (Vaminolact[®]), 3.0 g Fett (Lipovenös[®] 20%), 3.0 mmol Na⁺, 1.5 mmol Ca²⁺, 0.25 mmol Mg²⁺, 3.0 mmol Cl⁻, 1.5 mmol Phosphat (als Calciumglycerophosphat) und 2.0 mmol Acetat. Die Tagesdosis von 140 ml·kg⁻¹ Körpergewicht des Kindes liefert rund 90 kcal·kg⁻¹·d⁻¹. Ebenfalls enthalten sind Spurenelemente (Peditrace[®]), wasserlösliche (Soluvit[®] N) sowie fettlösliche Vitamine (Vitalipid[®] N Infant). Daneben wird die niederkalorische Lösung mit 10 g Glucose im gleichen Volumen angeboten. Zu beiden Standards darf K⁺ bis maximal 4 mmol·kg⁻¹·d⁻¹ zugesetzt werden. Die applikationsfertigen Standardregime werden aus 5 - 6 stabilen Teillösungen (Modulen) in der Spitalapotheke aseptisch hergestellt. Zur rationellen Produktion wurden endsterilisierte, stabile Glucose-Elektrolyt-Konzentrate (Glucose, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻, Phosphat, Acetat) als Basismodul entwickelt.

Die Standards werden als Two-plus-one (TPO)-System verabreicht. Dazu wird die Lipidphase (inkl. Vitamine) über einen Dreiweghahn mit der wässrigen Phase (Glucose, Aminosäuren, Elektrolyte, Spurenelemente) vereinigt und zentralvenös über 24 h infundiert.

Eine pharmakoökonomische Erhebung zu variablen Kosten und Personalaufwand ergab für die dezentrale Produktion einer Nährmischung einen Aufwand von SFr. 114.55. Die Schätzung für die zentrale Herstellung betrug SFr. 103.00.

Die **Lagerungsstabilität** der hoch- und niederkalorischen **wässrigen Standardphase** mit Zusatz von 4 mmol K⁺·kg⁻¹ als Chlorid oder Acetat bei -20, +4 bzw. +22°C wurde in einem faktoriellen Design über 30 Tage analysiert.

Eine qualitative, lichtmikroskopische Untersuchung zeigte in keinem Ansatz Präzipitate. Der pH-Wert blieb 30 d konstant.

Die Konzentration an Orthophosphat (P_i) als Hydrolyseprodukt aus Glycerophosphat wurde in der hochkalorischen wässrigen Phase spektrophotometrisch bei 890 nm als Molybdänblau bestimmt. Die P_i-Konzentration blieb über 168 h konstant bei 1.054 ± 0.0168 mmol·l⁻¹ und zeigte weder eine Abhängigkeit von der Temperatur (+4°C bzw. +22°C) noch von der Anwesenheit von Spurenelementen. Eine latente Fällung schwerlöslicher Phosphate konnte somit ausgeschlossen werden.

Die Cystein (Cys)-Konzentration als sehr sensibler Marker für die chemische Stabilität (Oxidation) der wässrigen Phase wurde mittels der Ellman-Reaktion bei 412 nm spektrophotometrisch quantifiziert. Der Cys-Gehalt zeigte über 30 Tage eine hochsignifikante Abnahme. Die Konzentration fiel je nach Versuchsbedingung auf 68 bis 13% des Anfangswertes. Die stärkste Auswirkung auf den Cys-Gehalt in der wässrigen

Phase zeigte die Lagerdauer, gefolgt von der Glucose-Konzentration, der Anionen-Zusammensetzung und der Temperatur (-20 bzw. +4 °C). Alle vier Faktoren beeinflussten die Cys-Konzentration hoch signifikant.

Aufgrund der Cys-Stabilität und der Löslichkeit des Oxidationsprodukts Cystin beträgt die Lagerdauer der wässrigen Phase entweder 7 Tage bei +4 °C oder 30 Tage bei -20 °C.

Zur Überprüfung der **Stabilität der kompletten Standardmischungen unter Applikationsbedingungen** wurde die Verabreichung über Spritzenpumpen in eine Isolette (36 ± 0.5 °C) mit Phototherapielampe (425 - 475 nm) simuliert. Für den Lichtschutz wurden orangefarbene Spritzen und Infusionsleitungen verwendet. Die Überprüfung erfolgte in Anlehnung an die Praxis über 24 h.

Die Fettemulsionsstabilität (physikalische Stabilität) wurde anhand einer etablierten, lichtmikroskopischen Methode (Lipidtröpfchen (LT) ≥ 1 µm) untersucht. Die Peroxid-Konzentration (chemische Stabilität) wurde mittels der FOX-Methode (ferrous oxidation xylenol orange) spektrophotometrisch bei 560 nm erfasst. Die FOX-Methode wurde gegenüber der iodometrischen Titration als Referenzmethode validiert. Beide Methoden liefern nur relative Werte. Die FOX-Methode ist bei den praktischen Gegebenheiten der Neonatologie (Probenvolumen) zweckmässiger für die Quantifizierung von relativen Peroxid-Konzentrationen. Die Resultate der FOX-Methode wurden in µmol *tert*-Butylhydroperoxid-Äquivalenten (TBH-Äq) dargestellt.

Die Stabilität wurde mittels folgender Ansätze geprüft:

- In einem *TPO-System* wurde die physikalische Stabilität nach Vereinigung beider Phasen ermittelt. Es kam zu keiner Aggregation der LT. Der Mittelwert des grössten LT pro Gesichtsfeld (MLT_{max}) lag bei 2.6 ± 1.2 µm und zeigte keine Tendenz zum Anstieg während 24 h.
- In der *Lipidphase* wurde in einem faktoriellen Design der Einfluss der Expositionsdauer (0 - 24 h), der Fördergeschwindigkeit der Spritzenpumpen (0.1 ml·h⁻¹ bzw. 0.7 ml·h⁻¹) sowie des Lichts (Tageslicht mit und ohne Phototherapie) auf die physikalisch-chemische Stabilität ermittelt. Die LT-Verteilung zeigte keine Abhängigkeit von den drei Einflussfaktoren. Der MLT_{max} betrug 3.9 ± 0.56 µm. Die Peroxid-Konzentration stieg innerhalb von 24 h je nach einwirkenden Faktoren von 24 - 37 auf 119 - 596 µmol TBH-Äq·l⁻¹ an. Es bestand ein signifikanter Unterschied im Peroxid-Gehalt zwischen den Einflussfaktoren. Die Expositionsdauer beeinflusste den Peroxid-Gehalt deutlich stärker als die Fördergeschwindigkeit und das Licht.
- Eine *All-in-one* (AIO)-Mischung (Fettemulsion mit wässriger Phase vorgemischt) zeigte eine zur TPO-Variante analoge LT-Verteilung bei einem etwas höheren MLT_{max} von 3.0 ± 1.00 µm. Es waren jedoch einzelne aggregierte LT vorhanden. Ein Zusatz von 0.5 IU·ml⁻¹ Heparin zur AIO-Mischung führte zu einer sofortigen Bildung ausgedehnter Aggregate und ist daher zu unterlassen.

Die Peroxidation wurde zum limitierenden Faktor der Applikationsstabilität. Ob die Peroxid-Belastung für Neugeborene bereits kritisch war, konnte nicht beurteilt werden, da Grenzwerte fehlen.

A. Allgemeine Einleitung und Zielsetzungen

A.1 Allgemeine Einleitung

In Ergänzung zur allgemeinen Einleitung sei auf die detaillierten Informationen der einzelnen Unterkapitel verwiesen (vgl. B.1, B.5.1, C.1.1, C.2.1, D.1.1 und D.2.1).

A.1.1 Besonderheiten von Neugeborenen

A.1.1.1 Definition der Neonatologie

Die Neonatologie (Neo) befasst sich mit der Physiologie und Pathophysiologie des Kindes nach der Geburt sowie mit der Diagnose und Behandlung von Erkrankungen des Neugeborenen.

Nach dem Geburtszeitpunkt unterteilt man in:

Neugeborene $\left\{ \begin{array}{l} \text{Termingeborene: Geburt in der 38. bis 41. Schwangerschaftswoche} \\ \text{Frühgeborene : Geburt vor vollendeter 37. Schwangerschaftswoche} \end{array} \right.$

Mit dem heutigen Stand der Intensivmedizin ist ein Frühgeborenes ab der 23. Schwangerschaftswoche mit einem Körpergewicht (KG) von knapp 500 g bereits überlebensfähig.¹

A.1.1.2 Physiologische Besonderheiten Neugeborener mit Blick auf Ernährung

Folgende Besonderheiten von Neugeborenen müssen beachtet werden²:

- geringe Kohlenhydrat- und Fettreserven
- hohe Stoffwechselrate
- hoher Bedarf an Glucose, Aminosäuren und Lipiden wegen des Wachstums
- partiell unreifes Enzymsystem (vgl. A.1.6.2.1)
- hoher Wasserverlust durch die dünne Haut und die unreifen Nieren
- Magendarmtrakt anatomisch und funktional noch nicht vollständig entwickelt

Die Kohlenhydratspeicher eines Neugeborenen reichen lediglich für 4 - 6 Stunden. Spätestens nach dieser Zeitspanne müssen dem Kind Kalorien zugeführt werden.

A.1.2 Parenterale Ernährung von Neugeborenen

A.1.2.1 Grundlagen der parenteralen Ernährung in der Neonatologie

Unter parenteraler Ernährung (parenteral nutrition, PN) versteht man die intravenöse Verabreichung von Nährstoffen unter Umgehung des Magendarmtraktes. Die Nährstoffe werden dabei in derjenigen Form zugeführt, in der sie im Intermediärstoffwechsel vorliegen:

- Glucose, Aminosäuren, Elektrolyte, Spurenelemente und wasserlösliche Vitamine in wässriger Lösung
- Lipide (Triglyceride) und fettlösliche Vitamine als Öl-in-Wasser (O/W)-Emulsion

Die Bedeutung der klinischen Ernährung für das Überleben und die Langzeitergebnisse von Frühgeborenen wurde in den 1980er Jahren erkannt und die PN in der Therapie etabliert.³

Das Ziel der klinischen Ernährung in der Neo ist die adäquate Zufuhr sämtlicher Nährstoffe für ein normales Wachstum. Wenn immer möglich soll die Ernährung oral oder enteral (Magensonde) erfolgen. Die PN soll dann eingesetzt werden, wenn der enterale Weg nicht ausreicht oder nicht möglich ist. Selbst sehr geringe Mengen an enteraler Ernährung erhalten die strukturelle und funktionelle Integrität des Magendarmtraktes. Deshalb wird parallel zur PN so früh wie möglich mit einer oralen oder enteralen Zufütterung von Milch begonnen. In der Neo wird somit selten total parenteral (total parenteral nutrition, TPN) ernährt.

A.1.2.2 Indikationen zur parenteralen Ernährung in der Neonatologie

Die PN ist im Vergleich zu oraler oder enteraler Ernährung mit einem erhöhten Komplikationsrisiko behaftet (vgl. A.1.2.6). Umgekehrt besteht beim Unterlassen einer PN die Gefahr einer ungenügenden Energiezufuhr. Folglich muss die Indikationsstellung kritisch beurteilt werden.

Bei Termingeborenen wird eine PN gestartet, wenn das Kind voraussichtlich für fünf Tage auf enteralem Weg nicht ausreichend ernährt werden kann. Bei Frühgeborenen verkürzt sich diese Zeitspanne auf drei Tage.⁴

Die folgenden Zustände gelten als Indikationen für eine PN³⁻⁷:

- Frühgeborene < 1500 g Geburtsgewicht (GG)
- angeborene Missbildungen des Magendarmtraktes
- Kurzdarmsyndrom, Darmverschluss
- Malabsorption, Substrattransportdefekte
- Nekrotisierende Enterokolitis, Morbus Crohn
- Atemnotsyndrom, akutes Organversagen
- schwere Verletzungen und Verbrennungen

Die American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.) empfiehlt den Beginn der PN am ersten Lebenstag⁵, die Deutsch-Österreichische Arbeitsgemeinschaft für Klinische Ernährung bereits 12 Stunden nach der Geburt.⁸

Es existieren keine konkreten Daten zur Häufigkeit der neonatologischen PN. Anhand der Anzahl Frühgeborener < 1500 g GG kann jedoch eine Abschätzung vorgenommen werden. In der Schweiz kamen 1999 436 Kinder unter 1500 g zur Welt.⁹ Im Kantonsspital Aarau (KSA) waren es 2001 beispielsweise 36 Kinder (interne Daten). Von diesen Frühgeborenen mussten die meisten parenteral ernährt werden.

Der Bedarf an neonatologischen Nährlösungen ist also relativ gering und variabel. Da die pharmazeutische Stabilität ausserdem kritisch ist, werden Nährlösungen für die Neo kommerziell nicht angeboten. Deren Compounding fällt somit oft in den Aufgabebereich der Spitalapotheke.

A.1.2.3 Nährstoffe für die parenterale Ernährung in der Neonatologie

Die Berechnung der Zusammensetzung einer PN ist sehr komplex.¹⁰ Erschwerend kommt hinzu, dass für Neugeborene der Bedarf noch nicht für alle Nährstoffe exakt definiert ist.

Generell liegt der Nährstoffbedarf von Neugeborenen sehr hoch, da sich die Kinder in einer intensiven Wachstumsphase befinden. Deshalb ist es wichtig, vor Beginn der PN den Ernährungszustand und das Gestationsalter zu erfassen.

- *Energiebedarf*

Der Energiebedarf setzt sich zusammen aus dem Grundumsatz, einem Aktivitätsanteil, einem Wachstumsbedarf sowie einem allfälligen Zusatzbedarf (z.B. bei Fieber oder Sepsis). Total ergibt sich für Neugeborene bei PN ein täglicher Kalorienbedarf von 90 - 120 kcal·kg⁻¹·d⁻¹.^{5,11,12}

Zur Kalkulation werden die im Klinikalltag üblichen Kaloriendichten von 4 kcal·g⁻¹ für Glucose, 9 kcal·g⁻¹ für Fett bzw. 4 kcal·g⁻¹ für Aminosäuren eingesetzt.

- *Flüssigkeitsbedarf*

Der parenterale Flüssigkeitsbedarf eines Neugeborenen liegt in Abhängigkeit von Alter, Transpiration und Krankheiten zwischen 100 und 150 ml·kg⁻¹·d⁻¹.^{7,8,13} Sehr unreife Frühgeborene können einen Bedarf bis gegen 200 ml·kg⁻¹·d⁻¹ aufweisen.¹⁴ Die Flüssigkeitsbilanz muss wegen des geringen Blutvolumens (90 ml·kg⁻¹KG) sehr exakt berechnet werden.

- *Kohlenhydrate*

Die Kohlenhydrate sollen 35 - 55% des Kalorienbedarfs decken und in Form von Glucose verabreicht werden.

Für Frühgeborene wird ein sehr breiter Bereich von 5 bis 20 g·kg⁻¹·d⁻¹ als Bedarf angegeben.^{7,8,11,15} Der oxidative Glucose-Metabolismus kann beim Neugeborenen maximal 18 g·kg⁻¹·d⁻¹ verarbeiten. Höhere Glucose-Mengen führen zu erhöhter Speicherung in Form von Fett.¹⁶

Die Assimilation von Glucose kann verbessert werden, indem anfangs die Infusionsrate von 6 - 8 mg·kg⁻¹·min⁻¹ nicht überschritten wird.³

- *Aminosäuren*

Da die Aminosäuren (AS) für den Bau-, nicht jedoch für den Energiestoffwechsel vorgesehen sind, sollten die proteinischen Kalorien korrekterweise nicht in die Energiebilanz einberechnet werden. In der Praxis wird die Energie aus den AS jedoch meist in die energetische Bilanz einbezogen.

Der Anteil der AS an der täglichen Kalorienmenge soll etwa 10 - 15% betragen. Neugeborene benötigen 1.5 bis 3.5 g·kg⁻¹·d⁻¹.^{7,8,11,15,17}

Neugeborene bedürfen in Relation zu ihrem KG nicht nur mehr AS als Erwachsene, sondern auch eines anderen AS-Musters. Zusätzlich zu den acht essentiellen AS, brauchen sie wegen der Unreife ihres Organismus Cystein (Cys), Tyrosin, Histidin, Arginin und Taurin, welche auch als semiessentiell bezeichnet werden.¹⁷

Zur PN werden wässrige Lösungen kristalliner L-Aminosäuren eingesetzt. In der Schweiz wird Vaminolact[®] mit 6.5% AS vermarktet. Das AS-Profil ist an jenes der Muttermilch angepasst (vgl. Tab. 37, Anhang).

- *Fette*

In der PN gelangen O/W-Emulsionen zum Einsatz. Die dispergierte Phase besteht meist aus 10 bis 30% Sojaöl, die äussere Phase aus Wasser, welches mit Glycerol isotonisiert wird. Als Emulgatoren werden Phospholipide verwendet. Die 0.2 - 0.5 µm grossen Lipid-tröpfchen (LT) bestehen aus einem Triglycerid-Kern, welcher mit einer Phospholipid-Schicht umgeben ist. Bezüglich Grösse und Struktur gleichen die LT den natürlichen Chylomikronen und werden analog metabolisiert.¹⁸⁻²⁰

Heute werden in der Neo meist 20%-ige Fettemulsionen eingesetzt.²¹ Häufig werden Intralipid[®] oder Lipovenös[®] angewendet. Dabei handelt es sich um 20%-ige Emulsionen vorwiegend langkettiger Triglyceride (LCT) (Zusammensetzung vgl. Tab. 37). Die LCT in Lipovenös[®] enthalten 52% Linolsäure (ω₆), 26% Ölsäure, 9% Palmitinsäure sowie 8% Linolensäure (ω₃).

Die Fette weisen bei einer sehr hohen Energiedichte eine geringe Osmolarität auf. Sie stellen somit eine enorm wichtige Energiequelle für Neugeborene dar, da letztere hoch osmolare Zubereitungen schlecht tolerieren. Rund 30 - 45% der Kalorien werden in

Form von Lipiden verabreicht. Die Dosierung der Fette erfolgt einschleichend mit $0.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ und wird in Schritten von $0.25 - 0.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ auf 3.0 bis maximal $3.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ gesteigert.^{5,11,15}

Ausserdem versorgen Lipide den Organismus mit essentiellen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Linol- und Linolensäure).³ Zur Verhinderung eines Mangels an essentiellen Fettsäuren genügen 0.5 g Sojaöl pro kg und Tag.¹⁵

Die Toleranz Frühgeborener für Fettemulsionen ist bei einer kontinuierlichen Verabreichung über 24 Stunden am höchsten.²² Dabei sollte die Infusionsrate von $0.15 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ nicht überschritten werden.

- *Elektrolyte*

Neugeborene benötigen pro Tag $2 - 5 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ Natrium (Na^+).^{7,8,11,15} Durch die mangelhafte Aufkonzentrierung des Urins gehen grosse Mengen verloren.^{5,3}

Der tägliche Bedarf an Chlorid (Cl^-) beträgt $3 - 6 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$.^{8,11,15}

Der Kaliumbedarf (K^+) liegt bei $0 - 4 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ und ist stark abhängig vom Alter und der Reife des Kindes.^{7,8,11,13,15}

Neugeborene benötigen für die Mineralisation ihrer Knochen sehr viel Calcium (Ca^{2+}) und Phosphat. In utero beträgt die Ca^{2+} -Aufnahme im dritten Trimester $3.2 - 3.5 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, jene für Phosphat $2.4 - 2.6 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$.²³ Die Empfehlungen für die parenterale Ca^{2+} -Gabe liegen bei $1 - 2.5 (- 3) \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, jene für Phosphat bei $1.0 - 2.5 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$.^{7,8,11,15}

Bislang werden Ca^{2+} und Phosphat in der Neo meist in Form von Calciumgluconat und Kaliumdihydrogenphosphat verabreicht (vgl. Tab. 33, Anhang). Die Dosierung von Ca^{2+} und Phosphat ist dadurch auf 1 mmol Ca^{2+} bzw. 2 mmol Phosphat pro kg und Tag begrenzt. Ein Grund dafür sind Ausfällungen von anorganischen Phosphatsalzen.^{24,25} Zudem führt die hohe Ca^{2+} -Konzentration zu einer Verringerung der physikalischen Stabilität der Fettemulsion (vgl. A.1.6.1.2).

Mittels anorganischer Salze ist es nicht möglich, den Kindern ihren täglichen Bedarf in einer einzigen Lösung zuzuführen (Ca^{2+} und Phosphat müssten separiert werden). Um Mangelzuständen (Phosphatmangel, Osteopenie²⁶) vorzubeugen, werden in der Pädiatrie vermehrt organische Phosphate eingesetzt (Calciumglycerophosphat (CaGlyP), Natriumglycerophosphat oder Glucose-Phosphate).

Organische Phosphate werden auch von Frühgeborenen mit einem $\text{KG} < 1000 \text{ g}$ gut vertragen.^{25,27-30} Die Retention von Ca^{2+} und Phosphat aus CaGlyP ist ebenso effizient wie bei der herkömmlichen Kombination aus Calciumgluconat und Kaliumphosphat.³¹ Die organischen Phosphate stellen Substrate für die körpereigenen, alkalischen Phosphatasen dar. Glycerophosphat wird durch die Phosphatasen in Orthophosphat (P_i) und Glycerol gespalten, wodurch die Bioverfügbarkeit von organischem Phosphat gesichert ist.^{28,32}

Die Empfehlungen für Magnesium (Mg^{2+}) liegen zwischen 0.1 und $0.7 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$.^{8,15}

- *Spurenelemente*

Der tatsächliche Bedarf an Spurenelementen ist in der Neo noch weitgehend unbekannt.

Zink, Kupfer, Selen, Chrom, Mangan Fluor und Iod sollten jeder PN-Mischung beigelegt werden. Bei langzeitiger PN wird auch Molybdän nötig.⁵

Bei Kleinkindern sind Eisenüberladungen durch Nährlösungen beschrieben worden.³³ Folglich sind pädiatrische Spurenelement-Lösungen eisenfrei.

- *Vitamine*

Der Vitaminbedarf von Neugeborenen ist noch nicht präzise definiert worden.^{34,35} Die auf dem Markt erhältlichen Multivitaminpräparate lehnen sich in der Dosierung an die Empfehlungen der American Society for Clinical Nutrition an.³⁶ Vitalipid[®] N Infant beinhaltet die fettlöslichen Vitamine in geeigneter pädiatrischer Dosierung.

Für die wasserlöslichen Vitamine ist in der Schweiz kein spezifisches, pädiatrisches Produkt erhältlich. Das üblicherweise eingesetzte Soluvit[®] N enthält für Neugeborene eine sehr geringe Menge an Vitamin C.

Die Glucose, Aminosäuren, Lipide und Elektrolyte werden als *Makronährstoffe*, die Spurenelemente und Vitamine als *Mikronährstoffe* bezeichnet.

A.1.2.4 Applikation der parenteralen Ernährung in der Neonatologie

Die Osmolarität von neonatologischen Nährlösungen beträgt 700 bis 1000 mosm·l⁻¹. Periphervenös sollten in der Neo 600 mosm·l⁻¹ nicht überschritten werden.⁴ Folglich kommt nur eine zentralvenöse Verabreichung der PN in Frage.

In der Neo werden die zentralvenösen Katheter in eine periphere Vene (z.B. im Ellbogen) gelegt und bis kurz vor den rechten Herz-Vorhof vorgeschoben.

Zur Applikation einer Nährlösung bestehen zwei Varianten: Einerseits die Two-plus-one (TPO)- und andererseits die All-in-one (AIO)-PN. Bei der TPO werden Glucose, Aminosäuren und Elektrolyte in einem Behältnis vorgemischt, die Fettemulsion aus einem separaten Behältnis über einen Dreiweghahn zugemischt und gemeinsam infundiert (vgl. Abb. 12, rechts). Im Gegensatz dazu werden bei der AIO-PN sämtliche Komponenten aus einem Vorratsbehältnis infundiert.

Die Infusion der PN erfolgt in der Neo vorwiegend kontinuierlich über 24 Stunden. Idealerweise wird die PN über ein eigenes Katheter-Lumen verabreicht. In der Neo werden jedoch praktisch ausschliesslich einlumige Katheter eingesetzt. Daher muss die PN bei Gabe von Medikamenten gestoppt und die Leitungen gespült werden.

AIO-Zubereitungen für Erwachsene erhöhen die Medikationssicherheit und die Effizienz einer PN bedeutend.³⁷ Für das Handling und die Sicherheit sind AIO-Mischungen auch in der Neo wünschenswert.

Es existieren nur vereinzelte Arbeiten zu AIO-Nährlösungen für die Pädiatrie. Rollins beschrieb eine stabile, neonatologische AIO-PN. Allerdings betrug die Ca^{2+} -Konzentration weniger als $5 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ bei einem Phosphat-Gehalt von etwa $10 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. Die Gruppe konnte bezüglich Outcome keine Unterschiede zwischen TPO und AIO feststellen.³⁸

Puntis hingegen schliesst AIO-Mischungen infolge der hohen Konzentration an divalenten Kationen für pädiatrische PN-Zubereitungen generell aus.⁷

A.1.2.5 Monitoring der parenteralen Ernährung in der Neonatologie

Die Glucose und die Blutgase werden zu Beginn der PN mehrmals täglich bestimmt. Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , Phosphat und Bicarbonat werden während der ersten PN-Woche meist täglich kontrolliert.^{4,13} Anschliessend reichen eine bis zwei Bestimmungen pro Woche aus.

A.1.2.6 Komplikationen der parenteralen Ernährung

Die Komplikationen der PN sind sehr zahlreich^{3,13}:

- *Infektiös*

Die Infektionsrate liegt je nach Klinik zwischen 2%³⁹ und 5 - 7%⁴⁰.

- *Mechanisch*

Die Häufigkeit von technischen Schwierigkeiten mit Kathetern liegt zwischen 4% und 9%.³ Verstopfungen des Katheters mit Blut, Fibrin, Fett und Präzipitaten sind gefürchtet.

- *Metabolisch*

Metabolische Komplikationen sind oft auf nicht richtig balancierte Nährlösungen zurückzuführen. Zu den häufigsten Problemen zählen Hyperglykämie, Cholestase, Azidose, Hyperammonämie, Hypo-, Hypercalcämie, Hypo-, Hyperphosphatämie sowie Mangel an Zink und Carnitin.³

- *Pharmazeutisch*

vgl. A.1.6 zur pharmazeutischen Stabilität.

- *„Ökonomisch“*

vgl. B.5 zur Pharmakoökonomie.

A.1.3 Ausgangslage: Individuelle Verordnung und dezentrale Produktion der PN

Die PN wird auf der neonatologischen Intensivpflegestation (Neo-IPS) KSA durch die Ärzteschaft täglich individuell verordnet. Die Verordnung orientiert sich hauptsächlich an internen Richtlinien zum Nährstoffbedarf (vgl. Tab. 33, Anhang), Erfahrungswerten sowie klinisch-chemischen Labordaten des frühen Morgens oder des Vortages (Na^+ , K^+ ; teilweise Ca^{2+} , Phosphat, Cl^-).

Die Verordnung wird von einer Pflegenden handschriftlich vom Verordnungsblatt auf eine Etikette übertragen. Es wird ein Herstellungszuschlag von 10 - 100% berechnet und auf der Etikette festgehalten.

Die Mischung der Komponenten für die Nährlösung (vgl. Tab. 33, Anhang) erfolgt in einem Nebenraum der Station in einem kleinen Laminar Air Flow (LAF). Die Dosierung der einzelnen Komponenten erfolgt mittels Spritzen. Werden über 50 ml Glucoselösung benötigt, wird mit Hilfe des Benja-Mix[®]-Systems (Mischsystem mit 50ml-Spritze und 4 Leitungen zum Anstechen von Infusionsflaschen) gearbeitet. Die wässrigen Komponenten werden in eine Infusionsflasche überführt.

Der Tagesbedarf der Fettemulsion sowie der fettlöslichen Vitamine wird separat in eine schwarze Perfusor[®]-Spritze aufgezogen. Die wasserlöslichen Vitamine werden langsam direkt intravenös verabreicht.

Der Zeitbedarf für die Berechnung und die Produktion der PN beträgt ca. 30 - 45 Minuten (vgl. Abb. 4).

Die PN wird über 24 h als TPO-System ohne den Einsatz von In-line Filtern appliziert.

Die individuelle, dezentrale PN-Zubereitung ist ein zeitaufwendiger Prozess, der Risiken wie eine unzureichende Nährstoffversorgung und Inkompatibilitäten infolge mangelnder pharmazeutischer Expertise aufweist.⁴¹

A.1.4 Individuelle Verordnung versus Standardisierung

In der Schweiz wird die PN in der Pädiatrie hauptsächlich individuell verordnet und bei Bedarf frisch hergestellt.⁴² Vollständig standardisierte Systeme sind selten.

Die Ansichten der Experten zu Standardregimen sind geteilt: Während die einen eine möglichst individuelle Angleichung an die Stoffwechsellage des einzelnen Patienten anstreben^{43,44}, halten die anderen exakte Anpassungen für klinisch nicht relevant^{45,46}.

Die Verfechter der individuellen PN führen folgende Argumente an:

- In der Neo ist teilweise ein rascher Wechsel des klinischen Zustandes anzutreffen.
- Sämtliche Laborwerte zur Stoffwechselsituation können berücksichtigt werden.
- Alle Patientengruppen können ausreichend versorgt werden.
- In der Neo ist das Patientengut zu heterogen für eine Standardisierung.

Eine individuelle Zubereitung orientiert sich stark an den Labordaten der letzten Blutentnahme. Seit der Blutentnahme kann sich der Ist-Zustand bereits wieder verändert haben. Die Verordnung erhält dadurch einen reaktiven Charakter. Die Folge sind Schwankungen, insbesondere bei den Elektrolytspiegeln.⁴⁷

Die Befürworter einer Standardisierung argumentieren wie folgt:

- Nicht alle Ärzte weisen genügend Kenntnisse zur Verordnung einer optimalen Rezeptur auf.
- Die Standardisierung verringert die Rechenfehler und lässt kaum Komponenten vergessen gehen.
- Die Standardregime erlauben eine Prüfung auf Kompatibilität und Gehalt.
- Die Herstellung von Standardlösungen spart Zeit und Kosten.
- Auch die Zusammensetzung der Muttermilch ändert sich nicht täglich.

In Zusammenarbeit mit den Spitalapotheken sind in verschiedenen Kliniken neonatologische Standardregime formuliert worden. Die Ärzte und Apotheker des Klinikums Heilbronn verfügen über eine langjährige Erfahrung im Bereich der standardisierten PN.^{46,48,49} Sie stellten drei Standardlösungen zusammen, mit welchen rund 90% der Säuglinge versorgt werden können. Devlieger konnte 30 Frühgeborene über jeweils 30 Tage mit vier Standardregimen erfolgreich therapieren.⁴⁷ Beecroft schätzte, dass zwei Drittel der Neugeborenen mit Standardlösungen versorgt werden könnten. Er sah die Notwendigkeit für eine individuelle Verschreibung nur bei metabolisch sehr instabilen Patienten.⁴⁵

Eine Standardisierung scheint aus klinischer Sicht somit auch in der Neo sinnvoll zu sein. Durch die Vereinfachung der Verordnung wird die Versorgung mit dem korrekten Nährstoffbedarf sichergestellt. Die Produktion wird rationeller und führt zu Kosteneinsparungen.⁴⁹

A.1.5 Qualitätssicherung im pharmazeutischen Umfeld: Zentralisierung der PN-Herstellung

Die Pharmacopöe enthält keine spezifischen Vorschriften zu parenteralen Nährlösungen. In der Schweiz gelten somit die Good Manufacturing Practice (GMP) und das „Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme“.⁵⁰ Die Swissmedic publizierte zusätzlich „Regeln der Guten Herstellungspraxis für Arzneimittel in kleinen Chargen“.⁵¹ Spezifisch für die Zubereitung von Nährlösungen haben die Gesellschaft schweizerischer Amts- und Spitalapotheker (GSASA) sowie die A.S.P.E.N. Empfehlungen an ihre Mitglieder abgegeben. Diese beinhalten eine strenge Asepsis, Vorgaben zur Mischungsreihenfolge, In-Prozess-Kontrollen, eine lückenlose Dokumentation sowie eine klare Beschriftung.^{52,53}

Diese hohen Anforderungen machen eine Produktion ausserhalb der Infrastruktur einer Spitalapotheke fast unmöglich. Eine Zentralisierung der PN-Herstellung liegt daher nahe. Es soll nicht ein blosser Transfer der Produktion in die Spitalapotheke stattfinden, sondern als Zusatzleistung („Added value“) soll neben dem Einbringen von pharmazeutischem Know-how die PN vereinfacht und standardisiert werden.

Das spezialisierte Umfeld der Apotheke sichert eine GMP-konforme Herstellung inklusive einer lückenlosen Dokumentation. Zudem können die Endprodukte auf ihre physikalisch-chemische und mikrobiologische Stabilität geprüft werden.

Eine gesicherte Haltbarkeit von mehreren Tagen erlaubt eine Produktion auf Vorrat in grösseren Chargen. Dies wirkt kostensparend und vereinfacht die Logistik.

Es sind zahlreiche Untersuchungen zur physikalisch-chemischen Stabilität von Nährlösungen publiziert worden. Bekanntlich sind Stabilitätsangaben produktspezifisch. Ferner sind die komplexen Interaktionen zwischen den Komponenten der PN noch nicht vollständig verstanden.⁵² Blosser Extrapolationen der Stabilität anhand von Literaturdaten sind folglich riskant.

Verlässliche Stabilitätsdaten können ausschliesslich anhand von experimentellen Untersuchungen gewonnen werden. Stabilitätsprüfungen für individuelle Verordnungen sind nicht praktikabel. Eine Standardisierung der Nährlösungen ist die Grundvoraussetzung. Vollanalysen aller Komponenten sind selbst bei einer standardisierten Nährlösung in einer Spitalapotheke nicht möglich. Demzufolge müssen die Untersuchungen auf repräsentative Stabilitätsmarker beschränkt werden. In den letzten zehn Jahren konzentrierte sich der Fokus der Forschung auf anorganische Präzipitate, die Vitaminoxidation, Veränderungen des Aminosäuregehaltes oder die physikalischen Emulsionseigenschaften.⁵⁴

A.1.5.1 Rolle des Pharmazeuten im interdisziplinären Ernährungsteam

Ein interdisziplinäres Ernährungsteam setzt sich aus Vertreterinnen und Vertretern der Ärzteschaft, der Pflege, der Ernährungsberatung sowie des pharmazeutischen Dienstes zusammen.⁵⁵⁻⁵⁹

Zu den klassischen Funktionen der Spitalapotheke gehören die Selektion, die korrekte Produktion einschliesslich Dokumentation und die Beschriftung mit Hinweisen zur Lagerung, Abgabe sowie Anwendung von Nährlösungen.⁵² Pharmazeuten können jedoch von der Verordnung über die Anwendung und Verhinderung von Inkompatibilitäten bis zur Überprüfung des Outcomes eine zentrale Rolle übernehmen.^{55,60}

Die Überwachung der PN durch einen Pharmazeuten auf einer neonatologischen Abteilung war nicht nur kosteneffizient, sondern verbesserte auch das klinische Resultat.^{61,62}

A.1.6 Pharmazeutische Stabilität der PN-Zubereitungen

Eine komplette Nährlösung besteht aus etwa 50 Komponenten (vgl. Tab. 37, Anhang). Diese labilen Vielkomponenten-Gemische bergen ein hohes Risiko für physikalisch-chemische Inkompatibilitäten. Destabilisierungsreaktionen sind für den Patienten mit einem erheblichen Risiko verbunden^{52,54,63} und sind zu verhindern.

A.1.6.1 Physikalische Stabilität

Neonatologische Nährlösungen weisen pharmazeutisch einige Besonderheiten auf. Für die Stabilität besonders problematisch sind die hohen Ca^{2+} - und Phosphat-Konzentrationen.

A.1.6.1.1 Präzipitate

Es sind hauptsächlich Präzipitate schwerlöslicher Phosphate zu nennen, in erster Linie Calciumphosphate.^{64,66-68} Schwerlösliche Phosphatsalze können zudem mit den Spurenelementen Mangan und Zink gefällt werden.⁶⁵

Die Löslichkeit von Ca^{2+} und Phosphat hängt nicht nur von deren Konzentration, sondern auch vom pH, der Art und Menge der Aminosäuren, der Salzquelle, der Temperatur, dem Zeitraum seit der Produktion, der Herstellungsreihenfolge sowie von der Anwesenheit einer Lipidemulsion ab.^{24,26,29,32,66-68}

In Abhängigkeit der genannten Faktoren liegt die Löslichkeit von anorganischem Phosphat in Anwesenheit einer äquimolaren Menge Ca^{2+} zwischen 5 und 20 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ der wässrigen Phase der PN.⁶⁶

A.1.6.1.1.1 Auswirkungen von Präzipitaten auf kindlichen Organismus

Partikel führen zu Thrombophlebitis, pulmonaler Arteriitis und Mikrothromben bis hin zu Organversagen.^{7,69,70} Je länger eine parenterale Therapie dauert und je grösser das verabreichte Volumen ist, desto höher liegt das Risiko für Komplikationen. Bei Neugeborenen ist der Blutgefäss-Durchmesser zudem sehr gering. Neugeborene, die parenteral ernährt werden, sind folglich einem speziell hohen Komplikationsrisiko ausgesetzt.⁷⁰

A.1.6.1.2 Physikalische Stabilität der Lipidemulsion

Eine PN stellt eine stark verdünnte Fettemulsion und somit ein thermodynamisch instabiles System dar.¹⁸

Zur Stabilisierung der Fettemulsion selbst wird ein Überschuss (1.2%) an emulgierenden Phospholipiden aus Eilecithin eingesetzt.⁷¹ In Lipovenös® besteht der Hauptteil der

Phospholipide aus Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin.²⁰ Der Emulgator bildet nach der klassischen Vorstellung einen einschichtigen Film um jedes LT. Durch den Überschuss an Emulgator bilden sich auch LT mit mehrschichtigen Hüllen, in die LT eingeschlossene W/O-Mizellen und Liposomen (Partikelgrösse vgl. D.2.1.1.1).⁷¹⁻⁷³

Der Emulgator an der Grenzschicht stellt eine mechanische Barriere dar, welche das Zusammenfliessen der LT durch seine Rigidität verhindert. Die Kopfgruppen der Phospholipide auf der Oberfläche der LT sind negativ geladen und werden von einer fixierten Doppelschicht (innen Kationen, aussen Anionen) umgeben. Aussen folgen diffuse Ionenschichten. Die Emulsion wird infolge der gegenseitigen elektrostatischen Abstossung dieser Ionenschichten ebenfalls stabilisiert.^{18,75}

Ein wichtiger Parameter ist das Zetapotential. Darunter versteht man das Potential, welches an den Scherflächen zwischen den fixierten und den diffusen Schichten um die LT auftritt, wenn sie sich im elektrischen Feld bewegen. Je grösser der Betrag des Zetapotentials ist, desto stärker fällt die elektrostatische Stabilisierung der Emulsion aus.²⁰

Die Emulsionsstabilität wird durch die Ionen-Konzentrationen massgebend beeinflusst. Die monovalenten Ionen Na^+ , K^+ oder Cl^- stellen kaum ein Problem dar. Di- und trivalente Kationen wie Ca^{2+} und Mg^{2+} haben aufgrund ihrer Wechselwirkung mit den negativ geladenen Emulgator-Oberflächen einen besonders stark destabilisierenden Einfluss auf Lipidemulsionen mit negativem Zetapotential.⁷⁴ Lipovenös® 20% weist ein Zetapotential von etwa -50 mV auf.^{20,75} Mit steigender Ionen-Konzentration sinkt der Betrag des Zetapotentials. Bei etwa $5 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ bewegt sich das Zetapotential im Bereich um 0 mV.²⁰

Durch eine Erhöhung der Salzkonzentration in der Nährmischung werden die diffusen Ionenschichten eingeengt.²⁰ Die LT können sich annähern und aggregieren (vgl. Abb. 1). Sinkt die Abstossung weiter, wird ein Zusammenprall der Fetttröpfchen häufiger und die Rigidität des Emulgatorfilms sinkt. Es kommt zur Koaleszenz und schliesslich zum Brechen der Emulsion.^{18,71,76}

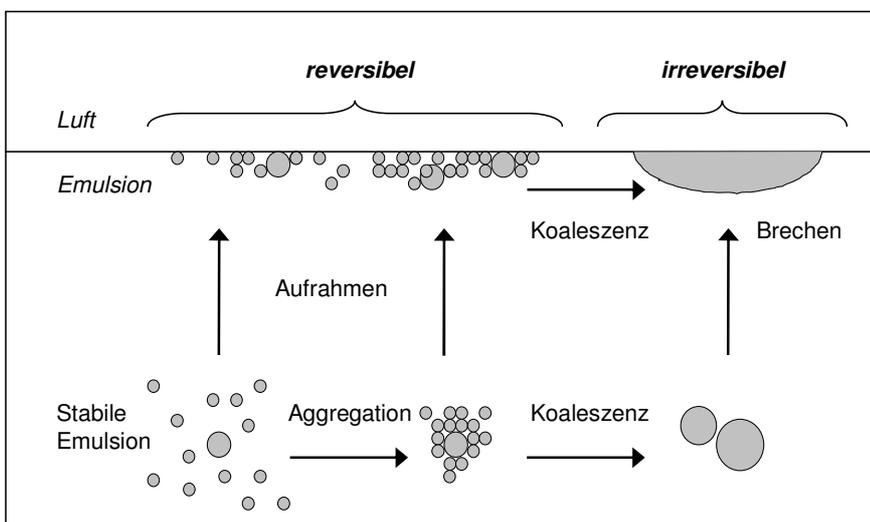


Abb. 1: Schematische Darstellung der Destabilisierungsvorgänge in einer Fettemulsion.⁷¹

Die Emulsionsstabilität wird auch durch die Zugabe saurer Lösungen wie Glucose, infolge einer Verminderung des Zetapotentials bei sinkendem pH-Wert, herabgesetzt. Sind jedoch Aminosäuren als Puffer anwesend, wirkt Glucose infolge einer Viskositäts-erhöhung stabilisierend auf die Lipidemulsion.⁷⁷ Vaminolact[®] selbst ist zwar ebenfalls sauer (pH 5.2), die Aminosäuren verbessern jedoch die Stabilität in Anwesenheit von Elektrolyten. Negativ geladene Aminosäuren können Ca^{2+} komplexieren und damit die Ca^{2+} -Aktivität herabsetzen.⁷⁸

Eine durch den Einsatz potenterer Emulgatoren erhöhte pharmazeutische Stabilität der Fettemulsionen zur PN ist aus physiologischer Sicht unerwünscht. Untersuchungen mit Poloxameren ergaben in vivo eine sehr schlechte Verträglichkeit.^{79,80}

A.1.6.1.2.1 Auswirkungen instabiler Lipidemulsionen auf kindlichen Organismus

Fettemulsionen mit vergrößerten LT und Aggregaten können in vivo gefährlich werden, wenn diese den Durchmesser der feinsten Lungenkapillaren von ca. 7 μm überschreiten. Bis jetzt gibt es einen verbindlichen Grenzwert weder für den maximalen Durchmesser noch für den Anteil der vergrößerten LT in parenteralen Emulsionen.^{76,81} Dies ist vermutlich dadurch bedingt, dass sich die Experten nicht einig sind, ab welchem Durchmesser LT in vivo problematisch werden.⁷⁶

Puntis entdeckte bei der Autopsie von 30 Kindern, die PN mit Fett erhalten hatten, bei 50% intravaskuläre Lipidansammlungen.⁸² Schroder hingegen fand bei der Autopsie von Frühgeborenen, die intravenös mit Fett ernährt worden waren, keine intravaskulären Fettansammlungen.⁸³ Müller beschrieb ebenfalls Embolien, bezeichnete die Blockade aber als reversibel dank des Bioabbaus der Lipide.⁸⁴

Burnham beurteilte auch Tröpfchen über 7.5 μm als problemlos, da sie sich deformieren und so die Lungenkapillaren passieren können.⁸⁵ Auch Driscoll beschrieb eine Deformation von vergrößerten LT. Er begründete dies mit einer Reduktion der Rigidität des Emulgatorfilms. Unmittelbar nach der Koaleszenz von LT ist der Ordnungsgrad der Phospholipide verringert, wodurch die Rigidität des Emulgatorfilms abnimmt.⁷⁶

Das Verhalten von Aggregaten ist noch nicht geklärt. Einerseits können Aggregate durch Scherkräfte im Blutkreislauf wieder zu einzelnen Tröpfchen getrennt werden. Daneben existieren aber Vermutungen, dass die Aggregation gefördert werden könnte durch freie Ionen im Blut (v.a. Ca^{2+}) oder durch die Adsorption von Blutkomponenten an die Aggregate.¹⁸

A.1.6.2 Chemische Stabilität

Nährlösungen weisen ein beachtliches Potential für Hydrolysen, Komplezierungen, Oxidationen, Reduktionen, Photolysen und Razemisierungen auf. Die Inhaltsstoffe werden dadurch meist irreversibel inaktiviert.⁶⁴

- Reduzierende Zucker wie Glucose können mit Aminosäuren braun gefärbte Maillard-Produkte bilden.^{86,87} Braun verfärbte Nährlösungen dürfen nicht mehr appliziert werden, da sie toxische Verbindungen enthalten.⁸⁸
- In Lipidemulsionen kommt es zur Peroxidierung von ungesättigten Fettsäuren (vgl. D.1.1.1). Essentielle, ungesättigte Fettsäuren stehen dem Organismus so nicht mehr zur Verfügung. Dafür wird er durch die toxischen Abbauprodukte belastet.
- Die Spurenelemente Zink, Kupfer, Mangan, Selen, Fluor und Iod selbst bleiben in einer PN über 24 bis 48 Stunden stabil.⁶⁴ Die Metallionen können jedoch an Redoxreaktionen teilnehmen oder katalysierend wirken. Spurenelemente können sich somit am Abbau von Lipiden, Lipidhydroperoxiden, Aminosäuren und Vitaminen beteiligen.⁸⁹
Aufgrund der vielseitigen Interaktionsmöglichkeiten werden Spurenelemente erst kurz vor der Applikation der Nährlösung beigemischt.
- Vitamine weisen allgemein eine geringe Stabilität auf und werden daher ebenfalls erst unmittelbar vor der Verabreichung der PN zugefügt.
Die Ascorbinsäure (Vitamin C) scheint am instabilsten zu sein. Sie ist licht- und oxidationsempfindlich. Zur Rolle von Vitamin E (Tocopherol) vgl. D.2.4.3.2.3.
- Besonders oxidationsempfindlich sind die Aminosäuren Tryptophan, Cys, Tyrosin, Histidin und Methionin.⁸⁹⁻⁹¹ Laut Manning ist der Verlust an aktiven Aminosäuren physiologisch nicht unbedingt relevant, jedoch ist die Toxizität der Abbauprodukte kaum bekannt.⁶⁴

Unerwünschte Oxidationen stellen eine besondere Schwierigkeit dar. Dabei spielt die Verfügbarkeit von Sauerstoff eine wichtige Rolle. Die Oxidationsraten in mehrschichtigen Infusionsbeuteln sind geringer als in den herkömmlichen, einschichtigen Ethylvinylacetat (EVA)-Beuteln.^{92,93} Auf dem Markt ist jedoch noch kein mehrschichtiger Beutel für die Neo mit einem Volumen von 200 ml erhältlich.

A.1.6.2.1 Auswirkungen der Lipidperoxidation auf kindlichen Organismus

Aerobe Zellen verfügen über ein enzymatisches und ein nicht-enzymatisches Abwehrsystem gegen oxidative Einflüsse. Zur nicht-enzymatischen Abwehr gehören Antioxidantien wie Tocopherole, Carotinoide, Ascorbinsäure und Thiol-Gruppen aus Proteinen (Cys, Glutathion). Daneben besteht ein komplexes Enzymsystem (Superoxid-Dismutase, Katalase), welches reaktive Sauerstoffverbindungen und Radikale abbaut.⁹⁴

Lipidhydroperoxide sind im Stoffwechsel nicht in grösseren Mengen vorgesehen. Es existiert folglich kein spezifisches System zum Abbau dieser Spezies. Daher haben Lipidhydroperoxide einen negativeren Einfluss auf den Organismus als Wasserstoffperoxid (H_2O_2).⁹⁵

Bei Frühgeborenen ist die oxidative Belastung des Organismus ausgeprägt, da sie einerseits einen sehr hohen Lipidbedarf zum Aufbau von Membranen zeigen und andererseits unter physiologischen Bedingungen freies Eisen im Plasma aufweisen.^{96,97} Zudem benötigen Frühgeborene oft zusätzlichen Sauerstoff oder müssen beatmet werden. Dies geschieht zu einem Zeitpunkt, zu welchem die körpereigenen antioxidativen Systeme noch nicht definitiv entwickelt sind.⁹⁸ Da der Schutzmechanismus durch die Katalase noch nicht vollständig ausgebildet ist, können Frühgeborene auch H_2O_2 nur ungenügend entgiften.

Freie Radikale führen zur Peroxidation ungesättigter, zellulärer Lipide. Proteine erfahren eine Oxidation ihrer Sulfhydrylgruppen, Quervernetzungen oder Radikalisierung.⁹⁴ Insbesondere Gewebe mit hohem Grad an ungesättigten Fettsäuren reagieren sehr empfindlich auf Peroxide. Peroxide sind mit frühkindlicher Retinopathie, bronchopulmonaler Dysplasie und nekrotisierender Enterokolitis in Zusammenhang gebracht worden.⁹⁹

Wünschenswert wäre eine möglichst Peroxid-freie Fettemulsion für die Neonatologie. Stattdessen zeigen Zubereitungen für Neugeborene bei der Applikation eine besonders starke Tendenz zur Peroxidation.^{99,100} Bei Termingeborenen beträgt die Konzentration an Lipidhydroperoxiden im Plasma $2.6 \pm 0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.¹⁰¹ Eine komplette Nährlösung für Neugeborene kann $200 - 300 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ Peroxide enthalten.¹⁰² Einem Neugeborenen können in 150 ml Nährlösung pro kg KG somit $30 - 45 \mu\text{mol}$ Peroxide zugeführt werden. Beachtet man das Blutvolumen von $\text{ca. } 90 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$, so erhält das Kind täglich $330 - 500 \mu\text{mol}$ Peroxide pro Liter Blut.

A.2 Zielsetzungen

Durch die Standardisierung und Zentralisierung der neonatologischen parenteralen Ernährung (PN) wird eine hohe medizinische Effizienz bei möglichst geringen Komplikationen sowie adäquater pharmazeutischer Qualität angestrebt.

- **Standardisierung der neonatologischen PN**

Ausgehend von einer Bestandesaufnahme der individuellen Verordnung mit dezentraler Zubereitung der PN in der Neonatologie soll eine Risikoanalyse durchgeführt und der Prozess neu organisiert werden. Das Projekt soll am Beispiel der neonatologischen Intensivpflegestation KSA behandelt werden.

Prinzipiell scheint eine Standardisierung in der Neonatologie sinnvoll.^{45,47,48} Es soll deshalb geprüft werden, ob sich ein System mit wenigen Standardnährlösungen für die neonatologische PN eignet.

Gestützt auf die Fachliteratur zum Nährstoffbedarf von Neugeborenen und eine Datenerhebung (Elektrolyte) auf der Neo-IPS sollen Standardrezepturen formuliert werden. Zur Deckung des hohen Calcium- und Phosphat-Bedarfs von Neugeborenen soll eine organische Phosphatquelle gewählt werden.

Die Standards sollen in einem definierten Volumen einen Tagesbedarf an Makro- und Mikronährstoffen enthalten und volumetrisch dosiert werden. Das System soll so einfach wie möglich und so variabel (individuelle Anwendungsadaptierung) wie nötig konzipiert werden. Dazu sollen die Standards auf einem modularen Prinzip mit stabilen Teillösungen aufgebaut werden.

Wegen der zahlreichen Komponenten bergen aseptisch hergestellte Nährlösungen ein besonders hohes Risiko für mikrobielle (Manipulation) und physikalisch-chemische Instabilität. Durch eine Zentralisierung der PN-Herstellung in der Spitalapotheke soll die Produktion rationeller und die Herstellungsbedingungen sowie die Dokumentation und Qualitätssicherung verbessert werden.

Zur Reduktion der Anzahl zu mischender Komponenten sollen auf Vorrat herstellbare Glucose-Elektrolyt-Konzentrate konzipiert werden.

Die Kosten-Nutzen-Relation soll vor und nach dem Transfer des Prozesses pharmakologisch beurteilt werden.

- **Lagerungsstabilität der wässrigen Phase**

Bisher wurde die PN bei Bedarf auf der Station frisch aus den Einzelkomponenten (vgl. Tab. 33) zubereitet. Zur Rationalisierung soll die wässrige Phase der Standards künftig auf Vorrat hergestellt werden. Folglich muss die physikalisch-chemische Stabilität der

Standardnährlösungen dokumentiert werden. Dazu müssen einfache, aussagekräftige Untersuchungsmethoden unter dem besonderen Aspekt der Durchführbarkeit in einer Spitalapotheke gewählt werden. Die Methoden sollen auch bezüglich der spezifischen Gegebenheiten der Neonatologie beurteilt werden.

Die endsterilisierten Glucose-Elektrolyt-Konzentrate sollen spektrophotometrisch auf ihren 5-Hydroxymethylfurfural-Gehalt geprüft werden.

In der gesamten wässrigen Phase der PN soll die physikalisch-chemische Lagerungsstabilität bei verschiedenen Bedingungen untersucht und dokumentiert werden. Repräsentative Marker für potentielle Zersetzungsprodukte, welche gerade in der Neonatologie von hoher Relevanz sind, sollen mittels geeigneter Methoden überwacht werden.

Partikel in Infusionszubereitungen können für Neugeborene fatal sein (vgl. A.1.6.1.1.1). Daher soll neben der pH-Kontrolle und der Lichtmikroskopie zum Ausschluss von Präzipitaten eine empfindliche Methode zur Beurteilung einer latenten Fällung schwerlöslicher Phosphate gesucht werden. Dazu wäre eine Methode zur Stabilitätsbeurteilung organischer Phosphate (Orthophosphat-Abspaltung) zweckmässig.

Es soll ein einfach zugänglicher Marker für den Oxidationszustand der wässrigen Phase definiert und verfolgt werden, um auch einen potentiellen oxidativen Stress für Neugeborene tief zu halten.

- **Stabilität der PN bei Applikationssimulation**

In einer Applikationssimulation der PN über 24 Stunden soll die physikalisch-chemische Stabilität der kompletten Standardnährlösungen unter praxisnahen Bedingungen im Labor der Apotheke untersucht werden. Hierzu sollen die AIO- und TPO-Verabreichungs-Varianten verschiedenen äusseren Einflüssen ausgesetzt werden.

Da vergrösserte und aggregierte LT zu einer Reihe von Komplikationen führen (vgl. A.1.6.1.2.1), muss die physikalische Stabilität der Lipidemulsion gesichert sein. In der Spitalapotheke KSA besteht hierfür eine validierte, lichtmikroskopische Methode zur Emulsionsbeurteilung von AIO-Nährmischungen.¹⁰⁴

Die Peroxidbelastung (Lipidperoxide, H_2O_2) der PN muss in der Neonatologie gering gehalten werden (vgl. A.1.6.2.1). Daher soll das Ausmass der Peroxidation während der Applikation der PN unter Praxisbedingungen quantifiziert und auf Einflussfaktoren untersucht werden. Dazu soll die FOX-Methode (ferrous oxidation xylene orange) für die Anwendung in einer Nährlösung gegenüber der iodometrischen Titration als Referenzmethode validiert werden.

Aufgrund der physikalischen Emulsionsstabilität soll die Applikationsart der Standardregime (AIO bzw. TPO) festgelegt werden.

Ergänzend zu diesen allgemeinen Zielsetzungen sind die spezifischen Fragestellungen zu den Kapiteln B, C und D zu beachten (vgl. B.1.5, C.1.1.1, C.2.1.3, D.1.1.3, D.2.1.4).

A.3 Statistik

Das Signifikanzniveau wurde auf 5% ($\alpha = 0.05$) festgesetzt. Die statistischen Tests wurden anhand von Mittelwerten berechnet. Die Anzahl Werte (n) bei Tests zwischen mehreren Gruppen wurde als Produkt angegeben. Wurde beispielsweise ein Test zwischen 4 Gruppen mit jeweils 9 Werten durchgeführt, so wurde für $n = 4 \times 9$ angegeben. Bei unterschiedlich grossen Gruppen wurde die Grösse spezifiziert: wies eine Gruppe z.B. 18 Werte auf, die andere 29, so lautete $n = 18$ bzw. 29.

Die Berechnungen fanden mit Hilfe der Statistik-Software SigmaStat 2.03 (SPSS Inc., Chicago 1997; Windows Version) statt.

Mehrheitlich musste von nicht normal verteilten Daten (Kolmogorov-Smirnov-Test) ausgegangen werden. Um parametrische und nicht-parametrische Tests nicht zu mischen, wurden konsequent nicht-parametrische Tests angewendet¹⁰³:

- Unterschiede zwischen zwei Gruppen unabhängiger Stichproben wurden mittels des Mann-Whitney-U-Tests, abhängige Stichproben mittels des Rangsummen-Tests nach Wilcoxon auf Signifikanz geprüft.
- Bei mehr als zwei Gruppen wurde die Rangvarianzanalyse nach Friedman eingesetzt.
- Trends wurden mit Hilfe des Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten analysiert.

Die Bewertung der Einflussfaktoren aus dem faktoriellen Versuchsdesign erfolgte nach Yates.

B. Standardisierung der neonatologischen PN

B.1 Einleitung zur Standardisierung

Die Grundlagen zur Standardisierung und Zentralisierung der neonatologischen PN werden am Beispiel der Neo-IPS KSA erarbeitet. Dabei handelt es sich um ein mittel-grosses, neonatologisches Zentrum. Im Unterschied zu den universitären Zentren fehlt eine Chirurgie. Die Neo-IPS KSA ist repräsentativ für die Schweiz und lässt sich als Referenzzentrum heranziehen.

In einer zweiten Phase soll das Projekt in die Praxis umgesetzt und die erarbeiteten Grundlagen überprüft werden.

B.1.1 Formulierung von neonatologischen Standardnährlösungen

Die A.S.P.E.N. empfiehlt eine Standardisierung der Rezepturen sowie des Handlings der PN grundsätzlich, um eine hohe Konsistenz und Sicherheit zu erreichen.^{5,52} In einer Umfrage bei neonatologischen Zentren in Kanada sprachen 96% der Befragten den Wunsch nach einer Standardisierung der PN aus.¹⁰⁵

Der Bedarf für eine Standardisierung ist klar gegeben. Die Formulierung von Standards gestaltet sich insbesondere in der Neonatologie schwierig, da die klinische Evidenz zum Nährstoffbedarf von Neugeborenen noch ungenügend ist.¹⁰⁶ Die Standards für die Neo KSA werden anhand der Fachliteratur und der bisherigen Erfahrungen aus der Klinik konzipiert. Dabei wird eine eher konservative Haltung (vorhandene Evidenz) vertreten. Unter Berücksichtigung des heterogenen Patientenguts der Neo werden wenige Standards entwickelt, welche bei einem möglichst hohen Anteil der Kinder eingesetzt werden können. Das System soll bei den potentiell problematischen Nährstoffen (z.B. K⁺ und Lipide) trotz der Standardisierung eine gewisse Flexibilität für individuelle Anpassungen offen lassen.

Für die Standards wird das Volumen festgelegt, in welchem ein Tagesbedarf an sämtlichen Makro- und Mikronährstoffen (vgl. A.1.2.3) für ein Kind à 1 kg KG enthalten ist. Die Individualisierung erfolgt anhand des verabreichten Volumens.

Die Standardlösung soll auch während des Nahrungsaufbaus eine adäquate Versorgung gewährleisten. Während der ersten Lebensstage von Neugeborenen erfordert der täglich zunehmende Flüssigkeitsbedarf eine stufenweise Steigerung des Volumens.⁸ Durch die Erhöhung des Flüssigkeitsvolumens werden parallel auch die Makronährstoffe gesteigert.

Durch die Standardisierung soll das Verhältnis der Nährstoffe untereinander möglichst konstant gehalten werden, um Inkompatibilitäten zu verhindern. Ebenso werden die Quellen der Elektrolyte im Hinblick auf die physikalische Stabilität der Nährlösung optimiert (vgl. A.1.2.3 und B.1.4).

B.1.2 Definition von Modulen zur rationellen Produktion

Zur rationellen, kosteneffizienten Produktion wird ein modulares System entwickelt. Unter einem Modul wird eine vorgefertigte, definierte Mischung verschiedener Nahrungsbestandteile verstanden (z.B. Glucose-Elektrolyt-Konzentrat). Die einzelnen Module sind stabil und werden in der Apotheke an Lager gehalten.

B.1.3 Zentralisierung der Herstellung der Nährlösungen

Die zentrale Herstellung der PN in der fachkompetenten Verantwortung der Spitalapotheke sollte zu einer Steigerung der Sicherheit und Effizienz führen (vgl. A.1.5).

Um eine adäquate pharmazeutische Qualität der Nährlösungen zu gewährleisten, muss nicht nur das Endprodukt, sondern der gesamte Prozess von der Produktion bis zur Applikation exakt validiert und überwacht werden.⁵²

Parallel zur Standardisierung und Zentralisierung soll der Prozess von der Verordnung bis zur Produktion EDV-gestützt werden (lückenlose Dokumentation des Produktes; Resultate in dieser Arbeit nicht präsentiert).

B.1.4 Acetat anstelle von Bicarbonat zur Azidose-Therapie

Frühgeborene leiden oft an metabolischen Azidosen.¹⁰⁷ Als Messgrösse für metabolische Azidosen dient der Base Excess (BE) im Blut. Der BE in $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ entspricht der Menge einer Base, die erforderlich ist, um den pH-Wert zu normalisieren.

Gegenwärtig wird im KSA für die Kompensation einer Azidose Natriumbicarbonat (= Natriumhydrogencarbonat) (Nabic) verabreicht. Bicarbonat zeigt ein enormes Inkompatibilitätspotential mit den übrigen Komponenten der Nährlösung.⁴ Folglich mussten bei einer Verordnung von Nabic zwei separate wässrige Lösungen zubereitet werden. Dies erhöht nicht nur den Arbeitsaufwand und die Kosten, sondern auch das Risiko von Verwechslungen sowie die Infektionsgefahr.

Da Acetat (Ac^-) kaum schwerlösliche Salze bildet und in der Leber zu Bicarbonat metabolisiert wird¹⁰⁸, wird in den Standards von Bicarbonat auf Ac^- gewechselt.

B.1.5 Fragestellungen zur Standardisierung

Ergänzend zu allgemeinen Zielsetzungen unter A.2:

- Die Nährstoffkomponenten der erarbeiteten Standards werden auf eine ideale Anzahl (Aufwand versus Flexibilität) lagerfähiger Module aufgeteilt.
- Der Ablauf des Prozesses von der Verordnung bis zur Verabreichung der neonatologischen PN wird für die künftige zentrale Herstellung festgelegt.

B.2 Material und Methoden zur Standardisierung

B.2.1 Risikoanalyse der individuellen, dezentralen PN-Zubereitung

Die Ausgangssituation der individuellen Verordnung und dezentralen Produktion der PN auf der Neo-IPS KSA wurde durch die Spitalapothekerin erfasst und potentielle Risiken analysiert. Zum Ablauf des Prozesses vgl. A.1.3.

B.2.2 Datenerfassung zum Nährstoffbedarf in der Neonatologie

B.2.2.1 Datenerhebung klinischer Parameter als Anhaltspunkte

Es sollte ein Überblick zu den verabreichten Mengen an Na^+ , K^+ und Nabic nach den bisherigen Richtlinien (vgl. Tab. 33, Anhang) gewonnen werden. Um die Auswirkungen auf den Plasmaspiegel abschätzen zu können, wurden auf der Neo-IPS KSA die verordneten Elektrolyte mit den zugehörigen Plasmaspiegeln erfasst.

Die ethische Kommission des KSA bewilligte die Studie unter der Voraussetzung, dass die Laborparameter ausschliesslich anhand der Routine-Laborbestimmungen erhoben wurden. Es durften keine zusätzlichen, rein Studien-bedingten Bestimmungen durchgeführt werden.

Zu den erfassten Daten gehörten:

- Geburtsgewicht bzw. aktuelles Körpergewicht
- Menge der parenteral bzw. enteral verabreichten Elektrolyte Na^+ und K^+
- Zusatz von Nabic (parenteral)
- Plasmawerte der Elektrolyte Na^+ und K^+

Als weitere Anhaltspunkte wurden berechnet:

- Flüssigkeitsvolumen parenteral und oral/enteral
- verabreichte Gesamtenergiemenge

Die benötigten Parameter wurden retrospektiv der Krankengeschichte entnommen. Eingeschlossen in die Erhebung wurden Neugeborene, die über mindestens fünf Tage parenteral ernährt werden mussten. Von Juni bis Dezember 2001 wurden die Daten von sechs Mädchen und vier Jungen ausgewertet. Die Kinder kamen zwischen der 26. und 39. Schwangerschaftswoche zur Welt und wogen bei der Geburt durchschnittlich 995 g (Median, Min - Max: 410 - 2735 g). Ab dem zweiten oder dritten Lebenstag mussten sie teilweise oder total parenteral ernährt werden. Die Kinder erhielten während 5 - 18 Tagen PN. Insgesamt wurden 121 PN-Therapietage erfasst, wobei 63 auf Kinder < 1000 g GG bzw. 58 auf Kinder > 1000 g GG entfielen.

Ein besonderes Augenmerk galt der Häufigkeit der Abweichungen von den bisherigen Richtlinien (vgl. Tab. 33, Anhang). Dosierungsänderungen um über 10% gegenüber den Richtlinien wurden als Abweichung definiert.

B.2.2.2 Literaturstudium zum parenteralen Nährstoffbedarf in der Neo

Es wurden Literaturrecherchen in den Datenbanken Medline, Embase und Cochrane durchgeführt. Als Stichworte dienten: *nutritional requirements, parenteral nutrition, newborn infant, guidelines* (alles Medical Subject Headings) sowie *preterm, p(a)ediatric* bzw. *standard(ization)*.

Es wurden Anfragen an Spitalapotheken mit langjähriger Erfahrung im Bereich der PN in der Schweiz, in Deutschland und England gerichtet.

B.2.3 Formulierung der Standardnährlösungen für die Neonatologie

Anhand der Datenerhebung auf der Neo-IPS und des Literaturstudiums wurden mehrere Vorschläge für Standards ausgearbeitet und mit der Ärzteschaft besprochen.

B.2.3.1 Definition der Module für die Standardnährlösungen

Die für die Standardnährlösungen benötigten Nährstoff-Komponenten wurden auf eine sinnvolle Anzahl haltbarer Module aufgeteilt. Glucose-Elektrolyt (GluEl)-Konzentrate wurden als das wässrige Basismodul angestrebt.

B.2.3.1.1 Entwicklung von Glucose-Elektrolyt-Konzentraten

Es wurde eine Lösung entwickelt, welche in einem definierten Volumen einen Tagesbedarf an Glucose, Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- und Phosphat aufweist.

Für das Konzentrat wurden Glucose, Natriumchlorid (NaCl), Natriumacetat, CaGlyP sowie Magnesiumsulfat in Aqua ad iniectabilia gelöst und mit Salzsäure (HCl) (entsprechend $2 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) angesäuert. Die Lösungen wurden zu 260 ml in 500ml-Infusionsflaschen DIN Typ 1 abgefüllt und nach dem F_0 -Prinzip ($F_0 = 13.0$) sterilisiert.

B.2.3.2 Erlaubte Zusätze zu den Standardnährlösungen

Aus der Datenerhebung in der Klinik wurden die Extremwerte für Na^+ , K^+ und Nabac extrahiert, um die Grössenordnung der Schwankungen abschätzen zu können.

Die Auswirkungen dieser maximalen Ionen-Konzentrationen auf die Stabilität der Nährlösungen wurden experimentell ermittelt (vgl. C.2). Daraus leiteten sich die maximal erlaubten Mengen für Na^+ -, K^+ - und Ac^- -Zusätze ab.

B.2.4 Definition des Prozessablaufs bei zentraler Herstellung der PN

Die Verordnung wurde mit der Ärzteschaft, die Bestellung, Lieferung und Applikation mit dem Pflegedienst und die Überprüfung, Produktion und Dokumentation mit dem pharmazeutischen Dienst besprochen. Schnittstellen wurden kritisch untersucht.

B.3 Resultate zur Standardisierung

B.3.1 Risikoanalyse der individuellen, dezentralen PN-Zubereitung

Die Analyse potentieller Risiken des dezentralen Prozesses für die PN ergab folgende Schwachstellen:

- a) Der Verordnende konnte sich weder für den Nährstoffbedarf noch für die Kompatibilität auf detaillierte Unterlagen oder ein EDV-System abstützen.
- b) Es fand keine Doppelkontrolle statt. Rechenfehler oder unzureichende Nährstoffmengen konnten nicht ausgeschlossen werden.
- c) Es erfolgte keine konsequente Überprüfung der Berechnungen für die Produktion bzw. der bereitgestellten Basislösungen.
- d) Die unterschiedliche Instruktion der Pflegenden in der aseptischen Technik, eine fehlende Routine und der Zutritt von Drittpersonen während der Produktion stellten weitere Risikofaktoren dar. Zudem stand die produzierende Person unter einem erheblichen Zeitdruck.
- e) Die fehlende Dokumentation war ebenfalls kritisch. Nachträglich war nicht nachvollziehbar, welche Produkte bzw. Chargen eingesetzt worden waren.

B.3.2 Datenerfassung zum Nährstoffbedarf in der Neonatologie

B.3.2.1 Datenerhebung klinischer Parameter als Anhaltspunkte

Die wichtigsten Parameter sind in Tab. 1 dargestellt. Es folgen Erläuterungen dazu:

- *Natrium*

Verglichen mit den bisherigen Richtlinien ($4 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) musste die Na^+ -Dosierung an 74% aller Therapietage nach unten, an 2% nach oben angepasst werden. Daraus resultierten 85% der Spiegel im Normbereich von $132 - 148 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ¹⁰⁹.

Wurden die Therapietage, an welchen für die Säuglinge $< 1000 \text{ g}$ kein Na^+ zur PN gemischt worden war, nicht berücksichtigt, resultierte ein Median von $3.1 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ (Min - Max: $0.8 - 5.3 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, $n = 43$). Den Kindern $> 1000 \text{ g}$ wurde täglich Na^+ verabreicht.

- *Kalium*

Für K^+ musste die Dosierung ($2 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) an 69% aller Therapietage nach unten, bei 2% nach oben angepasst werden. Daraus resultierten 83% der Plasmaspiegel im Normbereich von $3.6 - 6.1 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ¹⁰⁹.

In beiden Gewichtsklassen wurde jeweils an zwei Tagen K^+ -frei therapiert.

Tab. 1: Datenerhebung auf der Neo-IPS KSA. Die totale Nährstoffmenge entspricht der Summe aus den parenteral plus oral/enteral verabreichten Mengen. Dargestellt ist der Median mit Minimum und Maximum in Klammern. Mittels des Mann-Whitney-Tests wurden die Gruppen < 1000 g GG bzw. > 1000 g auf signifikante Unterschiede (sig) untersucht. nsig = nicht signifikant

Parameter	GG < 1000 g		GG > 1000 g		Mann-Whitney	
	parenteral	total	parenteral	total	parenteral	total
Na ⁺ [mmol·kg ⁻¹] in Ernährung	1.7 (0 - 5.3) n = 63	2.1 (0 - 5.3) n = 63	3.0 (0 - 4.1) n = 58	3.0 (0.4 - 4.4) n = 58	p = 0.003 sig	p = 0.002 sig
K ⁺ [mmol·kg ⁻¹] in Ernährung	1.4 (0 - 3.7) n = 63	1.7 (0 - 3.8) n = 63	1.2 (0 - 2.1) n = 57	1.5 (0.9 - 2.2) n = 58	p = 0.04 sig	p = 0.35 nsig
Nabic parenteral	1.2 (0 - 3.6) n = 39		0 (0 - 2.6) n = 3		p < 10 ⁻⁷ sig	
Volumen der Ernährung	101 (15 - 143) n = 63	141 (45 - 189) n = 63	99 (32 - 158) n = 58	141 (71 - 161) n = 58	p = 0.34 nsig	p = 0.30 nsig
Kalorien der Ernährung	51 (11 - 87) n = 63	62 (16 - 92) n = 63	49 (14 - 93) n = 58	70 (17 - 127) n = 58	p = 0.78 nsig	p = 0.02 sig
Plasma-Na ⁺	141 126 - 154 n = 19		145 (129 - 155) n = 29		p = 0.01 sig	
Plasma-K ⁺	4.8 (3.1 - 7.8) n = 18		5.4 (3.1 - 6.7) n = 29		p = 0.06 nsig	

- *Natriumbicarbonat*

Alle Kinder unter 1000 g GG erhielten mindestens an einem Therapietag Nabic. Insgesamt musste bei diesen sehr unreifen Kindern an 39 der 63 Therapietage (62%) Nabic zugefügt werden. Es musste lediglich einem Säugling > 1000 g während drei Tagen Nabic gegeben werden.

- *Volumen*

Der Anteil der parenteralen Zufuhr am gesamthaft verabreichten Volumen betrug 84%. Wurde die Nahrungsaufbau-Phase der ersten drei bis vier PN-Tage, an welchen ein geringeres Volumen verabreicht wurde, nicht einkalkuliert, resultierte für beide Gewichtskategorien ein Median von 149 ml·kg⁻¹ (Min - Max: 72 - 189 ml·kg⁻¹, n = 89). Einschliesslich der Aufsättigungsphase lag das Volumen tiefer (vgl. Tab. 1).

- *Energie*

Der Anteil der parenteral verabreichten Kalorien machte etwa 75% der Gesamtenergie aus.

Wurden die Tage des Nahrungsaufbaus nicht einberechnet, so wurden täglich 77 kcal·kg⁻¹ (Min - Max: 36 - 127 kcal·kg⁻¹, n = 89) verabreicht.

Bei über 50% der Verordnungen fehlte eine Kalkulation zur Kalorienmenge. Bei der anderen Hälfte wurde die oral/enteral verabreichte Milch nicht konsequent in die Kalkulationen miteinbezogen. Insbesondere bei der Gabe von grösseren Milchmengen resultierten für Fett Werte bis 5.1 g·kg⁻¹·d⁻¹.

B.3.2.2 Literaturstudium zum parenteralen Nährstoffbedarf in der Neo

Übersichtstabellen zu den wichtigsten Literaturstellen und den Anfragen in anderen Neonatologie-Zentren sind dem Anhang Tab. 34 bis 36 zu entnehmen.

Es wurden jeweils die Nährstoffempfehlungen für die voll aufgebaute PN übernommen.

B.3.3 Formulierung der Standardnährlösungen für die Neonatologie

Es wurden zwei Standardregime definiert (vgl. Tab. 2):

- hochkalorische Standardnährlösung Neo KSA:
Die Mischung enthält mit 15 g·kg⁻¹ einen kompletten Tagesbedarf an Glucose. Dieser Standard soll die erste Wahl bei einem stabilen Stoffwechsel darstellen.
- niederkalorische Standardnährlösung Neo KSA:
Die Mischung deckt mit 10 g Glucose·kg⁻¹·d⁻¹ den Energiebedarf nicht vollständig und ist bei Hyperglykämie und Glucose-Intoleranz indiziert.

Die beiden Standards weisen abgesehen von der Glucose-Konzentration dieselbe Zusammensetzung auf.

Es folgen Erläuterungen zu einigen Komponenten der Standards aus Tab. 2:

- *Volumen*

Das Standardvolumen bei voll aufgebaute Ernährung wurde auf 140 ml·kg⁻¹·d⁻¹ festgelegt. Das täglich zu verabreichende Volumen richtet sich einerseits nach dem Gewicht und andererseits nach dem Gesundheitszustand des Kindes. Zur Berechnung des Bedarfs wird das aktuelle Gewicht eingesetzt. Liegt das aktuelle Gewicht unter dem GG, wird mit dem GG gerechnet.

- *Aminosäuren*

Die AS-Menge wurde auf 2.5 g·kg⁻¹ in Form von Vaminolact[®] festgesetzt.

Die Gabe soll am zweiten Lebenstag einsetzen. Zum Nahrungsaufbau vgl. B.4.3.3.

Tab. 2: Zusammensetzung der hochkalorischen bzw. *niederkalorischen* Standardnährlösung Neo KSA. Die Nährstoffmengen und Volumina sind pro kg und Tag angegeben. Bezogen auf die wässrige Phase betragen die Glucose-Konzentrationen rund 120 g·l⁻¹ bzw. 80 g·l⁻¹, bezogen auf die komplette Nährlösung 110 g·l⁻¹ bzw. 70 g·l⁻¹. Die Konzentrationsangaben in der zweitletzten Spalte gelten für die gesamte Nährlösung einschließlich Lipiden.

Modul	Komponenten	Salz	Nährstoffmenge	Volumen	Konzentration	Energie	
wässrige Phase							
Vaminolact®	div. L-Aminosäuren davon Stickstoff		2.5 g·kg ⁻¹ 0.4 g·kg ⁻¹	38.5 ml·kg ⁻¹	17.9 g·l ⁻¹	10 kcal·kg ⁻¹	
Glucose-Elektrolyt-Konzentrat KSA hochkalorisch bzw. <i>niederkalorisch</i>	Glucose Natrium Kalium Calcium Magnesium Phosphat Chlorid Acetat	NaCl, NaAc - CaGlyP MgSulfat CaGlyP NaCl, HCl NaAc	15 / 10 g·kg⁻¹ 3.0 mmol·kg⁻¹ - mmol·kg⁻¹ 1.5 mmol·kg⁻¹ 0.25 mmol·kg⁻¹ 1.5 mmol·kg⁻¹ 3.0 mmol·kg⁻¹ 2.0 mmol·kg⁻¹	82.5 ml·kg ⁻¹	107.1 / 71.4 g·l ⁻¹ 21.4 mmol·l ⁻¹ - mmol·l ⁻¹ 10.7 mmol·l ⁻¹ 1.8 mmol·l ⁻¹ 10.7 mmol·l ⁻¹ 21.4 mmol·l ⁻¹ 14.3 mmol·l ⁻¹	60 / 40 kcal·kg ⁻¹	
Peditrace®	Spurenelemente	div.			1.0 ml·kg ⁻¹		
<i>wässrig insgesamt</i>							
					122 ml·kg ⁻¹		70 / 50 kcal·kg ⁻¹
Lipidphase							
Lipovenös® 20%	div. Fettsäuren		2.6 g·kg⁻¹		13.0 ml·kg ⁻¹	18.6 g·l ⁻¹	23 kcal·kg ⁻¹
Vitalipid® N Infant	fettlös. Vitamine		0.4 g·kg⁻¹		4.0 ml·kg ⁻¹	2.9 g·l ⁻¹	4 kcal·kg ⁻¹
Soluvit® N	wasserlös. Vitamine				1.0 ml·kg ⁻¹		
<i>lipidhaltig insgesamt</i>							
			3.0 g·kg⁻¹	18.0 ml·kg ⁻¹	21.4 g·l ⁻¹	27 kcal·kg ⁻¹	
Total				140 ml·kg ⁻¹		87 / 67 kcal·kg ⁻¹	
Osmolalität			850 / 680 mosm·kg⁻¹				

- *Lipide*

In der Neo liegen mit LCT gute Erfahrungen vor. Für mittelkettige Triglyceride (MCT) fehlen grosse, kontrollierte Langzeitstudien bei Neugeborenen. Folglich wird mit einer reinen LCT Fettemulsion in Form von Lipovenös® 20% ernährt.

Vitalipid® N Infant weist eine 10%-ige Lipidemulsion als Träger auf. Mit der Tagesdosis von $4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ trägt die Vitaminzubereitung $0.4 \text{ g Fett} \cdot \text{kg}^{-1}$ bei.

- *Chlorid, Bicarbonat, Acetat*

Nabic darf im Zusammenhang mit parenteralen Nährlösungen nicht mehr eingesetzt werden. Als Ersatz dient Natriumacetat, welches in einer Dosierung von $2 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ als fixer Bestandteil den Standardnährlösungen beigemischt wird. Ausserdem steht Kaliumacetat zur Verfügung.

- *Spurenelemente*

Es sollen $1.0 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ Peditrace® verabreicht werden. Peditrace® ist eisenfrei. Eisen wird im KSA ab der 2. Lebenswoche oral in Form von Aktiferrin®-Tropfen gegeben.

- *Vitamine*

Soluvit® N: Dosierung $1 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Die Trockensubstanz wird in 10 ml Vitalipid® N Infant aufgenommen und das entsprechende Volumen zur Lipidphase gespritzt.

Bei Intoleranz gegenüber Lipiden wird Soluvit® N in 10 ml Aqua ad iniectabilia gelöst und langsam intravenös verabreicht.

Vitalipid® N Infant: Dosierung $4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Vitalipid® darf nicht direkt intravenös gespritzt werden. Die Tagesdosis wird zusammen mit den wasserlöslichen Vitaminen über 24 Stunden in der Fettphase der Nährmischung verabreicht.

B.3.3.1 Definition der Module für die Standardnährlösungen

Es wurden folgende Module zur Produktion der Standardregime definiert:

- 1) Aminosäuren in Form von Vaminolact®
- 2) GluEI-Konzentrate hoch- und niederkalorisch KSA (vgl. Tab. 3)
- 3) Spurenelemente in Form von Peditrace®
- 4) Lipidphase in Form von Lipovenös® 20%
- 5) Soluvit® N, aufgenommen in Vitalipid® N Infant und zu Lipovenös® gegeben

Die beiden K^+ -freien Standardnährlösungen lassen sich aus den Modulen 1) - 5) mischen. Je nach individuellem Bedarf an Na^+ , K^+ bzw. Ac^- kommen eine oder zwei Lösungen aus dem Modul 6) hinzu.

- 6) Zusatz von Kaliumacetat, Kaliumchlorid, Natriumacetat oder NaCl

Alle Edukte sind über Monate bis Jahre stabil und werden in der Apotheke vorrätig gehalten.

B.3.3.1.1 Entwicklung von Glucose-Elektrolyt-Konzentraten

Das täglich zu verabreichende Volumen des GluEI-Konzentrats von $82.5 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ errechnet sich aus dem Totalvolumen von $140 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ abzüglich Vaminolact[®], Peditrace[®] und der vitaminisierten Fettphase.

Nach der Sterilisation erwiesen sich die Produkte bei einem pH-Wert von 5.4 (hochkalorisch) bzw. 4.9 (niederkalorisch) als stabil (vgl. C.1).

Tab. 3: Zusammensetzung der Glucose-Elektrolyt-Konzentrate Neo KSA.

Komponente in Infusionsflasche à 260 ml		hochkalorisch Glucose $180 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	niederkalorisch Glucose $120 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
Glucose (wasserfrei)	$[\text{g}\cdot\text{l}^{-1}]$	181.8	121.2
Natrium	$[\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}]$	36.4	36.4
Calcium	$[\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}]$	18.2	18.2
Magnesium	$[\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}]$	3.0	3.0
Chlorid	$[\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}]$	36.4	36.4
Phosphat	$[\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}]$	18.2	18.2
Acetat	$[\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}]$	24.2	24.2
pH-Wert		5.4	4.9

B.3.3.2 Erlaubte Zusätze zu den Standardnährlösungen

Aus Stabilitätsgründen müssen für Zusätze zu den Standards die Maximaldosen aus Tab. 4 eingehalten werden. Die Daten leiten sich von den Untersuchungen im Kapitel C.2 ab. Sämtliche Zuspritzungen müssen in der Spitalapotheke vorgenommen werden. Für die Grenzwerte in der klinischen Richtlinie sollen die physiologisch sinnvollen Werte aus der letzten Spalte angegeben werden.

Tab. 4: Maximaldosen der einwertigen Ionen in den Standardnährlösungen Neo KSA. Die Gesamtkonzentration bezieht sich auf die komplette Nährmischung inklusive Lipidemulsion.

Ion	Standardlösung $[\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}]$	Zuspritzung theor. $[\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}]$	Gesamtkonz. ca. $[\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}]$	physiologisch total $[\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}]$
Natrium	3	2	35	5
Kalium	0	4	28	4
Chlorid	3	6	62	6
Acetat	2	4	42	5

Die vorgesehene Ca^{2+} - und Phosphat-Konzentration von $10.7 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ in der kompletten Mischung darf nicht erhöht werden. Ebenso darf kein Mg^{2+} zugespritzt werden. Zu Heparin vgl. D.2.

B.3.4 Definition des Prozessablaufs bei zentraler Herstellung der PN

Die Abb. 2 zeigt den geplanten Prozessablauf der zentralen Herstellung der PN.

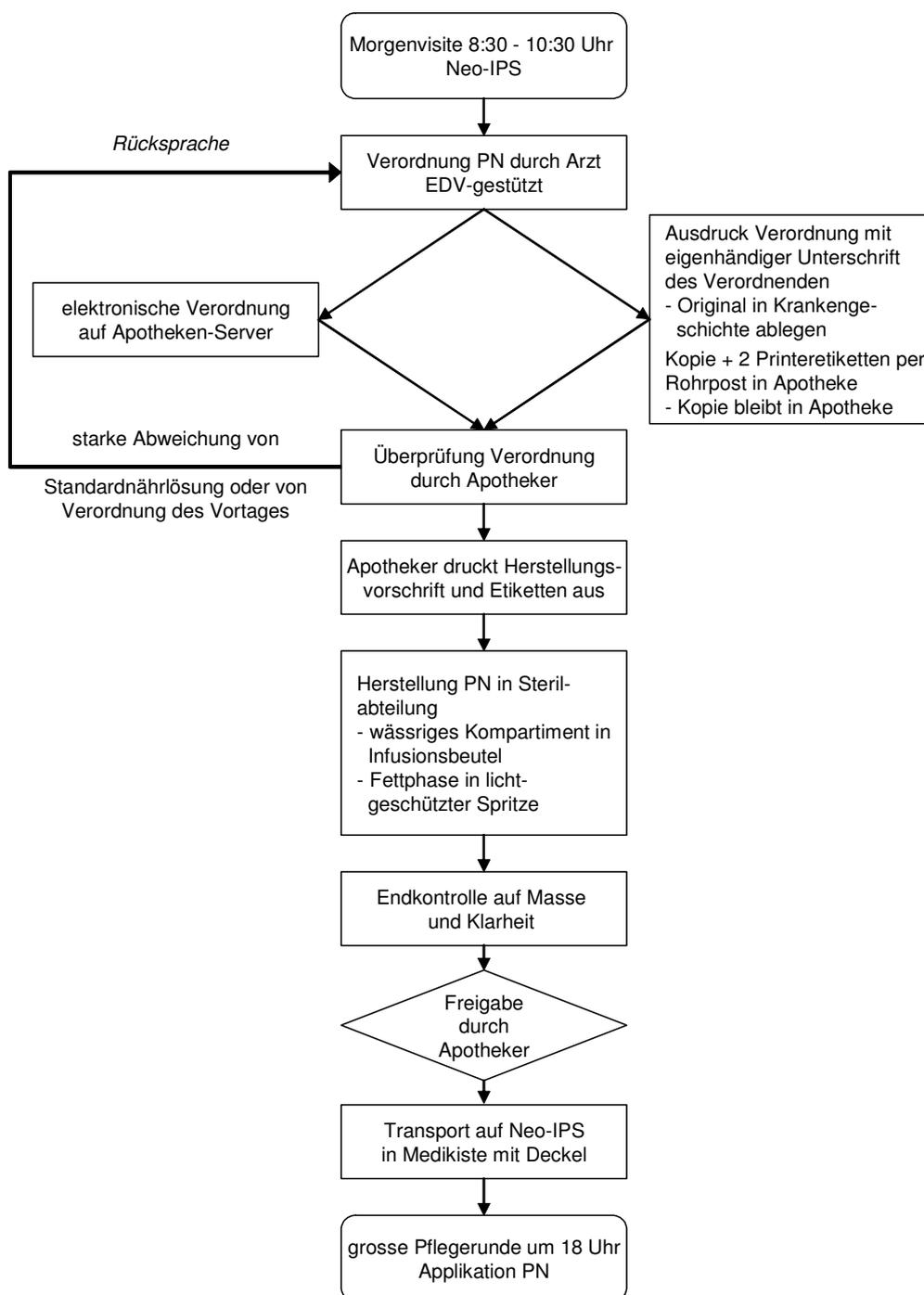


Abb. 2: Geplanter Prozessablauf der zentralen PN-Herstellung für die Neo KSA.

B.4 Diskussion zur Standardisierung

B.4.1 Risikoanalyse der individuellen, dezentralen PN-Zubereitung

Die Schwachstellen aus B.3.1. zeigen auf, dass ein dringender Handlungsbedarf zur Verringerung des Risikos besteht.

- a) Durch die individuelle Verordnung werden Mischungen mit täglich wechselnder Zusammensetzung (v.a. Elektrolyte) hergestellt, ohne dass die Stabilität beachtet wird. Beim Verordnenden fehlt meist die Sensibilität für Stabilitätsaspekte. Künftig soll ein standardisiertes, computergestütztes Verordnungssystem eingesetzt werden, welches die Verschreibung vereinfachen wird.
- b) Beim Verordnen und Berechnen von Nährlösungen sind Kommafehler und Rundungsdifferenzen laut Dobner am häufigsten. Teilweise gehen einzelne Komponenten vergessen. Durch ein computergestütztes Expertensystem konnten auf einer Neo-IPS die Verordnungsfehler von 6 pro 80 Zubereitungen auf 0 reduziert werden.¹⁰
Tepas betonte, dass das Risiko für Fehler bei Frühgeborenen unter 2 kg KG am höchsten sei.¹¹⁴
- c, d) Durch routiniertes, pharmazeutisches Fachpersonal, genügend Zeit und konsequente Doppelkontrollen (vgl. Abb. 2) wird eine wesentliche Verbesserung der Produktsicherheit erwartet.
- e) Im Rahmen der Herstellungsbewilligung des Apothekenbetriebes werden klare Anforderungen an eine GMP-konforme Herstellung inklusive Dokumentationssystem gestellt.

Die zentrale Herstellung in der Spitalapotheke ist ebenfalls fehleranfällig. Verwechslungen von verschiedenen konzentrierten Lösungen in einer Apotheke führten zu Über- oder Unterdosierungen von Glucose mit fatalen Folgen.⁵² Deshalb muss für die Umsetzung des Projektes in die Praxis auch der Prozess in der Apotheke validiert werden.

B.4.2 Datenerfassung zum Nährstoffbedarf in der Neonatologie

B.4.2.1 Datenerhebung klinischer Parameter als Anhaltspunkte

Der Datensatz von 121 Therapietagen bei zehn Neugeborenen war zwar begrenzt, aber dennoch repräsentativ, da er das Patientengut von sechs Monaten einschloss.

- *Elektrolyte*

Es wurde eine sehr breite Streuung der Konzentrationsbereiche der Elektrolyte in der PN festgestellt. Die Verordnung der Elektrolyte geschah unter rein klinischen Aspekten ohne Berücksichtigung der Stabilität (keine Limiten vorgegeben). Problematisch war insbesondere der Therapiebeginn. Häufig wurden trotz des geringen Volumens die

Elektrolytmengen voll ausdosiert. Dies war bislang möglich, da hoch konzentrierte Glucoselösungen (bis $500 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) zur Einsparung von Volumen zur Verfügung standen. Insbesondere für Ca^{2+} und Phosphat wurden höchst kritische Werte bis 24 bzw. 83 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ erreicht. Durch die Festlegung von Maximalwerten (vgl. Tab. 2 und 4) sollen künftig problematische Konzentrationen verhindert werden.

- *Kohlenhydrate und Energie*

Die bisherigen Richtlinien (vgl. Tab. 33) gaben keinen Zielbereich für die Glucosemenge vor. Die benötigten Volumina für Aminosäuren und Elektrolyte wurden berechnet und mit Glucoselösungen verschiedener Konzentrationen auf das Sollvolumen ergänzt. Ein Zielwert für die Gesamtenergie fehlte ebenfalls. Dies führte wahrscheinlich dazu, dass bei 50% der Verordnungen keine Kalkulation der Kalorienmenge stattfand.

Nach Aussagen der Ärzte sollten das Volumen, die Energie ($700 \text{ kcal}\cdot\text{l}^{-1}$), die Proteine ($12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) und die Lipide ($40 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) der Frauenmilch in die Gesamtbilanz einkalkuliert werden. Die Elektrolyte aus der Milch werden nicht berücksichtigt. Dies erlaubt lediglich eine grobe Bilanzierung, welche insbesondere im Hinblick auf eine ausreichende Versorgung mit Ca^{2+} und Phosphat Mängel aufweist.

Hauptsächlich bei der Gabe grosser Volumina Frauenmilch erreichte die totale Fettmenge bis $5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$. Diese Menge dürfte die metabolische Kapazität überschreiten und zu Fetteinlagerungen führen.

Die Gesamtenergie (parenteral plus oral/enteral) bei vollem Nahrungsaufbau lag mit durchschnittlich $77 \text{ kcal}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ unterhalb der von Neugeborenen benötigten $90 - 120 \text{ kcal}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$. Energiemengen um $90 \text{ kcal}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ wurden erst erreicht, wenn grössere Mengen Milch zugefüttert wurden.

B.4.2.2 Literaturstudium zum parenteralen Nährstoffbedarf in der Neo

Beim Literaturstudium fiel auf, dass insbesondere der tägliche Bedarf an Vitaminen und Spurenelementen der Neugeborenen noch nicht vollständig bekannt ist.³⁴

Besonders auffällig war die Differenz zwischen den Empfehlungen und den auf der Neo KSA verabreichten Mengen an fettlöslichen Vitaminen um einen Faktor vier. Nachforschungen ergaben einen Druckfehler in der Monografie zu Vitalipid® N Infant im Arzneimittel-Kompendium der Schweiz bis und mit 1997. Für Säuglinge wurde fälschlich eine Dosierung von $1 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ empfohlen. Im folgenden Jahr wurde die Dosisempfehlung auf $4 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ erhöht. Die Korrektur blieb in vielen Kliniken über mehrere Jahre unbemerkt. Im KSA wurde die Dosis per 1. Juli 2000 auf $4 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ angehoben.

Dies verdeutlicht, wie wichtig es ist, auch künftig ein kontinuierliches Literaturstudium zu betreiben, Richtlinien laufend zu hinterfragen und klare Zuständigkeiten zu definieren.

In den neueren Literaturstellen wurde ein Trend zu höheren Nährstoffdosierungen festgestellt. Einige Autoren bezeichneten dies als aggressive PN.^{112,115,116}

B.4.3 Formulierung der Standardnährlösungen für die Neonatologie

Eingangs ist zu bemerken, dass die bisherigen Richtlinien (vgl. Tab. 33, Anhang) ziemlich enge Vorgaben beinhalteten. Wäre jeden Tag exakt nach den Richtlinien verordnet worden, wäre dies nahe an eine Standardlösung herangekommen.

Bei der Definition der Nährstoffmengen wurde allgemein ein Mittelweg aus den Empfehlungen von Fachgesellschaften und anderen Arbeitsgruppen gewählt (vgl. Tab. 34 bis 36, Anhang).

- *Volumen und Energie*

Das Volumen von $140 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ liegt bewusst im unteren Bereich des empfohlenen Bedarfs. Meist erhöht sich das Volumen durch Trägerlösungen von Medikamenten von selbst. Andernfalls kann die fehlende Flüssigkeit in Form einer Mischinfusion ergänzt werden.

Die $140 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ dürfen nicht als absoluter Sollwert betrachtet werden. Je nach dem Volumenbedarf und Gesundheitszustand des Kindes kann die Flüssigkeitsmenge variiert werden (vgl. A.1.2.3). Dies erlaubt innerhalb gewisser Grenzen eine Individualisierung der Ernährung über die Variation des Volumens.

Bei guter Verträglichkeit kann die hochkalorische Standardlösung auf $164 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ gesteigert werden ($3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Aminosäuren, $18 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Glucose). Die Gesamtkalorienzahl würde dadurch von 90 auf $100 \text{ kcal}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ gesteigert. Dies käme der oben erwähnten aggressiven PN gleich (vgl. B.4.2.2).

- *Verhältnisse der Nährstoffe untereinander*

Neben den absoluten Nährstoffmengen ist auch die Einhaltung gewisser Relationen unter den Nährstoffen wichtig. Die Glucose sollte 35 - 60%, die Lipide 30 - 45% und die Aminosäuren 10 - 15% zur totalen Kalorienzahl beitragen.^{4,11,3} Die Verhältnisse liegen in der hochkalorischen Mischung bei 60%:30%:10%, in der niederkalorischen bei 50%:35%:15%.

Damit die Aminosäuren nicht desaminiert und verbrannt werden, müssen pro g AS 24 - 32 nicht-proteinische kcal zur Verfügung stehen.^{3,117} In der niederkalorischen Standardlösung stehen pro g Aminosäuren rund 27 kcal, in der hochkalorischen sogar 35 kcal bereit.

Weiterhin sollte das Verhältnis von Glucose zu Aminosäuren in [g] etwa 5.5 bis 6.0 zu 1 stehen. In der hochkalorischen Mischung liegen sechsmal so viele g Glucose wie Aminosäuren vor. Die niederkalorische Standardlösung weist nur viermal mehr Masse an Glucose als an Aminosäuren auf. Die Aminosäuren-Menge wurde jedoch nicht angepasst.

- *Natrium und Kalium*

Aufgrund von Plasma- Na^+ -Spiegeln im oberen Normbereich musste die Na^+ -Dosis der bisherigen Richtlinien ($4 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$) bei rund drei Vierteln aller Säuglinge nach unten angepasst werden (vgl. B.3.2.1). Dies war vermutlich auf parallel verabreichte Medikamente mit NaCl als Trägerlösung oder Na^+ -Salze von Wirkstoffen zurückzuführen. Folglich wurde Na^+ auf $3 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ mit der Möglichkeit eines Zusatzes festgesetzt.

Insgesamt musste nur an vier der 121 Therapietage eine K^+ -freie Zubereitung hergestellt werden. Laut den Erfahrungen der Ärzte war dies ungewöhnlich selten. Gestützt wird diese Aussage durch Untersuchungen von Mildenberger, wonach rund 50% der Frühgeborenen unter 1000 g GG in den ersten Lebenstagen eine Hyperkalämie entwickeln.¹¹⁸ Dies führte zur Entscheidung für K^+ -freie Standards. Bei Bedarf kann K^+ in Form von Kaliumchlorid $2 \text{ mmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ von B. Braun oder von Kaliumacetat $1 \text{ mmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ KSA zugefügt werden.

- *Calcium und Phosphat*

Zur Verbesserung der Kompatibilität von Ca^{2+} und Phosphat in der Nährlösung kam ausschliesslich eine organische Phosphatquelle in Frage. In der Schweiz ist das Dinatriumsalz Natriumglycerophosphat (Glycophos[®]) als einziges organisches Phosphatsalz zur PN registriert. Mit 1.5 mmol Phosphat pro kg würden $3 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ Na^+ verabreicht. Da in den K^+ -freien Standards $2 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ Ac^- erwünscht waren, kam ausschliesslich Natriumacetat als Quelle in Frage (ergäbe insgesamt $5 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ Na^+). Eine Einschränkung der Na^+ -Zufuhr müsste auf Kosten der Phosphat- oder Ac^- -Menge stattfinden. Folglich wurde CaGlyP aus der Eigenherstellung der Apotheke KSA vorgezogen, weil dieses eine Dosierung von Ca^{2+} und Phosphat unabhängig vom physiologisch stark schwankenden Na^+ -Spiegel erlaubt.

Bei den Angaben zum Phosphatgehalt der Standardlösungen in der Tab. 2 ist das Phosphat aus der Lipidphase nicht eingerechnet. Der komplette Phosphatgehalt ist der Tab. 37 im Anhang zu entnehmen ($1.67 \text{ mmol Phosphat}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$).

Pelegano beschrieb eine optimale Retention von Ca^{2+} und Phosphat bei einem molaren Verhältnis von 1.3:1.0.¹¹⁹ Rechnet man in den Standardnährlösungen Neo KSA das Phosphat aus der Lipidemulsion mit ein, so liegt das Verhältnis von Ca^{2+} :Phosphat bei 1.0:1.1. Eine Angleichung dieses Verhältnisses wäre durch eine Aufstockung mit Calciumgluconat möglich gewesen. Andere Kliniken (Klinikum Heilbronn⁴⁹, Kinderspital Zürich) machten gute Erfahrungen mit einem 1:1-Verhältnis. Daher wurde auf eine Anpassung verzichtet.

- *Chlorid, Bicarbonat, Acetat*

Insbesondere während der ersten Lebensstage sind bei Frühgeborenen Azidosen häufig. Meist wird eine Azidose durch hohe Mengen an verabreichtem Cl^- zusätzlich verstärkt.^{108,120} Die Cl^- -Mengen wurden bei der Verordnung in der Klinik meist nicht einbe-

zogen. So wurden vielfach bis $8 \text{ mmol Cl}^- \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ verabreicht.

Peters beziffert die Häufigkeit von Hyperchlorämien im Zusammenhang mit PN auf 88% aller Neugeborenen. Durch den Ersatz der Hälfte des Cl^- durch Ac^- konnte er die Hyperchlorämien auf rund 25% der Kinder reduzieren.¹⁰⁷

Im Rahmen der Standardisierung soll einerseits die Aufmerksamkeit auf Cl^- gelenkt und dessen Dosierung auf $6 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ limitiert werden. Andererseits sollen Ac^- -Salze zur Verfügung gestellt werden, damit ein Kationen-Bedarf, welcher die Cl^- -Menge über $6 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ anheben würde, dennoch gedeckt werden kann.

Da von Stoffwechsellängungen (Glucoseintoleranz, Hypertriglyceridämie, Hyperphosphatämie) bei hohen Ac^- -Dosen berichtet worden war,¹²¹ wurde Acetat auf $5 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ begrenzt. Die Gruppe von Peters (vgl. oben) hat seit fünf Jahren positive Erfahrungen mit bis zu $6 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ Ac^- gesammelt (persönliche Kommunikation).

In einer ersten Phase der Umsetzung des Projektes in die Praxis sollten die hoch- und niederkalorische Standardnährlösung ausreichen. Es wäre wünschenswert, mit den beiden Standardregimen etwa zwei Drittel aller Neugeborenen ernähren zu können. Die Arbeitsgruppe aus Heilbronn konnte mit drei Standards über 90% der Kinder versorgen.⁴⁹ Die klinische Anwendung im KSA wird zeigen, ob die eigene Mischung ebenso erfolgreich angewendet werden kann.

Für eine kurzzeitige PN sollten die Standards breit einsetzbar sein. Bei langzeitiger, hauptsächlich parenteraler Ernährung sind allenfalls individuelle Anpassungen nötig. Bei der Datenerhebung in der Klinik konnten teilweise PN-Zubereitungen mit sehr hohen Nährstoffmengen in kleinen Volumina beobachtet werden. Solch hoch konzentrierte Nährlösungen sind bei Volumenrestriktion indiziert. Folglich ist zu erwarten, dass zusätzlich am ehesten eine Mischung mit einem verringerten Volumen bei derselben Nährstoffzusammensetzung konzipiert werden müsste.

B.4.3.1 Definition der Module für die Standardnährlösungen

Zur rationellen Produktion der Standardregime wurden 5 bzw. 6 Module definiert (vgl. B.3.3.1). Dank des GluEI-Konzentrats reduziert sich die Anzahl der für die wässrige Phase zu mischenden Komponenten von 7 auf 3 (GluEI-Konzentrat, Aminosäuren, Spurenelemente). Dies spart nicht nur Zeit und Kosten, sondern verringert auch die Gefahr von Fehldosierungen und mikrobieller Kontamination.

Für Kinder, die nicht mit der Standardlösung versorgt werden können (Ionenbedarf), stehen sämtliche Komponenten einzeln zur Verfügung und können unter erhöhtem Zeitaufwand gemischt werden. Bereitgestellt werden NaCl $4 \text{ mmol} \cdot \text{ml}^{-1}$ KSA, Natriumacetat $1 \text{ mmol} \cdot \text{ml}^{-1}$ KSA, Kaliumchlorid $2 \text{ mmol} \cdot \text{ml}^{-1}$ B. Braun, Kaliumacetat $1 \text{ mmol} \cdot \text{ml}^{-1}$ KSA, Calciumglycerophosphat $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{ml}^{-1}$ KSA und Magnesiumsulfat $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{ml}^{-1}$ KSA.

B.4.3.2 Erlaubte Zusätze zu den Standardnährlösungen

- *Natrium und Kalium*

Zur Anpassung an den individuellen Bedarf des einzelnen Kindes sind Zusätze zu den Standardnährlösungen vorgesehen. Je nach BE des Kindes dürfen Na^+ und K^+ in Form der Cl^- - oder Ac^- -Salze zugespritzt werden. Dabei ist eine Kalkulation der Anionen unabdingbar, um Überladungen der Neugeborenen mit Cl^- oder Ac^- zu verhindern. Aus physiologischer Sicht müssen die Grenzwerte aus Tab. 4 (hinterste Spalte) eingehalten werden. Theoretisch wären im Hinblick auf die pharmazeutische Stabilität höhere Konzentrationen möglich (Summe aus Spalten 2 und 3 in Tab. 4). Klinisch betrachtet machen Mengen oberhalb von $5 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ Na}^+$, $4 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ K}^+$, $6 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ Cl}^-$ bzw. $5 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ Ac}^-$ jedoch keinen Sinn.

- *Acetat*

Honjo beschrieb in einem anderen Zusammenhang bei Neugeborenen einen BE von bis zu $-14 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$.¹²² Geht man davon aus, dass Acetat 1:1 zu Bicarbonat metabolisiert wird, kann der BE durch $5 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ Acetat theoretisch um etwa 16 Einheiten angehoben werden (Faustregel: $|\text{BE}| \cdot \text{KG} \cdot 0.3 = \text{Nabic-Bedarf} [\text{mmol}]$). Dadurch sind selbst starke Abweichungen des BE vom Normbereich (-5 bis $+1 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ¹⁰⁹) korrigierbar.

B.4.3.3 Nahrungsaufbau mit den Standardnährlösungen

Glucose, Aminosäuren, Elektrolyte, Spurenelemente und wasserlösliche Vitamine werden vom ersten PN-Tag an gegeben. Die Gabe von Lipiden setzt erst verzögert ein. Dank des modularen Systems ist eine einschleichende Dosierung mit den beiden Standards möglich. Die tägliche Steigerung der Makronährstoffe ist in Abb. 3 dargestellt. Detaillierte Angaben zu den einzelnen Komponenten sind der Tab. 38 im Anhang zu entnehmen.

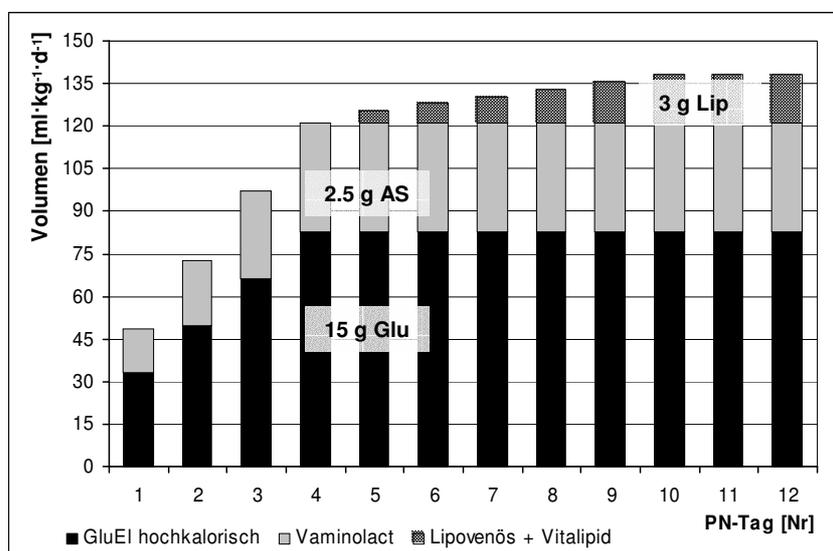


Abb. 3 Nahrungsaufbau bei einem sehr unreifen Frühgeborenen von 1 kg KG mit der hochkalorischen Standardnährlösung Neo KSA. Die Vitamine und Spurenelemente sind nicht dargestellt. Sie werden vom ersten PN-Tag an voll ausdosiert.

- *Aminosäuren*

Insbesondere bei sehr unreifen Frühgeborenen fürchtete man früher, durch die Gabe von AS während der ersten Lebenstage Hyperammonämien, Urämien und metabolische Azidosen auszulösen.¹²³ Bisher wurden daher frühestens am zweiten Lebenstag 0.5 g AS·kg⁻¹ gegeben.

Eine etwas neuere Arbeit ergab positive Auswirkungen von 2.3 g·kg⁻¹ AS ab dem zweiten Lebenstag. Sowohl die Proteinsynthese als auch die Stickstoffbilanz konnten verbessert werden, ohne unerwünschte Wirkungen hervorzurufen.¹²⁴

Mit den Standardmischungen Neo KSA erhalten die Kinder am ersten PN-Tag bereits 1 g AS pro kg (vgl. Tab. 38, Anhang). Diese Menge sollte gut vertragen werden.¹²⁴

- *Fett*

Der Einsatz der Fettemulsion wird in Abhängigkeit des Körpergewichts und des Allgemeinzustandes gehandhabt. Sehr unreife Kinder (< 1500 g KG) erhalten in der Regel erst etwa am fünften PN-Tag Fett, während bei den etwas reiferen Kindern (> 1500 g) bereits am zweiten PN-Tag begonnen wird.

- *Glucose*

Die Glucose wird von 6 g·kg⁻¹ am ersten PN-Tag täglich um 3 g·kg⁻¹ bis auf 15 g·kg⁻¹ gesteigert. So sollten Hyperglykämien begrenzt werden können.

B.4.4 Definition des Prozessablaufs bei zentraler Herstellung der PN

Das neue Konzept sieht einen wesentlich grösseren Zeitabstand zwischen der Verordnung und der Applikation vor. Dadurch wird Zeitdruck vermieden.

Für die Auftragserteilung an die Spitalapotheke würde eine elektronische Verordnung ausreichen. Aus rechtlichen Gründen wird jedoch ein Dokument mit der eigenhändigen Unterschrift des Verordnenden verlangt.

Geplant ist, das Infusionssystem (Perfusor®-Spritzen, Leitungen, Dreiweghähne) für die PN bereits in der Apotheke im LAF zusammenzufügen. Das Handling der PN auf der Station wird somit auf ein Minimum beschränkt. Im Klinikum Heilbronn konnte dadurch die Infektionshäufigkeit von 8% auf 0% gesenkt werden.⁴⁸

Die Nährlösungen sollen unmittelbar nach der Herstellung in Transportkisten mit Deckel gelegt werden, um die Komponenten vor Licht zu schützen.

Eine Automatisierung der Herstellung ist anzustreben, da dank eines EDV-gestützten Compounders mit Strichcode-Leser der Produktionsvorgang nachvollziehbar wird und Verwechslungen kaum mehr auftreten sollten.

Durchschnittlich muss im KSA jeden zweiten Tag eine neonatologische Nährlösung gerichtet werden. Das Verbrauchsmaterial für einen automatischen Compounder ist

sehr teuer und die Vorbereitung (Assembling, Eichung) zeitaufwendig. Für den Micro-Macro12 Compounder von Baxa (Dosierpumpe mit Schlauchquetschsystem) beispielsweise lohnt sich ein Einsatz nach eigenen Berechnungen erst, wenn täglich mindestens 5 Beutel abgefüllt werden. Daher werden die Nährlösungen in der Spitalapotheke vorläufig manuell mittels Spritzen gemischt.

B.4.5 Folgerungen zur Standardisierung der PN

- Die hochkalorische Standardnährlösung Neo KSA deckt mit $140 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ den aus der Fachliteratur ermittelten Bedarf an Makro- und Mikronährstoffen eines Neugeborenen à 1 kg KG.
Bei Glucose-Intoleranz kann auf die niederkalorische Lösung ausgewichen werden.
- Die beiden Standards sind auch für den stufenweisen Aufbau der PN geeignet.
- Dank einer Volumenadaptation und den erlaubten Zusätzen ist trotz der Standardisierung eine gewisse Individualisierung möglich.
- Durch den Aufbau der Standardnährlösungen Neo KSA aus 5 bis 6 Modulen wird eine rationelle Herstellung bei hoher Qualität ermöglicht. Die GluEI-Konzentrate stellen dazu die Basismodule dar.

B.5 Pharmakoökonomische Aspekte der PN

B.5.1 Einleitung zur Pharmakoökonomie

Der steigende Kostendruck und die wachsenden Therapiemöglichkeiten machen es notwendig, neben der Effektivität und der Sicherheit auch die Effizienz einer medizinischen Intervention zu analysieren. In diesem Zusammenhang gewinnen pharmakoökonomische Studien zunehmend an Bedeutung. Sie zeigen Einsparpotentiale auf und stellen dem klinischen Nutzen einer medizinischen Intervention die Kosten gegenüber. Voraussetzung ist allerdings, dass die Gesamtkosten einer Therapiemassnahme bekannt sind. Pharmakoökonomische Untersuchungen stellen einen Faktor in der Entscheidungsfindung dar.¹²⁵

Die PN gilt allgemein als eine teure Therapie.¹²⁶⁻¹²⁸ Im Jahr 1998 wurden in den Schweizer Spitälern mit PN-Service rund 2.6% der gesamten Medikamentenkosten für die PN aufgewendet.⁴² Die PN ist daher prädestiniert pharmakoökonomisch beurteilt zu werden. Bei der PN sind nicht nur die Kosten für die Substrate, sondern auch für das Einwegmaterial, die Pflegeleistungen, den Ärztedienst, den Pharmazeuten oder allenfalls ein ganzes Ernährungsteam (vgl. A.1.5.1) zu berücksichtigen.

Eine Kostenminimierungsanalyse vergleicht ausschliesslich den monetären Aufwand für zwei verschiedene Therapien. Sie ist daher nur zulässig, wenn der Outcome der zu vergleichenden Therapieoptionen als identisch beurteilt werden kann. Meist entspricht dies einer Vereinfachung, die kritisch hinterfragt werden muss. Der Vergleich der Kosten erfolgt in Geldeinheiten und kann unterschiedlich detailliert sein. Beispielsweise können die allgemeinen Betriebskosten einer Abteilung entweder gar nicht, als Durchschnitt pro Spitaltag oder nach einem aufwendigen Schlüssel umgelagert werden.^{125,129,130}

Zur Vereinfachung soll von der Hypothese ausgegangen werden, dass die medizinische Effektivität durch die Zentralisierung gegenüber der dezentralen Situation im ungünstigsten Fall nicht verändert wird. In Wirklichkeit wird eine Erhöhung der Therapiesicherheit erwartet. Es soll also eine Kostenminimierungsanalyse durchgeführt werden. Dazu werden die variablen Kosten für die Komponenten der PN und das Einwegmaterial sowie der Personalaufwand (fixe Kosten) sowohl für die dezentrale als auch für die zentrale Zubereitung ermittelt. Die Kostenkalkulation erfolgt aus dem Blickwinkel der Spitalapotheke.

In der Gesundheitsökonomie sollten falls immer möglich Kosten-Nutzen-Analysen durchgeführt werden. Dies bedeutet, dass der Outcome einer Behandlung in die Analyse einbezogen wird. Im Prinzip sollten nicht nur die direkten Kosten der dezentralen mit jenen einer zentralen Produktion der PN verglichen werden. Eigentlich müssten auch die potentiellen Nebenwirkungen (Infektionsrate, metabolische Entgleisungen) und der klinische Outcome in die Kalkulationen einbezogen werden.¹²⁵ Diese Berechnungen sollen zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen (vgl. B.5.4.2).

B.5.2 Material und Methoden zur Pharmakoökonomie

- *Material*
 - Formular Abb. 19, Anhang

B.5.2.1 Kostenkalkulation für die dezentrale PN-Zubereitung

Die variablen Kosten sowie der Personalaufwand für die dezentrale Produktion der PN auf der Neo-IPS KSA wurden von Juli 2000 bis August 2001 erfasst.

Während einer einmonatigen Pilotphase wurden die zur PN-Produktion auf der Station benötigten Basislösungen, das Einwegmaterial sowie der Zeitaufwand durch die Apotheke festgehalten.

Anschliessend wurden die Parameter durch das Pflegepersonal mittels eines Formulars (vgl. Abb. 19, Anhang) erfasst. Die Pflegenden notierten die Volumina der Basislösungen, das eingesetzte Einwegmaterial (Strichliste) sowie den Zeitaufwand für die Berechnung und die Produktion (inkl. Bereitstellung und Aufräumen) der PN auf 5 min genau. Die Erfassungsbögen dienten als Grundlage für die Berechnung der Istkosten (Zusammensetzung vgl. Tab. 5). Abgesehen von den Löhnen wurden keine Fixkosten (Betriebskosten, Abschreibung) eingeschlossen.

Tab. 5: Zusammensetzung der Istkosten bei dezentraler Produktion der neonatologischen PN.

Kostenpunkt	Definition
<i>variable Kosten</i>	
Komponenten PN	<ul style="list-style-type: none"> - Volumina der Glucose-, Aminosäuren-, Elektrolyt-, Spurenelement- sowie Vitaminlösungen, Fettemulsion und fettlöslichen Vitaminen - Basispreis inkl. Mehrwertsteuer (MWST) aus Warenwirtschaftssystem der Spitalapotheke KSA. vgl. Tab. 39, Anhang - jeweils Preis des ganzen Behälters, da kaum mehrere PN parallel produziert (Lösungen 24 h nach Anbruch verworfen)
Einwegmaterial und Behältnisse	<ul style="list-style-type: none"> - Spritzen, Kanülen, Spikes, Tupfer, Mischungshilfe Benja-Mix[®], Infusionsflaschen - Basispreis inkl. MWST aus Artikelkatalog des Zentralmagazins KSA. vgl. Tab. 39, Anhang
<i>Personalkosten</i>	
Bruttolöhne inkl. Arbeitgeberleistungen	<ul style="list-style-type: none"> - Durchschnittskosten aus Gehalt für Pflegenden in Ausbildung, Pflegenden Diplommiveau II mit unterschiedlicher Erfahrung sowie Stationsleitung: 0.79 SFr.·min⁻¹ - Kosten Spitalapotheke: 1.33 SFr.·min⁻¹ - Kosten Betriebsangestellter Spitalapotheke: 0.77 SFr.·min⁻¹

Die Istkosten errechneten sich als Produkt aus der erfassten Menge mal den Preis pro Einheit. Die Preise sind der Tab. 39 im Anhang zu entnehmen. Es wurden jeweils die Kosten pro Zubereitung (PN für 24 Stunden) berechnet und daraus für die folgenden beiden Kategorien je der Median gebildet:

- KHAS : PN bestehend aus Kohlenhydraten, Aminosäuren, Elektrolyten, Spurenelementen und wasserlöslichen Vitaminen.
- KHASLI: PN bestehend aus den Komponenten von KHAS, zusätzlich mit Lipidemulsion und fettlöslichen Vitaminen.

Die beiden Kategorien wurden infolge beachtlicher Preisdifferenzen durch die Lipid-Komponente gebildet.

Während 14 Monaten wurden 161 Zubereitungen erfasst. Auf die Kategorie KHAS entfielen 90 Einheiten, auf KHASLI 71.

B.5.2.2 Kostenkalkulation für die zentrale PN-Herstellung

Der Preis für die zentral in der Spitalapotheke hergestellte PN wurde theoretisch anhand kleiner Chargen berechnet.

Da die Kosten für die geplante zentrale Herstellung Schätzwerte darstellen und mit einem unbekanntem Unsicherheitsfaktor behaftet sind, soll eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt werden. Mittels der Sensitivitätsanalyse kann berechnet werden, wie sich die Gesamtkosten verändern, wenn ein einzelner oder gleichzeitig mehrere kostenrelevante Einflussfaktoren modifiziert werden.¹³¹

Dazu wurden die möglichen Bereiche (Min - Max) der variablen Kosten sowie der Personalkosten aufgestellt (vgl. Tab. 6). Die Kostenkalkulation erfolgte mit denselben Preisen wie für die dezentrale Produktion (vgl. Tab. 5 und Tab. 39, Anhang). Für die Komponenten wurden die benötigten Volumina für die hochkalorische Standardnährlösung mit und ohne Zuspritzung von Kaliumacetat und NaCl berechnet. Durch die Verrechnung des ganzen Behältnisses wurden die Volumina der Komponenten für PN-Zubereitungen für Kinder bis 2.5 kg KG eingeschlossen. Für die Kosten des Einwegmaterials wurden die Dosierungshilfsmittel sowie die Behältnisse für die standardisierte Produktion definiert (vgl. Tab. 6).

Der Zeitbedarf für die PN-Herstellung in der Spitalapotheke wurde anhand einer fiktiven Bestellung bestimmt. Der Prozess vom Eingang der Bestellung bis zur Freigabe der Nährlösung wurde durchgespielt und der Zeitbedarf der einzelnen Schritte festgehalten. Die erhaltenen Werte wurden mit den Erfahrungswerten anderer PN-Zubereitungen verglichen.

Die Personalkosten setzten sich einerseits aus dem Aufwand des Spitalapothekers zur Überprüfung der Verordnung und zur Endproduktkontrolle zusammen. Hinzu kamen die Kosten für den Vorbereitungs- und Produktionsaufwand eines Betriebsangestellten.

Weitere Fixkosten wurden nicht einkalkuliert. Es wurde wiederum zwischen den Kategorien KHAS bzw. KHASLI unterschieden (vgl. B.5.2.1).

Tab. 6: Bereiche für die einzelnen Kostenpunkte aus Tab. 5 für die Sensitivitätsanalyse der Kosten der zentralen PN-Herstellung.

Kostenpunkt	spezielle Bedingungen
<i>variable Kosten</i>	
Komponenten PN A	<ul style="list-style-type: none"> - hochkalorische Standardnährlösung ohne Zuspritzungen A1: KHAS: SFr. 38.10, KHASLI: SFr. 61.65 - hochkalorische Standardnährlösung mit Zuspritzungen A2: KHAS: SFr. 48.35, KHASLI: SFr. 71.90
Einwegmaterial und Behältnisse B	<ul style="list-style-type: none"> - Preis bei Abfüllung in eine 250ml-Infusionsflasche B1: KHAS: SFr. 5.05, KHASLI: SFr. 6.65 - Preis bei Abfüllung in einen 200ml-Nutrimix[®]-Beutel B2: KHAS: SFr. 8.05, KHASLI: SFr. 9.65
<i>Personalkosten</i>	
Bruttolöhne inkl. Arbeitgeberleistungen C	<ul style="list-style-type: none"> - Personalaufwand bei reiner Standardnährlösung C1: KHAS: SFr. 21.75, KHASLI: SFr. 25.95 - Personalaufwand bei zwei Zuspritzungen zum Standard C2: KHAS: SFr. 24.45, KHASLI: SFr. 29.85

Für die beiden Einstellungsmöglichkeiten der Faktoren A bis C aus Tab. 6 wurden jeweils für die Kategorien KHAS bzw. KHASLI die Kosten für alle acht Kombinationsmöglichkeiten (A1B1C1, A2B1C1,...) berechnet. Es wurden der Median, das Minimum sowie das Maximum der acht Summen ermittelt. Die geschätzten Resultate wurden auf SFr. 0.50 gerundet.

B.5.3 Resultate zur Pharmakoökonomie

B.5.3.1 Kostenkalkulation für die dezentrale PN-Zubereitung

Der totale Zeitaufwand pro PN-Zubereitung erhöhte sich beim Zusatz einer Lipid-emulsion um 43% gegenüber einer lipidfreien Lösung (vgl. Abb. 4 und Tab. 40).

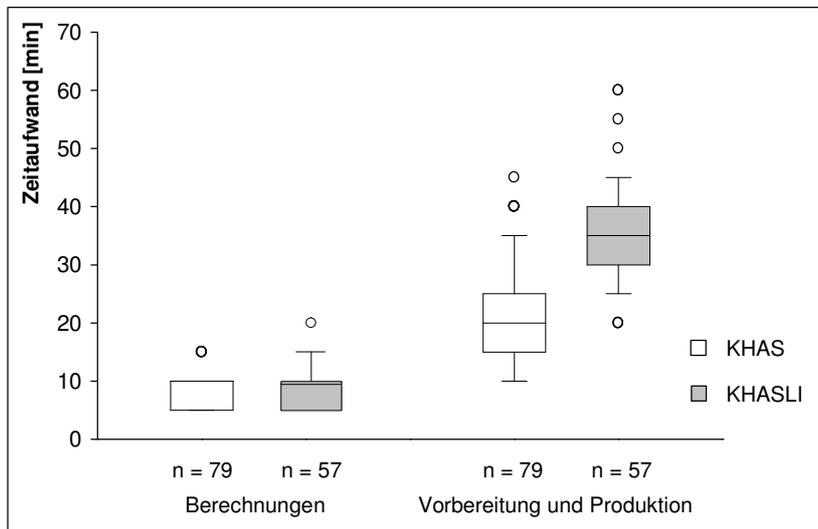


Abb. 4 Zeitaufwand für die Berechnungen bzw. die Vorbereitung und Produktion der fettfreien und lipidhaltigen PN auf der Neo-IPS KSA. Die Boxplots stellen neben dem Median (—) die Quartilen (□), die 10. bzw. 90. Perzentile (┘) sowie Extremwerte (○) dar.

Der Median der gesamten Kosten für KHAS-Lösungen lag bei SFr. 68.95 (Min - Max: SFr. 36.75 - 109.10, n = 79). Eine KHASLI-Mischung kostete SFr. 114.55 (Min - Max: SFr. 92.90 - 140.75, n = 57) (vgl. Tab. 41, Anhang). Die Unterteilung in die Kosten für die Komponenten, das Einwegmaterial sowie den Personalaufwand sind der Abb. 5 zu entnehmen.

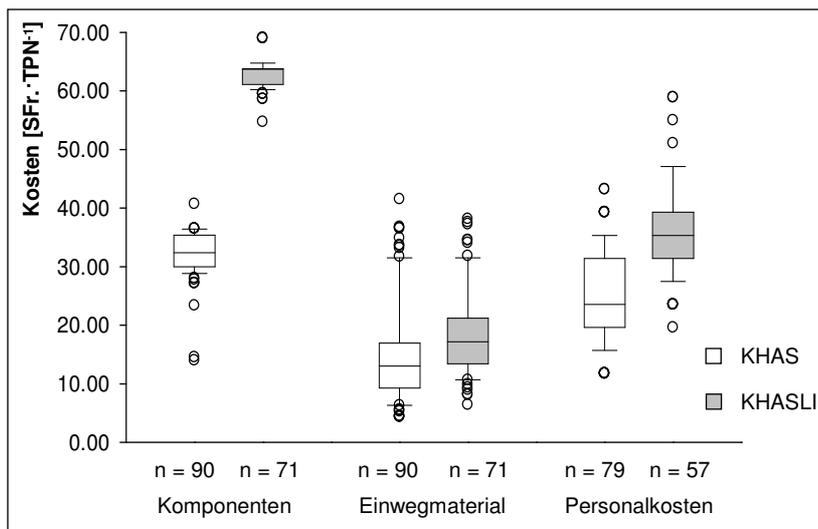


Abb. 5: Produktionskosten der PN auf der Neo-IPS KSA, unterteilt in die Komponenten, das Einwegmaterial sowie die Personalkosten. Die Boxplots stellen neben dem Median (—) die Quartilen (□), die 10. bzw. 90. Perzentile (┘) sowie Extremwerte (○) dar.

Die beiden Kategorien KHAS und KHASLI unterschieden sich statistisch signifikant bezüglich der Kosten für die Komponenten, das Einwegmaterial sowie der Personalkosten bzw. des Zeitaufwandes (Mann-Whitney, $p < 10^{-7}$, n = 90 bzw. 71).

B.5.3.2 Kostenkalkulation für die zentrale PN-Herstellung

Der Zeitbedarf für den Spitalapotheker wurde bei Standards ohne Fett auf etwa 9 min bzw. auf 10 min mit Fett geschätzt. Ein Betriebsangestellter müsste ohne Lipide rund 13 - 16 min, mit einer Lipidemulsion hingegen 17 - 22 min aufwenden.

Bei einer KHAS-Lösung war eine Verteilung der Gesamtkosten für Komponenten, Einwegmaterial und Personalkosten von etwa 60%:10%:30% zu erwarten, bei den KHASLI-Mischungen von ca. 65%:10%:25%. Die Kosten für die Komponenten waren somit am höchsten (vgl. Tab. 7).

Tab. 7: Kostenkalkulationen zu den Komponenten, dem Einwegmaterial sowie den Personalkosten für die zentrale Herstellung der PN. Als Vergleich dazu die Istkosten für die dezentrale Produktion auf der Neo-IPS von 2000/2001.

Parameter	Komponenten [SFr.]	Einwegmaterial [SFr.]	Personalkosten [SFr.]	Preis total [SFr.]	
				Apotheke	Neo-IPS
<i>KHAS</i>					
Median	43.00	6.50	23.00	73.00	68.95
Min - Max	38.00 - 48.50	5.00 - 8.00	22.00 - 24.50	65.00 - 81.00	36.75 - 109.10
<i>KHASLI</i>					
Median	67.00	8.00	28.00	103.00	114.55
Min - Max	61.50 - 72.00	6.50 - 9.50	25.50 - 30.00	93.50 - 111.50	92.90 - 140.75

B.5.4 Diskussion zur Pharmakoökonomie

B.5.4.1 Kostenkalkulation für die dezentrale PN-Zubereitung

Innerhalb der Erhebungsphase unterschieden sich die Kosten für das Einwegmaterial sehr stark. Dies liefert einen Hinweis darauf, dass die Zubereitung sehr individuell geschah. Die hohen Beträge für das Einwegmaterial waren hauptsächlich auf den Einsatz des Benja-Mix[®]-Systems, welches SFr. 20.45 kostet, zurückzuführen.

Der Zeitbedarf für die PN-Herstellung hängt einerseits von der Anzahl der zu mischenden Komponenten und andererseits von der Routine der produzierenden Person ab. Die Zeitspanne betrug 15 bis 55 Minuten für die Berechnung und Zubereitung ohne Lipide bzw. 25 bis 75 min mit Lipiden. Dies unterstützt die Beobachtung, dass die aseptische Herstellungstechnik unterschiedlich beherrscht wird (vgl. B.3.1).

Ein Erfassungsbias kann nicht ausgeschlossen werden, da die Pflegenden selbst Striche für das Einwegmaterial machen mussten.¹²⁵ Das Einwegmaterial wurde anhand der Angaben der Pflegenden erhoben - ohne eine detaillierte Überprüfung, ob das aufgeführte Material die Produktion tatsächlich erlaubte. Einzig wenn keine leere Infusionsflasche aufgelistet worden war, wurde der Preis der entsprechenden Flasche addiert. Die Kosten für das Einwegmaterial dürften tendenziell etwas höher liegen, da Striche eher vergessen gingen, als dass zu viele gemacht wurden.

Bei den Zeitangaben für die Berechnungen und die Produktion der PN muss ebenfalls mit einem Bias gerechnet werden. Aufgrund der wachsenden Arbeitsbelastung empfinden die Pflegenden die Zubereitung der PN als zeitraubende Tätigkeit und begrüssen eine Produktion ausserhalb der Station. Um den Zeitaufwand zu verdeutlichen, ist nicht auszuschliessen, dass der Zeitbedarf teilweise aufgerundet wurde.

B.5.4.1.1 Vergleich mit einer analogen Datenerhebung von 1994

Eine ähnliche Erhebung war 1994 auf der Neo-IPS KSA durchgeführt worden.⁴¹ Vergleiche zwischen den beiden Kostenkalkulationen (vgl. Tab. 8) dürfen nur unter Vorbehalt angestellt werden, da sich die Erhebungen von 1994 und 2000/2001 in folgenden Punkten unterschieden:

- Die bedeutend höheren Kosten für das Einwegmaterial von 1994 lassen sich dadurch erklären, dass 1994 teilweise das Hilfsmaterial zur Applikation der PN (Infusionsleitungen, Dreiweghähne) eingerechnet wurde.
- Es ist nicht nachvollziehbar, ob der Zeitaufwand für die Berechnungen 1994 eingeschlossen war.

Bei den Einkaufspreisen für die Komponenten und das Einwegmaterial sind zwischen 2000 und 1994 keine relevanten Unterschiede zu verzeichnen. Die Preisdifferenz ergab sich hauptsächlich aufgrund von abweichenden Erfassungskriterien.

Die Resultate beider Erhebungen zeigten sehr grosse Streuungen. Daraus lässt sich folgern, dass in der Zeitspanne von 1994 bis 2001 keine Vereinheitlichung des Handlings als Reaktion auf die erste Erhebung stattgefunden hat.

Tab. 8: Gegenüberstellung der 1994⁴¹ bzw. 2000/2001 erhobenen Daten zu den Kosten für die Komponenten der PN, das Einwegmaterial sowie den Zeitaufwand bei dezentraler Produktion.

Parameter	Komponenten [SFr.]		Einwegmaterial [SFr.]		Zeitaufwand Produktion [min]	
	1994	2000/2001	1994	2000/2001	1994	2000/2001
<i>KHAS</i>						
n =	52	90	40	90	35	79
Median	29.40	32.35	42.60	13.00	20	20
Min - Max	24.30 - 36.05	14.00 - 40.70	2.75 - 82.80	4.40 - 41.50	10 - 45	10 - 45
<i>KHASLI</i>						
n =	114	71	93	71	69	57
Median	59.15	63.70	44.55	17.15	20	35
Min - Max	55.60 - 67.45	54.75 - 69.10	9.50 - 62.00	6.45 - 38.10	10 - 45	20 - 60

B.5.4.2 Kostenkalkulation für die zentrale PN-Herstellung

In der Spitalapotheke ist grundsätzlich eine Produktion aller Komponenten für eine PN möglich. Die Kosten sind jedoch sehr stark abhängig von der Chargengrösse. Bei sehr kleinen Chargen fallen die Fixkosten stark ins Gewicht, was den Preis pro Einheit verteuert.¹³²

Die Sensitivitätsanalyse relativierte zwar die Unsicherheit der Schätzwerte, aber in der Praxis müssen die Kosten dennoch verifiziert werden.

Aus der Simulation der zentralen PN-Produktion ergab sich ein totaler Zeitbedarf von 22 - 25 min für Standards ohne Fett bzw. von 27 - 32 min mit Fett. Vergleichbare Zeitangaben hat die Gruppe um Baddeley publiziert.¹³³ Gegenüber der Produktion auf der Station (vgl. Tab. 8) kann der Zeitaufwand voraussichtlich reduziert werden. Dies ist darauf zurückzuführen, dass der Rechenaufwand durch die Standardisierung deutlich verringert wird. Zusätzlich kann bei der Produktion einerseits dank der GluEI-Konzentrate und andererseits durch den spezialisierten, routinierten Compounding-Service der Apotheke Zeit eingespart werden.

Der Preis für einen in der Spitalapotheke produzierten PN-Beutel wird sinken, sobald die Anzahl Zubereitungen pro Jahr steigt. Müssten täglich mehrere Standardnährlösungen hergestellt werden, könnte aus einem Vial Basislösung für mehrere Portionen entnommen werden. Ausserdem würden sich bei einer seriellen Produktion der Zeitbedarf und die Menge an Einwegmaterial verringern.

Vergleiche der Kostenverteilung von Nährlösungen mit publizierten, pharmakoökonomischen Studien sind heikel, da die Erhebungskriterien selten bis ins Detail übereinstimmen:

- Schweiz ¹²⁸: 64% Komponenten, 7% Personalaufwand, 29% Fixkosten
- England ¹³³: 36.5% Komponenten, 41% Personalaufwand, 22.5% Fixkosten
- Frankreich ¹³⁴: 77% Komponenten, 11% Personalaufwand, 12% Fixkosten
(Sterilabteilung allerdings bereits amortisiert)

Die Betrachtung der variablen Kosten sowie der Fixkosten genügt nicht, um eine Therapie vollständig pharmakoökonomisch zu beurteilen. Sobald das Zentralisierungsprojekt in der Klinik umgesetzt ist, sollen Parameter zum Outcome der PN erhoben werden. Sinnvolle Messgrößen wären:

- Nährstoffbilanz (verabreichte Kalorien) und Laborparameter (Elektrolyte)
- Gewichtszunahme ^{135,136}
- Dauer der PN ¹³⁵ und der Hospitalisation insgesamt ¹³⁶
- Frequenz und Schweregrad von Apnoen ^{135,136}
- Infektionsrate ¹³⁷

B.5.4.3 Folgerungen zur Pharmakoökonomie

- Die stark schwankenden Kosten für das Einwegmaterial sowie die grosse Streuung der Produktionszeit lassen auf erhebliche Unterschiede in der Qualität der dezentral zubereiteten Nährlösungen schliessen.
- Die geschätzten variablen Kosten und Personalkosten für eine zentrale Herstellung in sehr kleinen Chargen entsprechen etwa den Kosten für die dezentrale Produktion. Bei einer Steigerung der Chargengrößen können aufgrund eines rationelleren Prozessablaufs variable Kosten sowie Fixkosten eingespart werden.
- Unabhängig davon, wie sich die Kosten der PN nach der praktischen Umsetzung der Zentralisierung entwickeln werden, bedeutet die zentrale Herstellung einen Zugewinn an Sicherheit (Stabilität, Vermeidung von Kontamination). Folgekosten von Inkompatibilitäten und Infektionen sollten künftig wegfallen.

C. Lagerungsstabilität der wässrigen Phase

C.1 Stabilität der Glucose-Elektrolyt-Konzentrate

C.1.1 Einleitung zur Stabilität der GluEI-Konzentrate

Glucose in wässriger Lösung wird während einer Autoklavierung zu einer Reihe von Zersetzungsprodukten abgebaut. Das Ausmass der Zersetzung ist abhängig von der Erhitzungsdauer, der Temperatur, dem pH-Wert, der Konzentration und der Anwesenheit von Katalysatoren.¹³⁸ Unter den Abbauprodukten wurden Fructose, Formaldehyd, Acetaldehyd, Methylglyoxal, 5-Hydroxymethylfurfural (5-HMF), 2-Furaldehyd und 3-Deoxyglucoson (3-DG) identifiziert.¹³⁹ Einige dieser Produkte führen zu einer gelblichen Verfärbung der Lösung. Das farblose 5-HMF stellt das Haupt-Zersetzungsprodukt dar. Es entsteht im sauren Milieu bei Hitzeeinwirkung aus Glucose nach der Elimination von drei Molekülen H₂O.^{140,141}

Die offizielle Reinheitsprüfung von infundierbaren Glucose-Zubereitungen beinhaltet eine Grenzprüfung auf 5-HMF. Die Arzneibücher schreiben eine Messung der UV-Absorption (A) verdünnter Glucose-Zubereitungen bei 284 nm vor.^{142,143} Diese direkte spektrophotometrische Methode ist nicht selektiv für 5-HMF, da verwandte Glucose-Zersetzungsprodukte ebenfalls bei 284 nm absorbieren.^{141,144}

Davidson entwickelte eine differenzspektroskopische Methode mit hoher Selektivität für 5-HMF. Dabei wird die Aldehydgruppe in 5-HMF durch Natriumborohydrid im basischen Milieu rasch und quantitativ reduziert, wodurch dessen Dienon-Chromophor zerstört wird. Dadurch wird die Absorption von 5-HMF ausgeschaltet. Aus der Absorptionsdifferenz zwischen der unbehandelten und der mit Borohydrid (BoH) reduzierten Probe errechnet sich der Gehalt an 5-HMF.¹⁴⁴

C.1.1.1 Experimentelle Fragestellungen zur Stabilität der GluEI-Konzentrate

Ergänzend zu allgemeinen Zielsetzungen unter A.2:

- Das 5-HMF gilt als aussagekräftiger Indikator für die Glucose-Stabilität bei Sterilisation. Deshalb wird der 5-HMF-Gehalt in den beiden endsterilisierten GluEI-Konzentraten (vgl. Tab. 3) mittels der differenzspektroskopischen Methode nach Davidson quantifiziert.

C.1.2 Material und Methoden zur Stabilität der GluEI-Konzentrate

- *Material*

- Geräte Tab. 42, Anhang
- Chemikalien Tab. 43, Anhang

C.1.2.1 Quantifizierung von 5-HMF in GluEI-Konzentraten

Die Präzision und Richtigkeit der Spektroskopie nach Davidson war vom Verfasser mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) bestätigt worden.¹⁴⁴

Die 5-HMF-Referenzsubstanz zeigte einen linearen Bereich von 1 - 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ in der Messlösung. Die Reduktion von 5-HMF durch Borohydrid war durch Spiking-Experimente von GluEI-Konzentraten mit 5-HMF verifiziert worden.

- *Vorgehen allgemein*

Für das BoH-Reagens wurden 500 mg Natriumborohydrid in 100.0 ml absolutem Ethanol gelöst.

Es wurde jeweils ein Probenvolumen, welches eine Absorption im linearen Bereich ergab, in zwei separaten 100ml-Messkolben vorgelegt. Der pH-Wert beider Lösungen wurde mittels Natronlauge $1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ auf 8 eingestellt. Zu einem der beiden Ansätze wurden 1000 μl BoH-Reagens gegeben. Unter wiederholtem Schütteln wurden beide Ansätze 5 min bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. Anschliessend wurden beide Lösungen mit 1000 μl HCl $0.5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ angesäuert und mit Aqua destillata auf 100.0 ml ergänzt. Die beiden Lösungen wurden in Quarzküvetten mittels eines UV/VIS-Spektrophotometers bei 284 nm unmittelbar nacheinander gegen einen Blindwert ohne Glucose und 5-HMF gemessen.

Für die Berechnung der 5-HMF-Konzentration (c) wurde die allgemeine Berechnungsformel (1) modifiziert (2):

$$c = \frac{A - b}{a} \quad (1)$$

A gemessene Absorption

b y-Achsenabschnitt der Eichgeraden mit Referenzsubstanz

a Steigung der Eichgeraden mit Referenzsubstanz in [$\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$]

$$c = \frac{(A_{\text{un}} - A_{\text{red}}) - b}{a} \text{ in } [\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}] \quad (2)$$

A_{un} gemessene Absorption der nicht reduzierten Lösung

A_{red} gemessene Absorption der mit BoH reduzierten Lösung

- *Eichgerade mit 5-HMF-Referenzsubstanz*

Quantifiziert wurde über eine Eichgerade mit 5-HMF-Referenzsubstanz ohne Reduktion mit BoH (8 Referenzlösungen von 1 bis 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$). Dazu wurde 5-HMF exakt in einen 100ml-Messkolben eingewogen, in 5 ml Ethanol aufgenommen und die Lösung mit Aqua dest. auf 100.0 ml aufgefüllt. Jeweils 100 μl dieser Lösungen wurden in einen weiteren 100ml-Messkolben transferiert, mit 25 ml destilliertem Wasser versetzt, mittels Natronlauge pH 8 eingestellt und weiter wie oben beschrieben verfahren.

Anhand von 8 Referenzlösungen mit 5-HMF wurde folgende Geradengleichung ermittelt:

$$A = 0.016623 \cdot c - 0.001629 \quad r = 0.99995, n = 24 \quad (3)$$

c Konzentration der 5-HMF-Referenzlösung in [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]

- *Proben der Glucose-Elektrolyt-Konzentrate*

Aus den Herstellungsansätzen für das hoch- bzw. niederkalorische GluEI-Konzentrat war vor der Abfüllung und Sterilisation je eine Vergleichsprobe entnommen worden.

Von den sterilisierten hoch- und niederkalorischen GluEI-Lösungen wurden aus jeweils drei zufällig gewählten Infusionsflaschen je zweimal 25 ml in einen 100ml-Messkolben überführt. Von den nicht sterilisierten Vergleichslösungen wurden zweimal 75 ml in einem 100ml-Messkolben vorgelegt. Mit beiden Serien wurde weiter wie oben beschrieben verfahren.

Die 5-HMF-Konzentration in [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] errechnete sich nach den Formeln (2) und (3).

C.1.3 Resultate zur Stabilität der GluEI-Konzentrate

C.1.3.1 Quantifizierung von 5-HMF in GluEI-Konzentraten

- *Proben der Glucose-Elektrolyt-Konzentrate*

Wie der Tab. 9 zu entnehmen ist, lag die 5-HMF-Konzentration in den hochkalorischen GluEI-Konzentraten nach der Sterilisation tiefer als in den niederkalorischen. Je nach Probe sank die Absorption durch die Reduktion mit BoH um 9 bis 53%.

Verglichen mit dem Ausgangswert stieg die Konzentration der Glucose-Zersetzungsprodukte mit Absorption bei 284 nm durch die Sterilisation stark an. Der Anstieg betrug rund einen Faktor 4 in der hochkalorischen bzw. einen Faktor 6 in der niederkalorischen Zubereitung.

Tab. 9: Absorption der nicht reduzierten sowie der mittels BoH reduzierten Glucose-Elektrolyt-Konzentrate mit korrespondierender 5-HMF-Konzentration.

Probe	Anzahl Best.	Absorption ohne BoH	Absorption mit BoH	5-HMF-Konzentration [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]
<i>hochkalorisches Glucose-Elektrolyt-Konzentrat</i>				
mit Sterilisation	n = 6	0.1010 \pm 0.00528	0.0555 \pm 0.00412	11.33 \pm 0.331
ohne Sterilisation	n = 2	0.0279 \pm 0.00085	0.0224 \pm 0.00141	0.57 \pm 0.045
<i>niederkalorisches Glucose-Elektrolyt-Konzentrat</i>				
mit Sterilisation	n = 6	0.1094 \pm 0.00205	0.0515 \pm 0.00099	14.32 \pm 0.468
ohne Sterilisation	n = 2	0.0176 \pm 0.00049	0.0160 \pm 0.00064	0.26 \pm 0.011

C.1.4 Diskussion zur Stabilität der GluEI-Konzentrate

Die differenzspektroskopische Methode nach Davidson eignet sich zur Quantifizierung von 5-HMF in den GluEI-Konzentraten. Sie ist jedoch nicht zweckmässig zur Anwendung in Anwesenheit von Aminosäuren-Gemischen. Tryptophan und Tyrosin absorbieren ebenfalls bei 284 nm und würden aufgrund ihrer verhältnismässig höheren Konzentration in der Nährlösung die Absorptionsbande von 5-HMF überdecken.

C.1.4.1 Toxikologische Relevanz von 5-HMF

Unter den Zersetzungsprodukten der Glucose werden zwei Hauptfraktionen mit folgenden Leitsubstanzen unterschieden¹³⁸:

- 5-HMF und verwandte Substanzen mit Absorptionsmaximum bei 284 nm,
- 3-DG und Verwandte mit Absorptionsmaximum bei 228 nm.

Die 5-HMF-Konzentration in den GluEI-Konzentraten lag bei maximal $14.3 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. In der Standardnährlösung betrüge die Konzentration demnach rund $8 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. In Konzentrationen, in welchen 5-HMF in parenteralen Infusionszubereitungen normalerweise vorliegt (bis ca. $80 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), scheint dieses Abbauprodukt nicht akut toxisch zu werden.¹⁴⁰ Das 3-DG und andere, teilweise noch nicht identifizierte Zersetzungsprodukte sind toxikologisch relevanter als 5-HMF.¹³⁹ Kjellstrand führte einen Test auf eine Wachstumshemmung an Fibroblastenzellen durch. Er stellte bei sehr hohen 5-HMF-Konzentrationen keine erhöhte Wachstumshemmung fest. Hingegen führten Lösungen mit einem hohen Gehalt an 3-DG zu einer starken Wachstumshemmung.¹³⁸

C.1.4.1.1 Grenzwert für 5-HMF der Pharmacopöe

Die schweizerische Pharmacopöe schreibt 5-HMF wahrscheinlich nicht aus toxikologischer Sicht als Grenzprüfung vor, sondern weil 5-HMF einen Indikator für die Stabilität der Glucose bei Sterilisation darstellt.

Die Schweizer Pharmacopöe gibt für sterilisierte, 5%-ige Glucose-Infusionslösungen die Bestimmung der Absorption bei 284 nm als Reinheitsprüfung vor. Eine auf 0.4% Glucose verdünnte Lösung darf eine maximale Absorption von 0.25 nicht überschreiten.¹⁴²

Die in den beiden GluEI-Konzentraten gemessenen 5-HMF-Konzentrationen lagen um einen Faktor 17 (niederkalorisch) bzw. 28 (hochkalorisch) unterhalb dieses Grenzwertes (vgl. Tab. 9, umgerechnet auf 0.4% Glucose).

Die Reinheitsprüfung wird in der 9. Schweizer Pharmacopöe mit „5-Hydroxymethylfurfural“ bezeichnet. Es findet sich kein Hinweis darauf, dass bei 284 nm noch andere Derivate absorbieren.

Mit den vorliegenden Messwerten konnte gezeigt werden, dass 5-HMF lediglich rund 50% zur Absorption bei 284 nm nach einer Sterilisation beitrug.

Fällungen waren keine zu beobachten. Folglich wurden die beiden GluEI-Konzentrate als physikalisch-chemisch stabil betrachtet.

Drei Monate nach der Herstellung zeigte sich der 5-HMF-Gehalt unverändert. Die Ergebnisse zur Langzeitstabilität sind noch ausstehend. In Anlehnung an die GluEI-Konzentrate für Erwachsene, welche höher konzentriert sind, wird eine Laufzeit von mindestens zwei Jahren erwartet.

C.1.4.2 Einfluss der Sterilisation auf den 5-HMF-Gehalt

Die Sterilisationsmethode hat einen entscheidenden Einfluss auf die 5-HMF-Konzentration. Verschiedene Arbeitsgruppen massen nach kurzen Sterilisationszeiten bei hohen Temperaturen den geringsten 5-HMF-Gehalt.¹⁴⁵⁻¹⁴⁷

Es war von einer zum Glucose-Gehalt proportionalen 5-HMF-Konzentration ausgegangen worden. Wider Erwarten lag der 5-HMF-Gehalt in der niederkalorischen Zubereitung signifikant höher als in der hochkalorischen.

Der 5-HMF-Ausgangswert betrug vor der Sterilisation im niederkalorischen Konzentrat knapp die Hälfte der Konzentration im hochkalorischen (vgl. Tab. 9). Dies liefert einen Hinweis auf den Sterilisationsvorgang als Ursache für die Konzentrationsdifferenz. Beide Chargen waren mittels desselben Autoklaven mit vollautomatischer Prozesssteuerung nach dem F_0 -Prinzip sterilisiert worden. Die Sterilisationsprotokolle waren praktisch identisch. Folglich käme einzig die Position der als Sample gezogenen Infusionsflaschen innerhalb des Autoklaven als Grund in Frage. Beim Zug von nur je drei Flaschen kann spekuliert werden, dass bei den niederkalorischen Lösungen thermisch besonders stark belastete Einheiten gezogen wurden (Sampling Bias).

C.1.4.3 Folgerungen zur Stabilität der GluEI-Konzentrate

- Die differenzspektroskopische Methode nach Davidson eignet sich für die spezifische Quantifizierung von 5-HMF in Glucose-Zubereitungen in Anwesenheit von Elektrolyten.
- Der gemessene 5-HMF-Gehalt lag um mindestens einen Faktor 17 unterhalb des Grenzwertes der Schweizer Pharmakopöe. Die Glucose-Elektrolyt-Konzentrate wurden folglich als ausreichend stabil beurteilt.

C.2 Lagerungsstabilität der wässrigen Phase der Standardnährlösungen

C.2.1 Einleitung zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase

Die Haltbarkeit der wässrigen Phase ohne Spurenelemente (Module 1 + 2, vgl. B.3.3.1) soll aus Gründen der Logistik und der Kosten möglichst lange sein. So könnten Standardbeutel mit der wässrigen Lösung, welche den Nährstoffbedarf eines Kindes à 1 kg KG enthalten, im Tiefkühler (TK) oder im Kühlschrank (KS) vorrätig gehalten werden. Bei Bedarf müssten kurz vor der Applikation die Spurenelemente zugespritzt und die Lipidphase aufgezogen werden.

C.2.1.1 Physikalische Stabilität der wässrigen Phase der PN

C.2.1.1.1 Partikel- und pH-Kontrolle

Historisch wurde die physikalische Stabilität anhand einer visuellen Beurteilung und einer pH-Kontrolle bestimmt.¹⁴⁸ Von blossen Auge lassen sich Partikel erst ab einer Grösse von 40 - 50 μm erkennen.¹⁴⁹ In polarisiertem Licht kann man mit geübtem Auge Teilchen ab etwa 20 μm erkennen (eigene Erfahrungen). In der Lunge können jedoch bereits 5 - 20 μm grosse Partikel Embolien verursachen.^{32,150} Folglich ist eine Untersuchung mittels einer sensitiveren Methode unabdingbar. Als Methode der Wahl gibt die Pharmacopöe eine Partikelzählung durch Lichtblockade vor. Ist diese nicht anwendbar, soll auf eine Partikelzählung mit Hilfe eines spezifisch ausgerüsteten Lichtmikroskops ausgewichen werden.¹⁵¹

In einer Spitalapotheke sind die Methoden der Pharmacopöe nicht immer praktikabel. Stattdessen wird die visuelle Inspektion in polarisiertem Licht angewendet. In dieser Arbeit soll zusätzlich ein Lichtmikroskop für eine empfindlichere Prüfung eingesetzt werden.

C.2.1.1.2 Stabilität von organischem Phosphat in der wässrigen Phase

Da die Phosphatgruppe in organischen Phosphaten kovalent gebunden ist, kann sie nicht ionisiert werden, wodurch eine Präzipitation schwerlöslicher Phosphate verhindert wird.^{68,152,153}

CaGlyP wird in einer Dosierung von $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (ca. $11 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) den GluEI-Konzentraten Neo KSA beigefügt. In vivo sollten diese Ca^{2+} - und Phosphat-Konzentrationen unproblematisch sein, da die Nährlösung im Blutstrom rasch verdünnt wird.¹⁵⁴

Die Phosphatgruppe kann aus organischen Verbindungen nicht-enzymatisch, beispielsweise durch die Einwirkung von Hitze, abgespalten werden. Aus Glycerophosphat ent-

steht Orthophosphat (P_i) als Hydrolyseprodukt. Der P_i -Anteil in der PN soll möglichst gering gehalten werden, um potentielle Inkompatibilitäten mit Kationen (Ca^{2+} , Mangan, Zink), die mit Phosphat schwerlösliche Salze bilden, zu minimieren.

Die Löslichkeit von Ca^{2+} - und Phosphat hängt nicht nur von deren Konzentration, sondern auch vom pH, der Art und Menge der Aminosäuren, der Salzquelle, der Temperatur, dem Zeitraum seit der Produktion, der Herstellungsreihenfolge sowie von der Anwesenheit einer Lipidemulsion ab.^{24,26,29,32,66-68} In Abhängigkeit dieser Faktoren liegt die Löslichkeit von anorganischem Phosphat in Anwesenheit einer äquimolaren Menge Ca^{2+} zwischen 5 und 20 $mmol \cdot l^{-1}$ der wässrigen Phase der PN.⁶⁶

Bisher fehlen Untersuchungen zur P_i -Konzentration in PN-Zubereitungen aus organischen Phosphaten. Die Pharmakopöe enthält keine entsprechende Methode. Im Schweizerischen Lebensmittelbuch existiert eine Methode zur Analyse von Orthophosphat im Trinkwasser.¹⁵⁵ Das Prinzip der Bestimmung beruht auf einer selektiven Reaktion von Ammoniummolybdat mit P_i zu einem Molybdatophosphorsäure-Komplex im sauren Milieu. Dieser Komplex wird durch Ascorbinsäure zum Molybdänblau-Komplex reduziert. Die resultierende Farbintensität von Molybdänblau ist proportional zur P_i -Konzentration und kann spektrophotometrisch bei 890 nm gemessen werden.

Die Methode wird zur Anwendung in Nährlösungen validiert.

C.2.1.2 Chemische Stabilität der wässrigen Phase der PN

Die heterogene Gruppe der Aminosäuren zeigt Abbaureaktionen wie Oxidationen, Maillard-Reaktionen und Desaminierungen.^{64,86}

Die sehr komplexen Reaktionsprodukte der Maillard-Reaktion sowie der Desaminierungen sind nicht einfach zugänglich für Stabilitäts-Beurteilungen.

Die Oxidation von Cys wurde als Indikator vorgezogen, da es sich dabei um eine definierte Reaktion handelt.

C.2.1.2.1 Oxidation von Cystein und Ellman-Reaktion

Die schwefelhaltige Aminosäure Cys nimmt an Redoxvorgängen teil. Cys weist in seiner Seitenkette eine hoch reaktive Sulfhydrylgruppe (Thiol-Gruppe) auf.¹⁵⁶

Chemische Verbindungen mit Thiol-Gruppen spielen in biologischen Systemen eine wichtige Rolle bei der Abwehr gegen oxidative Schäden und toxische Stoffe. Thiole sind somit die potentiellen Ziele für den Angriff reaktiver Sauerstoffspezies wie H_2O_2 .^{88,157}

Sowohl Cys als auch N-Acetylcystein (NAC) werden durch H_2O_2 oxidiert.¹⁵⁸

Bei der Cys-Oxidation wird in einem ersten, reversiblen Schritt Sulfensäure gebildet. Sulfensäure kondensiert rasch mit Cys zu Cystin.^{159,160} Diese Reaktion ist ebenfalls reversibel.¹⁶¹ Cystin ist in wässriger Lösung stabiler als Cys.

Cys kann ausserdem mit Glucose zu D-Glucocystein reagieren, was den Abbau der Sulfhydrylgruppen zusätzlich beschleunigt.⁶⁴

Cys stellt aufgrund seiner Instabilität einen sehr sensitiven Indikator („worst case“) zur Beurteilung der chemischen Stabilität (Oxidationsgrad) der instabilen Komponenten (insbesondere Aminosäuren und Vitamine) einer parenteralen Nährlösung dar.

- *Physiologie von Cystein*

Cys stellt für Neugeborene eine essentielle Aminosäure dar.^{162,163} Die Verfügbarkeit von Cys in den Körperflüssigkeiten ist normalerweise gering, da es in Form von Cystin im Blut vorliegt. Cystin wird ins Zellinnere aufgenommen und zu Cys reduziert.¹⁶⁴

Physiologisch sollte Cystin folglich unproblematisch sein. Aus pharmazeutischer Sicht ist Cystin jedoch kritischer, da es über 400 Mal schlechter löslich ist als Cys ($0.466 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ versus $206 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ in Wasser).¹⁶⁵

- *Ellman-Methode zur Quantifizierung von Cystein*

Die Pharmakopöe beinhaltet keine Vorschrift zur Bestimmung von Cystein. Ellman publizierte 1959 eine Methode zur Quantifizierung von freien Thiol-Gruppen in Lösung. Er synthetisierte zu diesem Zweck 5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoesäure) (DTNB).¹⁶⁶ DTNB bildet mit den Sulfhydrylgruppen von kleinen Peptiden gemischte Disulfide. Dadurch wird aus DTNB 2-Nitro-5-thiobenzoessäure (NTB) abgespalten (vgl. Abb. 6). Diese Reaktion verläuft hoch spezifisch und quantitativ. NTB weist einen Chromophoren mit einem Absorptionsmaximum bei 412 nm auf.¹⁶⁷

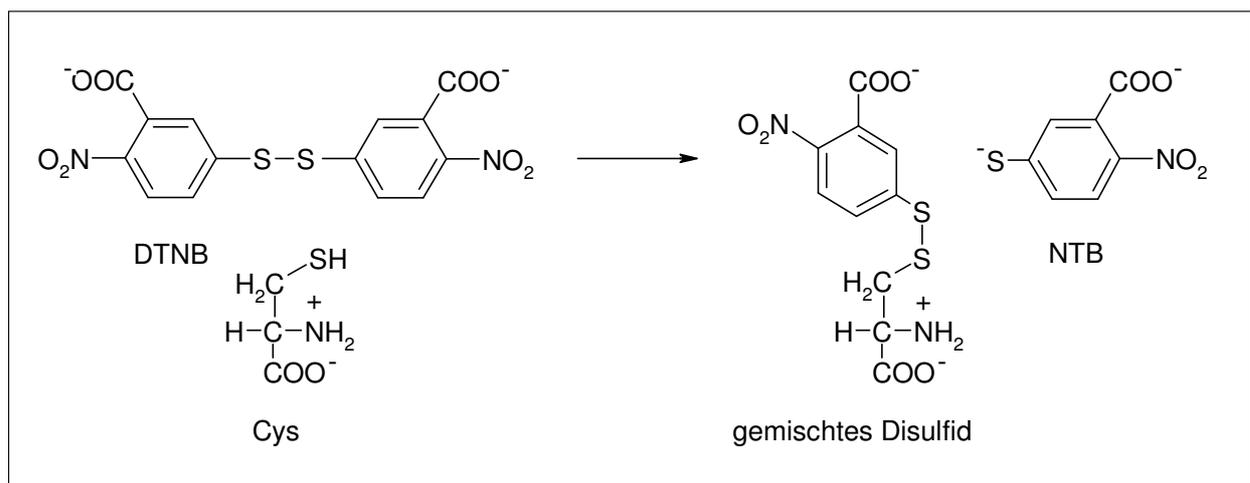


Abb. 6: Reaktion des Ellman-Reagens (DTNB) mit Cys zum gemischten Disulfid unter Abspaltung der spektroskopisch aktiven 2-Nitro-5-thiobenzoessäure (NTB).

C.2.1.3 Experimentelle Fragestellungen zur Lagerungsstabilität

Ergänzend zu allgemeinen Zielsetzungen unter A.2:

- Der Einfluss der Lagerungstemperatur (TK, KS) auf die physikalisch-chemische Stabilität von wässrigen Phasen unterschiedlicher Zusammensetzung (Glucose-Konzentration, Anionen-Zusammensetzung, Spurenelemente) wird bestimmt.
- Der P_i -Gehalt wird mittels der Methode zur Bestimmung von Orthophosphat im Trinkwasser aus dem Schweizerischen Lebensmittelbuch (modifiziert) quantifiziert. Um auch Präzipitate schwerlöslicher Phosphate mit Spurenelementen ausschließen zu können, wird der wässrigen Phase Peditrace[®] zugefügt.
- Zur Quantifizierung des Oxidationsgrades der Zubereitungen wird die Konzentration der Thiol-Gruppen aus Cys mittels der Ellman-Methode herangezogen. Eine Serie der wässrigen Phase wird bei RT gelagert, um einen Abbau von Cys zu forcieren.

C.2.2 Material und Methoden zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase

Die Komponenten der wässrigen Standardphase wurden in einem LAF mittels Spritzen aseptisch in sterile Infusionsflaschen bzw. einschichtige EVA-Infusionsbeutel abgefüllt.

C.2.2.1 Physikalische Stabilität der wässrigen Phase der PN

C.2.2.1.1 Partikel- und pH-Kontrolle

C.2.2.1.1.1 Versuchsdesign

Für die Untersuchung der physikalischen Stabilität wurde die wässrige Phase mit einem Zusatz von Elektrolyten herangezogen. Die Lösungen wiesen die physiologisch maximal tolerierbaren Mengen an einwertigen Kationen auf („worst case“).

Die Tab. 10 zeigt die Zusammensetzung der Versuchsansätze 1 bis *abc'*, welche in 200ml-Nutrimix®-Beutel abgefüllt wurden. Neben den Komponenten aus der Tab. 10 enthielten sämtliche Proben 38.5 ml Vaminolact® sowie 0.5 ml NaCl 4 mmol·l⁻¹. Falls nötig wurde mittels destillierten Wassers auf insgesamt 125.5 ml ergänzt.

Tab. 10: Unterschiede in der Zusammensetzung der Proben 1 bis *abc'* zur Untersuchung der physikalisch-chemischen Stabilität der wässrigen Phase der Standardnährlösungen Neo KSA.

Ansatz	GluEI niederkalorisch [ml]	GluEI hochkalorisch [ml]	KCl 2 mmol·l ⁻¹ [ml]	K ⁺ Ac ⁻ 1 mmol·l ⁻¹ [ml]
1	82.5	0	2.0	0
c	82.5	0	2.0	0
c'	82.5	0	2.0	0
a	82.5	0	0	4.0
ac	82.5	0	0	4.0
ac'	82.5	0	0	4.0
b	0	82.5	2.0	0
bc	0	82.5	2.0	0
bc'	0	82.5	2.0	0
ab	0	82.5	0	4.0
abc	0	82.5	0	4.0
abc'	0	82.5	0	4.0

Die Auswirkungen auf die Stabilität der wässrigen Phase wurden in einem faktoriellen Versuchsdesign (2³) (vgl. Tab. 11) für folgende Einflussfaktoren ermittelt:

- A) Acetat bzw. Chlorid als Anionen (Beeinflussung des pH-Wertes),
 B) Glucose-Konzentration (hoch- und niederkalorische wässrige Standardlösung),
 C) Lagerungstemperatur (TK, KS, bei Cys-Gehalt zusätzlich RT).

Für die Raumtemperatur wurde beim Faktor C zusätzlich ein 3. Level eingeführt (c').

Tab. 11: Faktorielles 2^3 -Design mit zusätzlichem 3. Level für RT (c') zur Ermittlung der Auswirkungen der Anionen (A), der Glucose-Konzentration (B) sowie der Lagerungstemperatur (C) auf die Stabilität der wässrigen Phase der Standardnährlösungen Neo KSA.

ph = Untersuchungen physikalische Stabilität, ch = Untersuchung chemische Stabilität

Ansatz	Anionen (A)		Glucose (B) [g·kg ⁻¹]	Temperatur (C) [°C]	Analysen- methoden
	Acetat [mmol·kg ⁻¹]	Chlorid [mmol·kg ⁻¹]			
1	2	9	10	-20	ph + ch
a	6	5	10	-20	ph + ch
b	2	9	15	-20	ph + ch
ab	6	5	15	-20	ph + ch
c	2	9	10	+4	ph + ch
c'	2	9	10	+22	ch
ac	6	5	10	+4	ph + ch
ac'	6	5	10	+22	ch
bc	2	9	15	+4	ph + ch
bc'	2	9	15	+22	ch
abc	6	5	15	+4	ph + ch
abc'	6	5	15	+22	ch

Es wurden Triplets der Proben hergestellt und gelagert. Die Messungen fanden unmittelbar nach der Herstellung (0) sowie nach 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 und 30 Tagen Lagerung statt.

Vor den Bestimmungen wurden alle Versuchsansätze im Wasserbad auf +22 °C temperiert. Durch Überkopf-Drehen wurden die Beutel durchmischt und anschliessend Proben so entnommen, dass möglichst wenig Luft zutrat.

Auf eine Bestimmung der physikalischen Stabilität der bei RT gelagerten Proben (c' , ac' , bc' , abc') wurde verzichtet.

C.2.2.1.1.2 Visuelle Partikelkontrolle im polarisierten Licht

Zuerst wurden die Ansätze bei Tageslicht auf Farbveränderungen und sichtbare Partikel inspiziert. Dann wurden die Behälter vor eine polarisierende Lichtquelle gehalten und im Durchlicht vertikal betrachtet.

C.2.2.1.1.3 Lichtmikroskopische Untersuchung auf Partikel

Bei der Lichtmikroskopie handelt es sich um eine qualitative Methode.

Es wurden dreimal hintereinander je 10 µl unverdünnte Probe auf einen Objektträger gegeben und mit einem Deckglas abgedeckt. Bei 1000-facher Vergrößerung mit Öl-immersion wurden im Durchlicht pro Probe jeweils 5 Gesichtsfelder (GF) nach einem fixen Muster (vgl. Abb. 20, Anhang; unten) betrachtet. Die Anzahl der Partikel und deren Grösse wurden festgehalten. Der Blindwert wurde mittels Aqua ad iniectabilia analog bestimmt.

C.2.2.1.1.4 pH-Wert

Es wurden ca. 2.5 ml Probe in ein Reagenzglas gegeben und mittels einer kombinierten Glaselektrode der pH-Wert bestimmt.

C.2.2.1.2 Stabilität von organischem Phosphat in der wässrigen Phase

Die Quantifizierung des P_i als Molybdänblau war vorgängig validiert worden (vgl. Tab. 12).

Tab. 12: Resultate zur Validierung der Molybdänblau-Methode zur Bestimmung von P_i mittels Kaliumdihydrogenphosphat als Referenzsubstanz. A_{\max} = Absorptionsmaximum

Parameter	Resultat
Reaktionskinetik Kaliumdihydrogenphosphat Calciumglycerophosphat	beide Farbkomplexe über 40 min stabil A_{\max} nach 3.4 min erreicht A_{\max} nach 15 min erreicht
Linearität	0.9 - 26 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ P_i
Bestimmungsgrenze / Nachweisgrenze	0.88 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ P_i / 0.18 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ P_i
Selektivität	spezifisch für P_i
Robustheit	pH Proben 1.5 bis 8.5 möglich
Intraday-Abweichung / Interday-Abweichung	0.65%, n = 81 / < 3.9%, n = 45

C.2.2.1.2.1 Versuchsdesign

Es wurde der Einfluss der Lagerungstemperatur sowie der Spurenelemente auf die P_i -Konzentration untersucht. Eine im KS (Serie α , vgl. Proben C.2.2.1.2.2) bzw. bei RT (Serie β) gelagerte Serie ohne Spurenelemente sollte die Stabilität einer auf Vorrat hergestellten Lösung zeigen. Eine weitere Serie simulierte die Stabilität der anwendungsfertigen, wässrigen Zubereitung nach Zuspritzung von Peditrace® (Serie γ).

Es wurden Triplets hergestellt. Zur Vereinfachung der visuellen Inspektion wurden die Zubereitungen in 250ml-Infusionsflaschen abgefüllt. Gleich nach der Produktion (0 h) sowie nach 24, 48, 72 und 168 Stunden Lagerung wurden Proben entnommen und der P_i -Gehalt bestimmt. In den angesetzten Triplets wurden jeweils drei Messungen vorgenommen ($n = 9$).

C.2.2.1.2.2 Vorgehen

- *Reagens*

Für das Reagens I wurden 100 ml Aqua destillata in einem 200ml-Messkolben vorgelegt und mit 44.8 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Separat wurden 3.48 g Ammoniummolybdat in ca. 40 ml Wasser gelöst und zur schwefelsauren Lösung gegeben. Mit dest. Wasser wurde auf 200.0 ml ergänzt. Das Reagens II bestand aus 176 mg Kaliumantimonyltartrat in 200.0 ml Wasser. Für das Mischreagens wurden 845 mg Ascorbinsäure in einem 100ml-Messkolben vorgelegt, mit 50 ml Reagens I sowie 25 ml Reagens II versetzt und mit Aqua dest. auf 100.0 ml aufgefüllt.

- *Vorgehen*

In einem 50ml-Becherglas wurden 2000 μ l Mischreagens vorgelegt, mit 20.0 ml der 1:100 verdünnten Probenlösung versetzt und geschwenkt. Nach einer 15-minütigen Inkubation bei RT und Lichtschutz wurde die Absorption bei 890 nm in Quarzküvetten mittels eines Spektrophotometers bestimmt.

- *Eichgerade mit Kaliumdihydrogenphosphat*

An allen fünf Messtagen wurde je eine Lösung mit 80, 100 bzw. 120% der erwarteten P_i -Konzentration gemessen. Als Referenzsubstanz diente Kaliumdihydrogenphosphat. Durch die Punkteschar wurde die folgende Regressionsgerade gelegt:

$$A = 20065.9 \cdot c - 0.023573 \quad r = 0.9995, n = 15 \quad (4)$$

c Konzentration der Kaliumdihydrogenphosphat-Referenzlösung in [$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$]

- *Proben der wässrigen Phase*

Die Proben entsprachen in der Zusammensetzung den Ansätzen *ab* bis *abc'* aus Tab. 10, teilweise mit einem Zusatz von 1.0 ml Peditrace[®] („worst case“). Für die Lösungen ohne Spurenelemente wurde Peditrace[®] durch Aqua ad iniectionabilia ersetzt (total 126.5 ml). Die Ca^{2+} - und Phosphat-Konzentration betrug je $11.9 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Vor Licht geschützt, wurden die Proben ohne Spurenelemente im KS (+4 °C, Serie α) und bei RT (+22 °C, Serie β) gelagert. Die Serie mit Spurenelementen (Serie γ) wurde bei RT aufbewahrt.

Die Konzentration in [$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$] errechnete sich nach den Formeln (1) und (4).

C.2.2.2 Chemische Stabilität der wässrigen Phase der PN

C.2.2.2.1 Versuchsdesign

Es wurden dieselben Proben und das analoge Versuchsdesign wie unter C.2.2.1.1.1 beschrieben, eingesetzt.

Beim Faktor Temperatur (C) wurde zusätzlich die RT als 3. Level für die Bestimmung der chemischen Stabilität eingeführt (vgl. Tab. 11).

C.2.2.2.2 Ellman-Methode zur Quantifizierung von Cystein

Die ursprüngliche Ellman-Methode¹⁶⁶ wurde nach Bulaj¹⁶⁸ angepasst.

Die Methode war zuvor mit der Referenzsubstanz NAC validiert worden (vgl. Tab. 13).

Tab. 13: Resultate zur Validierung der modifizierten Ellman-Methode zur Cys-Quantifizierung anhand der Referenzsubstanz NAC. A_{\max} = Absorptionsmaximum

Parameter	Resultat
Reaktionskinetik	A_{\max} nach ca. 9 min erreicht, Farbkomplex über 30 min stabil
Linearität	4 - 74 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ NAC
Selektivität	keine Störung durch Maillard-Produkte
Abweichungen	Intraday: 0.4%, n = 10; Interday: 1.0%, n = 21 (während 30 d)

- *Ellman-Reagens*

Für die DTNB-Stammlösung wurden 340 mg Natriumacetat-Trihydrat und 40.2 mg DTNB mit destilliertem Wasser auf 50.0 ml aufgefüllt. Für den Tris-Puffer mit pH 8 wurden 25.0 ml Tris $0.2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ und 27.9 ml HCl $0.1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ mit Aqua destillata auf 100.0 ml verdünnt.¹⁶⁹ Das Arbeitsreagens wurde täglich frisch aus 10.0 ml DTNB-Stammlösung, 20.0 ml Tris-Puffer sowie 168 ml dest. Wasser hergestellt.

- *Vorgehen*

Zur Quantifizierung wurden 1950 μl DTNB-Arbeitsreagens in verschliessbaren Reagenzgläsern vorgelegt und 50 μl Probe zupipettiert. Der Ansatz wurde 10 min verschlossen bei RT im Dunkeln inkubiert. Danach wurde die Absorption bei 412 nm in Halbmikro-Quarzküvetten im Spektrophotometer gegen einen Blindwert gemessen. Für den Blindwert wurde anstelle der Proben 50 μl Wasser verwendet.

- *Eichgerade mit N-Acetylcystein*

Über den Bereich von 5 bis 52 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (Messlösung) wurde eine Eichgerade mit NAC aufgenommen. Die Resultate zur Cys-Konzentration in der wässrigen Phase werden in [$\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$] angegeben und beziehen sich auf die Eichung mit NAC.

Durch die Punkteschar wurde folgende Regressionsgerade gelegt:

$$A = 14.1064 \cdot c - 0.001517 \quad r = 0.99997, n = 27 \quad (5)$$

c Konzentration der NAC-Referenzlösungen in $[\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}]$

- *Proben der wässrigen Phase*

Als Proben dienten 50 μl der auf 22 °C erwärmten Lösungen der Serien 1 bis abc'.

Zur Bestimmung des Ausgangswertes wurde Cys aus einer frisch angestochenen Vaminolact[®]-Infusionsflasche quantifiziert.

Berechnet wurde die Cys-Konzentration in $[\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}]$ nach den Formeln (1) und (5).

- *Vergleich mit Cystein-Oxidation durch H_2O_2*

Um abschätzen zu können, wie empfindlich Cys gegenüber Oxidantien reagiert, wurden NAC und Vaminolact[®] mit verschiedenen hohen Überschüssen an H_2O_2 inkubiert und sogleich nach Ellman bestimmt.

C.2.3 Resultate zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase

C.2.3.1 Physikalische Stabilität der wässrigen Phase der PN

C.2.3.1.1 Partikel- und pH-Kontrolle

C.2.3.1.1.1 Visuelle Partikelkontrolle im polarisierten Licht

Am Herstellungstag konnten im polarisierten Licht in keinem Beutel Partikel beobachtet werden. Am Tag 30 waren in 18 der 24 Beutel faserförmige Partikel vorhanden.

C.2.3.1.1.2 Lichtmikroskopische Untersuchung auf Partikel

Kristalline Teilchen konnten in keiner Probe beobachtet werden (vgl. Abb. 7, links). Bei den erfassten Partikeln handelte es sich um Faserstrukturen (Fasern und deren Bruchstücke).

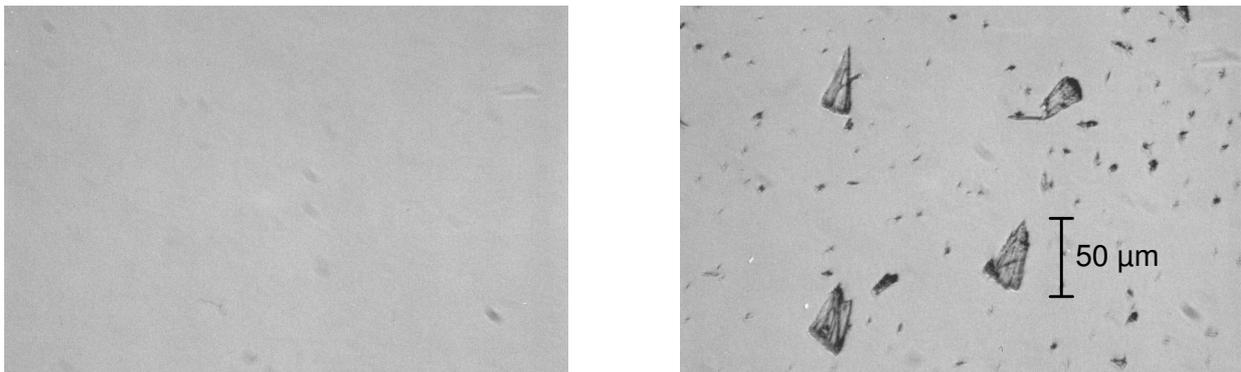


Abb. 7: Mikroskopische Bilder bei 200-facher Vergrößerung. Links wässrige Phase der PN, rechts zum Vergleich Positivprobe von Calciumphosphat-Kristallen.

C.2.3.1.1.3 pH-Wert

Es bestand ein signifikanter pH-Unterschied zwischen den verschiedenen zusammengesetzten Proben (Friedman Rangvarianzanalyse: $p < 10^{-7}$, $n = 8 \times 9$). Die Glucose-Konzentration beeinflusste den pH-Wert am stärksten. Die Lagerungstemperatur blieb ohne Einfluss auf den pH-Wert (Wilcoxon, $p > 0.20$, jeweils $n = 2 \times 9$).

Der pH-Wert sank in allen Serien leicht (negative Korrelation, vgl. Tab. 14). Es bestand jedoch kein signifikanter Trend zur pH-Abnahme über die Messdauer von 30 Tagen (Spearman: $p > 0.07$, jeweils $n = 9$).

Die Kontrolle über den Eichstandard für pH 4 ergab 3.979 ± 0.0136 ($n = 9$). Die pH-Schwankungen über die 30 Messtage lagen somit innerhalb des Messfehlers des pH-Meters (± 0.0136 Einheiten).

Tab. 14: Gemittelter pH-Wert mit Standardabweichung und Trendanalyse nach Spearman für die Korrelation zwischen Zeitverlauf und pH-Wert der Versuchsserien 1 bis abc.

Ansatz	pH-Wert \pm SD (n = 9)	Spearman Rangkorrelationskoeffizient	
		Korrelation (r)	p-Wert
1	4.964 \pm 0.012	-0.0586	0.84
a	5.303 \pm 0.010	-0.6167	0.07
b	5.268 \pm 0.007	-0.5714	0.10
ab	5.504 \pm 0.006	-0.2678	0.46
c	4.990 \pm 0.007	-0.3347	0.36
ac	5.302 \pm 0.007	-0.5570	0.11
bc	5.269 \pm 0.004	-0.2373	0.52
abc	5.502 \pm 0.007	-0.6193	0.07

C.2.3.1.2 Stabilität von organischem Phosphat in der wässrigen Phase

Wie der Tab. 15 zu entnehmen ist, blieb die P_i -Konzentration über 168 Stunden in allen Serien konstant (Spearman, $p > 0.31$, $n = 15$ bzw. 9). Der P_i -Gehalt lag bei durchschnittlich $1.054 \pm 0.0168 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ($n = 117$, alle 3 Serien). Der Anteil an P_i betrug somit 9.0% des gesamten Phosphat-Gehaltes.

Weder die Temperatur noch der Zusatz von pädiatrischen Spurenelementen hatten einen signifikanten Einfluss auf die P_i -Konzentration (Friedman, $p = 0.15$, $n = 3 \times 5$).

Tab. 15: Gemittelter P_i -Gehalt ($n = 9$) \pm SD der drei Serien α , β und γ . Mittels Spearman-Analyse wurde auf eine Korrelation zwischen Zeitverlauf und P_i -Konzentration geprüft.

Messzeitpunkt [h]	Serie α , KS [mmol \cdot l $^{-1}$]	Serie β , RT [mmol \cdot l $^{-1}$]	Serie γ , RT [mmol \cdot l $^{-1}$]
0	1.063 \pm 0.0014	1.057 \pm 0.0014	1.056 \pm 0.0006
24	1.060 \pm 0.0006	1.072 \pm 0.0029	1.059 \pm 0.0006
48	1.053 \pm 0.0011	1.035 \pm 0.0019	-
72	1.054 \pm 0.0023	1.036 \pm 0.0036	-
168	1.057 \pm 0.0017	1.070 \pm 0.0014	1.029 \pm 0.0039
Spearman	$p = 0.31$, $n = 15$	$p = 0.88$, $n = 15$	$p = 0.38$, $n = 9$

C.2.3.2 Chemische Stabilität der wässrigen Phase der PN

C.2.3.2.1 Ellman-Methode zur Quantifizierung von Cystein

Unmittelbar nach der Zubereitung der Ansätze 1 bis abc' lag die Cys-Konzentration zwischen 1.4 und 1.9 mmol·l⁻¹. Wie in der Abb. 8 ersichtlich, sank die Cys-Konzentration während der Lagerung in allen Zubereitungen stetig. Die Spearman-Rangkorrelationsanalyse ergab eine hoch signifikante Abnahme über 30 Tage in sämtlichen Proben ($p < 10^{-8}$, jeweils $n = 9$).

Unmittelbar nach der Herstellung unterschieden sich die Cys-Konzentrationen zwischen den hoch- und niederkalorischen Standards statistisch signifikant (Wilcoxon, $p = 0.03$, $n = 2 \times 3$). Über die gesamte Messdauer von 30 Tagen lag die Cys-Konzentration in den niederkalorischen Ansätzen signifikant höher als in den hochkalorischen (Wilcoxon, $p > 10^{-7}$, $n = 2 \times 9$).

Am Tag 30 bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Lagerungstemperaturen (Friedman, $p = 0.005$, $n = 3 \times 4$). Der paarweise Vergleich ergab aber nur eine signifikante Differenz zwischen TK und RT. Die beiden anderen Paare (TK-KS, KS-RT) hingegen unterschieden sich nicht signifikant. Die RT hatte gegenüber -20°C und +4°C eine überproportional raschere Oxidation von Cys zur Folge.

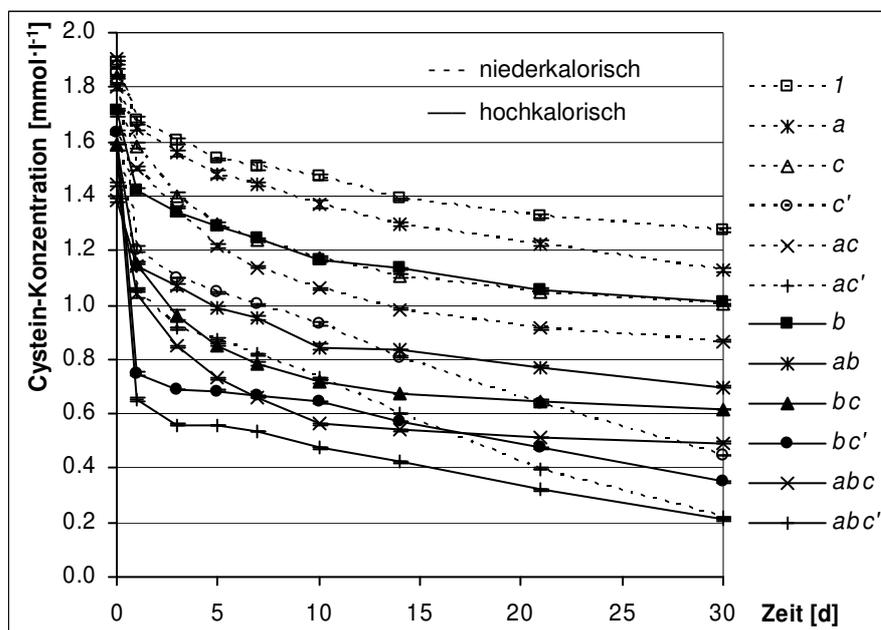


Abb. 8: Cys-Konzentrationen in den unterschiedlich zusammengesetzten (vgl. Tab. 10 und 11) wässrigen Phasen über 30 Tage bei verschiedenen Lagerungstemperaturen. Dargestellt sind die Mittelwerte ($n = 3$) mit Standardabweichung (Abweichungsbalken kaum erkennbar).

Zur Bewertung der Einflussfaktoren Anionen (A), Glucose-Konzentration (B) und Lagerungstemperatur (C) auf die Cys-Konzentration wurden die Daten nach Yates¹⁷⁰ ausgewertet. Mittels der Bewertung nach Yates konnte der Effekt jedes Einflussfaktors sowie der Interaktionen aus dem 2³-Design beurteilt werden.

Dazu wurden die Cys-Konzentrationen unter den verschiedenen Versuchsbedingungen nach 30-tägiger Lagerung verglichen (vgl. Tab. 16). Da aus mikrobiologischen Gründen für die Praxis nur eine Lagerung im TK oder im KS in Frage kam, wurden die Resultate bei RT nicht einbezogen (Datenreduktion).

Tab. 16: Bewertung nach Yates für die Effekte der Anionen (A), der Glucose-Konzentration (B) und der Lagerungstemperatur (C) sowie deren Interaktionen aus dem 2³-Design auf die Cys-Konzentration nach 30 Tagen Lagerung.

Ansatz	Messwert am Tag 30 [mmol·l ⁻¹]			Freiheits- grade	Mean square	F berechnet
	Messung 1	Messung 2	Messung 3			
<i>1</i>	1.269	1.279	1.283	2	-	-
<i>a</i>	1.133	1.125	1.127	2	0.2892	12244
<i>b</i>	1.005	1.010	1.019	2	1.1918	50460
<i>ab</i>	0.698	0.702	0.694	2	0.0126	535
<i>c</i>	0.998	0.999	1.005	2	0.7336	31058
<i>ac</i>	0.862	0.869	0.866	2	0.0240	1015
<i>bc</i>	0.613	0.614	0.612	2	0.0023	98
<i>abc</i>	0.488	0.495	0.497	2	0.0184	778
Experimenteller Fehler				8	2.362·10 ⁻⁵	
F _{0,05} tabelliert				2 bzw. 8		4.46

Alle drei Faktoren (A, B, C) ergaben hoch signifikante Auswirkungen auf den Cys-Gehalt ($F_{\text{berechnet}} \gg F_{\text{tabelliert}}$). Die Glucose-Konzentration wies bei der Lagerung im KS oder im TK den stärksten Einfluss auf die chemische Stabilität aus. Den zweitgrössten Einfluss zeigte die Temperatur, gefolgt von der Ionen-Zusammensetzung. Die Interaktionen zwischen den Faktoren waren zwar signifikant, traten im Ausmass aber deutlich hinter den Effekt von A, B und C zurück.

Da zusätzlich zum faktoriellen 2³-Design ein Zeitverlauf über 30 d gemessen wurde, kann die Zeit ebenfalls als Faktor einbezogen werden. Dann liegt ein 2⁴-faktorielles Design vor (vgl. Tab. 17). Für die beiden Levels des Zeitfaktors (D) wurden die Messpunkte 0 d und 30 d gewählt (Extremwerte). Erneut wurden die Einflussfaktoren nach Yates¹⁷⁰ bewertet.

Tab. 17: Bewertung nach Yates für die Effekte der Anionen (A), der Glucose-Konzentration (B), der Lagerungstemperatur (C) und der Lagerdauer (D) sowie deren Interaktionen aus dem 2⁴-Design auf die Cys-Konzentration.

Ansatz	Messwert am Tag 0 bzw. 30 [mmol·l ⁻¹]			Freiheits- grade	Mean square	F berechnet
	Messung 1	Messung 2	Messung 3			
<i>1</i>	1.893	1.890	1.879	2	-	-
<i>a</i>	1.914	1.902	1.899	2	3.528·10 ⁻²	780
<i>b</i>	1.716	1.712	1.722	2	2.352·10 ⁻¹	5198
<i>ab</i>	1.378	1.388	1.393	2	2.939·10 ⁻²	650
<i>c</i>	1.830	1.839	1.847	2	7.110·10 ⁻³	157
<i>ac</i>	1.783	1.807	1.807	2	2.172·10 ⁻³	48
<i>bc</i>	1.594	1.589	1.590	2	1.015·10 ⁻³	22
<i>abc</i>	1.437	1.450	1.439	2	7.985·10 ⁻³	176
<i>d</i>	1.269	1.279	1.283	2	7.064	156097
<i>ad</i>	1.133	1.125	1.127	2	7.230·10 ⁻²	1598
<i>bd</i>	1.005	1.010	1.019	2	2.980·10 ⁻¹	6584
<i>abd</i>	0.698	0.702	0.694	2	3.160·10 ⁻³	70
<i>cd</i>	0.998	0.999	1.005	2	1.834·10 ⁻¹	4053
<i>acd</i>	0.862	0.869	0.866	2	5.993·10 ⁻³	132
<i>bcd</i>	0.613	0.614	0.612	2	5.775·10 ⁻⁴	13
<i>abcd</i>	0.488	0.495	0.497	2	4.593·10 ⁻³	101
Experimenteller Fehler				16	4.525·10 ⁻⁵	
F _{0.05} tabelliert				2 bzw. 16		3.63

Obige Berechnungen liessen die Lagerdauer von 30 Tagen (D) überaus deutlich als den gewichtigsten Faktor erkennen. Die übrigen Faktoren hatten einen sehr viel geringeren Einfluss.

- *Ausgangswert*

Vaminolact[®], das unmittelbar vor der Quantifizierung mit Wasser verdünnt worden war, enthielt 6.54 mmol·l⁻¹ Cys.

- *Vergleich mit Cystein-Oxidation durch H₂O₂*

Die Serie für NAC ergab einen linearen Kurvenverlauf. Cys aus Vaminolact[®] zeigte einen scheinbar exponentiellen Abfall des Gehaltes an Thiol-Funktionen (vgl. Abb. 9).

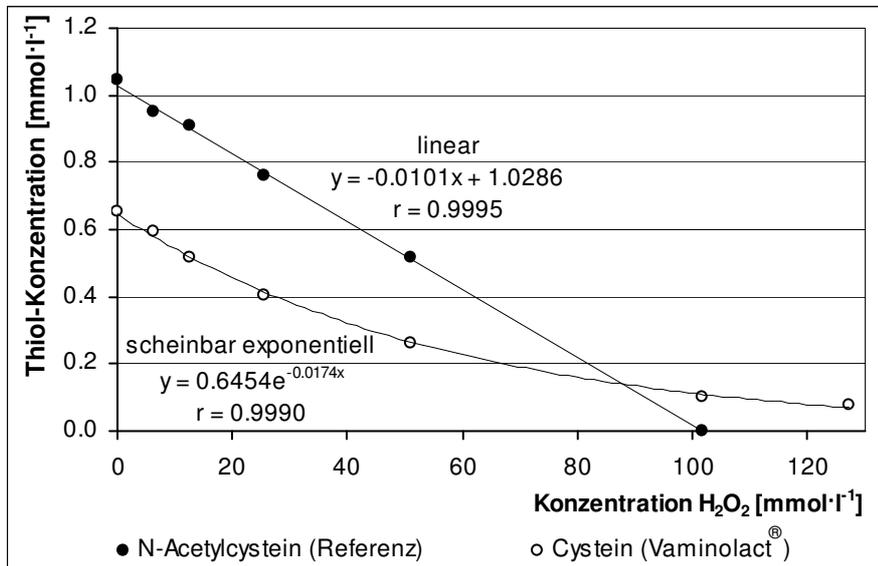


Abb. 9: Vergleich der Thiol-Oxidation in N-Acetylcystein bzw. Cys (aus Vaminolact[®]) durch einen 6- bis 120-fachen Überschuss an H₂O₂. Die Konzentrationen beziehen sich auf die Inkubationslösungen vor der Verdünnung mit dem Ellman-Reagens.

C.2.4 Diskussion zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase

C.2.4.1 Physikalische Stabilität der wässrigen Phase der PN

Da Calciumphosphat-Salze in der Kälte besser löslich sind als in der Wärme, wurden die Ansätze vor der visuellen bzw. mikroskopischen Inspektion auf RT erwärmt.

C.2.4.1.1 Partikel- und pH-Kontrolle

C.2.4.1.1.1 Visuelle Partikelkontrolle im polarisierten Licht

Eine Beurteilung der Partikelbelastung ohne polarisiertes Licht war kaum möglich. Bei normalem Tageslicht konnte nur rund ein Zehntel der Partikel, die im polarisierten Licht sichtbar wurden, erkannt werden.

Der Anstieg der Anzahl Beutel mit faserartigen Partikeln im Laufe der Messtage (polarisiertes Licht) ist höchstwahrscheinlich auf eine Einschleppung von Teilchen beim Probenzug zurückzuführen.

C.2.4.1.1.2 Lichtmikroskopische Untersuchung auf Partikel

Anhand der qualitativen, lichtmikroskopischen Untersuchung konnten keine Ausfällungen detektiert werden. Deshalb wurden die Zubereitungen im Bezug auf die angewandte Methode als stabil beurteilt.

Um eine quantitative Bewertung zu erreichen, müsste ein genau abgemessenes Volumen der wässrigen Phase unter partikelfreien Bedingungen filtriert und der Filtrationsrückstand mikroskopisch untersucht werden.

Die Pharmacopöe schreibt für die mikroskopische Beurteilung von Infusionslösungen über 100 ml Volumen eine maximale Anzahl von 12 Partikeln zwischen 10 und 25 µm bzw. 2 über 25 µm pro ml Lösung vor.¹⁵¹ Quantitative Untersuchungen mittels Mikroskopie ergaben für eine pädiatrische TPO-Zubereitung 9 Partikel < 10 µm, 1 Partikel von 10 - 25 µm sowie 0.3 Partikel > 25 µm pro ml.⁶⁹

C.2.4.1.1.3 Patientennahe Filter zur Reduktion der Partikelbelastung der PN

Über den Nutzen von patientennahen Filtern bei der Applikation von Nährlösungen besteht kein Konsens.

Die „U.S. Food and Drug Administration“ (FDA) berichtete 1994 von zwei Todesfällen sowie von mindestens zwei Fällen von akuter Atemnot im Zusammenhang mit infundierten Partikeln. Daraufhin empfahl die Organisation den Einsatz von 0.22µm-Filtern (entfernen sämtliche Mikroorganismen) für Zubereitungen ohne Lipide bzw. von 1.2µm-Filtern (entfernen lediglich grössere Pilze) in Anwesenheit von Fetten.⁶³

Mirtallo hingegen führt an, dass beim Verstopfen des Filters Luft angesaugt oder die Infusionsleitung aufgrund des Pumpen-Drucks bersten könnte. Verstopfte Filter führen zu einem häufigeren Wechsel der Infusionsleitungen (Kosten) und erhöhen die Infektionsgefahr (Manipulation).¹⁷¹ Weiter scheint eine negative Beeinflussung der Stabilität der Lipidemulsion wegen des mechanischen Stresses durch den Filter möglich. Driscoll beschrieb hingegen eine signifikante Reduktion der Lipidtröpfchen-Population $> 5 \mu\text{m}$ dank eines $1.2\mu\text{m}$ -Filters.⁷⁶

Der Einsatz von Filtern auf der Neo-IPS KSA soll daher in weiterführenden Untersuchungen neu beurteilt werden.

C.2.4.1.2 Stabilität von organischem Phosphat in der wässrigen Phase

Die physikalische Stabilität muss auch in Nährlösungen mit organischen Phosphatquellen überprüft werden. In den bisherigen Arbeiten geschah dies in Form von optischen Untersuchungen (Nephelometrie, Spektroskopie) auf Ausfällungen.^{29,153} Eine bereits erfolgte Ausfällung konnte mittels der Mikroskopie (vgl. C.2.3.1.1.2) ausgeschlossen werden. Der Gehalt an P_i wurde zusätzlich quantifiziert, um das Risiko einer latenten Präzipitation von schwerlöslichen Phosphaten abschätzen zu können.

Da es die Löslichkeit erlaubt, werden im Vergleich zu den anorganischen Elektrolytquellen grössere Stoffmengen an CaGlyP eingesetzt. Angenommen, ein Grossteil der organischen Phosphatgruppen wird als P_i abgespalten, kann das freigesetzte P_i mit dem in hohen Mengen vorhandenen Ca^{2+} schwerlösliche Niederschläge bilden.

Die P_i -Konzentration lag bei $1.05 \pm 0.17 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ (9.0% der gesamten Phosphatmenge) und zeigte keine Tendenz zum Anstieg über 7 Tage. Somit war hinsichtlich der kritischen Präzipitations-Grenze, welche je nach Zusammensetzung der PN bei 5 - 20 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ⁶⁶ liegt, eine beachtliche Sicherheitsmarge vorhanden. Bleibt die P_i -Konzentration auch in künftigen Chargen in der Grössenordnung von $1 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ wässriger Standardphase, muss nicht mit latenten Fällungen schwerlöslicher Phosphate gerechnet werden.

In einer hier nicht präsentierten Untersuchung resultierten auch mit $2.0 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ CaGlyP (entspricht $15.7 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) stabile Nährlösungen. Die Gruppe von Hanning ermittelte mit einer CaGlyP-Konzentration von $25 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ bei einer Aminosäuren-Menge von $8.3 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ keine Präzipitate.²⁹ Raupp stellte in pädiatrischen Nährlösungen mit Glycerophosphat sogar bis zu einer Ca^{2+} -Konzentration von $56 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ bzw. $48 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ Phosphat keine Stabilitätsprobleme fest.³⁰ Hingegen beschrieb Magnall einen Zwischenfall mit einer PN-Zubereitung mit $16.7 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ Ca^{2+} sowie $36.7 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ Phosphat in Form von Natriumglycerophosphat. Ein weisser Niederschlag von Calciumphosphat verstopfte die Infusionsleitungen.¹⁷²

Aus physiologischer Sicht ist der gemessene P_i -Gehalt unbedenklich. In Form des P_i steht dem Stoffwechsel ein Teil des Phosphats ohne vorgängige Hydrolyse zur Verfügung.

C.2.4.1.2.1 Extrapolation auf die PN inklusive Lipidemulsion

Laut Allwood kann eine Destabilisierung der Fettemulsion durch Ca^{2+} beobachtet werden, bevor die kritische Konzentration an Ca^{2+} und Phosphat erreicht wird, bei welcher es zur Präzipitation von Calciumphosphat kommt.¹⁷³

Es ist folglich zu erwarten, dass in einer Nährlösung mit organischer Phosphat-Quelle die Ca^{2+} -Konzentration zum limitierenden Faktor für die physikalische Stabilität der Fettemulsion wird und nicht eine allfällige Präzipitation schwerlöslicher Phosphate.

C.2.4.2 Chemische Stabilität der wässrigen Phase der PN

C.2.4.2.1 Validierung mit N-Acetylcystein

Die Ellman-Methode erwies sich als einfache und reproduzierbare Möglichkeit zur Quantifizierung von Thiol-Gruppen in der wässrigen Phase. Für die Eichung wurde anstelle von Cys N-Acetylcystein gewählt. NAC ist in wässriger Lösung deutlich stabiler als Cys und weist somit freie Thiol-Gruppen auf.^{157,158} Cys würde leicht zu Cystin oxidieren und ergäbe eine falsch negative Ellman-Reaktion.

C.2.4.2.2 Probenlösungen der wässrigen Phase

Die Auswertung der Einflussfaktoren des faktoriellen Designs ergab für die Lagerdauer die deutlich stärksten Auswirkungen. Die Lagerdauer muss als Kontaktzeit zu Sauerstoff interpretiert werden. Den zweitstärksten Einfluss zeigte die Glucose-Konzentration. Dies lässt sich dadurch erklären, dass Cys mit Glucose zu Glucocystein reagiert.⁶⁴

Der Gehalt an Sulfhydrylgruppen sank innerhalb von 30 Tagen je nach den Versuchsbedingungen auf 68 bis 13% des Ausgangswertes am Tag 0 ab.

Laborie mass in einer Lösung mit $50 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ Glucose und $13.3 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ Aminosäuren nach 24 h Lagerung bei RT unter Lichtschutz einen Abfall der Thiol-Konzentration um 40%. Die Autorin führte dies hauptsächlich auf die Bildung von Glucocystein zurück.¹⁷⁴ In den eigenen Versuchen sank die Cys-Konzentration nach 24 h Lagerung bei RT und Lichtschutz in der niederkalorischen Mischung um 35 - 38%. Bjelton mass eine Abnahme des Cys-Gehaltes um 40% innerhalb einer Zeitspanne von 30 h nach dem Mischen.¹⁷⁵

Theoretisch müssten in frischem Vaminolact[®] $8.25 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ Cys vorhanden sein. Der tatsächlich gemessene Wert betrug $6.54 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. Dies zeigt, dass bereits in frischem Vaminolact[®] etwa 20% des Cys als Cystin vorliegen. Dies wird vom Hersteller auch so deklariert (L-Cys/Cystin $1.0 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$).¹⁷⁶ Jeppsson stellte in einer Aminosäurenlösung ebenso bereits zu Beginn der Quantifizierung einen Verlust von 33% des Cys fest.¹⁷⁷

C.2.4.2.3 Vergleich mit Cystein-Oxidation durch H_2O_2

Eine Oxidation der Sulfhydrylgruppen von Cys und NAC wurde durch das unspezifische Oxidans H_2O_2 provoziert. Cys reagierte deutlich empfindlicher auf Oxidationen als NAC. Während der 10-minütigen Inkubation sank die Cys-Konzentration auch ohne die Anwesenheit von H_2O_2 auf ungefähr zwei Drittel des erwarteten Wertes ab (erwartet: $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$, gemessen: $0.65 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) (vgl. Abb. 9).

Eine mögliche Interpretation der unterschiedlichen Kurvenverläufe für NAC und Vaminolact[®] ist die Zusammensetzung der Reaktionslösungen. In den Ansätzen mit NAC war nur eine oxidierbare Substanz vorhanden, was zu einem linearen Kurvenverlauf führte. Vermutlich hätte man mit einer reinen Cys-Lösung auch eine Gerade erhalten. Hingegen waren in den Serien mit Vaminolact[®] neben Cys noch eine Reihe weiterer Redoxaktiver Substanzen (z.B. Methionin) vorhanden. Die Komplexität der konkurrierenden Redoxreaktionen äusserte sich in einem scheinbar exponentiellen Verlauf der Kurve.

C.2.4.2.4 Grenzwert für oxidiertes Cystein in der wässrigen Phase

Da Cystin ebenfalls bioverfügbar ist, entsteht aus physiologischer Sicht kaum ein Problem. Dennoch soll die Oxidation von Cys so gering wie möglich gehalten werden.

In der Literatur sind keine Angaben zu einer maximalen Oxidationsrate von Cys vorhanden. Der Aspekt des Grenzwertes muss hauptsächlich aus pharmazeutischer Sicht betrachtet werden. Für die Festlegung einer Limite kommen die in der Pharmazie üblichen 90% des indizierten Gehaltes nicht in Frage, da diese Grenze bereits im Ausgangsprodukt deutlich unterschritten wurde. Aufgrund der guten Verträglichkeit von Cystin erscheint eine höhere Oxidationsrate zulässig.

Einen anderen Ansatz bietet die Löslichkeit. Cystin ist sehr schwer wasserlöslich und wirkt allenfalls limitierend auf die Stabilität. In Wasser sind bei RT $0.466 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ Cystin löslich.¹⁶⁵ In Anwesenheit von Elektrolyten erhöht sich die Löslichkeit von Cystin.¹⁷⁸ Es existieren keine Löslichkeitsangaben in einer Nährlösung. Im Harn liegt die Cystin-Löslichkeit bei rund $1 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$.^{179,180} Dies entspräche einer oxidierten Cys-Stoffmenge von $2 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. In der Standard-PN sind rein theoretisch $2.6 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ Cys in seiner reduzierten Form vorhanden. Damit die Löslichkeitsgrenze nicht überschritten wird, müsste mittels der Ellman-Methode ein restlicher Cys-Gehalt von etwa $0.6 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ gemessen werden. Dieser Wert stellt allerdings lediglich eine theoretische Extrapolation anhand von Urin ohne Einbezug des pH-Wertes der PN dar. Er muss darum als Größenordnung und nicht als harter Grenzwert betrachtet werden.

Aufgrund der Cys-Stabilität als sehr empfindlichen Marker kann ein Anhaltspunkt für die Lagerdauer der wässrigen Phase gewonnen werden. Bezieht man die $0.6 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ auf die Resultate aus Abb. 8, ergäbe dies für die wässrige Phase der Standardnährlösungen eine Lagerdauer im KS von 7 Tagen. Danach unterschritt die Cys-Konzentration in der Zubereitung *abc* $0.6 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. Wird die Lösung unmittelbar nach der Herstellung eingefroren, dehnt sich die Lagerdauer im TK auf 30 Tage aus. Die gefrorene

Lösung müsste unter kontrollierten Bedingungen aufgetaut werden.

Wahrscheinlich liegt bei diesen Haltbarkeitsangaben eine grosse Sicherheitsmarge vor, da die Laufzeit anhand einer „worst case“-Hypothese festgesetzt wurde. Möglicherweise kann die Haltbarkeit nach weiterführenden Untersuchungen ausgedehnt werden. Die Gruppe von Kilian legte für die tiefgekühlten wässrigen Komponenten ihrer Standardnährlösungen eine Laufzeit von 3 Monaten fest.⁴⁹ Allerdings ist ihre Lösung mit L-Malinsäure stabilisiert.

C.2.4.2.5 Extrapolation auf die gesamte PN

In der Literatur konnten keine quantitativen Hinweise zum antioxidativen Potential von Cys in PN-Mischungen mit Fett gefunden werden. Extrapolationen der chemischen Stabilität von Cys auf die gesamte PN sind infolge der hohen Komplexität von Nahrungsmischungen sehr schwierig. Das Standardreduktionspotential für Cystin/Cys beträgt -340 mV bzw. 58 mV für Dehydroascorbinsäure/Ascorbinsäure.¹⁸¹ Anhand dieser Potentiale wäre zu erwarten, dass Peroxide rascher durch Cys als durch Ascorbinsäure reduziert würden. Cys würde die Lipidemulsion also zusätzlich vor Peroxidation schützen. Umgekehrt würden Lipide zu einer weiteren Oxidation der Thiol-Gruppen führen.

Bei speziellen klinischen Fragestellungen könnten grössere Mengen an Reduktionsäquivalenten erwünscht sein. Dann muss die wässrige Phase unmittelbar vor der Applikation frisch hergestellt werden, um eine möglichst hohe Cys-Konzentration zu erzielen.

C.2.4.3 Folgerungen zur Lagerungsstabilität der wässrigen Phase

- Anhand der qualitativen, mikroskopischen Untersuchung wurde die wässrige Phase als über 30 d physikalisch stabil beurteilt.
- Sowohl die Molybdänblau-Methode als auch die Methode nach Ellman erwiesen sich als leicht zugängliche, reproduzierbare Analysen zur Quantifizierung der P_i - bzw. Cys-Konzentration in der wässrigen Phase.
- Mit einem Gehalt an P_i von rund $1 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ist bezüglich der kritischen Präzipitations-Grenze bei $5 - 20 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ eine beachtliche Reserve vorhanden. Anhand von P_i als Marker ist keine latente Fällung schwerlöslicher Phosphate zu erwarten.
- Über den Cys-Gehalt kann der Oxidationsgrad der wässrigen Phase abgeschätzt werden. In der wässrigen Phase der Standardnährlösungen Neo KSA soll der Gehalt an Thiol-Gruppen etwa $0.6 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ betragen.
- Eine Lagerung der wässrigen Phase der Standardnährlösungen Neo KSA (ohne Spurenelemente und Vitamine) soll wegen der chemischen und mikrobiologischen Stabilität so kurz wie möglich ausfallen. Aus Sicherheitsgründen soll die Lagerung der wässrigen Phase aufgrund der Cystein-Stabilität als sehr sensibler Marker entweder auf 7 Tage bei $+4^\circ\text{C}$ oder auf 30 Tage bei -20°C beschränkt werden.

D. Stabilität der PN bei Applikationssimulation

D.1 Validierung der FOX-Methode

D.1.1 Einleitung zur Validierung der FOX-Methode

D.1.1.1 Bildung von Peroxiden in vitro

Peroxide zählen zu den primären Oxidationsprodukten von Fetten und Ölen. Lipidperoxide entstehen in vitro aus Fettsäuren unter Einwirkung der Stressfaktoren Licht, Hitze, Sauerstoff oder katalytische Metalle. Besonders anfällig auf Oxidationen sind mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA).

Die Peroxidation verläuft in einer autokatalytischen Radikal-Kettenreaktion (vgl. Abb. 10)^{182,183-186}.

- Initiation: Abspaltung eines Wasserstoffatoms von einem allylischen Kohlenstoff einer Fettsäuren-Kette nach Angriff eines Radikals (z.B. $\cdot\text{OH}$).
- Propagation: Das allylische Lipidradikal erfährt eine Umlagerung zum Dien und wird im aeroben Milieu zum Peroxylradikal oxidiert. Die hoch reaktiven Peroxylradikale greifen hauptsächlich benachbarte Fettsäuren an. Als Folge einer einzigen Initiation können Hunderte von Fettsäuren oxidiert werden.
- Termination: Peroxylradikale gehen Reaktionen unter sich oder mit anderen Radikalen zu nicht-radikalischen Produkten ein.

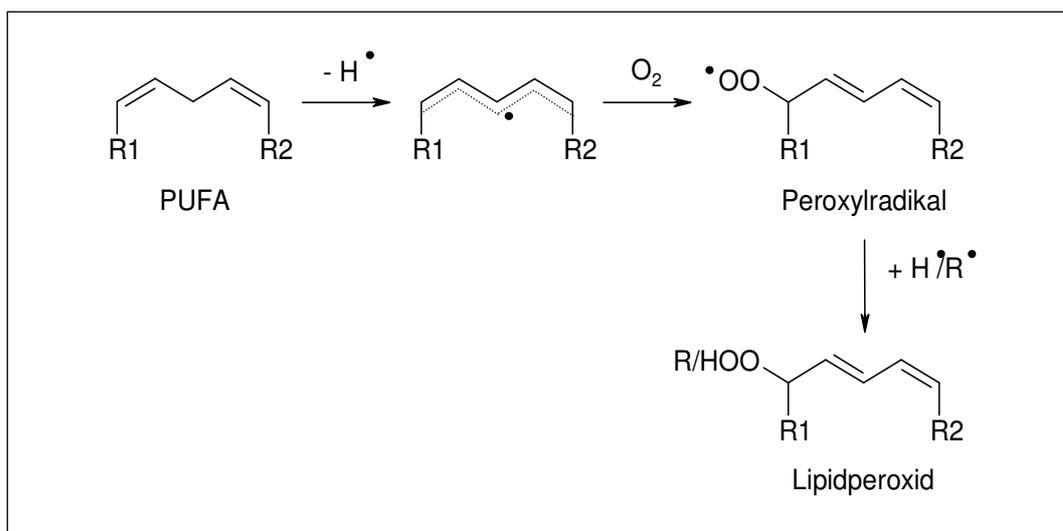


Abb. 10: Mechanismus der Lipidperoxidation am Beispiel einer PUFA.

Das Ausmass der Kettenreaktion in vitro wird durch den Sättigungsgrad der Fettsäuren, die Sauerstoff-Konzentration und die Anwesenheit von Katalysatoren (z.B. Eisen) oder Antioxidantien (z.B. α -Tocopherol) bestimmt.¹⁸⁷ (Auswirkungen in vivo vgl. A.1.6.2.1.)

Die Peroxide stellen im Oxidationsprozess instabile Intermediärprodukte dar, die weiter zu Aldehyden und Ketonen (Sekundärprodukte) und schliesslich zu Alkoholen und Fettsäuren (Tertiärprodukte) abgebaut werden.

D.1.1.2 Methodenwahl zur Peroxid-Quantifizierung

Die Verschiebung von den Peroxiden zu Aldehyden und Ketonen bietet die Möglichkeit, die Peroxidation über unterschiedliche Reaktionsprodukte zu messen. Bei der Wahl einer Methode zur Quantifizierung von Peroxiden muss man sich deren Spezifität bewusst sein.¹⁸⁵ In der HPLC beispielsweise werden nur Triglyceridhydroperoxide detektiert. Die iodometrische Titration nach einer Folch-Extraktion¹⁸⁸ erfasst ausschliesslich Lipidhydroperoxide, während mit der FOX-Methode der totale Peroxidgehalt gemessen wird.¹⁸⁹ Der Thiobarbitursäure-Test wiederum ist unspezifisch und spricht auch auf Kohlenhydrate und Aminosäuren an.¹⁹⁰ Es ist folglich problematisch, Peroxidwerte, welche mittels verschiedener Methoden bestimmt wurden, zu vergleichen.

Aufgrund des apparativen Aufwandes wurde die HPLC ausgeschlossen. Die Methode zur Peroxid-Quantifizierung muss den spezifischen Bedingungen der neonatologischen Nährlösungen möglichst entgegen kommen. In Frage kamen die iodometrische Titration oder die FOX-Methode. Im Hinblick auf den Einsatz für PN-Zubereitungen in der Neo wurden die Vor- und Nachteile beider Methoden abgewogen (vgl. Tab. 18).

Tab 18: Vor- und Nachteile der FOX-Methode und der iodometrischen Titration im Hinblick auf eine Anwendung auf neonatologische PN-Zubereitungen.

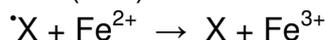
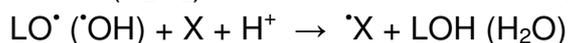
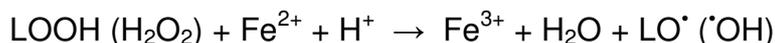
	FOX-Methode	Iodometrische Titration
Vorteile	<ul style="list-style-type: none"> - Probenvolumen ca. 100 µl; sensitiv - auch H₂O₂ wird erfasst - kein strikt anaerobes Milieu nötig - kein Extraktionsvorgang - Zeitaufwand 4 min pro Messung - Material SFr. 0.70 pro Messung - n-Propanol nur wenig toxisch, nur in kleinen Volumina 	<ul style="list-style-type: none"> - Referenzmethode mit definierten Grenzwerten - exakte Stöchiometrie - nach Extraktion hohe Spezifität
Nachteile	<ul style="list-style-type: none"> - keine exakte Stöchiometrie - zahlreiche Interaktionspotentiale - Reaktionskinetik muss ermittelt werden 	<ul style="list-style-type: none"> - H₂O₂ wird nicht erfasst - Probenmenge mind. 10 g - strikt anaerobe Bedingungen nötig - Zeitaufwand 15 min pro Messung - Material SFr. 5.00 pro Messung - grosse Volumina Chloroform

Die geringen Volumina in der Neo (Infusionsgeschwindigkeit meist $< 6 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$) und das hohe toxische Potential von H_2O_2 wurden stark gewichtet.

Die Pharmakopöe schreibt vor, dass beim Abweichen von einer offiziellen Methode sichergestellt sein muss, dass mit der Alternativmethode ein eindeutiger Entscheid gefasst werden kann, ob eine Substanz dem Arzneibuch entspricht.¹⁵¹ Daher muss die Korrelation der FOX-Methode gegenüber der iodometrischen Titration als Referenzmethode etabliert werden.

D.1.1.2.1 FOX-Methode: Eisen-oxidiertes Xylenolorange

Die FOX-Methode wurde erstmals 1973 von Gupta zur Quantifizierung von H_2O_2 beschrieben.¹⁹¹ Die Methode basiert auf einer raschen, durch Hydroperoxide vermittelten Oxidation von Fe^{2+} im sauren Milieu. Fe^{3+} bildet einen intensiv gefärbten, rot-blauen Komplex mit Xylenolorange mit einem Absorptionsmaximum bei 560 nm ¹⁹²:



LOOH = Lipidhydroperoxid, X = Xylenolorange

Die Methode erfasst Hydroperoxide relativ unspezifisch und zudem mit unterschiedlicher Empfindlichkeit. Acylhydroperoxide und Alkylhydroperoxide weisen eine ähnlich hohe Reaktivität auf, während Endoperoxide weniger oder gar nicht reagieren.¹⁹³ Die FOX-Methode erfasst in einer Fettemulsion demzufolge sowohl H_2O_2 in der wässrigen Phase als auch Lipidperoxide in der Fettphase.^{95,192}

Sind neben den Lipidperoxiden grosse Mengen an nicht peroxidierten Lipiden vorhanden, kann das kettenbrechende Reagens Butylhydroxytoluol (BHT) zugegeben werden.^{194,195} Diese Substanz verhindert, dass bei der Oxidation von Fe^{2+} zu Fe^{3+} entstehende Alkoxy-Radikale während der Analyse weitere Peroxide bilden.¹⁹⁵ Die Anwesenheit oxidierbarer Fettsäuren stört so die Methode nicht.¹⁹²

Die FOX-Methode stellt eine Konventionmethode dar. Das Vorgehen muss folglich standardisiert und exakt eingehalten werden.

- *Interaktionen*

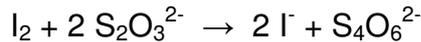
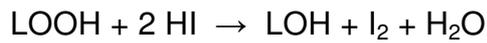
Ascorbinsäure^{95,193,196} und Acetat¹⁹⁶ weisen ein Interaktionspotential mit der FOX-Methode auf.

Proteine, Thiole, Glucose, Glycerol, nicht oxidierte Lipide (Cholesterol, Triglyceride) und α -Tocopherol führen zu keiner Interaktion mit der FOX-Methode.^{193,196}

D.1.1.2 Iodometrische Titration

Die iodometrische Titration hat sich als Referenzmethode für die Quantifizierung von Peroxiden in Fetten und Ölen durchgesetzt.¹⁵¹ Es handelt sich ebenfalls um eine Konventionenmethode.

In der Iodometrie reagieren Lipidhydroperoxide im sauren Milieu mit überschüssigem Iodid zu Iod, welches mit einer eingestellten Thiosulfat-Lösung zurück titriert wird:



LOOH = Lipidhydroperoxid, LOH = Alkohol

Liegen Gemische vor, in welchen die Lipidperoxide nicht direkt bestimmt werden können, muss vorgängig eine geeignete Extraktion durchgeführt werden. Für Soja-Lipide hat sich eine Extraktion nach Folch¹⁹⁷ mit Chloroform:Methanol = 2:1 bewährt.

In der Pharmacopöe wird die Peroxidbelastung von Lipiden als Peroxidzahl (POZ) dargestellt. Die Pharmacopöe gibt folgende Definition: „Die Peroxidzahl gibt die Peroxidmenge in Milliäquivalenten aktivem Sauerstoff an, die in 1000 g Substanz enthalten ist“.¹⁵¹

Die iodometrische Titration der Pharmacopöe war in der Spitalapotheke KSA für Lipidemulsionen und parenterale Nährlösungen modifiziert und validiert worden.^{93,188}

D.1.1.3 Experimentelle Fragestellungen zur Validierung der FOX-Methode

Ergänzend zu allgemeinen Zielsetzungen unter A.2:

- Als Referenzsubstanzen werden eine Lipidemulsion mit hoher Peroxidbelastung, H₂O₂, Cumolhydroperoxid (CuOOH) und *tert*-Butylhydroperoxid (TBH) eingesetzt.
- Das Interaktionspotential der FOX-Methode mit Ascorbinsäure, Acetat und Spurenelementen wird untersucht.
- Zur Etablierung einer Korrelation beider Methoden wird die FOX-Methode gegenüber der iodometrischen Titration als Referenzmethode validiert. Dazu muss untersucht werden, ob die Resultate der iodometrischen Titration den tatsächlich vorliegenden Stoffmengen entsprechen. Steger verglich anhand von CuOOH den ohne Extraktion ermittelten Gehalt (als 100% angenommen) mit jenem nach einer Folch-Extraktion. Er berechnete so eine Wiederfindung von 78.2%.⁹³ Es wird abgeklärt, ob mit der Titration ohne Extraktion tatsächlich 100% des Gehaltes an CuOOH wieder gefunden werden.
- Dieselbe Probe wird parallel mit der FOX-Methode und titrimetrisch bestimmt.
- Für beide Methoden wird die Praktikabilität bei den speziellen Gegebenheiten der Neonatologie beurteilt.

D.1.2 Material und Methoden zur Validierung FOX-Methode

- *Material*
 - Geräte Tab. 42, Anhang
 - Chemikalien Tab. 43, Anhang

Nährlösungen stellen ein chemisch hoch komplexes System dar. Zur Vereinfachung wurde eine reine Lipidemulsion mit Spiking durch die Referenzsubstanzen H_2O_2 , CuOOH und TBH (vgl. Tab. 19) als Modell herangezogen.

Tab. 19: Relative Molekülmasse, spezifische Dichte und Gehalt der Referenzsubstanzen.

Referenzsubstanz	M_r [g·mol ⁻¹]	Dichte [g·ml ⁻¹]	Gehalt [% (m/m)]
Wasserstoffperoxid (H_2O_2)	34.01	1.11	31.2
Cumolhydroperoxid (CuOOH)	152.20	1.025	79.9
<i>tert</i> -Butylhydroperoxid (TBH)	90.12	0.94	69.8

D.1.2.1 Spektrophotometrische Bestimmung mittels FOX-Methode

D.1.2.1.1 Vorgehen der FOX-Methode allgemein

Zur photometrischen Quantifizierung der Peroxide wurde von der FOX2-Methode ausgegangen.^{193,198} Die FOX2-Methode wurde weiter abgewandelt, indem Methanol durch n-Propanol ersetzt wurde.¹⁸⁹ Im Folgenden wird die modifizierte Methode als FOX-Methode bezeichnet.

- *FOX-Reagens*¹⁹⁹:
 - Teilreagens I*
 - 98.0 mg Ammoniumeisensulfat·6H₂O in ca. 90 ml Schwefelsäure 250 mmol·l⁻¹ gelöst
 - 76.1 mg Xylenolorange hinzugefügt und 10 min auf dem Magnetrührer gerührt
 - mit Schwefelsäure 250 mmol·l⁻¹ ad 100.0 ml ergänzt
 - Teilreagens II*
 - 970 mg Butylhydroxytoluol mit n-Propanol ad 1000.0 ml ergänzt
 - FOX-Mischreagens*
 - 1 Teil I + 9 Teile II gemischt

Die Komponenten I und II waren im KS während einer Woche stabil. Das Mischreagens wurde alle 12 h frisch vermengt. Das Mischreagens wird im Folgenden als FOX-Reagens bezeichnet.

In Polypropylen-Zentrifugenröhrchen mit Schraubdeckel wurden 1600 - 1900 µl FOX-Reagens vorgelegt. Es wurden 100 - 400 µl Probe (Ergänzung auf 2000 µl) zugefügt, das Röhrchen verschlossen und auf dem Vortex gemischt. Bei RT wurde im Dunkeln über folgenden Zeitraum inkubiert (vgl. D.1.3.1.1):

- H₂O₂ : 35 min
- CuOOH : 50 min
- TBH, Lipidemulsion : 60 min

Nach 5-minütiger Zentrifugation bei 3800·G ($G = 9.8065 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$) erfolgte die spektrophotometrische Messung bei 560 nm. Dazu wurde 1 ml des Überstandes in Polystyrol-Halbmikroküvetten pipettiert, zugedeckt und gegen einen Blindwert gemessen.

Die Berechnung der Peroxid-Konzentration (c) einer Lipidemulsion in $[\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}]$ erfolgte indirekt in Äquivalenten einer Referenzsubstanz über die Formel (1) und die Parameter a und b aus Tab. 20 bzw. 21.

D.1.2.1.2 Validierung der FOX-Methode

D.1.2.1.2.1 Komplexbildungskinetik der Referenzen

Die Bildungskinetik des Fe³⁺-Xylenorange-Komplexes in Anwesenheit der Hydroperoxide H₂O₂, CuOOH, TBH bzw. einer Lipidemulsion wurde ermittelt. Dazu wurden jeweils 100 µl einer wässrigen Lösung, die eine Absorption von etwa 0.5 erwarten liess, zu 1900 µl FOX-Reagens pipettiert. Ohne Zentrifugation wurde sofort die Absorption während mindestens 60 min alle ein bis zwei Minuten nach D.1.2.1.1 gemessen.

D.1.2.1.2.2 Linearer Absorptionsbereich und Bestimmungsgrenze

A) lipidfreies Milieu

Pro Referenzsubstanz wurden jeweils vier wässrige Stammlösungen hergestellt. Diese Lösungen wurden entsprechend verdünnt, um einen Konzentrationsbereich von etwa 120 - 0.01 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ zu erzielen.

Für die Messlösung wurden 1900 µl FOX-Reagens mit 100 µl Probenlösung versetzt und die Absorption nach entsprechender Inkubation gemessen.

Die grösste Verdünnung, welche noch im linearen Bereich lag, wurde als Bestimmungsgrenze definiert.

D) Lipidemulsion mit Spiking

Zur Bestimmung des linearen Bereiches der Lipidemulsion wurde eine Fettemulsion mit hohem Peroxidgehalt schrittweise mit frischer Lipidemulsion verdünnt. Für die tiefsten Konzentrationen wurde die frische Emulsion mit Aqua dest. weiter verdünnt. Anschliessend wurden 100 µl Lipidemulsion zu 1900 µl FOX-Reagens gemischt, 60 min inkubiert, zentrifugiert und die Absorption gemessen.

Um zu ermitteln, ob sich die Absorptionswerte für die Lipidemulsion und die Referenzsubstanzen additiv verhalten, wurde eine frische Lipidemulsion mit verschiedenen Mengen an H_2O_2 , CuOOH bzw. TBH gespikt.

D.1.2.1.2.3 Präzision

A) Intraday-Abweichungen

Zur Bestimmung der Intraday-Abweichung wurden 10 x 100 μl der wässrigen H_2O_2 -, CuOOH - und TBH-Referenzlösungen sowie einer 20%-igen Lipidemulsion zu 1900 μl FOX-Reagens pipettiert. Die Absorption wurde jeweils dreimal gemessen. Berechnet wurde die Intraday-Abweichung als relative Standardabweichung.

B) Interday-Abweichungen

Die Interday-Abweichung wurde nur für TBH bestimmt. Dieselbe Eichgerade (tiefgekühlt), bestehend aus 6 Lösungen, wurde über den Zeitraum von 14 Tagen fünfmal gemessen. Die Interday-Abweichung errechnete sich als relative Standardabweichung.

D.1.2.1.2.4 Interaktionspotential

Zur Überprüfung des Interaktionspotentials der FOX-Reaktion mit der hochkalorischen Standardnährlösung wurden Referenzlösungen analog zu Tab. 2 eingesetzt. Waren in einer Serie zur Reduktion der Einflussfaktoren eine oder mehrere Komponenten der PN nicht erwünscht, wurden deren Volumina durch destilliertes Wasser ersetzt.

- *Ascorbinsäure*

Einem Kind werden pro kg KG in 140 ml Nährlösung 10 mg (57 μmol) Ascorbinsäure verabreicht. Bei einer Verdünnung der Probenlösung von 1:20 mit FOX-Reagens resultiert eine Vitamin C-Konzentration von 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ in der Messlösung.

Um allfällige Effekte zu verstärken, wurden zusätzlich höhere Konzentrationen getestet. Vitamin C wurde in den Konzentrationen 20, 80 und 180 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (Messlösung) in Anwesenheit verschiedener Komponenten der PN nach 60 min Inkubation geprüft.

- *Spurenelemente (Peditrace[®])*

Ein ml Peditrace[®] (Zusammensetzung vgl. Tab. 37, Anhang) wurde mit Aqua dest. ad 140 ml verdünnt. Ein 100 μl -Aliquot wurde zu 1900 μl FOX-Reagens gegeben und nach 60 min Inkubation nach D.1.2.1.1 gemessen.

- *Acetat*

Im Bereich von 0.8 bis 25.0 mmol·l⁻¹ wurden für Natrium- und Kaliumacetat je 4 Referenzlösungen in destilliertem Wasser hergestellt und nach 60-minütiger Inkubation laut D.1.2.1.1 quantifiziert.

D.1.2.2 Iodometrische Titration

D.1.2.2.1 Vorgehen iodometrische Titration nach Folch-Extraktion

Die benötigte Probenmenge wurde in einen tarierten 100ml-Scheidetrichter exakt eingewogen bzw. pipettiert. Die Probe wurde mit 50.0 ml Folch-Extrakt (Chloroform: Methanol = 2:1) sowie 10 ml einer gesättigten NaCl-Lösung vermischt. Der Scheidetrichter wurde in 4 Sets jeweils während 10 s geschüttelt und belüftet. Nach der Extraktion wurde die Chloroform-Phase in einen 250ml-Braunglas-Erlenmeyerkolben mit Schliff transferiert und sofort mit 50 ml Essigsäure angesäuert. Die Emulsion wurde unter luftdichtem Verschluss auf einem Magnetrührer stark durchmischt und mit 500 µl frischer, gesättigter Kaliumiodid-Lösung versetzt. Exakt 60 s nach der Kaliumiodid-Zugabe wurde die Reaktion mittels 50 ml Aqua dest. gestoppt.⁹³ Unverzüglich wurde der Iod-Gehalt mit 0.01 mol·l⁻¹ Natriumthiosulfat in einer biamperometrischen Titration mit dem Titrino[®] bestimmt.

Mit destilliertem Wasser wurde ein Blindversuch nach demselben Verfahren durchgeführt.

Zur besseren Vergleichbarkeit der Resultate der Iodometrie mit jenen der FOX-Methode wurde anstelle der POZ die Stoffmenge pro Volumen nach (6) berechnet.

Stoffmenge (n) im Titrationsansatz:

$$n = \frac{(V_p - V_b) \cdot 10}{2} \text{ in } [\mu\text{mol}] \quad (6)$$

V_p Volumen Natriumthiosulfat-Lösung 0.01 mol·l⁻¹ für Probe in [ml]

V_b Volumen Natriumthiosulfat-Lösung 0.01 mol·l⁻¹ für Blindwert in [ml]

Wiederfindung (WF):

$$\text{WF} = 100 \cdot \frac{(V_p - V_b)}{V_{\text{theo}}} \text{ in } [\%] \quad (7)$$

V_{theo} theoretischer Verbrauch Natriumthiosulfat-Lösung 0.01 mol·l⁻¹ in [ml]

D.1.2.2.2 Vorgehen modifizierte iodometrische Titration nach Fluka

Zur Überprüfung des tatsächlichen Gehaltes der CuOOH-Lösung wurde die Methode des Herstellers (persönliche Kommunikation) eingesetzt.

Das Verfahren beinhaltete keine Extraktion. Zur Verdrängung von Sauerstoff wurde während der gesamten Analysendauer Trockeneis zu den Reaktionsgemischen gegeben. In einem 250ml-Braunglas-Erlenmeyerkolben mit Schliff wurden 50 ml Essigsäure vorgelegt und mit der entsprechenden Menge CuOOH versetzt. Es wurden 500 μ l frische, gesättigte Kaliumiodid-Lösung zugegeben und der Kolben mit einem Lichtschutzbeutel zugedeckt. Das Gemisch wurde unter Rühren 15 min bei RT inkubiert. Dann wurde die Reaktion mit 100 ml destilliertem Wasser gestoppt. Quantifiziert wurde mittels bipotentiometrischer Methode mit dem Titrino[®].

Mit Aqua dest. als Blindwert wurde analog verfahren.

D.1.2.2.3 Validierung der iodometrischen Titration

D.1.2.2.3.1 Wiederfindung nach einfacher Folch-Extraktion

Zur Ermittlung der WF wurde eine Bestimmung nach einer Einfachextraktion von CuOOH nach Folch durchgeführt und der Gehalt mit den Angaben des Herstellers verglichen.

Es wurden 12.5 μ mol CuOOH zu 50.0 ml Folch-Extrakt pipettiert. Der Ansatz wurde mit 10 ml gesättigtem NaCl versetzt und nach D.1.2.2.1 verfahren.

Die WF wurde nach der Formel (7) berechnet.

D.1.2.2.3.2 Wiederfindung nach Folch-Mehrfachextraktion

Um zu überprüfen, ob die Extraktion von CuOOH aus einer lipidfreien Mischung vollständig war, wurde eine Mehrfachextraktion durchgeführt. Dazu wurden 26.9 μ mol CuOOH zu 50.0 ml Folch-Extrakt pipettiert, mit 10 ml gesättigter NaCl-Lösung ausgeschüttelt und sofort nach D.1.2.2.1 quantifiziert. Anschliessend wurde die verbleibende Phase erneut dreimal mit 50.0 ml Folch-Extrakt extrahiert.

D.1.2.2.3.3 Wiederfindung bei erhöhter Inkubationszeit

Über die Erhöhung der Reaktionszeit nach Zugabe von 500 μ l gesättigter Kaliumiodid-Lösung wurde versucht, die WF der Titration zu verbessern.

A) CuOOH

Es wurden 13.5 μ mol CuOOH zu 50.0 ml Folch-Extrakt pipettiert und weiter nach D.1.2.2.1 verfahren. Die Inkubationszeit nach Zugabe der gesättigten Kaliumiodid-Lösung wurde von 30 über 60, 90, 120, 150, 180, 210 bis auf 240 s gesteigert und der entsprechende Verbrauch an Natriumthiosulfat erfasst.

B) Lipidemulsion

Möglichst exakt 10.0 g einer Lipidemulsion mit hoher Peroxid-Konzentration wurden in einen Scheidetrichter eingewogen und mit 50.0 ml Folch-Extrakt versetzt. Weiter wurde analog zu A) verfahren und der Thiosulfat-Verbrauch nach folgenden Inkubationszeiten erfasst: 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360 sowie 390 s.

D.1.2.2.3.4 Wiederfindung mittels modifizierter Methode nach Fluka

A) CuOOH

Zu den vorgelegten 50 ml Essigsäure mit Trockeneis wurden 13.5 μmol CuOOH-Lösung gegeben und der Verbrauch nach D.1.2.2.2 bestimmt.

Die WF wurde nach Formel (7) berechnet.

B) Lipidemulsion mit CuOOH

Eine Lipidemulsion mit hohem Peroxidanteil wurde mit 3.36 bzw. 6.73 μmol CuOOH in Wasser gespikt und nach D.1.2.2.2 quantifiziert. Es wurde darauf geachtet, dass die Einwaage der Lipidemulsion möglichst genau 10.0 g betrug.

D.1.2.3 Vergleich zwischen FOX-Methode und iodometrischer Titration

Um abschätzen zu können, ob die Dimension der mittels der FOX-Methode gemessenen Peroxid-Konzentration mit jener der iodometrischen Titration übereinstimmt, wurden drei Emulsionen mit beiden Methoden parallel bestimmt.

Als Proben diente einerseits eine frische Lipidemulsion. Andererseits wurde dieselbe Lipidemulsion mit 1 bzw. 2 ml einer Lipidemulsion mit einer POZ von ca. 15 $\text{mÄq O}\cdot\text{kg}^{-1}$ gespikt. Aus 100 μl Probe in 1900 μl FOX-Reagens wurde der Gehalt dreifach spektrophotometrisch nach D.1.2.1.1 bestimmt.

Während der Inkubation des FOX-Ansatzes wurden jeweils zweimal 22.0 g der drei obigen Lipidemulsionen nach D.1.2.2.1 extrahiert und titriert. In einer ersten Serie wurde nach der Zugabe von Kaliumiodid 60 s, in einer zweiten 360 s inkubiert.

Für den Vergleich der beiden Methoden wurden die Resultate wie folgt dargestellt:

- FOX-Methode : Peroxid-Konzentration in Lipidemulsion als $\mu\text{mol TBH}\text{-Äquivalente pro Liter}$ [$\mu\text{mol TBH}\text{-Äq}\cdot\text{l}^{-1}$] nach Formel (1) und Tab. 20.
- Iodometrie : Peroxid-Konzentration in [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] aus Stoffmenge nach Formel (6) und Probenvolumen.

D.1.3 Resultate zur Validierung der FOX-Methode

D.1.3.1 Spektrophotometrische Bestimmung mittels FOX-Methode

D.1.3.1.1 Komplexbildungskinetik der Referenzsubstanzen

Die Absorption stieg kontinuierlich an. Bei H_2O_2 wurde nach 32 min, bei CuOOH nach 47 min, bei TBH nach 59 min und bei der Lipidemulsion nach 58 min das Absorptionsmaximum erreicht. Bei allen Substanzen sank die Absorption nach Erreichen des Maximums innerhalb von 10 min um höchstens 0.23%.

D.1.3.1.2 Linearer Absorptionsbereich und Bestimmungsgrenze

A) lipidfreies Milieu

Die Parameter a und b zur Beschreibung der Eichgeraden sind der Tab. 20 zu entnehmen.

Als Bestimmungsgrenze wurde die untere Grenze des linearen Bereichs definiert (vgl. Tab. 20, 3. Spalte).

Tab. 20: Lineare Absorptions- und Konzentrationsbereiche der Referenzsubstanzen inklusive Parameter der Eichgeraden.

Substanz	Absorptionsbereich	Messlösung [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]	Parameter Eichgerade		
			Steigung (a)	y-Achse (b)	Korrelation (r)
H_2O_2	0.023 - 1.31, n = 11	0.06 - 36.7	0.03440	0.06365	0.9983
CuOOH	0.011 - 1.45, n = 11	0.22 - 17.5	0.08470	0.01528	0.9983
TBH	0.019 - 1.50, n = 10	0.58 - 19.8	0.07829	0.01779	0.9976

B) Lipidemulsion mit Spiking

Von den Messpunkten der gespikten Eichgerade wurde die Absorption der Lipidemulsion ohne Spiking subtrahiert (vgl. Tab. 21). Verliefen die beiden Geraden parallel, so wurde Additivität der beiden anwesenden Peroxidtypen angenommen. In der gespikten Lipidemulsion verhielten sich die Absorptionen für alle drei Referenzsubstanzen additiv.

Als Bestimmungsgrenze wurde die untere Grenze des linearen Bereichs definiert (vgl. Tab. 21, 3. Spalte).

Tab. 21: Lineare Absorptions- und Konzentrationsbereiche einer Lipidemulsion einzeln und gespikt mit Referenzsubstanzen inklusive Parameter der Eichgeraden.

Substanz	Absorptionsbereich	Messlösung [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]	Parameter Eichgerade			Additivität
			Steigung	y-Achse	Korrel. (r)	
LipEm20%	0.036 - 1.39, n = 13	0.37 - 17.5*	2.1263	0.0014	0.9976	-
+ H ₂ O ₂	0.121 - 1.65, n = 12	0.81 - 47.6	0.0332	0.1434	0.9989	ja
+ CuOOH	0.088 - 1.55, n = 13	0.23 - 17.7	0.0832	0.1404	0.9968	ja
+ TBH	0.041 - 1.14, n = 10	0.34 - 11.7	0.0985	0.0431	0.9983	ja

* [$\mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$]

D.1.3.1.3 Präzision der FOX-Methode

A) Intraday-Abweichungen

Die relativen Standardabweichungen von 30 Messungen am selben Tag lagen bei 2.4% für LipEm20%, 1.8% für H₂O₂, 1.2% für CuOOH bzw. 1.8% für TBH (je n = 30).

B) Interday-Abweichungen

Die maximale Standardabweichung bei fünffacher Messung der sechs TBH-Lösungen über den Zeitraum von 14 Tagen ergab 4.2% (n = 5 x 6).

D.1.3.1.4 Interaktionspotential der FOX-Methode

- **Ascorbinsäure**

Die Quantifizierung in Anwesenheit von Ascorbinsäure ergab folgende Tendenzen:

- Ascorbinsäure-Konzentration in Messlösung 20 - 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$:
die Absorption der analogen Lösung ohne Vitamin C wurde durch Zugabe des Vitamins verringert (falsch negativ).
- Ascorbinsäure-Konzentration in Messlösung $\geq 180 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$:
die Absorption der analogen Lösung ohne Vitamin C wurde durch Zugabe des Vitamins erhöht (falsch positiv).

- **Spurenelemente (Peditrace[®])**

Die Absorptionzunahme durch Peditrace[®] betrug rund 2% gegenüber dem Blindwert.

- **Acetat**

Acetat wies konzentrationsabhängige Absorptionswerte auf. Im Konzentrationsbereich, in welchem Acetat in der PN vorliegt (0.8 bis 1.8 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ bei 20-facher Verdünnung), betrug die Absorption maximal 0.06.

D.1.3.2 Iodometrische Titration

D.1.3.2.1 Wiederfindung nach einfacher Folch-Extraktion

Die WF nach einer Einfachextraktion nach Folch lag für CuOOH bei $51.1 \pm 2.40\%$ ($n = 3$).

D.1.3.2.2 Wiederfindung nach Folch-Mehrfachextraktion

Die Mehrfachextraktion wurde nach 4 Zyklen beendet, da der Verbrauch mit durchschnittlich 0.047 ml im Bereich des Blindwertes (0.042 ml) lag (vgl. Tab. 22).

Die WF nach vierfacher Extraktion lag bei $58.0 \pm 0.28\%$.

Tab. 22: Wiederfindung von COOH mittels iodometrischer Titration nach Folch-Mehrfachextraktion. Zur Berechnung der relativen WF wurde ein Extraktionsgrad aller vier Durchgänge von 100% angenommen.

Parameter	1. Extraktion	2. Extraktion	3. Extraktion	4. Extraktion	Summe 1 - 4
n =	3	3	3	3	12
Verbrauch \pm SD [ml]	2.878 ± 0.005	0.111 ± 0.010	0.087 ± 0.005	0.047 ± 0.006	3.123 ± 0.015
WF absolut \pm SD [%]	53.4 ± 0.09	2.1 ± 0.19	1.6 ± 0.09	0.9 ± 0.11	58.0 ± 0.28
WF relativ \pm SD [%]	92.2 ± 0.17	3.6 ± 0.32	2.8 ± 0.18	1.4 ± 0.16	100.0

D.1.3.2.3 Wiederfindung bei erhöhter Inkubationszeit

Die Erhöhung der Inkubationszeit bewirkte sowohl bei CuOOH als auch bei der Lipidemulsion einen Anstieg des Thiosulfat Verbrauchs.

Bei 240 s Inkubationszeit wurde die Serie mit CuOOH abgebrochen, da der Verbrauch bereits 104.3% des Sollwertes betrug.

Der maximale Thiosulfat-Bedarf für die Lipidemulsion wurde nach 360 s Inkubationszeit erreicht. Darüber sank der Verbrauch wieder.

D.1.3.2.4 Wiederfindung mittels modifizierter Methode nach Fluka

A) CuOOH

Die Direktbestimmung mit der Fluka-Methode ergab für die unverdünnte CuOOH-Stammlösung einen Gehalt von 76.6% (m/m). Die WF gegenüber den Angaben des Herstellers (79.9%) betrug somit $95.9\% \pm 0.51\%$ ($n = 3$).

B) Lipidemulsion mit CuOOH

Beim Spiking verhielten sich CuOOH und die Lipidemulsion nicht additiv. Es konnte kein Zusammenhang zwischen der gespikten Menge und dem Thiosulfat-Verbrauch gefunden werden.

D.1.3.3 Vergleich zwischen FOX-Methode und iodometrischer Titration

Beim Vergleich des Peroxidgehalts dreier Lipidemulsionen parallel mit beiden Methoden ergab sich ein linearer Zusammenhang (vgl. Abb. 11). Die Gerade für 360 s Inkubation bei der Iodometrie verlief etwas steiler und war im Vergleich zu jener für 60 s nach oben verschoben.

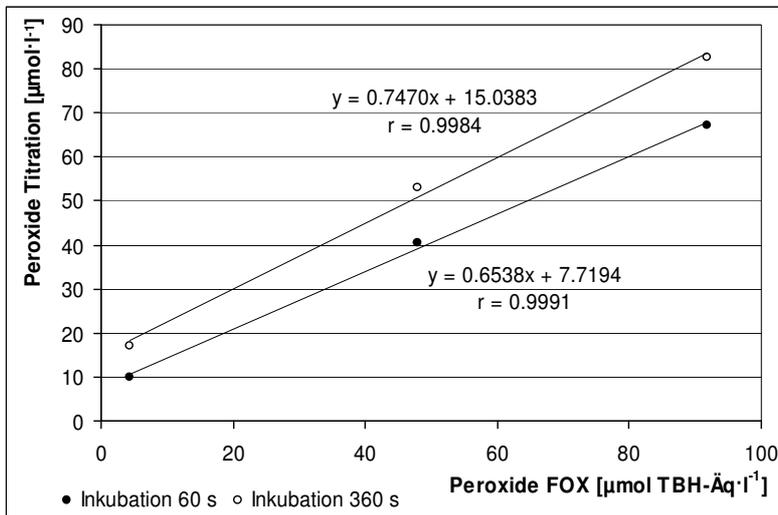


Abb. 11: Korrelation zwischen der FOX-Methode und der iodometrischen Titration ($n = 3$). Eine Serie der Titration wurde 60 s, die andere 360 s inkubiert.

D.1.4 Diskussion zur Validierung der FOX-Methode

D.1.4.1 Spektrophotometrische Bestimmung mittels FOX-Methode

Da Methanol zu polar ist ($P' = 5.1$), um die Soja-Öle aufzunehmen, wurde er durch den apolareren n-Propanol ($P' = 4.0$) ersetzt.²⁰⁰

Zahlreiche Autoren empfehlen den Einsatz von BHT in Anwesenheit von oxidierbaren Lipiden.^{102,193,195,198,201,202} Es existieren jedoch auch Hinweise auf zu tiefe Messwerte in Gegenwart von BHT.^{95,192,203} So erhielten Grau und Mitarbeiter durch Zugabe von BHT zum FOX-Reagens für Linolensäure-Hydroperoxid 17.2% tiefere Peroxid-Konzentrationen als beim Experimentieren unter N_2 -Schutz ohne BHT.²⁰³

Der Einfluss von BHT wurde in der vorliegenden Arbeit nicht näher untersucht.

In den meisten Literaturstellen wird der Xylenolorange-Komplex als blau-violett bezeichnet. In den Experimenten war der Komplex bei geringer Konzentration an Peroxiden rotbraun gefärbt. Beim Übergang der Färbung zu blau-violett mit steigender Peroxid-Konzentration konnte eine Abschwächung des Signals festgestellt werden. Eine blauviolette Färbung gibt vermutlich einen Hinweis auf zu wenig Xylenolorange, um Fe^{3+} vollständig komplexieren zu können.²⁰⁴ Um einer Abschwächung des Signals entgegenzuwirken, muss die Xylenolorange-Konzentration im FOX-Reagens erhöht werden. In den Versuchen wurde immer ein molarer Überschuss an Xylenolorange gegenüber der Peroxidmenge eingehalten.

D.1.4.1.1 Validierung der FOX-Methode

Eine Wiederfindung wurde nicht bestimmt, da kein Extraktionsschritt nötig war. Die Zentrifugation diente der Abtrennung von in n-Propanol gefällten Salzen der PN.

- *Komplexbildungskinetik*

Die Reaktionskinetik und somit die Inkubationszeit hängt von der Struktur der Peroxide ab. Unter den vorliegenden Bedingungen benötigten die Reaktionen mit H_2O_2 32 min, mit $CuOOH$ 47 min bzw. mit TBH und der Lipidemulsion knapp 60 min. In der Literatur sind Inkubationszeiten von 15 - 30 min^{95,193,195,196,201} bis zu 2 Tagen¹⁹² beschrieben.

Für die FOX-Methode muss für jede Art von Peroxiden zuerst die Kinetik bestimmt und die Inkubationszeit festgelegt werden. Beim Vergleich von Resultaten muss man sich der unterschiedlichen Definition des Messzeitpunktes bewusst sein.

- *Linearer Bereich*

Die Geradengleichungen für den linearen Bereich für $CuOOH$ und TBH verliefen mehr oder weniger deckungsgleich (vgl. Tab. 20). Die Gerade für H_2O_2 unterschied sich insbesondere durch ihre rund halb so hohe Steigung von den anderen. Eine mögliche Erklärung lautet wie folgt: Peroxide differieren in der Stöchiometrie der Redoxreaktion.

Während für H_2O_2 pro Hydroperoxid-Gruppe (-OOH) rund 2.5 Fe^{2+} zu Fe^{3+} oxidiert werden, entstehen bei CuOOH und TBH 5 Fe^{3+} pro -OOH.¹⁹⁶

Die bestimmten linearen Bereiche (vgl. Tab. 20) lagen in derselben Größenordnung wie in der Literatur beschrieben: Für CuOOH wurden 0.2 - 21.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ²⁰³, für H_2O_2 0 - 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ²⁰² bzw. 0 - 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ für Hydroperoxide allgemein²⁰⁵ angegeben.

Oberhalb des linearen Bereichs war eine Punkteschar mit flacherer Geradensteigung zu erkennen. Innerhalb des linearen Bereichs war ebenfalls eine geringe Tendenz zu Clustern auszumachen. Bei einer Eichung soll der Bereich demzufolge eng gehalten werden, um nicht über mehrere tendenzielle Cluster zu quantifizieren.

- **Präzision**

Die Intraday-Abweichungen von 1.8 - 2.4% bei einer Interday-Abweichung von 4.2% lassen auf eine ausreichende Reproduzierbarkeit der FOX-Methode schliessen.

Es sind kaum Angaben zur Präzision der FOX-Methode zu finden. Für Hühnerfleisch wird ein Bereich von 7.4 - 8.9% angegeben.²⁰³ Lediglich die Gruppe von Laborie unterschied zwischen Intraday- (4%) bzw. Interday-Variation (5%).²⁰¹

D.1.4.1.2 Entscheid für definitive Referenzsubstanz

Aufgrund der chemischen Struktur sowie der Reaktionskinetik wurde TBH gewählt. TBH ist zwar verzweigt und weist mit 4 C im Vergleich zu den Fettsäuren (C_{16} oder C_{18}) eine sehr kurze Kohlenstoff-Kette auf, ist aber den Lipidperoxiden ähnlicher als CuOOH. Als zyklisches Molekül weist CuOOH kaum strukturelle Verwandtschaft mit den aliphatischen Fettsäuren auf.

Zudem benötigte TBH analog zur Lipidemulsion eine Inkubationszeit von 60 min.

D.1.4.1.3 Interaktionspotential der FOX-Methode

- **Ascorbinsäure**

Die Interaktion mit Ascorbinsäure war konzentrationsabhängig (vgl. D.1.3.1.4).

Laut Wolff wurde das Signal in Anwesenheit von $< 20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ Ascorbinsäure abgeschwächt, da Fe^{3+} zu Fe^{2+} reduziert wird. Die Forschergruppe stellte eine Zunahme der Absorption bereits mit Vitamin C-Konzentrationen oberhalb $50 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ fest. Sie führte dieses Phänomen auf die langsame, Fe^{3+} -katalysierte Oxidation von Ascorbinsäure zu H_2O_2 zurück.¹⁹⁵ Hingegen erwartete Nourooz erst ab Konzentrationen über $200 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ eine Verstärkung des Signals.¹⁹⁹

Das Interaktionspotential von Ascorbinsäure ist unbestritten und schliesst eine Anwendung der FOX-Methode in Anwesenheit dieses Vitamins aus. Falls die FOX-Methode in Gegenwart von Vitamin C dennoch angewendet werden soll, müsste letzteres mittels einer Extraktion entfernt werden.¹⁸⁹

- *Spurenelemente (Peditrace[®])*

Kupfer kann in Komplexen theoretisch 3-wertige Kationen ausbilden. Cu^{3+} könnte durch Xylenolorange ebenfalls komplexiert werden. Spurenelemente in Form von Peditrace[®], in der Konzentration, in welcher sie in der Standardlösung vorliegen, hoben die Absorption nur um etwa 2% gegenüber dem Blindwert. Zur Kompensation sollen Spurenelemente zum Blindwert gegeben werden.

- *Acetat*

In ¹⁹⁶ wird darauf hingewiesen, dass die FOX-Methode sehr empfindlich ist gegenüber pH-Verschiebungen. Da Acetat zu einer leichten pH-Anhebung führt, ist eine Störung der Komplexbildung nicht auszuschliessen. Unter den in einer Nährlösung vorliegenden Konzentrationsverhältnissen war der Effekt jedoch nicht relevant und durch den Blindwert kompensierbar.

Die FOX-Methode erwies sich als schnelle, reproduzierbare und kostengünstige Methode, um verschiedene Peroxid-Arten mit technisch einfachen Mitteln zu quantifizieren. Die nicht exakt definierte Stöchiometrie zwischen verschiedenen Hydroperoxiden und dem erzeugten Fe^{3+} stellt allerdings einen Unsicherheitsfaktor dar.²⁰⁶ Aus diesem Grund wurde die FOX-Methode gegenüber der iodometrischen Titration, welche eine fixe Stöchiometrie (vgl. D.1.1.2.2) aufweist, validiert.

D.1.4.2 Iodometrische Titration

- *Wiederfindung*

Die Wiederfindung (WF) mittels der Titration nach einer einfachen Folch-Extraktion betrug 51 - 53%. Die WF lag deutlich unterhalb der in ⁹³ angegebenen 78%. Die Differenz ist vermutlich auf die Definition der WF zurückzuführen. Die 78% ergaben sich aus dem Vergleich einer extrahierten mit einer nicht extrahierten CuOOH -Referenzlösung. Die WF von 78% bezieht sich ausschliesslich auf den Extraktionsschritt. Andere Autoren ermittelten die WF nach Folch-Extraktion mittels radioaktiv markierter 15-Hydroperoxy-eicosatetraensäure und fanden $81 \pm 3\%$ der eingesetzten Stoffmenge wieder.¹⁹⁴ Man kann also davon ausgehen, dass rund 20% des Peroxids in der wässrig-methanolischen Phase zurückbleiben. Ein möglicher Grund für die unvollständige Extraktion ist die Entstehung einer recht stabilen Emulsion beim Waschen der organischen Phase mit gesättigtem NaCl .²⁰⁷ Diese Emulsion erlaubte keine vollständige Abtrennung der Chloroformphase.

Durch eine mehrfache Extraktion wurde eine Verbesserung der WF angestrebt. Die WF lag nach der ersten Extraktion bei rund 53%, was relativ gesehen 92% der insgesamt in

vier Zyklen extrahierbaren CuOOH-Menge entsprach. In den weiteren drei Extraktionsschritten konnte die WF um lediglich 5% gesteigert werden.

Diese Resultate sind vergleichbar mit publizierten Ergebnissen: Die WF mit ^{14}C -markierter Linolsäure lag bei 78% für die erste, 7% für die zweite bzw. 1% für die dritte Extraktion nach Folch (absolute Prozentangaben).²⁰⁸

Es bleibt die Frage nach den verbleibenden knapp 30% bis zur vollständigen WF für CuOOH. Eine mangelnde Stabilität von CuOOH konnte anhand der Titration nach Fluka ausgeschlossen werden (WF 96%). Folglich wurde angenommen, dass sich die iodometrische Titration nach Steger nicht eignet zur absoluten Quantifizierung von CuOOH. Eine mangelnde Reaktivität von CuOOH könnte die Ursache sein. Pryor wies auf eine Abhängigkeit der Reduktionsgeschwindigkeit des Iodids von der chemischen Struktur des Peroxids hin.²⁰⁹ Folglich wurde die Reaktionszeit mit Iodid in mehreren Schritten erhöht. Dadurch konnte eine Verbesserung der WF verzeichnet werden. Daraus lässt sich schliessen, dass die Reaktion nach 60 Sekunden Inkubation noch nicht abgeschlossen ist.

Die Modifikation mit erhöhter Inkubationszeit wurde jedoch nicht weiter verfolgt, da nicht schlüssig war, ob der steigende Thiosulfat-Verbrauch auf einer Reaktion des Iodids mit noch nicht umgesetzten Peroxiden oder aber mit Luftsauerstoff beruhte. Ausserdem wurde auf die Addition von freiem Iod an Mehrfachbindungen und die Freisetzung von Iod aus Kaliumiodid als Fehlerquellen hingewiesen.²¹⁰

Die Methode nach Fluka eignete sich nicht zur Quantifizierung von CuOOH in Anwesenheit von Lipiden. Die beiden Peroxid-Arten verhielten sich nicht additiv. Diese Tatsache erhärtet obige Annahme einer Abhängigkeit der Reduktionsgeschwindigkeit der Peroxide durch Iodid von der Peroxid-Struktur. Während für CuOOH 15 Minuten Inkubationszeit nötig waren, zersetzten sich die Lipidhydroperoxide in der Zwischenzeit allenfalls bereits zu Sekundärprodukten (vgl. D.1.1.1).

Die Pharmacopöe und die IUPAC weisen darauf hin, dass sich die Peroxidzahl ausschliesslich auf das beschriebene Vorgehen bezieht.^{151,211} Dies deutet den relativen Charakter der POZ an. Wie die eigenen Untersuchungen ergaben, darf die POZ keinesfalls als absolute Peroxid-Konzentration angesehen werden. Sie stellt vielmehr ein Abbild der Verhältnisse unter den beschriebenen Bedingungen dar und lässt die Vollständigkeit der Redoxreaktion ausser Acht.

D.1.4.3 Vergleich zwischen FOX-Methode und iodometrischer Titration

Wie der Abb. 11 zu entnehmen ist, wiesen die TBH-Äquivalente der FOX-Methode in $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ dieselbe Grössenordnung auf wie die Peroxid-Konzentration in $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ der Iodometrie. Zwischen den Resultaten beider Methoden bestand eine lineare Korrelation. Diese muss aber mit Vorsicht betrachtet werden, da einige Unsicherheitsfaktoren vorlagen:

- Es wurden nur drei Konzentrationen untersucht.
- Die Stöchiometrie der Redoxreaktionen verschiedener Peroxide in der FOX-Reaktion ist nicht geklärt.
- Die FOX-Methode erfasst auch H_2O_2 , während dieses bei der Titration durch die Extraktion abgetrennt wird. So lagen die Resultate der FOX-Methode für Sojaöl 22 - 38% höher als jene der iodometrischen Titration.²¹² Wie in Abb. 11 zu erkennen, lagen die Resultate der FOX-Methode jedoch nicht durchwegs höher als jene der Iodometrie.
- Beide Methoden liefern nur relative Werte.

Die Gleichwertigkeit der beiden Methoden konnte somit nicht definitiv beurteilt werden.

Die FOX-Methode wurde der Titration vorgezogen, obwohl es sich dabei nicht um eine Arzneibuch-Methode handelt. Es sind folgende Gründe aufzuführen:

- Die FOX-Methode ist aufgrund ihres geringen Probenbedarfs besser an die Gegebenheiten der Neo angepasst. Dank des Volumens von ca. 100 μl pro Messung sind auch bei PN-Volumina um 140 $\text{ml}\cdot\text{d}^{-1}$ über 24 h regelmässige Mehrfachbestimmungen und dadurch eine statistische Absicherung möglich.
- Die FOX-Methode führt im Hinblick auf die Anwendung zur Beurteilung von relativen Konzentrationsunterschieden an Peroxiden beim Einwirken verschiedener Stressfaktoren rasch und kostengünstig zu aussagekräftigen Resultaten.
- Da die Pharmakopöe keine Untersuchung der Arzneimittel-Stabilität bei der Applikation registrierter Produkte vorschreibt, ist die Abweichung von der offiziellen Methode juristisch zulässig. Die eingesetzten Präparate (Lipovenös[®] 20%, Vitalipid[®] N Infant) sind in der Schweiz registriert.

D.1.4.4 Folgerungen zur Validierung der FOX-Methode

- Weder mit der iodometrischen Titration noch mit der FOX-Methode können absolute Peroxid-Konzentrationen bestimmt werden. Die beiden Methoden eignen sich jedoch für die Quantifizierung von Konzentrations-Verläufen.
- Für die folgenden Versuche (vgl. D.2) wird die FOX-Methode mit TBH als Referenzsubstanz eingesetzt, da diese im Bereich der neonatologischen PN besser praktikabel ist. Um den relativen Charakter der Resultate zu verdeutlichen, werden diese in [$\mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$] dargestellt.
- Die Interaktion zwischen Ascorbinsäure und der FOX-Methode schliesst deren Anwendung in Anwesenheit von Ascorbinsäure aus. Für die Anwendung der FOX-Methode auf eine Nährlösung müssen die wasserlöslichen Vitamine (Ascorbinsäure) weggelassen werden.

D.2 Stabilität bei Applikationssimulation der kompletten Standardnährlösungen

D.2.1 Einleitung zur Stabilität bei Applikationssimulation

D.2.1.1 Pharmazeutisch-praktische Aspekte zur Stabilität

D.2.1.1.1 Physikalische Stabilität von parenteralen Nährlösungen

Die Qualität einer Lipidemulsion wird durch die Tröpfchengrösse und -verteilung bestimmt. Die Hauptpopulation der LT in parenteralen Lipidemulsionen weist einen Durchmesser zwischen 0.2 und 0.5 μm auf.^{20,71,213,214} Mehta stellte in einer stabilen, kommerziellen Fettemulsion vereinzelt LT im Bereich von 25 - 40 μm fest.²¹⁵ Die Phospholipid-Mizellen und -Liposomen liegen im Grössenbereich von 0.01 - 0.1 μm .⁷³ In stabilen Emulsionen liegen insgesamt Teilchen zwischen 0.01 und 40 μm vor.

D.2.1.1.1.1 Methoden zur Beurteilung der physikalischen Stabilität

Driscoll warnte vor der ausschliesslich visuellen Inspektion von Lipidemulsionen zur Beurteilung der physikalischen Stabilität. Er hielt fest, dass nur etwa die Hälfte der mittels sensitiveren Methoden für instabil befundenen Emulsionen auch visuell als solche erkannt wurde.¹⁵⁰

Die heute verfügbaren Methoden zur Teilchengrössen-Bestimmung können nicht den ganzen Bereich von 0.01 - 40 μm abdecken. Jede Analyse weist ihren typischen Sensitivitätsbereich auf. Oftmals ist eine Kombination verschiedener Methoden sinnvoll:

- Lichtmikroskopie (1 - 100 μm)
- Photonen-Korrelationsspektroskopie (0.003 - 1 μm)
- Laserdiffraktometrie (0.5 - 300 μm)
- Single Particle Optical Sizing (1 - 150 μm)
- Coulter[®]-Counter (0.8 - 300 μm)

Zu den Eigenschaften dieser Methoden sei auf die Literatur verwiesen.^{76,150,216-220}

Zur Beurteilung der Stabilität von Fettemulsionen besteht in der Spitalapotheke KSA die lichtmikroskopische Methode nach Schmutz (vgl. D.2.2.3.1).¹⁰⁴ Die Methode war gegenüber dem Coulter[®]-Messverfahren sowie der Photonen-Korrelationsspektroskopie validiert worden. Die Mikroskopie weist den Vorteil auf, dass eine beginnende Destabilisierung anhand weniger vergrösserter Fetttröpfchen beobachtet werden kann, bevor sich diese in einer Verschiebung des mittleren Teilchendurchmessers (z-Mittel) der Photonen-Korrelationsspektroskopie niederschlägt.¹⁰⁴ Die Mikroskopie erwies sich als reproduzierbar und sensitiv gegenüber Stabilitätsveränderungen in Lipidemulsionen.²²¹

Die Lichtmikroskopie hat ihre Sensitivität im physiologisch relevanten Bereich von 1 bis 100 μm . Teilchen über 1 μm stellen laut Müller eine destabilisierte Subpopulation dar,

welche zum Wachstum neigt.²²² Zur Beurteilung der Stabilität von Fettemulsionen ist nicht nur die vergrößerte Subpopulation $> 1 \mu\text{m}$, sondern auch die Homogenität und Feinheit der Emulsion insgesamt wichtig.²¹⁵ Die lichtmikroskopische Methode von Schmutz bezieht Parameter zur Struktur mit ein (vgl. Population $> 2 \mu\text{m}$).¹⁰⁴

Ferner können mittels der Mikroskopie Aggregate erkannt und Fetttröpfchen von allfälligen Ausfällungen unterschieden werden.

Als einzige Methode verwendet die Lichtmikroskopie bei 20%-igen Lipidemulsionen unverdünnte Proben. Bei einer Verdünnung kann es zur Redispergierung von Aggregaten und somit zur Verfälschung der Probencharakteristik kommen.²²³

Die Mikroskopie lässt sich im Gegensatz zu den optischen Verfahren und der Coulter[®]-Technik in jeder Spitalapotheke durchführen, da ein Lichtmikroskop zur Standardausrüstung des analytischen Labors gehört.

D.2.1.1.2 Chemische Stabilität von parenteralen Nährlösungen

Neben der Zusammensetzung der PN (vgl. A.1.6.2) haben äussere Faktoren einen entscheidenden Einfluss auf die chemische Stabilität einer Nährlösung:

- In Inkubatoren für Frühgeborene (= Isoletten) beträgt die Temperatur rund 36°C . Die meisten Stabilitätsuntersuchungen beziehen sich auf RT und sind daher kaum auf die Neo anwendbar. Die Geschwindigkeit vieler Reaktionen verdoppelt sich bei einem Temperaturanstieg um 10°C .
- UV-Licht beschleunigt den Abbau einiger Komponenten. Bei Frühgeborenen kommt häufig eine zusätzliche Belastung durch Phototherapie-Licht hinzu (vgl. D.2.1.2.1.2).
- Bei der Produktion der PN tritt Sauerstoff zu den zuvor unter Schutzgas gelagerten Komponenten. Zudem sind die verwendeten, einschichtigen Nutrimix[®]-Beutel⁹³ und die Infusionsleitungen gasdurchlässig. Wegen der geringen Volumina bei Neugeborenen und den daraus resultierenden langen Verweilzeiten in den Infusionsleitungen ist der Sauerstoffkontakt besonders ausgeprägt.

Unter Routine-Bedingungen in der Neo sind die Nährlösungen den destabilisierenden Stressfaktoren folglich besonders intensiv ausgesetzt.

D.2.1.1.2.1 Methoden zur Beurteilung der chemischen Stabilität

Die FOX-Methode erwies sich als geeignet, um die Entwicklung der Peroxid-Konzentration während der Applikation einer Nährlösung zu verfolgen (vgl. D.1.4.3).

D.2.1.2 Simulation der klinischen Anwendung der PN in vitro

D.2.1.2.1 Applikation der PN auf der neonatologischen Intensivpflegestation

Die Osmolalität der hochkalorischen Standardnährlösung Neo KSA beträgt ohne Fett $940 \text{ mosm}\cdot\text{kg}^{-1}$, mit Lipovenös® 20% $850 \text{ mosm}\cdot\text{kg}^{-1}$ (vgl. Tab. 2). Die Standardregime müssen daher stets zentralvenös appliziert werden.

In der Neonatologie erfolgt die Applikation der PN meist als TPO-System (vgl. A.1.2.4). Liegt das Volumen der wässrigen Phase unter 100 ml pro Tag, wird die PN mittels Perfusoren® (Spritzenpumpen) infundiert. Dazu werden die wässrige Phase (in 2 Teilportionen) und die Fettemulsion in zwei separate 50ml -Spritzen aufgezogen und mit zwei Perfusoren® kontinuierlich über 24 h gefördert.

Übersteigt das Volumen der wässrigen Phase $100 \text{ ml}\cdot\text{d}^{-1}$, wird eine Infusionspumpe (Schlauchquetschsystem) verwendet. Hierzu wird der Infusionsbeutel bzw. die Infusionsflasche direkt mit dem Infusionsbesteck angestochen.

Da die Relation von Volumen zu Oberfläche bei Volumina $< 100 \text{ ml}\cdot\text{d}^{-1}$ ungünstiger ist, werden für die experimentellen Untersuchungen Perfusoren® eingesetzt.

D.2.1.2.1.1 Schutz vor Tageslicht und Sauerstoff

Ein Ausschluss von Sauerstoff ist weder bei der Produktion noch bei der Applikation möglich. Folglich kann die Peroxidbildung nur durch einen strikten Lichtschutz eingedämmt werden.¹⁰²

Dazu werden die Infusionsflaschen bzw. -beutel mit einem Lichtschutzbeutel umhüllt und lichtgeschütztes Infusionsbesteck eingesetzt.⁹²

Auf der Neo-IPS KSA wurde die wässrige Phase bisher über transparente Infusionsleitungen aus Polyethylen appliziert. Die Lipidphase wurde in schwarze Spritzen aufgezogen und über schwarze Infusionsleitungen aus Polyvinylchlorid verabreicht (vgl. Abb. 12, rechts).

Schwarze Leitungen gewähren zwar einen optimalen Lichtschutz, machen jedoch eine Beobachtung von Luftblasen, Entmischungen oder Fällungen unmöglich. Daher wurde ein transparentes Set als Ersatz gesucht. Das transparente Set muss einen ebenso effizienten Lichtschutz ausweisen.

Ein orange gefärbtes Infusionsbesteck aus Polyethylen und orange Spitzen wurden als Ersatz evaluiert (vgl. Abb. 12, links). Die orangefarbenen Leitungen und Spritzen sind transparent.

Eine entscheidende Rolle spielt der Innendurchmesser der Leitungen, da er die Verweildauer im System bestimmt. Das als Alternative zu den schwarzen Leitungen (Innendurchmesser 1.5 mm) ausgewählte Set Heilbronn II weist einen Innendurchmesser von 0.7 mm auf. Das gesamte Totvolumen im orangenen Applikationssystem (vgl. Abb. 12, links) beträgt 2.4 ml , jenes im schwarzen (vgl. Abb. 12, rechts) 5.2 ml . Dementsprechend beträgt die Passagedauer der Lipidemulsion durch die Infusionsleitung (inkl.

Dreiweghähne und Zugangsleitung) bei der Flussgeschwindigkeit $0.1 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ im orangenen System ungefähr 7 h, im schwarzen 28 h.

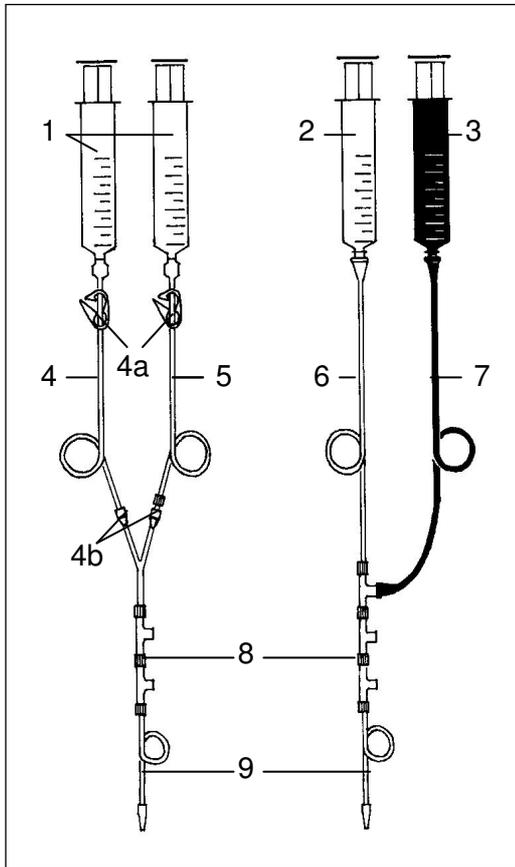


Abb. 12: Schematische Darstellung des orangefarbenen und des schwarzen Applikationssystems zur Verabreichung der neonatologischen Nährlösungen als TPO:

- 1 orangefarbene Spritzen (Typ Infusomat[®])
- 2 transparente, farblose Spritze (Typ Perfusor[®])
- 3 schwarze Spritze (Typ Perfusor[®])
- 4 orangefarbenes Infusionsset Heilbronn II mit
 - 4a Verschlussklemme
 - 4b Rückschlagventilen
- 5 orangefarbene Medikamentenleitung mit 4a
- 6 transparente, farblose Infusionsleitung
- 7 schwarze Infusionsleitung
- 8 Dreiweghähne
- 9 Zugangsleitungen (transparent)

Die Rückschlagventile verhindern, dass die Lipid-emulsion in der Leitung der wässrigen Phase hochsteigt.

Die Leitungen des orangefarbenen Systems können luftfrei gefüllt und mit den Klemmen (4a) verschlossen werden. Dies ermöglicht eine vollständige Konnektierung der Leitungen für die Fett- und Wasserphase im LAF in der Spitalapotheke (vgl. B.4.4).

D.2.1.2.1.2 Phototherapie als zusätzlicher Stressfaktor

Die Phototherapie stellt die Behandlungsmethode der Wahl bei neonataler Hyperbilirubinämie dar. Durch die Phototherapie wird der Bilirubin-Abbau beschleunigt, um neuronale Schäden zu verhindern.

Bei der Phototherapie nutzt man die Lichtempfindlichkeit von Serumbilirubin. Mittels blauen Lichts von 425 - 475 nm kann Bilirubin in den obersten Hautschichten photodynamisch abgebaut werden.²²⁴

Die Lichtquelle wird oberhalb der Isolette im Abstand von etwa 40 cm zum Kind angebracht. Die Phototherapie erfolgt auf der Neo-IPS KSA mit kurzen Unterbrüchen während 24 h.

D.2.1.3 Heparin: Nutzen oder Risiko?

Frühgeborene benötigen meist eine sehr intensive Infusionstherapie. Zudem ist das Legen von venösen Zugängen überaus schwierig. Daher sind Frühgeborene einem hohen Risiko eines Versagens der Infusionszugänge ausgesetzt. Besonders gefürchtet sind Thrombosen. Folglich versucht man die antikoagulativen Eigenschaften von Heparin zu nutzen.²²⁵

Mocclair konnte durch den Zusatz von 0.5 IU Heparin pro ml Nährlösung das Risiko eines Zugangsversagens bei Neugeborenen - allerdings mit peripherer Infusion - um einen Faktor vier reduzieren.²²⁶ Eine Meta-Analyse von randomisierten, kontrollierten Studien zeigte bei Erwachsenen mit zentralvenösen Kathetern eine signifikante Reduktion von Katheter assoziierten Thrombosen durch eine Heparin-Dosis von 3 IU·ml⁻¹ Zubereitung.²²⁵ Hingegen wird in einem Cochrane Review zur Liegedauer von peripher platzierten, zentralvenösen Kathetern bei Neugeborenen von einem routinemässigen Einsatz von Heparin abgeraten. Die Wirksamkeit von Heparin konnte noch in keiner randomisierten, kontrollierten Studie nachgewiesen werden.²²⁷

Vor der Standardisierung wurden 0.5 IU Heparin pro ml wässriger Nährlösung zugesetzt. Neben der fehlenden klinischen Evidenz zum Nutzen von Heparin muss auch die pharmazeutische Stabilität von Lipidemulsionen mit Heparin als enorm kritisch beurteilt werden. Heparin beeinflusst, insbesondere in Anwesenheit von Ca²⁺, die Stabilität der Fettemulsion negativ.²²⁶

D.2.1.4 Experimentelle Fragestellungen zur Stabilität bei Applikationssimulation

Ergänzend zu allgemeinen Zielsetzungen unter A.2:

- Die Anwendung der PN auf der Neo-IPS KSA wird mit Hilfe von Spritzenpumpen, einer Isolette und einer Phototherapielampe im Labor der Apotheke simuliert.
- Die hochkalorische Standardnährlösung Neo KSA mit Elektrolytzusätzen wird mittels der Spritzenpumpen unter verschiedenen äusseren Bedingungen kontinuierlich durch die Applikationssysteme gefördert.
- Anhand der Peroxidbelastung wird abgeklärt, ob der Lichtschutz des orange gefärbten Systems genauso effizient ist, wie jener des schwarzen Systems.
- In einem faktoriellen Design werden die Auswirkungen der Flussgeschwindigkeit und des Lichts (Phototherapie) auf die physikalische (Mikroskopie) und chemische (FOX-Methode) Stabilität untersucht. Der Einfluss von fettlöslichen Vitaminen (Tocopherole) auf die Entwicklung des Peroxidgehaltes wird bei den stressreichsten Bedingungen ermittelt.
- Es wird abgeklärt, ob die Stabilität der Fettemulsion in Anwesenheit hoher Calcium-Dosen eine Applikation als AIO-Variante erlaubt.
- Die physikalische Emulsionsstabilität der hochkalorischen Nährlösung mit 0.5 IU Heparin pro ml wässriger Phase wird mikroskopisch beurteilt.

D.2.2 Material und Methoden zur Stabilität bei Applikations- simulation

- *Material*

- Geräte Tab. 42, Anhang
- Chemikalien Tab. 43, Anhang
- Komponenten PN und Einwegmaterial Tab. 44, Anhang

D.2.2.1 Versuchsdesign zur Stabilität der PN bei Applikationssimulation

Für die experimentellen Untersuchungen zur Stabilität bei Applikation wurde die hochkalorische Standardnährlösung Neo KSA eingesetzt. Die Auswirkungen auf die physikalisch-chemische Stabilität des Regimes wurden für die folgenden Einflussfaktoren ermittelt:

- Art der Applikation (TPO versus AIO)
- Typ des lichtgeschützten Applikationssystems (schwarz versus orange)
- Flussgeschwindigkeit bei der Applikation
- Lichteinfluss (Tageslicht mit und ohne Phototherapie)
- Zeiteinfluss (während 24 h Applikation)
- Zusatz von Heparin

Die Auswirkungen der Flussgeschwindigkeit und des Lichts wurden in einem faktoriellen Design mit zwei Faktoren mit je zwei Levels (2^2) untersucht (vgl. Tab. 23).

Zur Reduktion der Anzahl Versuche wurde der Einfluss des Infusionsbestecks ii) vorab bei langsamer Geschwindigkeit und hoher Lichtintensität ermittelt. Dasselbe gilt für die Auswirkungen von Heparin vi), welche abschliessend unter „worst case“ Bedingungen analysiert wurden.

Tab. 23: Faktorielles 2^2 -Design zur Ermittlung der Auswirkungen von Flussgeschwindigkeit (A) und Licht (B) auf die physikalisch-chemische Stabilität der hochkalorischen Standardnährlösung Neo KSA.

Versuchsserie	Flussgeschwindigkeit (A) [ml·h ⁻¹]	Licht (B)
1	0.7	Tageslicht
a	0.1	Tageslicht
b	0.7	Phototherapie
ab	0.1	Phototherapie

D.2.2.2 Versuchsanordnung zur Applikationssimulation in der Spitalapotheke

Die Applikation der Nährlösungen unter den klinischen Bedingungen auf der Neo-IPS wurde im Labor der Spitalapotheke simuliert. Dazu dienten ein Inkubator mit Phototherapie-Lampe und ein Set von sechs Spritzenpumpen (vgl. Abb. 13).

Die Phototherapie-Lampe wurde etwa 10 cm oberhalb des Inkubators angebracht. Die Pumpen wurden in zwei Reihen im Abstand von 50 - 80 cm zur Isolette angeordnet. Die Temperatur im Inkubator wurde auf $36 \pm 0.5^\circ\text{C}$ eingestellt. Ausserhalb der Isolette herrschte RT (22°C). Die Infusionsleitungen (vgl. Abb. 12) wurden durch den dafür vorgesehenen Schlitz so in die Isolette gezogen, dass 85 cm der Leitung innerhalb und der Rest ausserhalb des Inkubators zu liegen kamen.

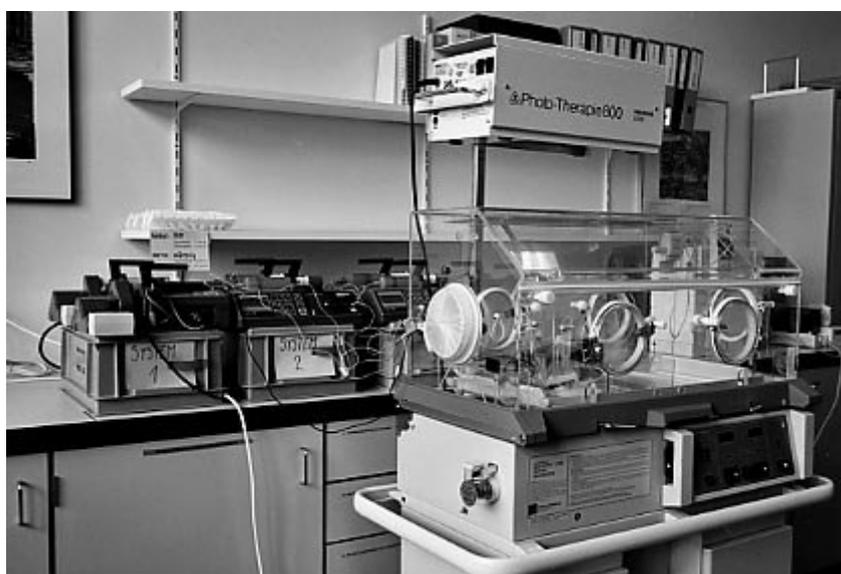


Abb. 13: Versuchsanordnung zur Simulation der klinischen Bedingungen auf der Neo-IPS. Unten rechts im Bild die Isolette, darüber die Phototherapie-Lampe. Im Hintergrund sind die sechs Spritzenpumpen zu erkennen.

Die Versuche fanden während der Monate März und April bei vorwiegend sonnigem Wetter statt. Von 6^{30} bis 21^{00} Uhr war die Versuchsanordnung dem Tageslicht ausgesetzt, von etwa 18 bis 21 Uhr zusätzlich dem Kunstlicht (Leuchtstoffröhren). Bei bestimmten Serien wurde die Isolette ausserdem während 24 h mit Phototherapie-Licht von 425 - 475 nm bestrahlt. Die Beleuchtungsstärke innerhalb der Isolette wurde mittels eines Lux-Meters bestimmt (vgl. Tab. 24).

Die Nährlösungen wurden in 50ml-Spritzen aufgezogen und mittels der Spritzenpumpen kontinuierlich über 24 Stunden gefördert. Es wurden parallel jeweils drei gleiche Mischungen hergestellt (3 Ansätze = Triplets, vgl. Abb. 14). Zu den Zeitpunkten 0, 1, 2, 4, 8, 12 und 24 Stunden wurden pro Ansatz drei Aliquots à etwa 150 μl vom Ende der Zugangsleitung in Eppendorf-Reaktionsgefässchen übergeleitet. Die Förderleistung der Pumpen wurde kurzzeitig erhöht, um die Aliquots innerhalb von 5 min sammeln zu können.

Tab. 24: Beleuchtungsstärke auf den Abschnitten der Infusionsleitungen, welche innerhalb der Isolette lagen, zu verschiedenen Tageszeiten mit und ohne Phototherapie.

Lichteinwirkung	Beleuchtungsstärke [Lux]	Tageszeit
Tageslicht	4100 5700 2000	Morgen (9 Uhr) Mittag (12 Uhr) Abend (17 Uhr)
Tageslicht mit Phototherapie-Licht	9700 12300 8500	Morgen (9 Uhr) Mittag (12 Uhr) Abend (17 Uhr)
Leuchtstoffröhren und Phototherapie-Licht	7300	Nachts (21 - 6 Uhr)
Phototherapie-Licht	6600	Nachts (21 - 6 Uhr)

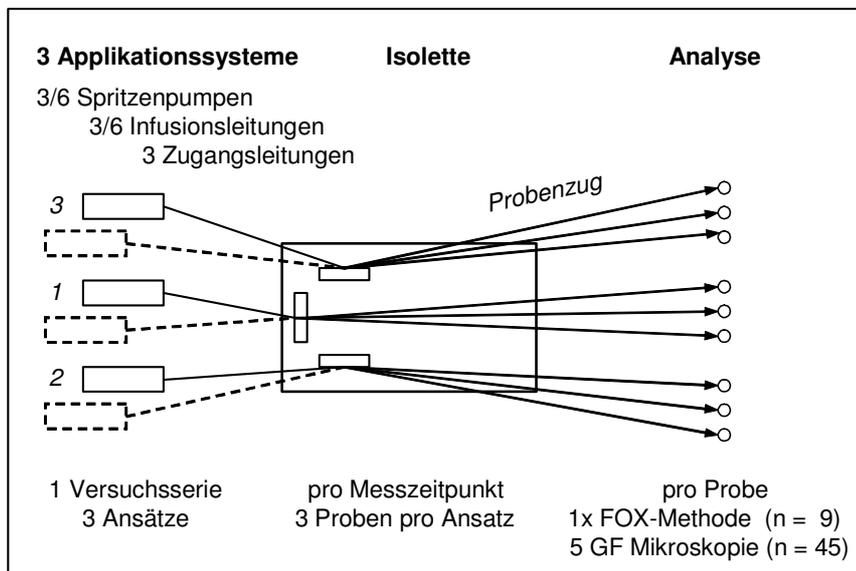


Abb. 14: Schematische Versuchsanordnung zur Applikationssimulation mit Angaben zu den Mehrfachbestimmungen. Die gestrichelten Applikationssysteme kamen nur beim TPO-Versuch zum Einsatz.

D.2.2.3 Analysenmethoden zur Stabilitätsbeurteilung

D.2.2.3.1 Physikalische Emulsionsstabilität mittels Lichtmikroskopie

Bei der lichtmikroskopischen Methode nach Schmutz handelt es sich um eine validierte Konventionenmethode.¹⁰⁴

Die Proben wurden zuerst visuell auf Farbveränderungen, Aufrahmung und koaleszierte Öltröpfchen geprüft.

Homogenisiert wurde die Emulsion durch zweifaches Drehen des Eppendorf-Reaktionsgefäßes um 360°. Dann wurden dreimal hintereinander 10 µl der unverdünnten Probe auf einen Objektträger gegeben, mit einem Deckglas abgedeckt und mit einem Tropfen Immersionsöl überschichtet. Vorsichtig (Scherkräfte) wurde das Objekt unter das Objektiv geschoben. Nach einem fixen Muster (vgl. Abb. 20, Anhang; unten) wurden je

5 GF bei 1000-facher Vergrößerung mit Hilfe der Okularskala protokolliert (Protokoll vgl. Abb. 20, Anhang). Ein Teilstrich der Okularskala entsprach 1 μm . Zur Vereinheitlichung und um keine falsche Genauigkeit des Auges vorzutäuschen, wurden alle Durchmesser der LT auf ganze Zahlen gerundet.

Pro GF wurde jeweils das grösste Lipidtröpfchen (LT_{max}) ausgemessen und die Anzahl der Tröpfchen $> 5 \mu\text{m}$ ausgezählt. Es wurde im Protokoll angekreuzt, ob von der Population $\geq 2 \mu\text{m}$ unter 20, zwischen 20 und 50 oder über 50 Tröpfchen pro GF vorlagen. Für die 15 GF einer Probe wurde der gemittelte, maximale Lipidtröpfchen-Durchmesser (MLT_{max}) sowie dessen Standardabweichung ($SD_{MLT_{\text{max}}}$) berechnet (pro Triplet also $n = 45$). Der MLT_{max} diente als Hauptparameter zur Stabilitätsbeurteilung der Emulsion. Des Weiteren wurden allfällige Fasern, Präzipitate, Kristalle oder Aggregate notiert. Es wurden nur Proben ausgewertet, deren LT sich langsam lateral bewegten.

Zur Beurteilung der Emulsionsstabilität wurden die Grenzkriterien nach Schmutz¹⁰⁴ aus Tab. 25 herangezogen. Eine Fettemulsion galt als stabil, wenn sie keinen der angegebenen Grenzwerte überschritt und weder Aggregate noch Ausfällungen zeigte.

Tab. 25: Grenzspezifikationen zur lichtmikroskopischen Emulsionsbeurteilung anhand von mindestens 15 GF nach Schmutz.

Mikroskopischer Parameter	Abkürzung	Einheit	Spezifikation
Grösstes Lipidtröpfchen	LT_{max}	[μm]	≤ 8
Mittelwert LT_{max}	MLT_{max}	[μm]	< 4.5
Standardabweichung	$SD_{MLT_{\text{max}}}$	[μm]	≤ 2.0
Anzahl Lipidtröpfchen $> 5 \mu\text{m}$	$LT > 5 \mu\text{m}$	-	≤ 9

D.2.2.3.2 Chemische Stabilität mittels FOX-Methode

Zur photometrischen Quantifizierung der Peroxide wurde die FOX-Methode eingesetzt (vgl. D.1).

- *Vorgehen allgemein*

Das Vorgehen der FOX-Methode ist unter D.1.2.1.1 beschrieben.

Um Störungen durch Acetat und Peditrace[®] auszuschliessen, wurden die beiden Komponenten in derselben Konzentration, wie sie im Versuchsansatz vorlagen, dem Blindwert zugegeben.

- *Eichgeraden mit tert-Butylhydroperoxid*

An fünf Messtagen wurde eine Eichgerade aus TBH-Referenzlösungen gemessen. Dazu wurden wässrige TBH-Verdünnungen der Konzentrationen 151.1, 115.1, 76.3,

38.1, 15.1 und 4.53 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ hergestellt. Ein 100 μl Aliquot dieser Lösungen wurde zu 1900 μl FOX-Reagens pipettiert und spektrophotometrisch quantifiziert (vgl. D.1.2.1.1). Durch die Punkteschar der 5 Eichgeraden wurde eine Regressionsgerade gelegt. Diese Eichgerade (8) diente zur Umrechnung der Absorptionswerte auf den Gehalt.

$$A = 0.089582 \cdot c + 0.045422 \quad r = 0.9996, n = 30 \quad (8)$$

c Konzentration der TBH-Referenzlösung in [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]

- *Proben der PN*

Es wurden die unter D.2.2.4 beschriebenen Proben eingesetzt.

Je nach dem Peroxidgehalt betrug das eingesetzte Volumen 20 bis 100 μl . Vom FOX-Reagens wurde jeweils das entsprechende Volumen vorgelegt, damit der Ansatz 2000 μl ergab.

Die Peroxid-Konzentration wurde indirekt in Äquivalenten der Referenzsubstanz TBH [$\mu\text{mol THB}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$] nach der Formel (8) berechnet.

D.2.2.4 Serien des Hauptversuchs

Es wurde diejenige wässrige Phase gewählt, welche in den Experimenten zur physikalisch-chemischen Lagerungsstabilität (vgl. C.2) am instabilsten war:

- hochkalorische, wässrige Standardphase
- Zusatz von 4 mmol Kaliumacetat plus 2 mmol NaCl pro kg KG
- Lipovenös[®] 20% mit Vitalipid[®] N Infant

Die wasserlöslichen Vitamine wurden infolge der Interaktion der FOX-Methode mit Ascorbinsäure (vgl. D.1) nicht zur Fettemulsion gegeben.

In kommerziellen Lipidemulsionen schwanken sowohl die Teilchengrösse²²⁸ als auch die Peroxidbelastung^{220,229} chargenabhängig. Um diesen Einflussfaktor zu eliminieren, wurden stets dieselben Chargen Lipovenös[®] 20% (NI1660) und Vitalipid[®] N Infant (1009676AZ) eingesetzt.

Die Nährlösungen wurden unmittelbar vor dem Start der Applikationssimulation in einem LAF aseptisch gemischt. Dazu wurden die einzelnen Komponenten manuell mit Spritzen dosiert. Bei der Vorbereitung wurde die wässrige Phase in einen 200ml-Nutrimix[®]-Beutel, die Lipidphase in eine 50ml-Spritze bzw. ebenfalls in den Beutel gegeben. Für die Applikationssimulation mittels Spritzenpumpen wurden die Mischungen aus den Beuteln in Spritzen aufgezogen.

D.2.2.4.1 Two-plus-one Ansatz

Diese Versuchsreihe diente zur Ermittlung

- des Einflusses des schwarzen bzw. des orangen Applikationssystems sowie
- der physikalischen Emulsionsstabilität der Lipidemulsion bei TPO-Applikation.

Diese Versuchsserie simulierte die Verabreichung der PN während des Nahrungsaufbaus bei einem Frühgeborenen mit einem KG von ca. 0.7 kg. Zu Beginn der Fettgabe erhält das Kind neben 4 ml Vitalipid[®] 0.5 ml Lipovenös[®] pro kg KG. Der Zusatz von 4 mmol·kg⁻¹ Kaliumacetat sowie 2 mmol·kg⁻¹ NaCl zur Standardlösung erhöhte das Volumen der wässrigen Phase auf 126.5 ml·kg⁻¹.

Die Förderleistung der beiden Pumpen wurde so gewählt, dass das benötigte Volumen innerhalb von maximal 24 h verabreicht werden konnte (in der Praxis Förderleistung aufgerundet, um Unterbrüche zu kompensieren). Für ein 0.7 kg schweres Kind entsprach dies 3.8 ml·h⁻¹ für die wässrige Phase bzw. 0.13 ml·h⁻¹ für die Lipidemulsion. Die Pumpe war jedoch nur auf 0.1 ml·h⁻¹ genau justierbar.

Wässrige Phase

In einem 200ml-Nutrimix[®]-Beutel wurden folgende Module vorgemischt:

- 82.5 ml hochkalorisches GluEI-Konzentrat Neo KSA (vgl. Tab. 3)
- 38.5 ml Vaminolact[®]
- 0.5 ml Natriumchlorid 4 mmol·ml⁻¹ KSA
- 4.0 ml Kaliumacetat 1 mmol·ml⁻¹ KSA
- 1.0 ml Peditrace[®]

Aus diesem Beutel wurden zum Zeitpunkt 0 und 12 Stunden jeweils ungefähr 60 ml in eine transparente (schwarzes System) oder eine orange 50ml-Spritze aufgezogen. Die Förderleistung der ersten Pumpe wurde auf 3.8 ml·h⁻¹ eingestellt.

Lipidphase

Die andere Spritze (schwarz bzw. orange) wurde zum Zeitpunkt 0 Stunden mit 2.5 ml Lipovenös[®] 20% und 20.0 ml Vitalipid[®] N Infant gefüllt (grosser Überschuss).

Die Förderleistung der zweiten Pumpe wurde auf 0.1 ml·h⁻¹ eingestellt.

Am ersten Versuchstag wurden zwei schwarze und ein orangefarbenes Applikationssystem eingesetzt, am zweiten Versuchstag ein schwarzes und zwei orange.

Die Fettemulsion wurde über einen Dreiweghahn bzw. das Y-Stück des Sets Heilbronn II (vgl. Abb. 12) mit der Wasserphase vereinigt.

Die Versuchsanordnung wurde während 24 h dem Phototherapie-Licht ausgesetzt.

Die TPO-Proben wurden mittels der Mikroskopie und der FOX-Methode quantifiziert.

D.2.2.4.2 Lipidphase

Dieser Ansatz diente zur Ermittlung des Einflusses

- des schwarzen bzw. orangen Applikationssystems,
- von Fließgeschwindigkeit und Licht auf die physikalische Stabilität und die Peroxide
- sowie der fettlöslichen Vitamine auf die Peroxidbelastung.

Die reine Lipidphase (LIP) stellte ein vereinfachtes Modell ohne Ionen dar.

Es wurden folgende Mischungen in 50ml-Perfusor[®]-Spritzen hergestellt:

Serien a, ab: geringster Fluss beim Nahrungsaufbau

- 2.5 ml Lipovenös[®] 20% + 20.0 ml Vitalipid[®] N Infant (grosser Überschuss).
Dieser Ansatz repräsentierte das Mischungsverhältnis während des Nahrungsaufbaus (vgl. D.2.2.4.1).
- Flussgeschwindigkeit: 0.1 ml·h⁻¹.

Serien 1, b: normaler Fluss bei aufgebauter Ernährung

- 26.0 ml Lipovenös[®] 20% + 8.0 ml Vitalipid[®] N Infant (grosser Überschuss).
Dieser Ansatz repräsentierte das Mischungsverhältnis bei voll aufgebauter Ernährung, wenn das Kind neben 4 ml Vitalipid[®] 13 ml Lipovenös[®] 20% erhält. Es wurde von einem KG von 1 kg ausgegangen.
- Flussgeschwindigkeit: 0.7 ml·h⁻¹.

- *Applikationssystem*

Damit ein allfälliger Unterschied im Lichtschutz zwischen dem schwarzen und dem orangefarbenen Applikationssystem möglichst klar erkennbar wäre, wurde unter den stressreichsten Bedingungen getestet: Flussgeschwindigkeit 0.1 ml·h⁻¹ bei Phototherapie. Diese Serie entsprach dem Versuch *ab* aus dem faktoriellen Design (vgl. Tab. 23).

- *Faktorielles Design*

Anschliessend wurden die Experimente *1, a* und *b* des faktoriellen Designs (vgl. Tab. 23) und sämtliche weiteren Serien ausschliesslich mit dem orange gefärbten Applikationssystem durchgeführt.

- *Fettlösliche Vitamine*

Der Einfluss der fettlöslichen Vitamine, namentlich von Vitamin E (Tocopherol), auf die Peroxidation und die physikalische Stabilität sollte abgeschätzt werden. Dazu wurde als Kontrolle eine Serie mit Lipovenös[®] allein beim Fluss 0.1 ml·h⁻¹ und Phototherapie durchgeführt und mit *ab* aus der faktoriellen Serie (mit Vitalipid[®]) verglichen. Der Vitamin E-Gehalt in der Serie *ab* entsprach der maximalen Tocopherol-Konzentration in der

Lipidphase während des Nahrungsaufbaus. Zur Anpassung des Lipid-Gehalts wurde Lipovenös® 20% mit NaCl 0.9% auf $111 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ verdünnt.

- *Ausgangswerte*

Frische Proben aus je zwei Behältnissen Lipovenös® 20% und Vitalipid® N Infant wurden charakterisiert.

Die Proben der LIP-Serie wurden auf ihre Peroxid-Konzentration sowie ihre physikalische Stabilität untersucht.

D.2.2.4.3 All-in-one Ansatz

Dieser Ansatz diente zur Ermittlung

- der physikalischen Emulsionsstabilität der Lipidemulsion bei AIO-Applikation sowie
- der Auswirkungen eines Heparin-Zusatzes.

Der Ansatz entsprach in der Zusammensetzung dem TPO-Versuch (vgl. D.2.2.4.1) mit zusätzlich $0.6 \text{ ml NaCl } 9 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.

Diese Serie diente gleichzeitig zur Kontrolle des Heparin-Versuchs. Zur Untersuchung der Auswirkungen von Heparin wurden $0.6 \text{ ml Heparin } 500 \text{ IU}\cdot\text{5ml}^{-1}$ Bichsel zugesetzt ($0.5 \text{ IU Heparin pro ml wässriger Phase}$).

Die wässrige und die lipidhaltige Phase wurden in einem Beutel vorgemischt. Das Gemisch wurde in eine Spritze aufgezogen und mit einer Pumpe mit $3.9 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ ($3.8 + 0.1 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$) gefördert.

- *Referenzgemische zu Heparin*

Die Auswirkungen eines Heparin-Zusatzes wurden anhand von frisch hergestellten Referenzgemischen verifiziert. Dazu wurden die einzelnen Komponenten in derjenigen Konzentration, wie sie in der Nährlösung vorliegen, kombiniert:

- Lipovenös® 20% + Vitalipid® N Infant + Heparin
- Lipovenös® 20% + Vitalipid® N Infant + CaGlyP + Heparin
- Lipovenös® 20% + Vitalipid® N Infant + CaGlyP + Peditrace® + Heparin

Die AIO-Serie wurde nur mikroskopisch beurteilt. Es wurde festgehalten, in wie vielen der insgesamt 15 untersuchten GF pro Ansatz Aggregate und Präzipitate auftraten.

- **Faktorielles Design**

Die weiteren Versuche des faktoriellen Designs (*1, a, b*) fanden ausschliesslich im orange gefärbten System statt.

Die MLT_{max} mit Standardabweichung pro Messzeitpunkt sind in der Abb. 15 dargestellt. Die Friedman Rangvarianzanalyse ergab in der Teilchengrösse keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den vier Gruppen *1, a, b* und *ab* ($p = 0.69$, $n = 4 \times 7$). Der über alle Serien gemittelte MLT_{max} lag bei $3.9 \pm 0.56 \mu m$ ($n = 1260$). Daraus wurde gefolgert, dass die Faktoren Flussgeschwindigkeit und Licht keinen Einfluss auf den wichtigsten physikalischen Stabilitätsparameter, den MLT_{max} , hatten. Die übrigen Parameter sind der Tab. 45 im Anhang zu entnehmen.

Bei hoher Flussgeschwindigkeit sowie bei geringer Geschwindigkeit mit Phototherapie bestand kein Trend des MLT_{max} über den Zeitverlauf (Rangkorrelation nach Spearman, $p > 0.07$, jeweils $n = 7$, vgl. Tab. 45, Anhang). Eine Ausnahme bildete die Serie *a* bei tiefer Flussgeschwindigkeit und Tageslicht: Es konnte eine Korrelation von -0.8571 ($p = 0.006$, $n = 7$) berechnet werden. Dies bedeutet einen Trend zur Abnahme des MLT_{max} mit zunehmender Messzeit.

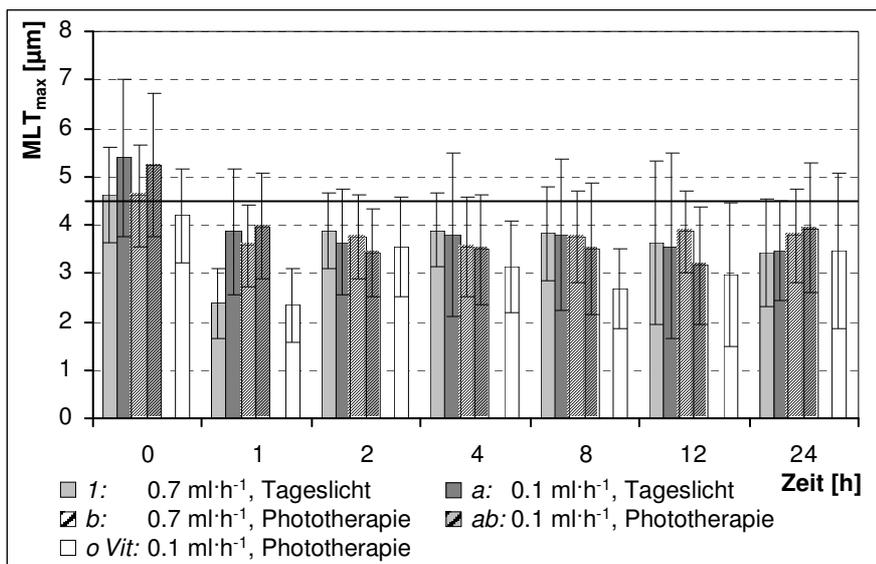


Abb. 15: Verlauf der MLT_{max} über 24 h in den Lipovenös® / Vitalipid® - Gemischen (*1, a, b, ab*) sowie in Lipovenös® (*o Vit*) bei verschiedener Infusionsgeschwindigkeit und Lichteinwirkung (pro Balken $n = 45$ GF). Die Abweichungsbalken stellen die $SD_{MLT_{max}}$ dar, die ausgezogene Gerade den Grenzwert für den MLT_{max} ($4.5 \mu m$).

- **Fettlösliche Vitamine**

Die Serie mit verdünntem Lipovenös® ($111 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) ergab einen über 24 h gemittelten MLT_{max} von $3.3 \pm 1.14 \mu m$ ($n = 315$). Es war kein Trend zur Veränderung des MLT_{max} zu verzeichnen (Spearman, $p = 0.60$, $n = 7$) (vgl. Tab. 45, Anhang). Verglichen mit den Serien *1, a, b* und *ab*, welche Vitalipid® enthielten, waren die LT in dieser Kontrollserie ohne fettlösliche Vitamine signifikant kleiner (Friedman, $p = 0.001$, $n = 5 \times 7$).

- *Ausgangswerte*

Die Mikroskopie von direkt aus den Originalvials entnommenen Proben ergab für Lipovenös® 20% einen MLT_{max} von $4.5 \pm 0.84 \mu\text{m}$ ($n = 90$) bei 0 bis 5 LT $> 5 \mu\text{m}$. Für Vitalipid® N Infant lag der MLT_{max} bei $5.2 \pm 1.24 \mu\text{m}$ ($n = 90$) mit 3 bis 9 LT $> 5 \mu\text{m}$ (vgl. Tab. 30). Die detaillierten Parameter für die beiden Produkte sind in der Tab. 46 im Anhang aufgeführt.

D.2.3.1.2.2 Chemische Stabilität mittels FOX-Methode

Bei langsamer Flussgeschwindigkeit (*a*, *ab* für schwarz und orange) unterschieden sich die Resultate innerhalb der Triplets nicht signifikant (Friedman-Test, $p > 0.09$, jeweils $n = 3 \times 7$). Bei $0.7 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ Pumpleistung in den Versuchen *1* und *b* sowie im Versuch mit Lipovenös® einzeln unterschieden sie sich (Friedman-Test, $p < 0.03$, jeweils $n = 3 \times 7$). Die Unterschiede innerhalb der Triplets waren im Verhältnis zu den Gruppenunterschieden (*1*, *a*, *b*, *ab*, *o Vit*) jedoch sehr gering und die Verläufe analog. Deshalb wurden die Triplets pro Messzeitpunkt trotzdem gemittelt.

- *Applikationssystem*

Der Wilcoxon-Rangsummentest ergab keine statistisch signifikante Differenz zwischen der Peroxidbelastung im schwarzen und im orangefarbenen Applikationsset ($p = 0.64$, $n = 2 \times 63$). Die beiden Typen der lichtgeschützten Infusionsleitungen hatten auf die Peroxidbildung keine signifikanten Auswirkungen.

- *Faktorielles Design*

Die Serien *a*, *b* und *ab* zeigten eine hoch signifikante Zunahme der Peroxid-Konzentration im Verlauf der Applikationszeit (Spearman, $p < 10^{-7}$, jeweils $n = 7$). Der Anstieg betrug einen Faktor 7 bis 16. Mit einem p von 0.07 zeigte die Serie *1* keinen signifikanten Trend (Anstieg um Faktor 4).

Wie in der Abb. 16 erkennbar, bestand ein statistisch signifikanter Unterschied in der Peroxid-Konzentration zwischen den Gruppen *1*, *a*, *b* und *ab* (Friedman-Test, $p = 0.001$, $n = 4 \times 7$) (vgl. Tab. 47, Anhang).

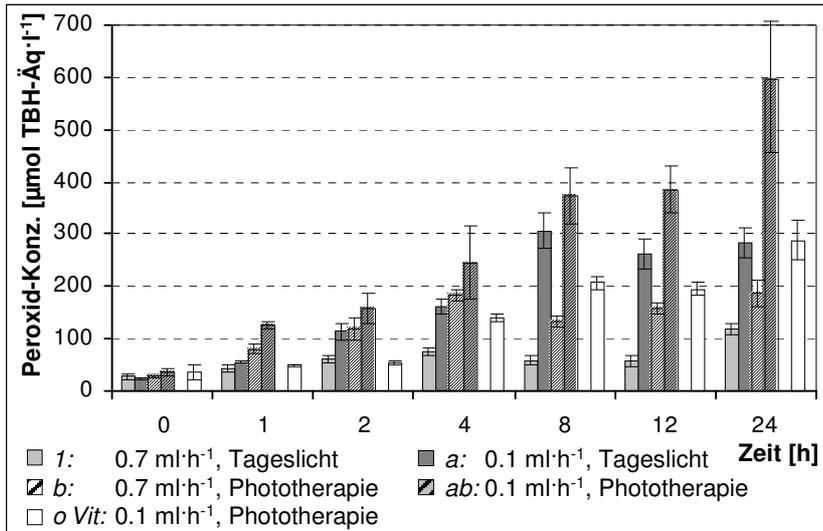


Abb. 16: Verlauf der Peroxid-Konzentration über 24 h in den Lipovenös®/Vitalipid®-Gemischen (*1*, *a*, *b*, *ab*) sowie in Lipovenös® (*o Vit*) bei verschiedener Infusionsgeschwindigkeit und Lichteinwirkung (n = 9).

Zur Beurteilung des Effekts der Einflussfaktoren Flussgeschwindigkeit (A) und Licht (B) wurde nach Yates¹⁷⁰ ausgewertet (vgl. C.2.3.2.1).

Dazu wurden für das 2²-Design die Peroxid-Konzentrationen unter den verschiedenen Versuchsbedingungen nach 24 h Applikationssimulation verglichen (vgl. Tab. 28).

Tab. 28: Bewertung nach Yates für die Effekte der Flussgeschwindigkeit (A) und des Lichts (B) sowie deren Interaktion aus dem 2²-Design auf die Peroxid-Konzentration nach 24 h. Die Konzentrationsangaben stellen Mittelwerte dar (n = 3).

Ansatz	Messwert nach 24 h [µmol TBH-Äq·l ⁻¹]			Freiheitsgrade	Mean square	F berechnet
	Messung 1	Messung 2	Messung 3			
<i>1</i>	108.8	130.2	117.4	2	-	-
<i>a</i>	289.1	311.0	250.1	2	881017	127
<i>b</i>	209.0	196.6	154.3	2	839699	121
<i>ab</i>	656.2	414.0	718.6	2	41449	5.97
Experimenteller Fehler				4	6944	
F _{0.05} tabelliert				2 bzw. 4		6.94

Die Fördergeschwindigkeit (A) und das Licht (B) führten beide zu signifikanten Auswirkungen auf die Peroxid-Belastung. Beide Faktoren wiesen einen vergleichbaren (127 versus 121) Effekt auf die chemische Stabilität aus. Es bestand keine signifikante Interaktion zwischen den Faktoren A und B.

Da beim faktoriellen 2²-Design zusätzlich ein Zeitverlauf gemessen wurde, kann die Zeit ebenfalls als Faktor einbezogen werden. Dann liegt ein 2³-faktorielles Design vor (vgl. Tab. 29). Für die beiden Levels des Zeitfaktors (C) wurden die Messpunkte 0 h und 24 h gewählt (Extremwerte).

Tab. 29: Bewertung nach Yates für die Effekte der Flussgeschwindigkeit (A), des Lichts (B) und der Applikationszeit (C) sowie deren Interaktionen aus dem 2³-Design auf die Peroxid-Konzentration. Die Konzentrationsangaben stellen Mittelwerte dar (n = 3).

Ansatz	Messwert 0 bzw. 24 h [$\mu\text{mol TBH-}\ddot{\text{A}}\text{q}\cdot\text{l}^{-1}$]			Freiheits- grade	Mean square	F berechnet
	Messung 1	Messung 2	Messung 3			
<i>1</i>	29.4	27.5	24.0	2	-	-
<i>a</i>	24.8	21.8	24.5	2	189663	54
<i>b</i>	29.0	29.5	22.5	2	87205	25
<i>ab</i>	31.6	45.0	33.6	2	37455	11
<i>c</i>	108.8	130.2	117.4	2	644861	185
<i>ac</i>	289.1	311.0	250.1	2	181308	52
<i>bc</i>	209.0	196.6	154.3	2	76067	22
<i>abc</i>	656.2	414.0	718.6	2	30271	9
Experimenteller Fehler				8	3482	
F _{0.05} tabelliert				2 bzw. 8		4.46

Die Yates-Bewertung liess die Zeit (C) klar als den wichtigsten aller signifikanten Faktoren erkennen. Gefolgt wurde C von der Flussgeschwindigkeit (A) und dem Licht (B). Unter Einbezug des Zeitfaktors waren die Interaktionen zwar ebenfalls signifikant, zeigten jedoch ein geringeres Ausmass als die Faktoren A, B und C.

- *Fettlösliche Vitamine*

Die Serie ohne fettlösliche Vitamine (vgl. Abb. 16, weisse Balken) wurde mit dem Versuch *ab* aus der faktoriellen Reihe verglichen. Im Wilcoxon-Test errechnete sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Experimenten ($p = 0.016$, $n = 2 \times 21$). Daraus wurde ein prooxidativer Einfluss von Vitalipid[®] N Infant in vitro auf die Lipidphase abgeleitet.

- *Ausgangswerte*

Die Peroxidbelastung in frisch geöffneten Infusionsflaschen bzw. Ampullen mit Lipovenös[®] 20% und Vitalipid[®] N Infant ist der Tab. 30 zu entnehmen (vgl. Tab. 46, Anhang).

Tab. 30: Ausgangswerte der Peroxid-Konzentration sowie des MLT_{max} in frisch geöffneten Infusionsflaschen bzw. Ampullen mit Lipovenös® 20% bzw. Vitalipid® N Infant.

Produkt	Behältnis 1		Behältnis 2	
	Peroxide \pm SD (n = 12) [$\mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$]	$MLT_{max} \pm$ SD (n = 90) [μm]	Peroxide \pm SD (n = 12) [$\mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$]	$MLT_{max} \pm$ SD (n = 90) [μm]
Lipovenös® 20%	2.69 \pm 0.40	4.2 \pm 0.88	2.75 \pm 0.50	4.8 \pm 0.82
Vitalipid® N Infant	0.23 \pm 0.35	5.4 \pm 1.44	0.34 \pm 0.09	5.0 \pm 1.04

D.2.3.1.3 All-in-one Ansatz

D.2.3.1.3.1 Physikalische Emulsionsstabilität mittels Lichtmikroskopie

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Ansätzen (Friedman, $p > 0.62$, $n = 3 \times 15$). Der Datensatz wurde demzufolge auf den Mittelwert reduziert.

In den Proben ohne Heparin konnten vereinzelte Aggregate von 2 - 3 LT entdeckt werden. In allen Proben mit Heparin waren ausgedehnte Aggregate zu erkennen (vgl. Abb. 17). Ebenso fielen teilweise amorphe Ausfällungen auf. Die Farbe schien unverändert.

Als Vergleich sind in der Abb. 18 mikroskopische Bilder stabiler Emulsionen abgedruckt.

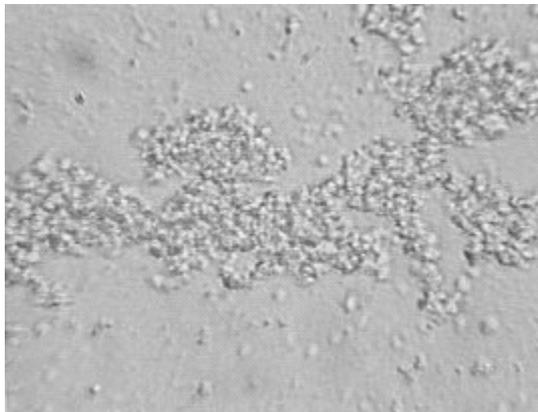


Abb. 17: Aggregate in der kompletten, hochkalorischen Standardnährlösung Neo KSA beim Zusatz von Heparin bei 1000-facher Vergrößerung im Lichtmikroskop.

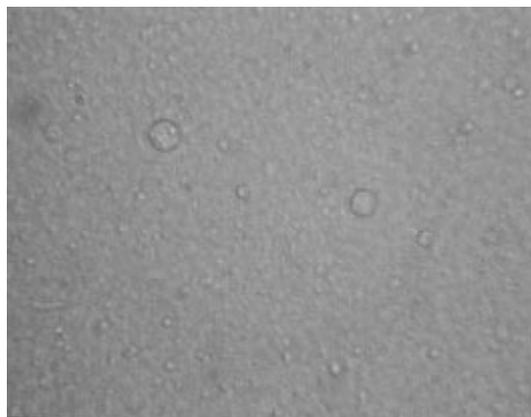
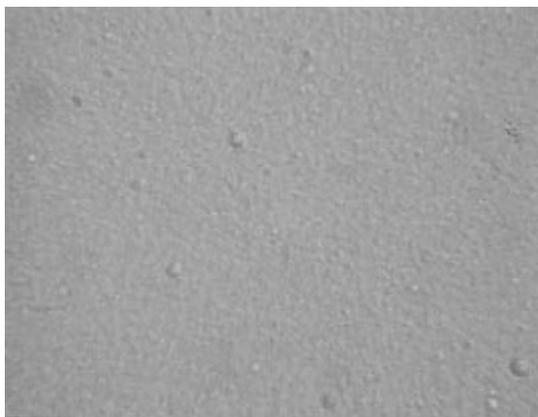


Abb. 18: Lichtmikroskopische Bilder stabiler Lipidemulsionen bei 1000-facher Vergrößerung: Links eine stabile Emulsion mit Lipidtröpfchen bis 2 µm, rechts mit Tröpfchen bis 5 µm.

Die MLT_{max} betragen $2.0 \pm 0.15 \mu\text{m}$ ($n = 315$) mit Heparin versus $3.0 \pm 0.96 \mu\text{m}$ ($n = 315$) ohne Heparin (vgl. Tab. 31). Die Versuchsreihe ohne Heparin zeigte einen Trend zur Zunahme des MLT_{max} über 24 h (Spearman, $p = 0.04$, $n = 7$).

Die Parameter MLT_{max} , Aggregate und Präzipitate unterschieden sich mit und ohne Heparin im Wilcoxon-Rangsummentest signifikant voneinander ($p \leq 0.02$ für MLT_{max} , Aggregate und Präzipitate, je $n = 2 \times 7$).

Tab. 31: Mikroskopische Parameter zur AIO-Simulation mit und ohne Heparin. Es wurde festgehalten, in wie vielen der insgesamt 45 untersuchten GF Aggregate und Präzipitate auftraten.

Ansatz	Parameter (n = 45)	Messzeitpunkt							Trend MLT_{max} Spearman
		0 h	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	
orange AIO 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	LT_{max}	4	5	5	5	8	7	6	Zunahme $p = 0.04$ $r = 0.7500$ $n = 7$
	MLT_{max}	2.8	2.9	2.7	3.0	3.4	3.0	3.0	
	$SDMLT_{max}$	0.76	0.92	0.79	0.77	1.42	1.10	1.00	
	$LT > 5 \mu\text{m}$	0	0	0	0	3	2	1	
	$LT > 2 \mu\text{m}$	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
	Aggregate	7	2	2	1	2	2	1	
	Präzipitate	0	0	0	0	0	0	0	
orange AIO + Hep 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	LT_{max}	6	6	4	6	3	6	7	kein Trend $p = 0.18$ $n = 7$
	MLT_{max}	2.0	2.2	2.3	2.3	1.7	1.6	1.9	
	$SDMLT_{max}$	1.02	0.90	0.84	0.93	0.73	0.94	1.22	
	$LT > 5 \mu\text{m}$	1	1	0	1	0	1	1	
	$LT > 2 \mu\text{m}$	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
	Aggregate	39	39	45	45	45	45	45	
	Präzipitate	33	34	42	43	45	45	45	

In den frisch hergestellten Kontrollmischungen trat nur in Anwesenheit von CaGlyP sofort nach dem Mischen Aggregation und Präzipitation auf (vgl. Tab. 32).

Tab. 32: Mikroskopische Parameter für die Kontrollgemische zum Zusatz von Heparin. Pro Parameter war $n = 15$ GF.

Parameter (n = 15)	Lipovenös [®] + Vitalipid [®] + Heparin	Lipovenös [®] + Vitalipid [®] + CaGlyP + Heparin	Lipovenös [®] + Vitalipid [®] + CaGlyP + Peditrace [®] + Hep
LT_{max}	5	2	4
MLT_{max}	3.5	1.4	1.9
$SDMLT_{max}$	0.99	0.51	0.99
$LT > 5 \mu\text{m}$	0	0	0
$LT > 2 \mu\text{m}$	< 20	< 20	< 20
Aggregate	0	15	15
Präzipitate	0	15	15

D.2.4 Diskussion zur Stabilität bei Applikationssimulation

D.2.4.1 Versuchsanordnung zur Applikationssimulation in der Spitalapotheke

Für die Stabilitätsbestimmungen wurden jeweils 3 x 150 µl Aliquot entnommen. Bei einem Fluss von 0.1 ml·h⁻¹ entspricht dies dem Volumen, welches über 4.5 h gefördert würde. So wurde ein Anteil der Probe vor Erreichen der theoretischen Verweildauer von etwa 7 Stunden aus dem Applikationssystem entfernt. Die Peroxid-Konzentration dürfte folglich, insbesondere beim Probenzug nach 1, 2 und 4 Stunden, in Wirklichkeit höher liegen als die gemessenen Werte.

D.2.4.2 Analysemethoden zur Stabilitätsbeurteilung

Sowohl die Mikroskopie nach Schmutz, als auch die FOX-Methode ist nicht in der Pharmakopöe enthalten. Es handelt sich jedoch bei beiden Methoden um validierte Vorgänge, die für die vorliegenden Fragestellungen aussagekräftige Resultate liefern (vgl. D.1.4.3 und D.2.1.1.1.1).

D.2.4.2.1 Physikalische Emulsionsstabilität mittels Lichtmikroskopie

Geht man von Driscoll's Berechnungen aus, sind pro ml 20%-iger Lipidemulsion etwa $2.7 \cdot 10^{13}$ LT vorhanden.²¹³ Gibt man 10 µl Probe unter ein Deckglas von 18 x 18 mm und betrachtet die Probe durch ein GF mit 0.17 mm Durchmesser, so überblickt man in 5 GF etwa 10⁸ Tröpfchen. Dies bedeutet, dass vom Probenvolumen von 10 µl ca. 0.04% erfasst werden. Aus statistischer Sicht ist die Anzahl der beurteilten Tröpfchen relativ gering. Die Methode scheint daher eher geeignet zur Erfassung eines Verlaufs der Tröpfchenverteilung als zur absoluten LT-Quantifizierung.

Die Vorteile der Mikroskopie sind unter D.2.1.1.1.1 aufgeführt.

Die Lichtmikroskopie stellt eine zwar zeitintensive, aber einfache Möglichkeit dar, um die physikalische Stabilität von Lipidemulsionen über einen bestimmten Zeitraum in der Spitalapotheke zu bestimmen.

D.2.4.2.1.1 Grenzwert Lipidtröpfchen-Durchmesser

Es fehlen offizinelle Vorgaben zur Beurteilung der physikalischen Stabilität einer Nährlösung. Die Pharmakopöe schreibt für parenterale O/W-Emulsionen lediglich vor, dass „...die Teilchengrösse im Hinblick auf die beabsichtigte Anwendung geeignet ist“.¹⁵¹ Folglich werden in der Spitalapotheke KSA die Grenzkriterien nach Schmutz (vgl. Tab. 25) herangezogen. Neben diesen Grenzwerten für die Mikroskopie sind in der Literatur Grenzwerte für andere Methoden zu finden:

- Driscoll bezeichnet eine Emulsion als stabil, sofern maximal 0.4% der LT mittels Single Particle Optical Sizing $> 5 \mu\text{m}$ waren.¹⁵⁰
- Müller kombiniert zwei Methoden: Der mittlere Tröpfchendurchmesser darf sich in der Photonen-Korrelationsspektroskopie um maximal $\pm 10 \text{ nm}$ im Vergleich zum Ausgangswert verändern. Mittels Laserdiffraktometrie müssen 100% der Durchmesser $< 5 \mu\text{m}$ bzw. 98% $< 1.5 \mu\text{m}$ liegen.²³⁰

Die Experten sind sich nicht einig, welche Methode den Goldstandard darstellen soll. Ein verschwindend kleiner Prozentsatz an vergrößerten LT lässt sich in einer Fett-emulsion nicht vermeiden.²¹⁵ Je nach Analyse-methode wird diese Population erfasst oder nicht. Eventuell wurde daher in der Pharmacopöe auf die Angabe eines konkreten Grenzwertes verzichtet.

Ausserdem ist nicht schlüssig, ab welchem Durchmesser Fetttröpfchen physiologisch gefährlich werden (vgl. A.1.6.1.2.1).

D.2.4.2.2 Chemische Stabilität mittels FOX-Methode

D.2.4.2.2.1 Grenzwert Peroxid-Konzentration

Es konnten keine Publikationen zu einem konkreten Peroxid-Grenzwert für Nährlösungen gefunden werden. Die Pharmacopöe schreibt für Sojaöl mit parenteralem Verwendungszweck eine POZ von maximal 5.0 Milliäquivalenten aktivem Sauerstoff pro Kilogramm $[\text{mÄq O}\cdot\text{kg}^{-1}]$ vor.¹⁵¹ Wird das Öl zu einer 20%-igen Emulsion verdünnt, verringert sich der Grenzwert der POZ theoretisch auf $1.0 \text{ mÄq O}\cdot\text{kg}^{-1}$ für Lipovenös® 20%. Da sich die POZ auf die iodometrische Titration unter den in der Pharmacopöe beschriebenen Bedingungen bezieht, ist es streng genommen nicht zulässig, diesen Grenzwert auf die Resultate der FOX-Methode umzurechnen. Dennoch wird eine Abschätzung vorgenommen.

Dazu wird auf die Validierung der FOX-Methode zurückgegriffen (vgl. D.1). In der Abb. 11 wird der Zusammenhang zwischen den beiden Methoden in $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ gezeigt. Bei einer Darstellung derselben Resultate der Titration als POZ in $[\text{mÄq O}\cdot\text{kg}^{-1}]$ auf der y-Achse gegen die Peroxid-Konzentration nach FOX in $[\text{mmol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}]$ auf der x-Achse, würde die Geradengleichung $y = 1.2910 \cdot x + 0.0152$ resultieren. Setzt man in die Gleichung den POZ-Grenzwert $1.0 \text{ mÄq O}\cdot\text{kg}^{-1}$ für y ein, erhält man für x $0.763 \text{ mmol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$. Der POZ-Grenzwert von 1 entspräche etwa $760 \mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$ in einer 20%-igen Lipidemulsion. Beachtet man, dass in der Mischung ab der Fettanteil nur $111 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ betrug (Vitalipid® enthält nur 10% Fett), reduziert sich der Grenzwert auf $420 \mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$. Gemessen wurden beim Fluss $0.1 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ und Phototherapie jedoch bis $719 \mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$.

Der Hersteller spezifiziert die maximal zulässige Peroxid-Konzentration für Lipovenös® 20% auf $2.5 \text{ mval}\cdot\text{l}^{-1}$. Dieser Grenzwert entspräche umgerechnet auf $111 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ Fett rund $1070 \mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$. Der höchste Messwert betrüge also erst etwa zwei Drittel des zugelassenen Maximums.

Die Tatsache, ob der Grenzwert überschritten wurde oder nicht, tritt hinter die Frage nach der physiologischen Relevanz des Wertes der Pharmacopöe zurück. Allgemein wird in der Literatur vor den negativen Folgen einer hohen Peroxidbelastung bei Säuglingen gewarnt (vgl. A.1.6.2.1), jedoch ohne die Angabe konkreter Werte.

D.2.4.3 Serien des Hauptversuchs

D.2.4.3.1 Two-plus-one Ansatz

Infolge der inhomogenen Durchmischung der Fett- und Wasserphase lagen pro GF unterschiedlich viele LT vor. Steigt die Anzahl der LT, so wächst die Wahrscheinlichkeit, vergrößerte LT anzutreffen und umgekehrt. Folglich waren die Resultate der Mikroskopie mit einem Bias behaftet. Die mikroskopischen Daten wurden dennoch ausgewertet, da die TPO-Variante der häufigsten Applikationsart in der Klinik entspricht.

Im TPO-Ansatz waren Ionen in hoher Konzentration vorhanden. Um aussagekräftige Resultate zur physikalischen Stabilität der Fettemulsion zu erhalten, muss Ca^{2+} unbedingt berücksichtigt werden (vgl. A.1.6.1.2). Für die Untersuchung wurden zudem Extremwerte für die monovalenten Ionen gewählt.

Die gemessenen Parameter zur Teilchenverteilung lagen unterhalb der Grenzwerte nach Schmutz. Die Inhomogenität blieb also ohne negative Folgen für die physikalische Stabilität der Emulsion. Die TPO-Nährmischung wurde über 24 Stunden als physikalisch stabil betrachtet. Dabei ist jedoch der Vorbehalt der Probendichte zu beachten.

Über allfällige physiologische Folgen der Inhomogenität können keine Aussagen gemacht werden.

Murphy beobachtete ebenfalls, dass die Lipidemulsion in einer Infusionsleitung als feines Rinnsal auf der wässrigen Phase schwamm. Er simulierte die Situation, indem er je einen Tropfen Lipidphase und wässrige Phase auf einen Objektträger gab und die Grenzschicht mikroskopisch untersuchte. Dabei konnte er zahlreiche aggregierte LT feststellen.²³¹

Eigene Untersuchungen zur Grenzschicht ergaben nur vereinzelte Aggregate. In der Applikationssimulation konnten hingegen keine zusammen gelagerten LT ausgemacht werden. Dies ist möglicherweise auf die mechanische Energie zurückzuführen, welche durch die Pumpe auf die Emulsion ausgeübt wird.

D.2.4.3.2 Lipidphase

Erwartungsgemäss wird die Peroxidation rascher zum limitierenden Faktor der Stabilität von Nährlösungen als die LT-Grösse.¹⁸⁸ Reproduzierbare Daten zum Peroxidgehalt sind daher notwendig. Zur Umgehung der Inhomogenität wurden die Versuche zur Bestimmung des Peroxidgehaltes in der Lipidphase allein (Lipovenös® + Vitalipid®) durchgeführt, damit die Resultate statistisch ausgewertet werden konnten.

D.2.4.3.2.1 Evaluation des schwarzen und orangefarbenen Applikationssystems

Bei der Evaluation eines neuen, lichtgeschützten Infusionssystems war neben der Transparenz vor allem das Innenlumen ein massgebendes Kriterium. Farblich ist das Set Heilbronn II mit anderen Produkten auf dem Markt vergleichbar. Es weist jedoch ein deutlich geringeres Totvolumen auf als andere Bestecke.

Ausschlaggebend für die Wahl des Infusionssystems war die Peroxidbelastung, welche direkt von der Lichteinwirkung abhängt. Die durchsichtigen, orangen Leitungen hätten gegenüber den opaquen, schwarzen Leitungen einen schlechteren Lichtschutz erwarten lassen.²⁰¹ Diese Erwartung konnte experimentell widerlegt werden. Statistisch gesehen bestand kein signifikanter Unterschied in den Peroxid-Konzentrationen der beiden Systeme. Betrachtet man die Resultate über 24 h im Detail (vgl. Tab. 47, Anhang: erste und zweitletzte Gruppe), so zeigt das orangefarbene Set sogar einen etwas besseren Schutz vor Oxidation. Dies ist höchstwahrscheinlich auf die geringere Verweildauer im orangen Besteck zurückzuführen.

Folglich sollen die schwarzen Sets in der Klinik durch die orangefarbenen ersetzt werden. Dies ermöglicht eine Inspektion auf Luftblasen und Ausfällungen während der Applikation. Die Arzneimittelsicherheit kann dadurch erhöht werden.

D.2.4.3.2.2 Schlüsse aus dem faktoriellen Design

Im faktoriellen 2²-Design wurden die Auswirkungen von Flussgeschwindigkeit und Licht auf die Peroxidbelastung und die physikalische Stabilität untersucht. Innerhalb von 24 Stunden nahmen weder die Flussgeschwindigkeit im Bereich zwischen 0.1 und 0.7 ml·h⁻¹ noch die Einwirkung von Phototherapie-Licht Einfluss auf die physikalische Stabilität. Bei den Versuchsreihen 1, b, ab bestand kein Zusammenhang zwischen dem MLT_{max} und dem Messzeitpunkt. Die Serie a dagegen zeigte einen Trend zur Reduktion des Fetttröpfchendurchmessers mit zunehmender Zeit. Dies weist eher auf eine Stabilisierung hin. Über den Zeitraum von 24 Stunden konnte somit keine Destabilisierung der Emulsion ohne Ionen festgestellt werden.

Auffällig ist der Abfall aller MLT_{max}-Messwerte beim Übergang vom Messzeitpunkt 0 h zum Zeitpunkt 1 h. Während die MLT_{max}-Werte zum Zeitpunkt 0 h bei allen vier Serien den Grenzwert 4.5 µm überschritten, lagen sie danach wieder unterhalb des Grenzwertes (vgl. Abb. 15). Die vergrösserten Tröpfchen zu Beginn lassen sich wahrschein-

lich auf einen mechanischen Stress bei der Manipulation während der Zubereitung der Nährmischungen zurückführen. Die darauf folgende Abnahme lässt sich möglicherweise durch die Zufuhr kinetischer Energie (Redispergierung) beim Fließen in den Leitungen erklären.

Die Faktoren Licht und Fluss zeigten signifikante Auswirkungen auf die Peroxidation. Die Peroxid-Konzentration stieg innerhalb von 24 h von anfänglich 24 - 37 auf 119 - 596 $\mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$, also um einen Faktor 4 (c) bis 16 (abc), an. Die Flussgeschwindigkeit ist massgebend für die Verweilzeit im Applikationssystem. Je langsamer der Fluss ist, desto länger wird die Lipidemulsion dem Tages- bzw. Phototherapie-Licht sowie den 36 °C in der Isolette ausgesetzt.

Betrachtet man das Design statt als 2^2 - als 2^3 -Variante, wird der signifikante Einfluss der Applikationsdauer (Zeit) offensichtlich. Die Bewertung der Faktoren aus dem faktoriellen 2^3 -Design ergab für die Zeit den deutlich höchsten Einfluss. Die Zeit ist vermutlich als Kontaktzeit zu Sauerstoff zu interpretieren.

Eine Verkürzung der Applikationsdauer wäre folglich die effizienteste Möglichkeit, um die Peroxidbelastung zu verringern. In der Klinik ist es aber kaum sinnvoll, die Lipidphase beispielsweise alle 12 h statt alle 24 h frisch in Spritzen aufzuziehen. Ein häufigerer Wechsel der Infusionen bringt nicht nur mehr Arbeitsaufwand, sondern auch ein erhöhtes Infektionsrisiko mit sich.

Daher ist es sehr wichtig, die Verweildauer in den Infusionsleitungen und die Beeinflussung durch das Licht mit der Wahl eines geeigneten Infusionsbestecks zu optimieren.

Im Verlauf des Peroxidgehaltes über 24 Stunden war ein zwischenzeitlicher Abfall der Messwerte auffällig. Bei der Flussgeschwindigkeit $0.7 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ fielen die Messwerte nach 8 h unter jene nach 4 h. Beim Fluss $0.1 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ waren nach 12 h tiefere Werte als nach 8 h zu verzeichnen (vgl. Abb. 16). Lavoie beobachtete 6 h nach Herstellung in PN-Mischungen mit Spurenelementen ebenfalls einen Abfall der Peroxid-Konzentration. Sie führte dies auf einen Abbau der Peroxide in der Fenton-Reaktion zurück.²³² Im vorliegenden Versuch kam es zum Konzentrations-Abfall auch ohne die Anwesenheit von Spurenelementen. Der Grund dazu ist allenfalls in der Zersetzungskinetik der Peroxide (intermediäre Produkte) zu suchen.

Der Peroxidgehalt von frisch aus Originalbehältnissen entnommenem Lipovenös® bzw. Vitalipid® lag mit 0.2 - 2.8 $\mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$ etwa einen Faktor 10 unterhalb der Messwerte von 24 - 66 $\mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$ zum Zeitpunkt 0 h. Dies verdeutlicht, dass bereits der kurze Sauerstoff-Kontakt während der Manipulation im LAF eine beachtliche Peroxidation auslöste.

D.2.4.3.2.3 Einfluss fett- und wasserlöslicher Vitamine

Zur Abschätzung des Einflusses der fettlöslichen Vitamine auf den Peroxidgehalt wurde das Gemisch Lipovenös® 20%/Vitalipid® N Infant mit auf $111 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ verdünntem Lipovenös® 20% verglichen. In den beiden Versuchsserien lag ein beachtlicher Unterschied in der Tocopherol-Konzentration vor: Während Lipovenös® 20% selbst $57 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ enthält, waren im Gemisch mit Vitalipid® $575 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ vorhanden. Diese Konzentration entspricht dem maximalen Vitamin E-Gehalt in der Lipidphase während des Nahrungsaufbaus.

Anhand der Grafik (vgl. Abb. 16, *ab versus o Vit*) lässt sich eine klare Tendenz zu höheren Peroxid-Konzentrationen in Anwesenheit der fettlöslichen Vitamine erkennen. Im Mann-Whitney-Test ergab sich eine signifikant höhere Peroxidbelastung in Anwesenheit der fettlöslichen Vitamine. Der prooxidative Effekt ist wahrscheinlich hauptsächlich auf Tocopherol zurückzuführen.

Tocopherol wirkt in einer Lipidemulsion als eine Art Radikalfalle.²³³⁻²³⁵ Die entstehenden α -Tocopherol-Radikale können miteinander zu einem nicht-radikalischen Produkt reagieren. Tocopherol wird dadurch verbraucht. Fehlt ein Co-Antioxidans, übernimmt Tocopherol eher die Funktion eines Radikal-Transporters, der die Radikal-Kettenreaktion auf weitere Lipide überträgt. Ist Ascorbat als Co-Antioxidans vorhanden, kann es das Tocopherol regenerieren, welches nun antioxidativ wirkt.²²⁹

Gemäss²³⁶ setzt ab einer Konzentration von $160 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ein prooxidativer Effekt von Vitamin E ein. Dupont konnte eine erhöhte Resistenz gegenüber einer Peroxidation bei der Erhöhung der Tocopherol-Konzentration von 50 auf $100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ messen. Eine weitere Erhöhung auf $200 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ brachte keinen zusätzlichen Oxidationsschutz, jedoch auch keine prooxidative Wirkung. Man muss beachten, dass Dupont ein Triglyceridgemisch mit 50% mittelkettigen Fettsäuren einsetzte.²³⁷ Jung und Min stellten bis zu einer Konzentration von 250 mg α -Tocopherol pro Liter keine prooxidative Wirkung fest. Jedoch erhöhten $500 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ α -Tocopherol die Peroxid-Konzentration gegenüber einer Kontrolllösung ohne Vitamine um rund 7% in 24 h. Die Gruppe benützte allerdings anstelle einer Emulsion gereinigtes Sojaöl.²³⁸

Der Einfluss der wasserlöslichen Vitamine wird theoretisch abgehandelt. Experimente unter klinischen Bedingungen ergaben in Fettemulsionen keine Reduktion der Peroxidbelastung durch Zusatz von Vitalipid® N Infant allein.

Zum Einfluss von Multivitaminpräparaten (fett- + wasserlösliche Vitamine) auf den Peroxidgehalt in einer PN existieren widersprüchliche Resultate. Während Laborie Multivitamin-Zubereitungen als Hauptquelle für Peroxide in Nährlösungen bezeichnete^{102,239}, beschrieb Silvers einen fast vollständigen Oxidationsschutz der Lipide dank der Vitamine. Eine Kombination von Soluvit® und Vitalipid® konnte die Peroxidierung um mindestens einen Faktor 10 verringern.¹⁸⁹

Mehrere experimentelle Untersuchungen haben ergeben, dass die wasserlöslichen Vitamine selber beim Zumischen zur Fettemulsion gleich stabil bleiben wie in wässriger Lösung.^{95,189,240,241} Silvers konnte bei einer Applikationssimulation mit transparenten Leitungen einen vergleichbaren Vitamin C-Verlust in einer rein wässrigen Lösung und in

einer Lipidemulsion zeigen (87 versus 89%). Hingegen konnten die Lipide durch die Ascorbinsäure weitgehend vor Peroxidation geschützt werden. Es gelang somit zu zeigen, dass die Zumischung von Soluvit[®] zur Lipidphase Vorteile für die Lipide bringt, ohne dass dadurch für Vitamin C Nachteile entstehen.¹⁸⁹

Eine Aufstockung von Soluvit[®] N mit zusätzlichem Vitamin C zum Ausgleich der Verluste erscheint pharmazeutisch auf den ersten Blick sinnvoll. Bedenkt man jedoch, dass grosse Mengen oxidiertes Ascorbinsäure in einer Präzipitation von Calciumoxalat resultieren können⁸⁹, muss eine Aufstockung klinisch in Frage gestellt werden. Sinnvoller ist eine Verminderung des Vitamin C-Verlustes durch einen konsequenten Lichtschutz des gesamten Applikationssystems.

Beim Zusatz von wasserlöslichen Vitaminen in Form von Soluvit[®] N zur Lipidemulsion mit Vitalipid[®] wird allgemein ein geringerer Peroxidgehalt in der Nährlösung erwartet.

D.2.4.3.2.4 Vergleich mit Literaturdaten zur Peroxidbelastung

Grundsätzlich muss ein Vergleich der gemessenen Peroxid-Konzentrationen mit den Resultaten anderer Autoren unter grosser Vorsicht geschehen. Unterschiedliche Analysenmethoden und Versuchsanordnungen machen Analogieschlüsse problematisch.

Eine ähnliche Versuchsanordnung ist in¹⁸⁹ zu finden. Die Autoren quantifizierten zuerst die Ausgangswerte der Peroxidbelastung in Intralipid[®] 20% mit der FOX-Methode und erhielten $79 - 85 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Dann zogen sie die Emulsion in eine Spritze auf und förderten sie mittels einer Pumpe mit $0.3 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ (Verweildauer 7 h). Nach 24 h bei Tages- plus Phototherapie-Licht massen sie am distalen Ende von transparenten Infusionsleitungen eine Peroxid-Konzentration von etwa $280 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. In dunkelbraunen Leitungen wurde die Peroxidbelastung auf ca. $130 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ reduziert. Hier gilt zu beachten, dass die FOX-Methode nach Extraktion durchgeführt wurde und somit die Werte tendenziell tiefer liegen, da H_2O_2 abgetrennt wurde.

Neuzil fand in frischem Intralipid[®] 20% $7.8 \pm 4.0 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ Triglycerid-Hydroperoxide (HPLC). Wurden 24 h später Proben dieser Emulsion am distalen Ende einer Infusionsleitung (Totvolumen 1.8 ml, keine Angabe zum Fluss) genommen, so stieg die Peroxid-Konzentration bei Tageslicht auf 39.9 ± 9.0 und bei Phototherapie auf $92.7 \pm 4.7 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ an.²²⁹

Helbock mass in frisch geöffnetem Intralipid[®] 20% mittels HPLC Werte von $290 \pm 29 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ Lipidhydroperoxiden. Proben aus nicht lichtgeschützten Infusionsleitungen, nach 20-stündigem Infusionszyklus, zeigten gegenüber dem Ausgangswert keine signifikant verschiedenen Werte ($284 \pm 13 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ Lipidperoxide). Der Autor führte diese Tatsache auf Antioxidantien zurück.⁹⁹

D.2.4.3.2.5 Extrapolation der Peroxidbelastung von LIP auf komplette Nährlösung

Die Extrapolation des Peroxidgehaltes von der Lipidphase auf eine komplette Nährlösung muss mit grosser Vorsicht geschehen. Die Verminderung der gemessenen Peroxid-Konzentration um den Verdünnungsfaktor, den die Lipidemulsion in der kompletten Mischung erfährt, würde zu falschen Resultaten führen. Schmid fand auch nach Bereinigung der unterschiedlichen Lipid-Konzentrationen weniger Peroxide in einer AIO-TPN als in einer reinen Fettemulsion.²⁴²

In eine Extrapolation müssen die anderen Komponenten der Nährlösung unbedingt einbezogen werden. Aminosäuren und Spurenelemente weisen ebenfalls ein Redoxpotential auf. Mengenmässig fallen die Aminosäuren stärker ins Gewicht. Stadtman beschreibt eine Oxidation von Proteinen durch Lipidperoxide.²⁴³ Lavoie konnte zeigen, dass die kommerziell erhältlichen Aminosäuren-Präparate einen gewissen Oxidationsschutz auf die Nährmischungen ausüben.²³² Aminosäuren (z.B. Cys) zeigen wahrscheinlich einen reduzierenden Effekt auf die übrigen Komponenten der PN (vgl. C.2.4.2.5).

D.2.4.3.3 All-in-one Ansatz mit Zusatz von Heparin

Zur Beurteilung des Einflusses von Heparin wurde eine AIO-Mischung als „worst case“-Situation eingesetzt. In der Mikroskopie zeigten sich in allen Proben mit Heparin riesige Aggregate von LT (vgl. Abb. 17). Ebenfalls lagen teilweise amorphe Präzipitate vor.

Auch in den Heparin-freien Zubereitungen waren im Gegensatz zur TPO-Simulation einzelne, kleinere Aggregate von 2 bis 3 Tröpfchen zu verzeichnen. Diese Aggregate sind als erste Anzeichen einer Destabilisierung zu werten. Die Auswirkungen von agglomerierten LT in vivo sind noch nicht vollständig geklärt (vgl. A.1.6.1.2.1).¹⁸

Wegen des einfacheren Handlings und der tieferen Kosten (weniger Pumpen, Infusionsbestecke) wäre eine AIO-Zubereitung eigentlich wünschenswert. Aus Gründen der physikalischen Stabilität der Lipidemulsion müssen die Standardnährlösungen Neo KSA jedoch weiterhin als TPO-System verabreicht werden.

Der MLT_{max} mit Heparin ($2.0 \pm 0.15 \mu m$) war signifikant kleiner als in der Heparin-freien Serie ($3.0 \pm 0.96 \mu m$). Der geringere MLT_{max} in den Proben mit Heparin stellt wahrscheinlich ein Artefakt dar. In den Heparin-haltigen Proben waren praktisch keine einzelnen LT mehr vorhanden. Vermutlich waren die vergrösserten LT aggregiert oder sogar ausgeölt. Zurück blieben wenige kleine LT. Die Emulsion muss als gebrochen betrachtet werden. Die mikroskopische Methode dürfte folglich nicht mehr angewendet werden, da sie auf die Beurteilung intakter Emulsionen ausgerichtet ist.

Johnson erklärte das Phänomen der Aggregation durch Heparin in Anwesenheit von Ca^{2+} anhand des Zetapotentials. In einer 20%-igen Lipidemulsion mit 5 IU Heparin pro ml stieg das Zetapotential bereits mit $1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ auf über -5 mV. Die -5 mV sind etwa die kritische Grenze, ab welcher Heparin mit den positiv geladenen Oberflächen

der Öltröpfchen zu interagieren beginnt. Dabei agiert Heparin mit seiner negativen Ladung als eine Art Brückenmolekül zwischen den Tröpfchen. Johnson stellte mittels Laserdiffraktometrie fest, dass bei $10 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 90% der Fetttröpfchen $\leq 6.60 \pm 0.11 \mu\text{m}$ waren (ohne Ca^{2+} $90\% \leq 1.28 \pm 0.02 \mu\text{m}$).²⁴⁴

In den Standardnährlösungen Neo KSA muss aus Gründen der physikalischen Emulsionsstabilität auf einen Heparin-Zusatz verzichtet werden.

D.2.4.4 Extrapolation auf die niederkalorische Standardnährlösung

Die Stabilität der niederkalorischen Standardlösung wird anhand der Resultate für die hochkalorische Nährlösung extrapoliert:

- *Abschätzung der physikalischen Emulsionsstabilität des niederkalorischen Standards*

Senkt man in einem Gemisch aus einer Fettemulsion und Glucose den Glucose-Anteil, würde infolge einer pH-Erhöhung eine Stabilisierung der Emulsion stattfinden. In einer Nährlösung können die Aminosäuren den pH-Wert jedoch bis zu einem bestimmten Grad abpuffern, so dass bei Verringerung des Glucose-Anteils infolge Viskositäts-erniedrigung eher eine instabilere Emulsion resultiert.²⁴⁵ Demzufolge wird für die Standard-Mischung mit niedrigerem Glucose-Anteil allenfalls eine Tendenz zu geringerer physikalischer Stabilität erwartet. Die Lipidtröpfchengrösse sollte bei einer Verabreichung über 24 Stunden jedoch nicht zum limitierenden Faktor werden.

- *Abschätzung der chemischen Stabilität des niederkalorischen Standards*

Glucose kann durch sichtbares Licht oxidiert werden, wodurch unter anderem H_2O_2 entsteht.²⁴⁶ Ebenso können niedermolekulare Reaktionsprodukte der Maillard-Reaktion durch Autooxidation H_2O_2 bilden.⁸⁸ Mit einer Senkung der Glucose-Konzentration sollte daher auch die Peroxidbelastung tendenziell abnehmen.

D.2.4.5 Zusammenhang zwischen physikalischer und chemischer Stabilität

Bisher gibt es kaum publizierte Daten über einen allfälligen Zusammenhang zwischen der physikalischen (Lipidtröpfchengrösse) und der chemischen (Peroxide) Stabilität von PN-Mischungen.

Wahrscheinlich wird die Emulsionsstabilität eher durch zugefügte Ionen beeinflusst als durch hohe Peroxid-Konzentrationen.⁹³

Umgekehrt ist es noch schwieriger abzuschätzen, welche Folgen vergrösserte LT für die Peroxide hätten. Ingold gibt einen Hinweis darauf, dass die einzelnen Radikale, welche sich in LT befinden, örtlich voneinander getrennt sind und wegen ihrer Lipophilie

nicht zueinander diffundieren können.²³⁴ Man könnte also spekulieren, dass beim Zusammenfließen der Tröpfchen plötzlich viel mehr Lipidmoleküle zur Verfügung stünden, welche oxidiert werden könnten. Die Folge wäre eine erhöhte Tendenz zur Peroxidation in Emulsionen mit vergrößerten LT.

Demgegenüber steht eine Oberflächenverkleinerung beim Zusammenfließen der LT. Dadurch würde die Angriffsfläche für Radikale aus der wässrigen Phase verringert, was eine Abnahme der Peroxidation bewirken könnte.

D.2.4.6 Folgerungen zur Stabilität bei Applikationssimulation

- Es fehlen allgemein akzeptierte Vorgaben zur Beurteilung der physikalisch-chemischen Stabilität von Nährlösungen. Folglich werden in der Spitalapotheke KSA die Grenzkriterien nach Schmutz (vgl. Tab. 25) herangezogen. Bei der TPO-Applikationssimulation der hochkalorischen Standardnährlösung Neo KSA lagen sämtliche Parameter unterhalb der Grenzwerte nach Schmutz. Anhand der angewandten Methode wurde die Zubereitung als physikalisch stabil über 24 h beurteilt.
- Während die Lipidtröpfchengröße über 24 h konstant blieb, stieg die Peroxid-Konzentration von anfänglich 24 - 37 auf 119 - 596 $\mu\text{mol TBH}\cdot\text{Äq}\cdot\text{l}^{-1}$ an. Somit wird die Peroxidation zum limitierenden Faktor der PN-Stabilität. Ob die gemessenen Peroxid-Konzentrationen für Neugeborene in vivo bereits kritisch sind, konnte nicht schlüssig beurteilt werden, da keine Grenzwerte existieren.
- Orange gefärbte Spritzen und Infusionsleitungen wiesen einen ebenso effizienten Lichtschutz auf wie schwarzes Material. Deshalb sollen die Standardnährlösungen mittels des orangen Sets verabreicht werden.
- Die fettlöslichen Vitamine zeigten einen signifikant prooxidativen Effekt auf die Lipidphase.
- Die hochkalorische Standardnährlösung Neo KSA zeigte bei Zumischung der Fett-emulsion über einen Dreiweghahn die höhere physikalische Stabilität. Die Standardnährlösungen Neo KSA sollen deshalb zentralvenös als TPO-Variante verabreicht werden.
- Heparin darf den Standardnährlösungen Neo KSA keinesfalls beigemischt werden.

E. Schlussfolgerungen und Ausblick

E.1 Schlussfolgerungen

- Die hochkalorische Standardnährlösung Neo KSA deckt mit $140 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ den anhand der Fachliteratur ermittelten Tagesbedarf an Makro- und Mikronährstoffen eines Neugeborenen. Bei Glucose-Intoleranz kann auf die niederkalorische Lösung ausgewichen werden.
Die Anpassung des Volumens der Standards erlaubt in begrenztem Ausmass eine Individualisierung der PN sowie deren Einsatz zum Nahrungsaufbau.
- Das modulare Prinzip mit auf Vorrat hergestellten Glucose-Elektrolyt-Konzentraten als Basislösung erlaubt eine effiziente Herstellung der Standardnährlösungen.
- Die Herstellungskosten sind hauptsächlich von der Chargengrösse abhängig. Demzufolge ist bei der zentralen Herstellung der PN gegenüber der dezentralen Produktion bei einer Steigerung der Chargengrösse eine Kostenreduktion zu erwarten.
- Mittels der organischen Phosphatquelle Calciumglycerophosphat konnten die Kompatibilitätsprobleme von Ca^{2+} und Phosphat umgangen werden. Mit einem Orthophosphat-Gehalt in der wässrigen Phase von rund $1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ist bezüglich der kritischen Präzipitations-Grenze ($5 - 20 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) eine beachtliche Sicherheitsmarge vorhanden. Anhand von Orthophosphat als Marker ist keine latente Fällung schwerlöslicher Phosphate zu erwarten.
- Mit der Bestimmung des Cystein-Gehalts als sehr sensitiven Marker kann der Oxidationsgrad abgeschätzt werden. Die Cystein-Konzentration in der wässrigen Phase soll wenigstens $0.6 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ betragen. Aufgrund dieses Markers beträgt die Lagerdauer der wässrigen Phase entweder 7 Tage bei $+4^\circ\text{C}$ oder 30 Tage bei -20°C . Über diese Zeitspanne wurden die Zubereitungen anhand der angewandten mikroskopischen Untersuchung auch als physikalisch stabil beurteilt.
- Da in der TPO-Applikationssimulation kein Parameter den Grenzwert nach Schmutz überschritt, gelten die neonatologischen Standardlösungen bei der Applikation als physikalisch stabil während mindestens 24 Stunden.
- Die FOX-Methode erwies sich als eine zweckmässige und reproduzierbare Möglichkeit zur Erfassung des Verlaufs der Peroxid-Konzentration in neonatologischen PN-Zubereitungen. Der Peroxid-Gehalt stieg innert 24 h von $24 - 37$ auf $119 - 596 \mu\text{mol TBH} \cdot \text{Äq} \cdot \text{l}^{-1}$ an. Die gemessenen Peroxid-Konzentrationen müssen jedoch mit Vorsicht interpretiert werden, da es sich dabei um relative Werte handelt. Ob die gemessene Peroxid-Belastung für Neugeborene in vivo bereits kritisch ist, konnte nicht schlüssig beurteilt werden, da Grenzwerte fehlen.
- Die Peroxidation wurde zum limitierenden Faktor für die Stabilität der parenteralen Nährmischungen.

- Auf einen Zusatz von Heparin muss aus Gründen der physikalischen Stabilität der Lipidemulsion verzichtet werden.
- Die Standardnährlösungen Neo KSA sollen ausschliesslich zentralvenös als TPO-System appliziert werden. Die fett- und wasserlöslichen Vitamine sollen der Lipidemulsion zugesetzt werden. Zum Lichtschutz während der Applikation soll das getestete, orangefarbene Infusionsbesteck eingesetzt werden.

Abschliessende Beurteilung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Grundlagen für die Standardisierung und Zentralisierung der parenteralen Ernährung in der Neonatologie geschaffen. Diese sollten für den nächsten Schritt der Umsetzung des Projektes in die Praxis ausreichen. Als verbindliche Punkte für die Umsetzung sind die Rezepturen der beiden stabilitätsgeprüften Standardnährlösungen, die Verabreichung dieser Standards als TPO-System, das orangefarbene Infusionsbesteck sowie der Verzicht auf Heparin zu nennen. Der Prozessablauf für die PN nach der Zentralisierung muss vor der Realisierung des Projektes validiert werden. Nach der Etablierung in der Praxis werden allenfalls Modifikationen dieser Grundlagen nötig.

Die Anwendung in der Klinik wird zeigen, wie häufig die hoch- bzw. niederkalorische Standardnährlösung Neo KSA eingesetzt werden kann. Falls mit den beiden Standards nicht ein genügend hoher Prozentsatz der Kinder ernährt werden kann, muss - nach einer Zwischenbilanz - eine weitere Standardnährlösung konzipiert werden. Am ehesten besteht ein Bedarf an einer Mischung mit einem verringerten Volumen, bei derselben Nährstoffzusammensetzung (Flüssigkeitsrestriktion).

Nach Ansicht der Autorin stellen die Vereinfachung und die erhöhte Konsistenz der Verordnung und Produktion der PN im Zuge der Standardisierung für alle Beteiligten erhebliche Vorteile dar. Die ausgewogene Nährstoffbilanz sowie die Erhöhung der Calcium-Dosierung stellen einen eindeutigen Benefit (medizinische Effizienz) für die parenteral ernährten Neugeborenen dar. Hervorzuheben ist ausserdem der „Added value“ durch das Einbringen pharmazeutischer Kompetenzen wie Qualitätssicherung und Dokumentation. Die GMP-konforme Herstellung zentral in der Spitalapotheke liefert Nährlösungen von reproduzierbarer Qualität und geprüfter Stabilität. Dadurch wird die Sicherheit (keine Inkompatibilitäten oder Kontamination) für das Kind verbessert.

Ausserdem fand bei der Pflege eine Sensibilisierung für die Risiken aseptischer Zubereitungen statt, welche sich auch auf andere Arzneistoffgruppen (z.B. Antiinfektiva) positiv auswirkte.

E.2 Ausblick

- Als Massnahme zur Reduktion der Peroxidbelastung könnte Lipovenös® durch ein Produkt mit mittelkettigen Fettsäuren (MCT) ersetzt werden. In einer Untersuchung von Dupont konnte gezeigt werden, dass durch die Reduktion der mehrfach ungesättigten Fettsäuren von 60% auf 40% die Peroxid-Konzentration um rund 30% gesenkt wurde.²³⁷ Vorerst müssen aber mehr Evidenz-basierte Daten zum Einsatz von mittelkettigen Fettsäuren bei Neugeborenen vorliegen.
Sauerstoffundurchlässige Infusionsbeutel und -leitungen böten einen weiteren Ansatz zur Minimierung der Peroxidbelastung.
- Eine Lipidemulsion mit MCT würde allenfalls auch eine AIO-Zubereitung der Standardnährlösungen erlauben.²⁴⁷
- Infolge der Begrenzung der Zugangsmöglichkeiten bei Neugeborenen durch einlumige Katheter muss die PN unterbrochen werden, um andere Medikamente zu verabreichen. Es wäre daher sinnvoll, die PN als Träger für häufig verwendete Arzneistoffe (Antiinfektiva) einzusetzen. Dazu sind jedoch vorgängig Untersuchungen zur Kompatibilität und Stabilität nötig.
- Aufschlussreich wäre eine vergleichende Untersuchung der Partikelbelastung des Kindes bei Applikation der PN mit bzw. ohne In-line Filter. Dazu müsste die Partikelzahl mit einer quantitativen Methode erfasst werden.
- Zur vollständigen pharmakoökonomischen Beurteilung des Zentralisierungsprojektes muss der Outcome der PN in einer Kosten-Effektivitäts-Analyse gemessen werden. Sinnvolle Parameter dazu wären die Nährstoffbilanz, die Laborparameter (z.B. Elektrolyte, Triglyceride), die Gewichtszunahme des Kindes, die Dauer der PN bzw. der Hospitalisation, die Häufigkeit von Apnoen sowie die Infektionsrate.¹³⁵⁻¹³⁷

F. Literaturverzeichnis

1. **Pinchasik D.** From TPN to breast feeding—feeding the premature infant—2000: Part I. Parenteral nutrition. *Am J Perinatol* **2001**;18(2):59-72.
2. **Thureen PJ, Hay WW Jr.** Conditions in preterm infants requiring special nutritional management. In: Tsang R, Lucas A, Uauy R, Zlotkin S, editors. *Nutritional needs of the preterm infant*. Baltimore: Williams and Wilkins; **1993**. p. 243-66.
3. **Pereira GR, Glassman M.** Parenteral nutrition in the neonate. In: Rombeau JL, Caldwell MA, editors. *Parenteral nutrition*. Philadelphia: WB Saunders; **1986**. p. 702-20.
4. **Acra SA, Rollins C.** Principles and guidelines for parenteral nutrition in children. *Pediatr Ann* **1999** Feb;28(2):113-20.
5. **A.S.P.E.N.** Board of Directors. Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **2002** Jan-Feb;26(1 Suppl 1):1SA-51SA.
6. **Greer FR.** Feeding the premature infant in the 20th century. *J Nutr* **2001** Feb;131(2):426S-30S.
7. **Puntis JW.** Paediatric parenteral nutrition. In: Payne-James J, Grimble G, Silk D, editors. *Artificial nutritional support in clinical practice*. London: Edward Arnold; **1995**. p. 343-63.
8. **Deutsch-Österreichische Arbeitsgemeinschaft für klinische Ernährung.** Empfehlungen zur parenteralen Infusions- und Ernährungstherapie im Kindesalter. *Infusionstherapie* **1987**;14:41-4.
9. **Bundesamt für Statistik.** Perinatalstatistik: Geburten nach Gewicht. Neuchâtel **1999**.
10. **Dobner M, Miksch S, Horn W, Popow C.** VIE-PNN: an expert system for calculating parenteral nutrition of intensive care premature and newborn infants. *Wien Klin Wochenschr* **1995**;107(4):128-3.
11. **Canadian Paediatric Society, Nutrition Committee.** Nutrient needs and feeding of premature infants. *CMAJ* **1995** Jun 1;152(11):1765-85.
12. **Kumpf VJ.** Current guidelines for the use of parenteral nutrition. *Home Health Care Consultant* **1999**; 6(4):20-5.
13. **Varma RN, Suskind RM.** Parenteral nutrition in the pediatric patient. In: Rombeau JL, Caldwell MA, editors. *Parenteral nutrition*. Philadelphia: WB Saunders; **1986**. p. 721-30.
14. **Chan DS.** Recommended daily allowance of maintenance parenteral nutrition in infants and children. *Am J Health Syst Pharm* **1995** Mar 15;52(6):651-3.
15. **Heird WC, Gomez MR.** Parenteral nutrition in low-birth-weight infants. *Annu Rev Nutr* **1996**;16: 471-99.
16. **Bresson JL, Narcy P, Putet G, Ricour C, Sachs C, Rey J.** Energy substrate utilization in infants receiving total parenteral nutrition with different glucose to fat ratios. *Pediatr Res* **1989** Jun;25(6): 645-8.
17. **Imura K, Okada A.** Amino acid metabolism in pediatric patients. *Nutrition* **1998** Jan;14(1):143-8.
18. **Davis SS.** The stability of fat emulsions for intravenous administration. In: Johnston IDA, editor. *Advances in clinical nutrition*. Lancaster: MTP Press Limited; **1983**. p. 213-39.
19. **Ferezou J, Bach AC.** Structure and metabolic fate of triacylglycerol- and phospholipid-rich particles of commercial parenteral fat emulsions. *Nutrition* **1999** Jan;15(1):44-50.
20. **Sommermeier K.** Aspekte zur physikalisch-chemischen Charakterisierung, Herstellung, Kontrolle und Kompatibilitätsprüfung von Lipovenös. In: Ahnefeld FW, Hartig W, Holm E, Kleinberger G, editors. *Klinische Ernährung, Band 21: Erfahrungen mit Fettemulsionen*. München: W. Zuckschwerdt Verlag; **1986**.
21. **Hanssler L, Schlotzer E, Blenkins B, Roll C, Zhou C, Kordass U.** Elimination von Fettemulsionen unterschiedlicher Konzentration aus dem Serum. *Klin Pädiatr* **1992** Jan-Feb;204(1):27-33.
22. **Kao LC, Cheng MH, Warburton D.** Triglycerides, free fatty acids, free fatty acids/albumin molar ratio, and cholesterol levels in serum of neonates receiving long-term lipid infusions: controlled trial of continuous and intermittent regimens. *J Pediatr* **1984** Mar;104(3):429-35.
23. **Ziegler EE, O'Donnell AM, Nelson SE, Fomon SJ.** Body composition of the reference fetus. *Growth* **1976** Dec;40(4):329-41.
24. **Dunham B, Marcuard S, Khazanie PG, Meade G, Craft T, Nichols K.** The solubility of calcium and phosphorus in neonatal total parenteral nutrition solutions. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1991** Nov-Dec;15(6):608-11.

25. **MacMahon** P, Mayne PD, Blair M, Pope C, Kovar IZ. Calcium and phosphorus solubility in neonatal intravenous feeding solutions. *Arch Dis Child* **1990** Apr;65(4 Spec No):352-3.
26. **Buchman** AL, Moukartzel A. Metabolic bone disease associated with total parenteral nutrition. *Clin Nutr* **2000** Aug;19(4):217-31.
27. **Colonna** F, Candusso M, de Vonderweid U, Marinoni S, Gazzola AM. Calcium and phosphorus balance in very low birth weight babies on total parenteral nutrition. *Clin Nutr* **1990**;9:89-95.
28. **Costello** I, Powell C, Williams AF. Sodium glycerophosphate in the treatment of neonatal hypophosphataemia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* **1995** Jul;73(1):F44-5.
29. **Hanning** RM, Mitchell MK, Atkinson SA. In vitro solubility of calcium glycerophosphate versus conventional mineral salts in pediatric parenteral nutrition solutions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **1989** Jul;9(1):67-72.
30. **Raupp** P, von Kries R, Pfahl HG, Manz F. Glycerol- vs glucose-phosphate in parenteral nutrition of premature infants: a comparative in vitro evaluation of calcium/phosphorus compatibility. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1991** Jul-Aug;15(4):469-73.
31. **Hanning** RM, Atkinson SA, Whyte RK. Efficacy of calcium glycerophosphate vs conventional mineral salts for total parenteral nutrition in low-birth-weight infants: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* **1991** Nov;54(5):903-8.
32. **Hicks** W, Hardy G. Phosphate supplementation for hypophosphataemia and parenteral nutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **2001** May;4(3):227-33.
33. **Ben Hariz** M, Goulet O, De Potter S, Girot R, Rambaud C, Ricour C et al. Iron overload in children receiving prolonged parenteral nutrition. *J Pediatr* **1993** Aug;123(2):238-41.
34. **Greer** FR. Vitamin metabolism and requirements in the micropremie. *Clin Perinatol* **2000** Mar;27(1):95-118,vi.
35. **MacDonald** MG, Fletcher AB, Johnson EL, Boeckx RL, Getson PR, Miller MK. The potential toxicity to neonates of multivitamin preparations used in parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1987** Mar-Apr;11(2):169-71.
36. **Greene** HL, Hambidge KM, Schanler R, Tsang RC. Guidelines for the use of vitamins, trace elements, calcium, magnesium, and phosphorus in infants and children receiving total parenteral nutrition: report of the Subcommittee on Pediatric Parenteral Nutrient Requirements from the Committee on Clinical Practice Issues of the American Society for Clinical Nutrition. *Am J Clin Nutr* **1988** Nov;48(5):1324-42.
37. **Hartmann** B, Berchtold W, Aeberhard P, Mühlebach S. Umfang, Rationalität und Qualität der parenteralen Ernährung. *Akt Ernähr-Med* **1998**;23:43-9.
38. **Rollins** CJ, Elsberry VA, Pollack KA, Pollack PF, Udall JN Jr. Three-in-one parenteral nutrition: a safe and economical method of nutritional support for infants. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1990** May-Jun;14(3):290-4.
39. **Allwood** MC. Microbiological risks in parenteral nutrition compounding. *Nutrition* **1997** Jan;13(1):60-1.
40. **Shields** PL, Field J, Rawlings J, Kendall J, Allison SP. Long-term outcome and cost-effectiveness of parenteral nutrition for acute gastrointestinal failure. *Clin Nutr* **1996**;15:64-8.
41. **Schmid** U, Schmutz CW, Steger PJK, Mühlebach S. Quality and economical aspects of ward-prepared PN admixtures for preterm infants. *Clin Nutr* **1997**;16(Suppl 2):50.
42. **Pichard** C, Mühlebach S, Maisonneuve N, Sierro C. Prospective survey of parenteral nutrition in Switzerland: a three-year nation-wide survey. *Clin Nutr* **2001** Aug;20(4):345-50.
43. **Baumann** L, Bürger D. Individuelle parenterale Ernährung für die Pädiatrie. *Krankenhauspharmazie* **1997**;18:333-39.
44. **Moreno** Villares JM, Fernandez-Shaw C, Gomis Munoz P, Valero Zanuy MA, Leon Sanz M. Pediatric parenteral nutrition: are standard solutions better than individualized ones? *An Esp Pediatr* **2002** Jul;57(1):29-33.
45. **Beecroft** C, Martin H, Puntis JWL. How often do parenteral nutrition prescriptions for the newborn need to be individualized? *Clin Nutr* **1999** Apr;18(2):83-5.
46. **Willimsky** S, Kilian R, Geier N, Schwartz M, Runge H, Kachel W. Computergestützte standardisierte parenterale Ernährung in der Neonatologie. *Monatsschr Kinderheilkd* **2000**;148:713-8.
47. **Devlieger** H, Pourcq L, Casneuf A, Vanhole C, de Zegher F, Eggermont E et al. Standard two-compartment formulation for total parenteral nutrition in the neonatal intensive care unit: a fluid tolerance based system. *Clin Nutr* **1993**;12:282-86.

48. **Geier N**, Kilian R, Runge H, Cremer J, Jacobi B, Schwartz M et al. Erfahrungen mit einer standardisierten Lösung für die totale bzw. partielle parenterale Ernährung von Früh- und Neugeborenen. *Monatsschr Kinderheilkd* **1996**;144:643-7.
49. **Kilian R**. Paediatric parenteral nutrition - role of the pharmacist. *All in One Newsletter* **1999** Sept: 8-11.
50. **Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme**. Guide to good manufacturing practice for medicinal products. Rev. 3 Genf: PIC/S Secretariat; **2002**.
51. **Swissmedic**. Regeln der Guten Herstellungspraxis für Arzneimittel in kleinen Chargen. *Swissmedic Journal*, Sonderdruck Herbst **2002**.
52. **A.S.P.E.N.** Board of Directors. Safe practices for parenteral nutrition formulations. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1998** Mar-Apr;22(2):49-66.
53. **Rötheli-Simmen B**, Mühlebach S, Grünig HM. Die Herstellung von All-in-one-Mischungen zur parenteralen Ernährung. *Schweizer Spital* **1995**;5(11):42-3.
54. **Hardy G**, Ball P, McElroy B. Basic principles for compounding all-in-one parenteral nutrition admixtures. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **1998** May;1(3):291-6.
55. **Allwood MC**, Hardy G, Sizer T. Roles and functions of the pharmacist in the nutrition support team. *Nutrition* **1996** Jan;12(1):63-4.
56. **Fisher AA**, Poole RL, Machie R, Tsang C, Baugh N, Kerner JA Jr. et al. Clinical pathway for pediatric parenteral nutrition. *Nutr Clin Pract* **1997** Apr;12(2):76-80.
57. **Gales BJ**, Gales MJ. Nutritional support teams: a review of comparative trials. *Ann Pharmacother* **1994** Feb;28(2):227-35.
58. **Reilly H**. Parenteral nutrition: an overview of current practice. *Br J Nurs* **1998** Apr-May;7(8):461-7.
59. **Wesley JR**, Coran AG. Intravenous nutrition for the pediatric patient. *Semin Pediatr Surg* **1992** Aug; 1(3):212-30.
60. **Mühlebach S**. Heimparenterale Ernährung: Internationale Entwicklungen und Langzeiterfahrungen aus der Schweiz. *Aktuel Ernaehr Med* **2002**;27:425-30.
61. **Dice JE**, Burckart GJ, Woo JT, Helms RA. Standardized versus pharmacist-monitored individualized parenteral nutrition in low-birth-weight infants. *Am J Hosp Pharm* **1981**;38:1487-9.
62. **Mutchie KD**, Smith KA, MacKay MW, Marsh C, Juluson D. Pharmacist monitoring of parenteral nutrition: clinical and cost effectiveness. *Am J Hosp Pharm* **1979** Jun;36(6):785-7.
63. **Food and Drug Administration**. Safety alert: Hazards of precipitation associated with parenteral nutrition. *Am J Hosp Pharm* **1994** Jun 1;51:1427-8.
64. **Manning RJ**, Washington C. Chemical stability of total parenteral nutrition mixtures. *Int J Pharm* **1992**;81;1-20.
65. **Allwood MC**, Greenwood M. Assessment of trace element compatibility in total parenteral nutrition infusions. *Pharm Weekbl Sci* **1992** Oct 16;14(5):321-4.
66. **Eggert LD**, Rusho WJ, MacKay MW, Chan GM. Calcium and phosphorus compatibility in parental nutrition solutions for neonates. *Am J Hosp Pharm* **1982** Jan;39(1):49-53.
67. **Fitzgerald KA**, MacKay MW. Calcium and phosphate solubility in neonatal parenteral nutrient solutions containing Aminosyn PF. *Am J Hosp Pharm* **1987** Jun;44(6):1396-400.
68. **Ronchera-Oms CL**, Allwood MC, Hardy G. Organic phosphates in parenteral nutrition: pouring fresh water into an old bucket. *Nutrition* **1996** May;12(5):388-9.
69. **Ball PA**, Bethune K, Fox J, Ledger R, Barnett M. Particulate contamination in parenteral nutrition solutions: still a cause for concern? *Nutrition* **2001** Nov-Dec;17(11-12):926-9.
70. **Puntis JW**, Wilkins KM, Ball PA, Rushton DI, Booth IW. Hazards of parenteral treatment: do particles count? *Arch Dis Child* **1992** Dec;67(12):1475-7.
71. **Lucks JS**, Müller BW. Parenterale Fetteulsionen - Struktur, Stabilität, Verwendung und In-vivo-Schicksal. *Krankenhauspharmazie* **1994**;15(2):51-7.
72. **Li J**, Caldwell KD. Structural studies of commercial fat emulsions used in parenteral nutrition. *J Pharm Sci* **1994** Nov;83(11):1586-92.
73. **Rotenberg M**, Rubin M, Bor A, Meyuhas D, Talmon Y, Lichtenberg D. Physico-chemical characterization of Intralipid emulsions. *Biochim Biophys Acta* **1991** Nov 27;1086(3):265-72.
74. **Black CD**, Popovich NG. A study of intravenous emulsion compatibility: effects of dextrose, amino acids, and selected electrolytes. *Drug Intell Clin Pharm* **1981** Mar;15(3):184-93.
75. **Barnett MI**, Cosslett AG, Duffield JR, Evans DA, Hall SB, Williams DR. Parenteral nutrition. Pharmaceutical problems of compatibility and stability. *Drug Saf* **1990**;5 Suppl 1:101-6.

76. **Driscoll** DF, Bacon MN, Bistran BR. Effects of in-line filtration on lipid particle size distribution in total nutrient admixtures. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1996** Jul-Aug;20(4):296-301.
77. **Washington** C, Athersuch A, Kynoch DJ. The electrokinetic properties of phospholipid stabilized fat emulsions. IV. The effect of glucose and of pH. *Int J Pharm* **1990**;64:217-22.
78. **Washington** C, Connolly MA, Manning R, Skerratt MCL. The electrokinetic properties of phospholipid stabilized fat emulsions. V. The effect of amino acids on emulsion stability. *Int J Pharm* **1991**;77: 57-63.
79. **Davis** SS, Hansrani P. The influence of emulsifying agents on the phagocytosis of lipid emulsions by macrophages. *Int J Pharm* **1985** Jan;23(1):69-77.
80. **Waddell** WR, Geyer RP, Olsen FR, Stare FJ. Clinical observations on the use of nonphosphatide (pluronic) fat emulsions. *Metabolism* **1957** Nov;6(6, Part 2):815-21.
81. **Koster** VS, Kuks PFM, Lange R, Talsma H. Particle size in parenteral fat emulsions, what are the true limitations? *Int J Pharm* **1996**;134:235-8.
82. **Puntis** JW, Rushton DI. Pulmonary intravascular lipid in neonatal necropsy specimens. *Arch Dis Child* **1991** Jan;66(1 Spec No):26-8.
83. **Schroder** H, Paust H, Schmidt R. Pulmonary fat embolism after Intralipid therapy - a post-mortem artefact? Light and electron microscopic investigations in low-birth-weight infants. *Acta Paediatr Scand* **1984** Jul;73(4):461-4.
84. **Müller** RH, Heinemann S. Fat emulsions for parenteral nutrition. I: Evaluation of microscopic and laser light scattering methods for the determination of the physical stability. *Clin Nutr* **1992**;11:223-36.
85. **Burnham** WR, Hansrani PK, Knott CE, Cook CA, Davis SS. Stability of a fat emulsion based intravenous feeding mixture. *Int J Pharm* **1983**;13:9-22.
86. **Fry** LK, Stegink LD. Formation of Maillard reaction products in parenteral alimentation solutions. *J Nutr* **1982** Aug;112(8):1631-7.
87. **Stegink** LD, Freeman JB, Den Besten L, Filer LJ Jr. Maillard reaction products in parenteral nutrition. *Prog Food Nutr Sci* **1981**;5(1-6):265-78.
88. **Kim** SB, Kim IS, Yeum DM, Park YH. Mutagenicity of Maillard reaction products from D-glucose-amino acid mixtures and possible roles of active oxygens in the mutagenicity. *Mutat Res* **1991** Jan; 254(1):65-9.
89. **Allwood** MC, Kearney MC. Compatibility and stability of additives in parenteral nutrition admixtures. *Nutrition* **1998** Sep;14(9):697-706.
90. **Bhatia** J, Mims LC, Roesel RA. The effect of phototherapy on amino acid solutions containing vitamins. *J Pediatr* **1980** Feb;96(2):284-6.
91. **Brawley** V, Bhatia J, Karp WB. Hydrogen peroxide generation in a model paediatric parenteral amino acid solution. *Clin Sci (Lond)* **1993** Dec;85(6):709-12.
92. **Allwood** MC. Light protection during parenteral nutrition infusion: is it really necessary? *Nutrition* **2000** Mar;16(3):234-5.
93. **Steger** PJ, Mühlebach SF. In vitro oxidation of i.v. lipid emulsions in different all-in-one admixture bags assessed by an iodometric assay and gas-liquid chromatography. *Nutrition* **1997** Feb;13(2): 133-40.
94. **Warner** BB, Wispe JR. Free radical-mediated diseases in pediatrics. *Semin Perinatol* **1992** Feb; 16(1):47-57.
95. **Silvers** KM, Darlow BA, Winterbourn CC. Lipid peroxide and hydrogen peroxide formation in parenteral nutrition solutions containing multivitamins. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **2001** Jan-Feb; 25(1):14-7.
96. **Lavoie** JC, Chessex P. Bound iron admixture prevents the spontaneous generation of peroxides in total parenteral nutrition solutions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **1997** Sep;25(3):307-11.
97. **Pitkanen** OM. Peroxidation of lipid emulsions: a hazard for the premature infant receiving parenteral nutrition? *Free Radic Biol Med* **1992** Sep;13(3):239-45.
98. **Bass** WT, Malati N, Castle MC, White LE. Evidence for the safety of ascorbic acid administration to the premature infant. *Am J Perinatol* **1998** Feb;15(2):133-40.
99. **Helbock** HJ, Motchnik PA, Ames BN. Toxic hydroperoxides in intravenous lipid emulsions used in preterm infants. *Pediatrics* **1993** Jan;91(1):83-7.

100. **Pitkanen** O, Hallman M, Andersson S. Generation of free radicals in lipid emulsion used in parenteral nutrition. *Pediatr Res* **1991** Jan;29(1):56-9.
101. **Supnet** MC, David-Cu R, Walther FJ. Plasma xanthine oxidase activity and lipid hydroperoxide levels in preterm infants. *Pediatr Res* **1994** Sep;36(3):283-7.
102. **Laborie** S, Lavoie JC, Pineault M, Chessex P. Contribution of multivitamins, air, and light in the generation of peroxides in adult and neonatal parenteral nutrition solutions. *Ann Pharmacother* **2000** Apr;34(4):440-5.
103. **Glantz** SA. Primer of biostatistics. 4th ed. USA: McGraw-Hill; **1997**.
104. **Schmutz** CW. Zubereitung parenteraler Ernährungsmischungen in der Spitalapotheke; Untersuchungen zur pharmazeutischen Qualität und Stabilität [Dissertation]. Bern: Universität Bern; **1993**.
105. **Wlodarczyk** K, Zello GA, Shevchuk YM, Leson CL. Total parenteral nutrition practices in Canadian neonatal and pediatric care units: results of a survey. *Can J Hosp Pharm* **2002**;55:254-61.
106. **American Academy of Pediatrics**, Committee on Nutrition. Parenteral nutrition. In: Kleinman RE, editor. *Pediatric Nutrition Handbook*. 4th ed. Elk Grove Village (IL): American Academy of Pediatrics; **1998**.
107. **Peters** O, Ryan S, Matthew L, Cheng K, Lunn J. Randomised controlled trial of acetate in preterm neonates receiving parenteral nutrition. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* **1997** Jul;77(1):F12-5.
108. **Richards** CE, Drayton M, Jenkins H, Peters TJ. Effect of different chloride infusion rates on plasma base excess during neonatal parenteral nutrition. *Acta Paediatr* **1993** Aug;82(8):678-82.
109. **Witt** I, Trendelenburg C. Gemeinsame Studie zur Erstellung von Richtwerten für klinisch-chemische Kenngrößen im Kindesalter. *J Clin Chem Clin Biochem* **1982** April;20(4):235-42.
110. **King** C. Neonatal unit parenteral nutrition policy. London: The Hammersmith Hospitals NHS Trust, Nutrition and Dietetic Department; **1996**. p. 3-38.
111. **Inaebnit** D, Wingeier B, Kraemer R. *Berner Datenbuch der Pädiatrie*. 5. Aufl., Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; **1997**. p. 154-7.
112. **Guzman** JM, Jaraba MP, De La Torre MJ, Ruiz-Gonzalez MD, Huertas MD, Zapatero M et al. Parenteral nutrition and immature neonates. Comparative study of neonates weighing under 1000 and 1000-1250 g at birth. *Early Hum Dev* **2001** Nov;65 Suppl:S133-44.
113. **McDonough** KP, Cartwright GW, Bryant B. Standardization of total parenteral nutrition in a neonatal intensive care unit. *Am J Intra Ther & Clin Nutr* **1983**;10:33-45.
114. **Tepas** JJ, Mollitt DL, String DL, Pieper P. Error in fluid and calorie calculation in the surgical neonate. *J Pediatr Surg* **1991** Feb;26(2):132-4.
115. **Wilson** DC, Cairns P, Halliday HL, Reid M, McClure G, Dodge JA. Randomised controlled trial of an aggressive nutritional regimen in sick very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* **1997** Jul;77(1):F4-11.
116. **Ziegler** EE, Thureen PJ, Carlson SJ. Aggressive nutrition of the very low birthweight infant. *Clin Perinatol* **2002** Jun;29(2):225-44.
117. **Zlotkin** SH, Bryan MH, Anderson GH. Intravenous nitrogen and energy intakes required to duplicate in utero nitrogen accretion in prematurely born human infants. *J Pediatr* **1981** Jul; 99(1):115-20.
118. **Mildenberger** E, Versmold HT. Pathogenesis and therapy of non-oliguric hyperkalaemia of the premature infant. *Eur J Pediatr* **2002** Aug;161(8):415-22.
119. **Pelegano** JF, Rowe JC, Carey DE, LaBarre DJ, Edgren KW, Horak E et al. Effect of calcium/phosphorus ratio on mineral retention in parenterally fed premature infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **1991** Apr;12(3):351-5.
120. **Sugiura** S, Inagaki K, Noda Y, Nagai T, Nabeshima T. Acid load during total parenteral nutrition: comparison of hydrochloric acid and acetic acid on plasma acid-base balance. *Nutrition* **2000** Apr; 16(4):260-3.
121. **Veech** RL, Gitomer WL. The medical and metabolic consequences of administration of sodium acetate. *Adv Enzyme Regul* **1988**;27:313-43.
122. **Honjo** S, Yamaguchi M. Umbilical artery blood acid-base analysis and fetal heart rate baseline in the second stage of labor. *J Obstet Gynaecol Res* **2001** Oct;27(5):249-54.
123. **Hanning** RM, Zlotkin SH. Amino acid and protein needs of the neonate: effects of excess and deficiency. *Semin Perinatol* **1989** Apr;13(2):131-41.

124. **Van Lingen** RA, van Goudoever JB, Luijendijk IH, Wattimena JL, Sauer PJ. Effects of early amino acid administration during total parenteral nutrition on protein metabolism in pre-term infants. *Clin Sci (Lond)* **1992** Feb;82(2):199-203.
125. **Torrance** GW, Blaker D, Detsky A, Kennedy W, Schubert F, Firestone T et al. Canadian guidelines for economic evaluation of pharmaceuticals. Canadian Collaborative Workshop for Pharmacoeconomics. *Pharmacoeconomics* **1996** Jun;9(6):535-59.
126. **Gilmour** E. A pilot study to determine the cost efficiency of a standard parenteral feeding regimen. *Hum Nutr Appl Nutr* **1987** Oct;41(5):356-60.
127. **Goel** V. Economics of total parenteral nutrition. *Nutrition* **1990** Jul-Aug;6(4):332-5.
128. **Pichard** C, Schwarz G, Frei A, Kyle U, Jolliet P, Sierro C et al. Economic investigation of the use of three-compartment total parenteral nutrition bag: prospective randomized unblinded controlled study. *Clin Nutr* **2000** Aug;19(4):245-51.
129. **Drummond** MF, O'Brien B, Stoddart GL, Torrance GW. Methods for economic evaluation of health care programmes. 2nd ed., Oxford: Oxford Medical Publications; **1997**.
130. **Lauterbach** K, Hinzpeter B. Effizienz-Analysen: Eine ethische Notwendigkeit. *Deutsches Ärzteblatt* **1997** Dez;94(51-52):A-3463.
131. **Drummond** M, Sculpher M. Common methodological flaws in economic evaluations. (Paper prepared for the Agency for Healthcare Research and Quality Workgroup on Infrastructure and Systems for CEA Review). Washington DC, 21-22 May **2003**.
132. **Rötheli-Simmen** B, Schmutz C, Mühlebach S. Was kostet ein Arzneimittel aus der Spitalapotheke. *Schweizer Spital* **1997**;7(2):24-5.
133. **Baddeley** J, Thomas M, Chatterjee R, Page C, Nicholas A. Pharmacoeconomic analysis of a new TPN service compared with on-site hospital manufacture. *Br J Intens Care* **1996** Oct;6:290-6.
134. **Achach** K, Peroux E, Hebuterne X. Economic assessment of different administration modes for total parenteral nutrition. *Gastroenterol Clin Biol* **2002** Aug-Sep;26(8-9):680-5.
135. **Anderson** DM. Nutritional assessment and therapeutic interventions for the preterm infant. *Clin Perinatol* **2002** Jun;29(2):313-26.
136. **Whitfield** J, Smith T, Sollohub H, Sweetman L, Roe CR. Clinical effects of L-carnitine supplementation on apnea and growth in very low birth weight infants. *Pediatrics* **2003** Mar; 111(3):477-82.
137. **Sohn** AH, Garrett DO, Sinkowitz-Cochran RL, Grohskopf LA, Levine GL, Jarvis WR. Prevalence of nosocomial infections in neonatal intensive care unit patients: Results from the first national point-prevalence survey. *J Pediatr* **2001** Dec;139(6):821-7.
138. **Kjellstrand** P, Martinson E, Wieslander A, Kjellstrand K, Jeppsson E, Olsson LF et al. Degradation in peritoneal dialysis fluids may be avoided by using low pH and high glucose concentration. *Perit Dial Int* **2001** Jul-Aug;21(4):338-44.
139. **Wieslander** A, Linden T, Musi B, Carlsson O, Deppisch R. Biological significance of reducing glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids. *Perit Dial Int* **2000**;20 Suppl 5:S23-7.
140. **Ulbricht** RJ, Northup SJ, Thomas JA. A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions. *Fundam Appl Toxicol* **1984** Oct;4(5):843-53.
141. **Hryncewicz** CL, Koberda M, Konkowski MS. Quantitation of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) and related substances in dextrose injections containing drugs and bisulfite. *J Pharm Biomed Anal* **1996** Feb;14(4):429-34.
142. **Pharmacopoea Helvetica** **9**, Deutsche Ausgabe. Bern: Swissmedic; **2003**.
143. **The United States Pharmacopeia** **26** and the National Formulary 2003. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention; **2003**.
144. **Davidson** AG. The difference spectrophotometric assay of 5-hydroxymethyl-furfuraldehyde in parenteral formulations of dextrose. *J Clin Pharm Ther* **1987** Feb;12(1):11-8.
145. **Cook** AP, MacLeod TM, Appleton JD, Fell AF. HPLC studies on the degradation profiles of glucose 5% solutions subjected to heat sterilization in a microprocessor-controlled autoclave. *J Clin Pharm Ther* **1989** Jun;14(3):189-95.
146. **Kjellstrand** P, Martinson E, Wieslander A, Holmquist B. Development of toxic degradation products during heat sterilization of glucose-containing fluids for peritoneal dialysis: influence of time and temperature. *Perit Dial Int* **1995**;15(1):26-32.

147. **Mannermaa** JP, Muttonen E, Yliruusi J, Maattanen L. The use of different time/temperature combinations in the optimization of sterilization of Ringers/glucose infusion solution. *J Parenter Sci Technol* **1992** Nov-Dec;46(6):184-91.
148. **Niemiec** PW Jr, Vanderveen TW. Compatibility considerations in parenteral nutrient solutions. *Am J Hosp Pharm* **1984** May;41(5):893-911.
149. **Minton** AR, Barnett MI, Cosslett AG. Detection of particulate material in parenteral nutrition admixtures. *Nutrition* **1998** Feb;14(2):251-2.
150. **Driscoll** DF, Bhargava HN, Li L, Zaim RH, Babayan VK, Bistrrian BR. Physicochemical stability of total nutrient admixtures. *Am J Health Syst Pharm* **1995** Mar 15;52(6):623-34.
151. **Europäische Pharmakopöe 4**, Schweizer Ausgabe. 4. Auflage, Stuttgart: Deutscher Apothekerverlag; **2002**.
152. **Draper** HH, Yuen DE, Whyte RK. Calcium glycerophosphate as a source of calcium and phosphorus in total parenteral nutrition solutions. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1991** Mar-Apr; 15(2):176-80.
153. **Ronchera-Oms** CL, Jimenez NV, Peidro J. Stability of parenteral nutrition admixtures containing organic phosphates. *Clin Nutr* **1995**;14:373-80.
154. **Driscoll** DF, Newton DW, Bistrrian BR. Precipitation of calcium phosphate from parenteral nutrient fluids. *Am J Hosp Pharm* **1994** Nov 15;51(22):2834-6.
155. **Schweizerisches Lebensmittelbuch**. Kapitel 27A Trinkwasser, Untersuchungsmethode 27: Bestimmung von ortho-Phosphat und kondensierten Phosphaten. Bern: Bundesamt für Gesundheit; **2001**.
156. **Stryer** L. Biochemie. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum; **1994**. p. 19.
157. **Winterbourn** CC, Metodiewa D. Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med* **1999** Aug;27(3-4):322-8.
158. **Robak** J, Gryglewski RJ. Interactions between reactive oxygen species and sulfhydryl groups of cysteine, acetylcysteine, and glutathione. *Pol J Pharmacol* **1995** Jan-Feb;47(1):59-62.
159. **Griffiths** S. Oxidation of the sulfur-containing amino acids in recombinant human alpha-1-antitrypsin [Dissertation]. Cambridge, Massachusetts: MIT; **2002**.
160. **Griffiths** SW, King J, Cooney CL. The reactivity and oxidation pathway of cysteine 232 in recombinant human alpha 1-antitrypsin. *J Biol Chem* **2002** Jul 12;277(28):25486-92.
161. **Thomas** JA, Mallis RJ. Aging and oxidation of reactive protein sulfhydryls. *Exp Gerontol* **2001** Sep;36(9):1519-26.
162. **Raiha** NC. Biochemical basis for nutritional management of preterm infants. *Pediatrics* **1974** Feb; 53(2):147-5.
163. **Vina** J, Vento M, Garcia-Sala F, Puertes IR, Gasco E, Pallardo FV et al. L-cysteine and glutathione metabolism are impaired in premature infants due to cystathionase deficiency. *Am J Clin Nutr* **1995**; 61:1067-9.
164. **Rimaniol** AC, Mialocq P, Clayette P, Dormont D, Gras G. Role of glutamate transporters in the regulation of glutathione levels in human macrophages. *Am J Physiol Cell Physiol* **2001** Dec; 281(6):C1964-70.
165. **Sigma**. Product Information L-Cysteine/L-cystine. Saint Louis: Sigma-Aldrich Inc.; **2003**.
166. **Ellman** GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem and Biophys* **1959**;82:70-7.
167. **Riddles** PW, Blakeley RL, Zerner B. Reassessment of Ellman's reagent. *Methods Enzymol* **1983**; 91:49-60.
168. **Bulaj** G, Kortemme T, Goldenberg DP. Ionization-reactivity relationships for cysteine thiols in polypeptides. *Biochemistry* **1998** Jun 23;37(25):8965-72.
169. **Geigy**. Wissenschaftliche Tabellen. Band Physikalische Chemie, Blut, Humangenetik, Stoffwechsel von Xenobiotika. 8. Auflage, Basel: Ciba-Geigy AG; **1979**. p. 60-2.
170. **Armstrong** NA, James KC. Pharmaceutical experimental design and interpretation. London: Taylor & Francis; **1996**. p. 131-67.
171. **Mirtallo** JM. The complexity of mixing calcium and phosphate. *Am J Hosp Pharm* **1994** Jun 15; 51(12):1535-6.
172. **Magnall** V. Don't forget calcium phosphate precipitation, even with organic phosphate salts. In: Mulholland P. Neonatal and Paediatric Pharmacist's Group (NPPG). Newsletter **1998**;7:6.
173. **Allwood** MC. Calcium phosphate compatibility in 3-in-1 parenteral nutrient admixtures. *Am J Hosp Pharm* **1994** Oct 15;51(20):2602-3.

174. **Laborie S**, Lavoie JC, Chessex P. Paradoxical role of ascorbic acid and riboflavin in solutions of total parenteral nutrition: implication in photoinduced peroxide generation. *Pediatr Res* **1998** May; 43(5):601-6.
175. **Bjelton L**, Fransson GB. Availability of cysteine and of L-2-oxo-thiazolidine-4-carboxylic acid as a source of cysteine in intravenous nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1990** Mar-Apr;14(2): 177-82.
176. **Vaminolact®**. In: Morant J, Ruppanner H, editors. *Arzneimittel Kompendium der Schweiz®* 2003. 24. Aufl., Basel: Documed AG; **2003**. p. 2796-7.
177. **Jeppsson RI**, Tengborn HJ. One week's stability of TPN mixtures in plastic bags. *Clin Nutr* **1987**; 6:155-60.
178. **Pak CY**, Fuller CJ. Assessment of cystine solubility in urine and of heterogeneous nucleation. *J Urol* **1983** May;129(5):1066-70.
179. **Dent CE**, Senior B. Studies on the treatment of cystinuria. *Br J Urol* **1955** Dec; 27(4):317-32.
180. **Sakhaee K**. Pathogenesis and medical management of cystinuria. *Semin Nephrol* **1996** Sep; 16(5): 435-47.
181. **Loach PA**. Oxidation-reduction potentials, absorbance bands, and molar absorbance of compounds used in biochemical studies. In: Fasman GD, editor. *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*. 3rd ed. Cleveland: CRC Press; **1976**. p. 122-9.
182. **Cheeseman KH**. Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Mol Aspects Med* **1993**;14(3):191-7.
183. **Gardner HW**. Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids. *Free Radic Biol Med* **1989**; 7(1):65-86.
184. **Gupta M**, Kale RK. Paradoxical influence of Ca²⁺ on lipid peroxidation. *Indian J Exp Biol* **1996** Nov; 34(11):1071-6.
185. **Halliwell B**, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* **1993** May;57(5 Suppl):715S-724S.
186. **Slater TF**. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Methods Enzymol* **1984**; 105:283-93.
187. **Gutteridge JM**, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* **1990** Apr;15(4):129-35.
188. **Steger PJK**. Oxidative Stabilität intravenöser Fettemulsionen und fetthaltiger All-in-one Mischungen [Dissertation]. Bern: Universität Bern; **1997**.
189. **Silvers KM**, Sluis KB, Darlow BA, McGill F, Stocker R, Winterbourn CC. Limiting light-induced lipid peroxidation and vitamin loss in infant parenteral nutrition by adding multivitamin preparations to Intralipid. *Acta Paediatr* **2001** Mar;90(3):242-9.
190. **Yin H**, Porter NA. Specificity of the ferrous oxidation of xylenol orange assay: analysis of autoxidation products of cholesteryl arachidonate. *Anal Biochem* **2003** Feb 15;313(2):319-26.
191. **Gupta BL**. Microdetermination techniques for H₂O₂ in irradiated solutions. *Microchem J* **1973**; 18:363-74.
192. **Hermes-Lima M**, Willmore WG, Storey KB. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III)xylenol orange complex formation. *Free Radic Biol Med* **1995** Sep;19(3):271-80.
193. **Jiang ZY**, Hunt JV, Wolff SP. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. *Anal Biochem* **1992** May 1;202(2):384-9.
194. **Cramer GL**, Miller JF Jr, Pendleton RB, Lands WE. Iodometric measurement of lipid hydroperoxides in human plasma. *Anal Biochem* **1991** Mar 2;193(2):204-11.
195. **Wolff SP**. Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. *Methods Enzymol* **1994**;233:182-9.
196. **Gay C**, Collins J, Gebicki JM. Hydroperoxide assay with the ferric-xylenol orange complex. *Anal Biochem* **1999** Sep 10;273(2):149-55.
197. **Folch J**, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* **1957**;226:497-509.
198. **Jiang ZY**, Woollard AC, Wolff SP. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. *Lipids* **1991** Oct;26(10):853-6.
199. **Nourooz-Zadeh J**. Ferrous ion oxidation in presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxides in plasma. *Methods Enzymol* **1999**;300:58-62.

200. **Snyder** LR. Classification of the solvent properties of common liquids. *J Chrom Sci* **1978**;16: 223-34.
201. **Laborie** S, Lavoie JC, Pineault M, Chessex P. Protecting solutions of parenteral nutrition from peroxidation. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1999** Mar-Apr;23(2):104-8.
202. **Sodergren** E, Nourooz-Zadeh J, Berglund L, Vessby B. Re-evaluation of the ferrous oxidation in xylenol orange assay for the measurement of plasma lipid hydroperoxides. *J Biochem Biophys Methods* **1998** Nov 18;37(3):137-46.
203. **Grau** A, Codony R, Rafecas M, Barroeta AC, Guardiola F. Lipid hydroperoxide determination in dark chicken meat through a ferrous oxidation-xylenol orange method. *J Agric Food Chem* **2000** Sep;48(9):4136-43.
204. **Burat** KM, Bozkurt O. Improvement of calibration curve for determining peroxide values of food lipids by the modified ferrous oxidation-xylenol orange method. *J AOAC Int* **1996** Jul-Aug; 79(4):995-7.
205. **Gay** C, Collins J, Gebicki JM. Determination of hydroperoxides by the ferric-xylenol orange method. *Redox Report* **1999**;4(6):327-8.
206. **Gay** CA, Gebicki JM. Perchloric acid enhances sensitivity and reproducibility of the ferric-xylenol orange peroxide assay. *Anal Biochem* **2002** May;304:42-6.
207. **Castera** A. Extraction of lipids for analytical purposes. In: Sebedio JL, Perkins EG, editors. *New trends in lipid and lipoprotein analyses*. Champaign (IL): AOCS Press; **1995**. p. 10-6.
208. **Van der Vusse** GJ, Roemen TH, Reneman RS. The content of non-esterified fatty acids in rat myocardial tissue. A comparison between the Dole and Folch extraction procedures. *J Mol Cell Cardiol* **1985** May;17(5):527-31.
209. **Pryor** WA, Castle L. Chemical methods for the detection of lipid hydroperoxides. *Methods Enzymol* **1984**;105:283-99.
210. **Mehlenbacher** VC. *The analysis of fats and oils*. Champaign (IL): Garrard Press; **1960**.
211. **IUPAC** Standard Methods. Determination of the peroxide value (P.V.). 7th ed. Oxford: Blackwell; **1987**. 2.501.
212. **Shantha** NC, Decker EA. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *J AOAC Int* **1994** Mar-Apr;77(2):421-4.
213. **Driscoll** DF. Physicochemical assessment of total nutrient admixture stability and safety: quantifying the risk. *Nutrition* **1997** Feb;13(2):166-7.
214. **Parry** VA, Harrie KR, McIntosh-Lowe NL. Effect of various nutrient ratios on the emulsion stability of total nutrient admixtures. *Am J Hosp Pharm* **1986** Dec;43(12):3017-22.
215. **Mehta** RC, Head LF, Hazrati AM, Parr M, Rapp RP, DeLuca PP. Fat emulsion particle-size distribution in total nutrient admixtures. *Am J Hosp Pharm* **1992** Nov;49(11):2749-55.
216. **Li** J, Caldwell KD, Anderson BD. A method for the early evaluation of the effects of storage and additives on the stability of parenteral fat emulsions. *Pharm Res* **1993** Apr;10(4):535-41.
217. **Martin** AN, Swarbrick J, Cammarata A, Stricker H (editor). *Physikalische Pharmazie*. 3rd ed. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; **1987**. p. 456-84.
218. **Müller** RH, Heinemann S. Fat emulsions for parenteral nutrition. III: Lipofundin MCT/LCT regimens for total parenteral nutrition (TPN) with low electrolyte load. *Int J Pharm* **1994**;101:175-89.
219. **Müller** RH, Heinemann S. Fat emulsions for parenteral nutrition. IV: Lipofundin MCT/LCT regimens for total parenteral nutrition (TPN) with high electrolyte load. *Int J Pharm* **1994**;107:121-32.
220. **Müller** RH, Schuhmann R. *Teilchengrößenmessung in der Laborpraxis*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; **1996**.
221. **Schmutz** CW, Werner R, Keller U, Mühlebach S. Emulsion stability of all-in-one TPN admixtures assessed by microscopy. Comparison of different lipid emulsions and amino acid solutions. *Clin Nutr* **1993**;12(2):59-60.
222. **Müller** RH. *Colloidal carriers for controlled drug delivery and targeting - modification, characterization and in vivo distribution*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; Boca Raton: CRC Press; **1991**.
223. **Whateley** TL, Steele G, Urwin J, Smail GA. Particle size stability of Intralipid and mixed total parenteral nutrition mixtures. *J Clin Hosp Pharm* **1984** Jun;9(2):113-26.
224. **Amato** M. *Manual der Neonatologie*. Stuttgart: Thieme Verlag; **1992**. p. 107-20.

225. **Randolph** AG, Cook DJ, Gonzales CA, Andrew M. Benefit of heparin in central venous and pulmonary artery catheters: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Chest* **1998** Jan; 113(1):165-71.
226. **Mocclair** A, Bates I. The efficacy of heparin in maintaining peripheral infusions in neonates. *Eur J Pediatr* **1995** Jul;154(7):567-70.
227. **Shah** P, Shah V. Continuous heparin infusion to prevent thrombosis and catheter occlusion in neonates with peripherally placed percutaneous central venous catheters [Cochrane Review]. In: *The Cochrane Library, Issue 2* **2003**. Oxford: Update Software.
228. **Washington** C, Koosha F, Davis SS. Physicochemical properties of parenteral fat emulsions containing 20% triglyceride; Intralipid and Ivelip. *J Clin Pharm Ther* **1993** Apr;18(2):123-31.
229. **Neuzil** J, Darlow BA, Inder TE, Sluis KB, Winterbourn CC, Stocker R. Oxidation of parenteral lipid emulsion by ambient and phototherapy lights: potential toxicity of routine parenteral feeding. *J Pediatr* **1995**;126(5 Pt 1):785-90.
230. **Müller** HJ, Frank C. Stabilität von TPN-Mischungen bei Einsatz eines MCT-Fetts. *Krankenhauspharmazie* **2001**;22(3):119-28.
231. **Murphy** S, Craig DQ, Murphy A. An investigation into the physical stability of a neonatal parenteral nutrition formulation. *Acta Paediatr* **1996** Dec;85(12):1483-6.
232. **Lavoie** JC, Belanger S, Spalinger M, Chessex P. Admixture of a multivitamin preparation to parenteral nutrition: the major contributor to in vitro generation of peroxides. *Pediatrics* **1997** Mar; 99(3):E61-70.
233. **Bowry** VW, Stocker R. Tocopherol-mediated peroxidation. The prooxidant effect of vitamin E on the radical-initiated oxidation of human low-density lipoprotein. *J Am Chem Soc* **1993**;115:6029-44.
234. **Ingold** KU, Bowry VW, Stocker R, Walling C. Autoxidation of lipids and antioxidation by alpha-tocopherol and ubiquinol in homogeneous solution and in aqueous dispersions of lipids: unrecognized consequences of lipid particle size as exemplified by oxidation of human low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* **1993** Jan 1;90(1):45-9.
235. **Thomas** SR, Neuzil J, Mohr D, Stocker R. Coantioxidants make alpha-tocopherol an efficient antioxidant for low-density lipoprotein. *Am J Clin Nutr* **1995** Dec;62(6 Suppl):1357S-1364S.
236. **Steger** PJ, Mühlebach SF. Lipid peroxidation of i.v. lipid emulsions in TPN bags: the influence of tocopherols. *Nutrition* **1998** Feb;14(2):179-85.
237. **Dupont** IE. Peroxidation of lipid emulsions: effects of changes in fatty acid pattern and alpha-tocopherol content on the sensitivity to peroxidative damage. *Clin Nutr* **1999** Apr;18(2):113-6.
238. **Jung** MY, Min DB. Effects of alpha-, gamma-, and delta-tocopherols on oxidative stability of soybean oil. *J Food Sci* **1990**;55(5):1464-5.
239. **Laborie** S, Lavoie JC, Rouleau T, Chessex P. Multivitamin solutions for enteral supplementation. A source of peroxides. *Nutrition* **2002** Jun;18(6):470-3.
240. **Dahl** GB, Svensson L, Kinnander NJ, Zander M, Bergstrom UK. Stability of vitamins in soybean oil fat emulsion under conditions simulating intravenous feeding of neonates and children. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1994** May-Jun;18(3):234-9.
241. **Smith** JL, Canham JE, Kirkland WD, Wells PA. Effect of Intralipid, amino acids, container, temperature, and duration of storage on vitamin stability in total parenteral nutrition admixtures. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **1988** Sep-Oct;12(5):478-83.
242. **Schmid** U. Parenterale AIO-Nährmischungen als Träger für Medikamente? Ciclosporin A (Sandimmun i.v.) als lipophile Modellsubstanz [Dissertation Nr. 14635]. Zürich: Eidgenössisch Technische Hochschule, ETH; **2002**.
243. **Stadtman** ER, Levine RL. Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci* **2000**;899:191-208.
244. **Johnson** OL, Washington C, Davis SS, Schaupp K. The destabilization of parenteral feeding emulsions by heparin. *Int J Pharm* **1989**;53:237-40.
245. **Li** LC, Sampogna TP. A factorial design study on the physical stability of 3-in-1 admixtures. *J Pharm Pharmacol* **1993** Nov;45(11):985-7.
246. **Silva** E, Edwards AM, Pacheco D. Visible light-induced photooxidation of glucose sensitized by riboflavin. *J Nutr Biochem* **1999**;10(3):181-5.
247. **Driscoll** DF, Nehne J, Peterss H, Klutsch K, Bistrrian BR, Niemann W. Physicochemical stability of intravenous lipid emulsions as all-in-one admixtures intended for the very young. *Clin Nutr* **2003** Oct;22(5):489-95.

G. Anhang

Tab. 33: Richtlinien für die parenterale Ernährung in der Neonatologie KSA vom Oktober 1993. Die Angaben gelten pro kg KG und Tag. Die Nährlösungen wurden aus den Einzelkomponenten Vaminolact[®], Glucose, Intralipid[®] 20%, Natriumchlorid, Kaliumdihydrogenphosphat, Calciumgluconat, Magnesiumsulfat, Spur-el KSA, Soluvit[®] N und Vitalipid[®] N Infant gemischt.

Flüssigkeitsmenge in [ml·kg ⁻¹]						
Lebenstag	1.	2.	3.	4.	5. - 7.	ab 8.
KG < 2000 g	80	100	120	140	150	max. 180
KG > 2000 g	70	90	110	130	150	150
Aminosäuren als Vaminolact [®] 6.5%						
Lebenstag	1.	2.	3.	4.	5. - 7.	ab 8.
[g·kg ⁻¹]	-	0.5	1.0	1.5	2.0	2.3
Kohlenhydrate in Form von Glucose 150 g·l ⁻¹ , oder auch 50 g·l ⁻¹ , 100 g·l ⁻¹ , 200 g·l ⁻¹						
Lebenstag	1.	2.	3.	4.	5. - 7.	ab 8.
Glucose [ml]	Glu:NaCl 10:1	ad 90/100ml	ad 110/120ml	ad 130/140ml	ad 150ml	ad 150 - 180ml
Lipide als Intralipid [®] 20%						
Lebenstag		2.	3.	4.	5. - 7.	ab 8.
[g·kg ⁻¹]	KG > 1500g	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
[g·kg ⁻¹]	KG < 1500g	-	-	-	0.5, 1, 1.5	2.0, 2.5
Elektrolyte ab 2. Lebenstag						
Ion	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	PO ₄ ³⁻	
Salz	NaCl	KH ₂ PO ₄	Gluconat	Sulfat	KH ₂ PO ₄	
[mmol·kg ⁻¹]	4	2 - (3)	1	0.25	2 - (3)	
Spurenelemente als Spur-el KSA ab 2. Lebenstag 0.5 [ml·kg ⁻¹]						
Element	Eisen	Zink	Mangan	Kupfer	Chrom	Molybdän
[µmol·kg ⁻¹]	2.5	2.5	0.25	0.25	0.025	0.01
Element	Selen	Fluor	Iod			
[µmol·kg ⁻¹]	0.015	2.5	0.05			
wasserlösliche Vitamine als Soluvit [®] N ab 2. Lebenstag 1.0 [ml·kg ⁻¹]						
Vitamin	B ₁	B ₂	B ₆	B ₁₂	C	
[µg·kg ⁻¹]	250	360	400	0.5	10000	
Vitamin	Folsäure	Biotin	Niacin	Pantothensäure		
[µg·kg ⁻¹]	40	6	4000	1500		
fettlösliche Vitamine als Vitalipid [®] N Infant 1.0 [ml·kg ⁻¹]						
Vitamin	A	D	E	K		
[µg·kg ⁻¹]	69	1.0	640	20		

Tab. 34: Empfehlungen zur parenteralen Ernährung von Neugeborenen anderer Spitäler in Deutschland, England und der Schweiz. Peditr.[®] = Peditrace[®], IL = Intralipid[®].

Nährstoff		Städt. Kranken- haus, Heilbronn 46,48,49	University College Hospital, London	Great Ormond Street, London	Hammer- smith Hospital, London 110	Brägger C, Kinder- spital, Zürich	Kinder- klinik Inselspital, Bern 111
Kalorien ca.	[kcal·kg ⁻¹]	100	100	95	90	123	k.A.
Volumen	[ml·kg ⁻¹]	150	150	150	130 - 140	ca. 150	100 - 200
<i>wässrige Phase</i>							
Glucose	[g·kg ⁻¹]	15	15	15	15 (- 17)	18.75	variabel
Aminosäuren	[g·kg ⁻¹]	2.5	2.8	2.5	2.9	3.0	2.3
<i>Elektrolyte</i>							
Natrium	[mmol·kg ⁻¹]	4.5	4.0	3.0	indiv.	ca. 2.5	2.5
Kalium	[mmol·kg ⁻¹]	3.0	3.0	2.5	indiv.	ca. 2.0	2.5
Calcium	[mmol·kg ⁻¹]	1.5	0.9	0.6	1.5	2.0	0.5
Magnesium	[mmol·kg ⁻¹]	0.17	0.17	0.2	0.25 - 0.37	0.2	0.2
Chlorid	[mmol·kg ⁻¹]	4.5	3.2	2.5	< 6	2.2	1.5
Phosphat	[mmol·kg ⁻¹]	1.5	1.0	1.5	1.5	2.0	0.5
Acetat	[mmol·kg ⁻¹]	0	0	0	0	2.5	0
<i>Spurenelemente</i>							
Eisen	[µmol·kg ⁻¹]	Peditr. [®]	Peditr. [®]	Peditr. [®]	Peditr. [®]	Peditr. [®]	Peditr. [®]
Zink	[µmol·kg ⁻¹]	3.82	3.82	3.82	3.82	3.82	3.82
Kupfer	[µmol·kg ⁻¹]	0.315	0.315	0.315	0.315	0.315	0.315
Selen	[nmol·kg ⁻¹]	25.3	25.3	25.3	25.3	25.3	25.3
Chrom	[nmol·kg ⁻¹]	0	0	0	0	0	0
Mangan	[nmol·kg ⁻¹]	18.2	18.2	18.2	18.2	18.2	18.2
Molybdän	[nmol·kg ⁻¹]	0	0	0	0	0	0
Fluor	[µmol·kg ⁻¹]	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Iod	[nmol·kg ⁻¹]	7.88	7.88	7.88	7.88	7.88	7.88
<i>Lipidphase</i>							
Lipide	[g·kg ⁻¹]	0.5 - 3.0 IL [®] 20%	0.5 - 3.0 IL [®] 20%	2.5 IL [®] 20%	3.0 (- 3.5) IL [®] 20%	0.5 - 3.0 IL [®] 20%	variabel IL [®] 20%
<i>fettlös. Vitamine</i>							
Retinol (A)	[µg·kg ⁻¹]	Vitalipid [®]	Vitlipid [®]	Vitlipid [®]	Vitlipid [®]	Vitalipid [®]	Vitalipid [®]
Calciferol (D)	[µg·kg ⁻¹]	69	69	69	276	69	69
Tocopherol (E)	[mg·kg ⁻¹]	1.0	1.0	1.0	4	1.0	1.0
Menadion (K)	[µg·kg ⁻¹]	0.64	0.64	0.64	2.56	0.64	0.64
<i>wasserl. Vitamine</i>							
Thiamin (B ₁)	[mg·kg ⁻¹]	20	20	20	80	20	20
Riboflavin (B ₂)	[mg·kg ⁻¹]	Soluvit [®]	Solivito [®]	Solivito [®]	Solivito [®]	Soluvit [®]	Soluvit [®]
Pyridoxin (B ₆)	[mg·kg ⁻¹]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Niacin	[mg·kg ⁻¹]	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
Pantothentat	[mg·kg ⁻¹]	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Folsäure	[µg·kg ⁻¹]	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Cobalamin (B ₁₂)	[µg·kg ⁻¹]	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Ascorbins. (C)	[mg·kg ⁻¹]	40	40	40	40	40	40
Biotin	[µg·kg ⁻¹]	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
		10	10	10	10	10	10
		6	6	6	6	6	6

Tab. 35: Richtlinien verschiedener Gesellschaften und Lehrbücher zur parenteralen Ernährung in der Neonatologie. IL = Intralipid[®], k.A. = keine Angabe.

Nährstoff		AKE- Empfehlungen ⁸	A.S.P.E.N. Guideline ⁵	Canadian Practice Guideline ¹¹		Lehrbuch ⁷	Lehrbuch ³
Kalorien	[kcal·kg ⁻¹]	k.A.	90 - 120	80 - 110		k.A.	100 - 125
Volumen	[ml·kg ⁻¹]	100 - 140	k.A.	k.A.		150	ca. 120
<i>wässrige Phase</i>							
Glucose	[g·kg ⁻¹]	8 - 15	9 - 20	7.5 - 15.5		14	9 - 12
Aminosäuren	[g·kg ⁻¹]	1.5 - 2.5	3 - 4	2.7 - 3.5		2.5	1.5 - 3.0
<i>Elektrolyte</i>							
Natrium	[mmol·kg ⁻¹]	3 - 5	3.0	2.5 - 4		3.0	3 - 5
Kalium	[mmol·kg ⁻¹]	1 - 3	2.0	2.5 - 3.5		2.5	1 - 2
Calcium	[mmol·kg ⁻¹]	1 - 3	5.2 mmol·d ⁻¹	4 - 6 oral		k.A.	1 - 1.5
Magnesium	[mmol·kg ⁻¹]	0.1 - 0.7	k.A.	0.2 - 0.4		k.A.	0.3 - 0.5
Chlorid	[mmol·kg ⁻¹]	3 - 5	5	2.5 - 3.8		k.A.	k.A.
Phosphat	[mmol·kg ⁻¹]	1 - 2.5	k.A.	1.0 - 3.0		0.3	0.6 - 1.3
Acetat	[mmol·kg ⁻¹]	k.A.	k.A.	-		k.A.	k.A.
<i>Spurenelemente</i>							
Eisen	[µmol·kg ⁻¹]	1 - 2	-	-		0	1
Zink	[µmol·kg ⁻¹]	1 - 2 (- 4.6)	k.A.	6.5		3.82	6 - 9
Kupfer	[µmol·kg ⁻¹]	0.2 - 0.4	0.3	0.3		0.315	0.315
Selen	[nmol·kg ⁻¹]	k.A.	k.A.	20 - 25		25.3	k.A.
Chrom	[nmol·kg ⁻¹]	2.7 - 3.5	3.8	3.8		0	2.7 - 3.8
Mangan	[nmol·kg ⁻¹]	100 - 200	k.A.	20		18.2	36.4 - 182
Molybdän	[nmol·kg ⁻¹]	k.A.	3.0	2.6		0	k.A.
Fluor	[µmol·kg ⁻¹]	k.A.	k.A.	k.A.		3.00	0.05
Iod	[nmol·kg ⁻¹]	k.A.	8	8		7.88	23.6 - 39.4
<i>Lipidphase</i>							
Lipide	[g·kg ⁻¹]	2 - 3	3.0	0.5 - 3.6		3.5 IL 20%	max. 50% Energie
<i>fettlös. Vitamine</i>							
						Vitlipid [®]	
Retinol (A)	[µg·kg ⁻¹]	450	700	200 - 450		69	78
Calciferol (D)	[µg·kg ⁻¹]	12.5	10	10		1.0	1.65
Tocopherol (E)	[mg·kg ⁻¹]	4.6	7	4		0.64	0.44
Menadion (K)	[µg·kg ⁻¹]	15	200	2 - 100		20	-
<i>wasserl. Vitamine</i>							
						Solivito [®]	
Thiamin (B ₁)	[mg·kg ⁻¹]	0.7	1.2	0.05		0.25	0.055
Riboflavin (B ₂)	[mg·kg ⁻¹]	0.9	1.4	0.05		0.36	0.07
Pyridoxin (B ₆)	[mg·kg ⁻¹]	0.65	1.0	0.015		0.4	0.05
Niacin	[mg·kg ⁻¹]	11	17	8.6		4.0	0.9
Pantothenat	[mg·kg ⁻¹]	2	5	0.8 - 1.3		1.5	0.3
Folsäure	[µg·kg ⁻¹]	90	140	25 - 50		40	8
Cobalamin (B ₁₂)	[µg·kg ⁻¹]	0.65	1	0.15		0.5	0.04
Ascorbins. (C)	[mg·kg ⁻¹]	30	80	20		10	6
Biotin	[µg·kg ⁻¹]	4	20	1.5		6	30

Tab. 36: Veröffentlichte, umfassende Artikel zum Nährstoffbedarf von Neugeborenen.
 IL = Intralipid[®], MVI[®] = amerikanisches Multivitaminpräparat. k.A. = keine Angabe.

Nährstoff		Guzman 2001 ¹¹²	Beecroft 1999 ⁴⁵	Kumpf 1999 ¹²	Heird 1996 ¹⁵	Chan 1995 ¹⁴	Devlieger 1993 ⁴⁷	McDo- nough 1983 ¹¹³
Kalorien	[kcal·kg ⁻¹]	95 - 115	k.A.	100 - 120	k.A.	120	k.A.	k.A.
Volumen	[ml·kg ⁻¹]	80 - 140	k.A.	110 - 150	k.A.	125 - 200	130 - 170	150
<i>wässrige Phase</i>								
Glucose	[g·kg ⁻¹]	16	14		15 - 25	12 - 35	17	10 - 30
Aminosäuren	[g·kg ⁻¹]	3.0 - 3.5	2.5	2.5 - 3.0	3.5 (- 4.0)	2 - 3	2.8	2 - 4
<i>Elektrolyte</i>								
Natrium	[mmol·kg ⁻¹]	2.2 - 3.4	3.0	2 - 5	2 - 3	2 - 4	4.0	2 - 4
Kalium	[mmol·kg ⁻¹]	1.7	2.5	1 - 4	2 - 4	2 - 4	2.5	2 - 3
Calcium	[mmol·kg ⁻¹]	1.5	1.0	1.5 - 2.0	2.0 - 2.5	0.9 - 4	1.87	0.5 - 1.0
Magnesium	[mmol·kg ⁻¹]	0.1 - 0.2	0.2	0.15 - 0.25	0.12 - 0.25	0.1 - 0.6	0.31	0.63 - 0.75
Chlorid	[mmol·kg ⁻¹]	k.A.	k.A.	1 - 2	2 - 3	2 - 4	4.7	2 - 4
Phosphat	[mmol·kg ⁻¹]	1.2	0.4	1 - 5	1.4 - 2.0	0.5 - 2	1.45	1 - 2.5
Acetat	[mmol·kg ⁻¹]	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.		k.A.
<i>Spurenelemente</i>								
			Peditrace			MVI [®]		MVI [®]
Eisen	[µmol·kg ⁻¹]	0	0	k.A.	1.8 - 3.6	-		k.A.
Zink	[µmol·kg ⁻¹]	3.82	3.82	k.A.	3 - 6	6	2.29	k.A.
Kupfer	[µmol·kg ⁻¹]	0.315	0.315	k.A.	0.24 - 0.30	0.63	0.315	k.A.
Selen	[nmol·kg ⁻¹]	25.3	25.3	k.A.	20 - 25	13 - 25	12.66	k.A.
Chrom	[nmol·kg ⁻¹]	0	0	k.A.	3.8	7.7	3.85	k.A.
Mangan	[nmol·kg ⁻¹]	18.2	18.2	k.A.	18	182	182	k.A.
Molybdän	[nmol·kg ⁻¹]	0	0	k.A.	2.6	2.6	2.61	k.A.
Fluor	[µmol·kg ⁻¹]	3.00	3.00	k.A.	-	-	1.58	k.A.
Iod	[nmol·kg ⁻¹]	7.88	7.88	k.A.	7.9	-	39.4	k.A.
<i>Lipidphase</i>								
Lipide	[g·kg ⁻¹]	2 - 3	3.5	k.A.	3.0	0.5 - 3	3.0 IL [®] 20%	max. 40% Energie
<i>fettlös. Vitamine</i>								
		Vitalipid [®]	Vitalipid [®]					
Retinol (A)	[µg·kg ⁻¹]	69	69	k.A.	280 - 500	210	276	220
Calciferol (D)	[µg·kg ⁻¹]	1.0	1.0	k.A.	4.0	3.0	4.0	1.0
Tocopherol (E)	[mg·kg ⁻¹]	0.640	0.640	k.A.	2.8	2.1	-	1.0
Menadion (K)	[µg·kg ⁻¹]	20	20	k.A.	100	-	81	-
<i>wasserl. Vitamine</i>								
		Solvit [®]	Solivito [®]					
Thiamin (B ₁)	[mg·kg ⁻¹]	0.25	0.25	k.A.	0.35	0.36	3.1	0.6
Riboflavin (B ₂)	[mg·kg ⁻¹]	0.36	0.36	k.A.	0.15	0.42	1.6	0.72
Pyridoxin (B ₆)	[mg·kg ⁻¹]	0.4	0.4	k.A.	0.18	0.3	1.2	0.8
Niacin	[mg·kg ⁻¹]	4.0	4.0	k.A.	6.8	5.1	12.5	8
Pantothentat	[mg·kg ⁻¹]	1.5	1.5	k.A.	2	1.5	1.9	5
Folsäure	[µg·kg ⁻¹]	40	40	k.A.	56	42	50	80
Cobalamin (B ₁₂)	[µg·kg ⁻¹]	0.5	0.5	k.A.	0.3	0.3	2.5	1
Ascorbins. (C)	[mg·kg ⁻¹]	10	10	k.A.	25	24	25	20
Biotin	[µg·kg ⁻¹]	6	6	k.A.	6	6	155	12

Tab. 37: Detaillierte Zusammensetzung der Standardnährlösungen Neo KSA pro kg und Tag.

Komponente	Menge		Konzentration		Quelle(n)
<i>Kohlenhydrate</i>					
Glucose hochkalorisch	15	[g·kg ⁻¹]	107.1	[g·l ⁻¹]	Glucose-Elektrolyt-Konzentrat
Glucose niederkalorisch	10	[g·kg ⁻¹]	71.4	[g·l ⁻¹]	Glucose-Elektrolyt-Konzentrat
Glycerin	0.463	[g·kg ⁻¹]	3.3	[g·l ⁻¹]	Lipovenös [®] , CaGlyP
<i>Aminosäuren</i>					
Alanin	0.24	[g·kg ⁻¹]	1.7	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Arginin	0.16	[g·kg ⁻¹]	1.1	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Asparaginsäure	0.16	[g·kg ⁻¹]	1.1	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Cystein/Cystin	0.04	[g·kg ⁻¹]	0.3	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Glutaminsäure	0.27	[g·kg ⁻¹]	2.0	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Glycin	0.11	[g·kg ⁻¹]	0.8	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®] , Soluvit [®] N
Histidin	0.08	[g·kg ⁻¹]	0.6	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Isoleucin	0.12	[g·kg ⁻¹]	0.9	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Leucin	0.27	[g·kg ⁻¹]	1.9	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Lysin	0.22	[g·kg ⁻¹]	1.5	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Methionin	0.05	[g·kg ⁻¹]	0.4	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Phenylalanin	0.10	[g·kg ⁻¹]	0.7	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Prolin	0.22	[g·kg ⁻¹]	1.5	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Serin	0.15	[g·kg ⁻¹]	1.0	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Taurin	0.01	[g·kg ⁻¹]	0.1	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Threonin	0.14	[g·kg ⁻¹]	1.0	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Tryptophan	0.05	[g·kg ⁻¹]	0.4	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Tyrosin	0.02	[g·kg ⁻¹]	0.1	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
Valin	0.14	[g·kg ⁻¹]	1.0	[g·l ⁻¹]	Vaminolact [®]
<i>Lipide</i>					
Linolsäure	1.62	[g·kg ⁻¹]	11.6	[g·l ⁻¹]	Lipovenös [®] , Vitalipid [®]
Linolensäure	0.24	[g·kg ⁻¹]	1.7	[g·l ⁻¹]	Lipovenös [®] , Vitalipid [®]
Ölsäure	0.78	[g·kg ⁻¹]	5.6	[g·l ⁻¹]	Lipovenös [®] , Vitalipid [®]
Palmitinsäure	0.27	[g·kg ⁻¹]	1.9	[g·l ⁻¹]	Lipovenös [®] , Vitalipid [®]
Stearinsäure	0.09	[g·kg ⁻¹]	0.6	[g·l ⁻¹]	Lipovenös [®] , Vitalipid [®]
Cholesterin	0.0015	[g·kg ⁻¹]	0.0107	[g·l ⁻¹]	Lipovenös [®] , Vitalipid [®]
Lecithin	0.18	[g·kg ⁻¹]	1.3	[g·l ⁻¹]	Lipovenös [®] , Vitalipid [®]
<i>Elektrolyte</i>					
Natrium	3.003	[mmol·kg ⁻¹]	21.5	[mmol·l ⁻¹]	GluEl-Konz., Lipovenös [®] , Vitalipid [®] , Peditrace [®] , Soluvit [®]
Kalium	0.00001	[mmol·kg ⁻¹]	0.00006	[mmol·l ⁻¹]	Peditrace [®]
Calcium	1.5	[mmol·kg ⁻¹]	10.7	[mmol·l ⁻¹]	Glucose-Elektrolyt-Konzentrat
Magnesium	0.25	[mmol·kg ⁻¹]	1.8	[mmol·l ⁻¹]	Glucose-Elektrolyt-Konzentrat
Chlorid	3.008	[mmol·kg ⁻¹]	21.5	[mmol·l ⁻¹]	GluEl-Konz., Peditrace [®]
Phosphat	1.67	[mmol·kg ⁻¹]	11.9	[mmol·l ⁻¹]	GluEl-Konz., Lipovenös [®] , Vitalipid [®]
Acetat	2.0	[mmol·kg ⁻¹]	14.3	[mmol·l ⁻¹]	Glucose-Elektrolyt-Konzentrat
Sulfat	0.25	[mmol·kg ⁻¹]	1.8	[mmol·l ⁻¹]	Glucose-Elektrolyt-Konzentrat
<i>Spurenelemente</i>					
Zink	3.82	[µmol·kg ⁻¹]	27.3	[µmol·l ⁻¹]	Peditrace [®]
Kupfer	0.315	[µmol·kg ⁻¹]	2.3	[µmol·l ⁻¹]	Peditrace [®]
Mangan	0.0182	[µmol·kg ⁻¹]	0.130	[µmol·l ⁻¹]	Peditrace [®]
Selen	0.0253	[µmol·kg ⁻¹]	0.1807	[µmol·l ⁻¹]	Peditrace [®]
Fluor	3.00	[µmol·kg ⁻¹]	21.4	[µmol·l ⁻¹]	Peditrace [®]
Iod	7.88	[µmol·kg ⁻¹]	56.3	[µmol·l ⁻¹]	Peditrace [®]
<i>Vitamine</i>					
Vitamin A	276	[µg·kg ⁻¹]	1971	[µg·l ⁻¹]	Vitalipid [®]
Vitamin D	4.00	[µg·kg ⁻¹]	28.6	[µg·l ⁻¹]	Vitalipid [®]
Vitamin E	3.30	[µg·kg ⁻¹]	23.6	[µg·l ⁻¹]	Vitalipid [®]
Vitamin K	80.6	[µg·kg ⁻¹]	576	[µg·l ⁻¹]	Vitalipid [®]
Vitamin B ₁	250	[µg·kg ⁻¹]	1786	[µg·l ⁻¹]	Soluvit [®] N
Vitamin B ₂	360	[µg·kg ⁻¹]	2571	[µg·l ⁻¹]	Soluvit [®] N
Vitamin B ₆	400	[µg·kg ⁻¹]	2857	[µg·l ⁻¹]	Soluvit [®] N
Vitamin B ₁₂	0.50	[µg·kg ⁻¹]	3.6	[µg·l ⁻¹]	Soluvit [®] N
Pantothensäure	1500	[µg·kg ⁻¹]	10714	[µg·l ⁻¹]	Soluvit [®] N
Niacin	4000	[µg·kg ⁻¹]	28571	[µg·l ⁻¹]	Soluvit [®] N
Biotin	6.00	[µg·kg ⁻¹]	42.9	[µg·l ⁻¹]	Soluvit [®] N
Folsäure	40.0	[µg·kg ⁻¹]	286	[µg·l ⁻¹]	Soluvit [®] N
Vitamin C	10000	[µg·kg ⁻¹]	71429	[µg·l ⁻¹]	Soluvit [®] N

Tab. 38: Nahrungsaufbau mit den Standardnährlösungen hochkalorisch (Glucose 120 g·l⁻¹) und niederkalorisch (Glucose 80 g·l⁻¹) Neo KSA für sehr unreife Frühgeborene (< 1500 g). Für reifere Kinder (> 1500 g) wird mit der Gabe von Lipiden bereits am 2. PN-Tag eingesetzt. Die Angaben beziehen sich auf ein Kilogramm Körpergewicht pro Tag. Die in Vitalipid® N Infant enthaltenen Lipide wurden unter der Kategorie Lipide einkalkuliert.

Komponente	Ernährungstag parenteral											
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
<i>Wässriges Kompartiment</i>												
Glucose hochkal. g·kg ⁻¹	6.0	9.0	12.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Glucose niederkal. g·kg ⁻¹	4.0	6.0	8.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Aminosäuren g·kg ⁻¹	1.0	1.5	2.0	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Natrium mmol·kg ⁻¹	1.2	1.8	2.4	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Kalium mmol·kg ⁻¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium mmol·kg ⁻¹	0.6	0.9	1.2	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Magnesium mmol·kg ⁻¹	0.10	0.15	0.20	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Phosphat mmol·kg ⁻¹	0.6	0.9	1.2	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Chlorid mmol·kg ⁻¹	1.2	1.8	2.4	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Acetat mmol·kg ⁻¹	0.8	1.2	1.6	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Peditrace® ml·kg ⁻¹	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
<i>Lipidphase</i>												
Lipide g·kg ⁻¹	0	0	0	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.0	3.0
Vitalipid® N Infant ml·kg ⁻¹	0	0	0	0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Soluvit® N ml·kg ⁻¹	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
<i>Total</i>												
Volumen total ml·kg ⁻¹	51	75	99	123	128	130	133	135	138	140	140	140
Energie hochkal. kcal·kg ⁻¹	28	42	56	70	75	79	84	88	93	97	97	97
Energie niederkal. kcal·kg ⁻¹	20	30	40	50	55	59	64	68	73	77	77	77

Tab. 39: Preise der Komponenten sowie des Einwegmaterials für die Produktion der PN (Stand Juni 2000).

Produkt	Preis [SFr.]
<i>Komponenten</i>	
Vaminolact [®] , 100 ml, Fresenius	14.50
Glucose 75 g·l ⁻¹ , 250 ml, KSA	7.85
Glucose 100 g·l ⁻¹ , 250 ml, KSA	5.30
Glucose 125 g·l ⁻¹ , 250 ml, KSA	8.00
Glucose 150 g·l ⁻¹ , 250 ml, KSA	7.90
Glucose 200 g·l ⁻¹ , 500 ml, KSA	6.60
Glucose-Elektrolyt-Konzentrat hochkalorisch, 260 ml, KSA	13.00
Glucose-Elektrolyt-Konzentrat niederkalorisch, 260 ml, KSA	21.00
Natriumchlorid 2 mmol·ml ⁻¹ (11.5%), 10 ml, B. Braun	0.50
Natriumchlorid 4 mmol·ml ⁻¹ (23.4%), 25 ml, KSA	2.45
Kaliumphosphat 1 mmol·ml ⁻¹ , 10 ml, KSA	1.35
Calciumgluconat 0.2 mmol·ml ⁻¹ , 20 ml, KSA	2.25
Magnesiumsulfat 0.5 mmol·ml ⁻¹ , 10 ml, KSA	2.45
Natriumbicarbonat 1 mmol·ml ⁻¹ (8.4%), 10 ml, B. Braun	0.95
Kaliumacetat 1 mmol·ml ⁻¹ , 10 ml, KSA	7.80
Spur-El, 10 ml, KSA	2.35
Peditrace [®] , 10 ml, Fresenius	5.64
Intralipid [®] 20%, 100 ml, Fresenius	24.45
Lipovenös [®] 20%, 100 ml, Fresenius	19.77
Vitalipid [®] N Infant, 10 ml, Fresenius	3.80
Soluvit [®] N, 10 ml, Fresenius	4.15
<i>Einwegmaterial</i>	
Spritze 1 ml, BD	0.10
Spritze 2 ml, B. Braun	0.03
Spritze 5 ml, B. Braun	0.05
Spritze 10 ml, B. Braun	0.06
Spritze 20 ml, B. Braun	0.10
Perfusor [®] -Spritze 50 ml, transparent, B. Braun	0.82
Perfusor [®] -Spritze 50 ml, schwarz, B. Braun	1.50
Kanülen 18Gx11/2", 1.2x40 mm, rosa, Terumo Neolus	0.03
Benja [®] -Mix, mit Spritze 50 ml, Baxter	20.45
Infusionsflasche steril 100 ml, KSA	2.20
Infusionsflasche steril 250 ml, KSA	3.00
Infusionsflasche steril 500 ml, KSA	3.05
Nutrimix [®] -Beutel, 0.2/0, B. Braun	6.00
Mini-Spike [®] Plus, B. Braun	1.15
Dreiweghahn Discofix [®] (blau), B. Braun	0.37
Zellstofftupfer, 3 Stück pro Beutel, Mediset	0.12
Sterile Gaze 5x5 cm, 3 Stück pro Beutel, Bastos Viegas	0.14

Tab. 40: Zeitaufwand für die Berechnungen bzw. die Vorbereitung und Produktion der PN auf der Neo-IPS KSA 2000/2001. KHAS = PN ohne Fett, KHASLI = komplette PN mit Fett

Parameter	Zeit Berechnung [min]	Zeit Produktion [min]	Total Zeit [min]
<i>KHAS</i>			
n =	79	79	79
Median	10	20	30
Quartilsspanne	5 - 10	15 - 25	23 - 34
Minimum - Maximum	5 - 15	10 - 45	15 - 55
<i>KHASLI</i>			
n =	57	57	57
Median	10	35	43
Quartilsspanne	5 - 10	30 - 40	40 - 50
Minimum - Maximum	5 - 20	20 - 60	25 - 75

Tab. 41: Produktionskosten der PN auf der Neo-IPS KSA 2000/2001, unterteilt in die Komponenten, das Einwegmaterial sowie die Personalkosten. Die Quartilsspanne stellt den Bereich zwischen der 1. und der 3. Quartile dar (50% der Daten).

KHAS = PN ohne Fett, KHASLI = komplette PN mit Fett

Parameter	Komponenten [SFr.]	Einwegmaterial [SFr.]	Personalkosten [SFr.]	Total Kosten [SFr.]
<i>KHAS</i>				
n =	90	90	79	79
Median	32.35	13.00	23.55	68.95
Quartilsspanne	30.00 - 35.40	9.35 - 16.85	19.65 - 31.40	62.20 - 80.15
Minimum - Maximum	14.00 - 40.70	4.40 - 41.50	11.80 - 43.20	36.75 - 109.10
<i>KHASLI</i>				
n =	71	71	57	57
Median	63.70	17.15	35.35	114.55
Quartilsspanne	61.10 - 63.80	13.45 - 21.10	31.40 - 38.30	109.20 - 128.65
Minimum - Maximum	54.75 - 69.10	6.45 - 38.10	19.65 - 58.90	92.90 - 140.75

Tab. 42: Verwendete Geräte in alphabetischer Reihenfolge.

Geräteart	Typenbezeichnung	Hersteller
Densitometer	Rechnender Dichtemesser DMA 46	A. Paar, Graz, A
Inkubator	Isolette [®] C100, Infant Incubator	Narco Scientific, Air-Shields Division, Hatboro, Pennsylvania, USA
Laminar Air Flow	HFX 120T	Skan, Allschwil, CH
Lux-Meter	LX-101 Lux Meter	Lutron Electronics GmbH, Berlin, D
Mikropipetten - Polypropylen-Spitzen	Reference; Volumina 10 - 100 µl, 100 - 1000 µl bzw. 500 - 2500 µl - epT.I.P.S.	Vaudaux-Eppendorf, Schönenbuch, CH - Vaudaux-Eppendorf, Schönenbuch, CH
Mikroskop (Binokular) - Okular 10x - Objektiv 100x - Kamera	Olympus EHT 201263 - HI PL100, 1.30 - Camera Back PM-CP-W - Filme Polaroid [®] schwarz/weiss Nr. 667	Olympus, Tokyo, Japan - Olympus, Tokyo, Japan - Polaroid, Zürich, CH - Polaroid, Zürich, CH
Osmometer	Micro-Osmometer Model 210	Fiske Assoc., Norwood, Massachusetts, USA
pH-Meter - kombinierte Glas- elektrode	pH-Meter 713 - LL pH 0-14, 0-80°C, mit 3 M KCl, Nr. 6.0232.100	Metrohm, Herisau, CH - Metrohm, Herisau, CH
Phototherapie-Lampe	Photo-Therapie 800	W.C. Heraeus Instruments, Hanau, D
Spritzenpumpen	Perfusor [®] Secura FT	B. Braun, Melsungen, D
Titrationapparatur - Doppel-Pt-Elektrode	GDP Titrino [®] 751 mit 10ml- Bürette, Rührer 728 - -20...70°C, Nr. 6.0309.100	Metrohm, Herisau, CH - Metrohm, Herisau, CH
UV/VIS Spektrometer - Workstation - Küvetten	Lambda 12 - UV Winlab - Polystyrol-Halbmikroküvetten - Präzisionsküvetten Quarzglas Suprasil [®] , Halbmikro	Perkin Elmer, Überlingen, D - Perkin Elmer, Überlingen, D - Sigma-Aldrich, Steinheim, D - Hellma, Basel, CH

Tab. 43: Verwendete Chemikalien in alphabetischer Reihenfolge.

Substanzname	Qualität	Hersteller
Ammoniumeisensulfat·6 H ₂ O	Micro Select	Fluka
Ammoniummolybdat·4 H ₂ O	puriss. p.a.	Sigma
Ascorbinsäure	Ph. Eur.	Hänseler
Butylhydroxytoluol (BHT)	purum	Fluka
Calciumglycerophosphat	Ph. Eur.	Hänseler
Chloroform	puriss. p.a., ≥ 99.8%	Fluka
Cumolhydroperoxid 80%	zur Synthese	Fluka
5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoesäure) (DTNB)	HPLC grade	Fluka
di-Natriumhydrogenphosphat·2 H ₂ O	Ph. Eur. III	Fluka
Essigsäure > 99.5%	puriss. p.a.	Fluka
Ethanol	Lichrosolv, ≥ 99.9%	Merck
Glucosemonohydrat	Ph. Eur.	Roquette
5-(Hydroxymethyl)furfural (5-HMF)	99+%	Aldrich
Immersionsöl	(PCB-frei)	Merck
Kaliumacetat	Ph. Eur.	Merck
Kaliumantimonyltartrat· ¹ / ₂ H ₂ O	purum p.a.	Fluka
Kaliumdihydrogenphosphat	p.a.	Merck
Kaliumiodid	Ph. Eur. III	Hänseler
Magnesiumsulfat·7 H ₂ O	Ph. Eur.	Hänseler
N-Acetyl-L-cystein	puriss.	Fluka
Natriumacetat·H ₂ O	Ph. Eur.	Siegfried
Natriumascorbat	> 99%, Laborzwecke	Fluka
Natriumborohydrid	puriss. p.a.	Fluka
Natriumchlorid	Ph. Eur. III	Siegfried
Natriumhydroxid 1 N	Titer 1.000	Merck
Natriumthiosulfat	Titrisol 0.01 N	Merck
n-Propanol (= 1-Propanol)	HPLC grade, ≥ 99.8%	Fluka
Salzsäure 1 N	Titer 1.000	Merck
Schwefelsäure 95 - 97%	puriss. p.a.	Riedel-deHaen
<i>tert</i> -Butylhydroperoxid (TBH)	T-Hydro, 70% in H ₂ O	Aldrich
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)	p.a.	Merck
Wasserstoffperoxid 30% Perhydrol®	p.a.	Merck
Xylenolorange	ACS	Sigma
α-Tocopherol	USP	Fluka

Tab. 44: Chargen der verwendeten PN-Komponenten und des Einwegmaterials.

Material	Hersteller	Charge
<i>Komponenten</i>		
GluEl-Konzentrat hochkalorisch	KSA Apotheke	S3120
Vaminolact [®] , 100 ml	Fresenius	98769A01
Natriumchlorid 4 mmol·l ⁻¹ , 25 ml	KSA Apotheke	S3130
Kaliumacetat 1 mmol·l ⁻¹ , 10 ml	KSA Apotheke	S2438
Peditrace [®] , 10 ml	Fresenius	02FV17
Vitalipid [®] N Infant, 10 ml	Fresenius	1009676AZ
Soluvit [®] N, Trockensubstanz	Fresenius	IF0904
Lipovenös [®] 20%, 100 ml	Fresenius	NI1660
Heparin 500 IU·5ml ⁻¹ , 5 ml	Bichsel	GR 200602
<i>Einwegmaterial</i>		
Nutrimix [®] -Mischbeutel, 0.2 / 0	B. Braun Carex, Mirandola, I	2292R01
Perfusor [®] -Spritze opaque schwarz, 50 ml	B. Braun, Melsungen, D	02F2882026
Injectomat [®] -Spritze 50 ml, orange	Fresenius, Bad Homburg, D	C0066C
Perfusor [®] -Spritze OPS, transparent	B. Braun, Melsungen, D	02M0482023
Infusionsleitung transp (Combidyn), 200 cm	B. Braun, Melsungen, D	02K18821KB
Infusionsleitung schwarz (Perfusor [®] -Leitung)	B. Braun, Melsungen, D	00G17921B2
Medikamentenleitung orange, 150 cm	Impromediform, Lüdenscheid, D	M007-1
Set Heilbronn II, orange	Impromediform, Lüdenscheid, D	M005-1
Zugangsleitung transparent, 30 cm	B. Braun, Melsungen, D	02H05821FA
Dreiweghahn Discifix [®] C	B. Braun, Melsungen, D	02I0492042

Mikroskopische Erfassung der Lipidtröpfchen-Verteilung							
Identität Probe		Zusätze		Charge		Datum Herstellung	
Behältnis <input type="checkbox"/> Btl <input type="checkbox"/> Fl <input type="checkbox"/> Spr		Lagerart		Lagerdauer		Vorbehandlung	
Visuelle Beurteilung <input type="checkbox"/> Aufräumung		<input type="checkbox"/> keine Veränderungen <input type="checkbox"/> Öltröpfchen		Probennahme		Probenvolumen	
Mikroskop		Vergrößerung ¹⁾		Beleuchtungstechnik		Ölimmersion <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	
Partikelgrösse	LT _{max} [µm]	LT > 5 [n]	LT ≥ 2 µm			Kristalle/ Fasern ²⁾ [µm]	Aggre- gate [n]
			< 20 [X]	20 - 50 [X]	> 50 [X]		
Gesichtsfeld							
GF 1							
GF 2							
GF 3							
GF 4							
GF 5							
GF 6							
GF 7							
GF 8							
GF 9							
GF 10							
GF 11							
GF 12							
GF 13							
GF 14							
GF 15							
1-15: LT _{max} : µm MLT _{max} ± SD : ± µm LT > 5 µm :							
Kommentar							
Datum		Ort		Zeitbedarf [min]		Unterschrift	

¹⁾ Vergrößerung 1000-fach: 1 Teilstrich = 1 µm
²⁾ Fasern: Partikel > 100 µm Länge, mit Länge:Breite ≥ 10:1
 GF = Gesichtsfeld von 3 Proben je 5 GF auszählen
 LT = Lipidtröpfchen

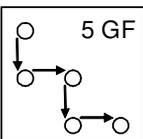


Abb. 20: Formular zur Erfassung der mikroskopischen Parameter nach Schmutz.

Tab. 45: Stabilitätsrelevante Parameter der Lichtmikroskopie (n = 45). Die p-Werte stammen aus der Spearman-Analyse des MLT_{max} im Verlauf über 24 h. Bei den Aggregaten und Präzipitaten sind die Anzahl Gesichtsfelder, in denen diese vorhanden waren, angegeben.

Lipide = Lipovenös® + Vitalipid®, Hep = Heparin, Photo = Phototherapie-Licht, Tag = Tageslicht.

Versuchs- serie	Parameter	Messzeitpunkt							Trend Spearman
		0 h	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	
schwarz TPO 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	LT_{max} [µm]	5	7	6	6	5	6	8	kein Trend p = 0.66 n = 7
	MLT_{max} [µm]	2.6	2.4	2.5	2.6	2.4	2.4	2.9	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	1.30	1.17	1.12	1.14	0.87	1.08	1.35	
	LT > 5 µm	0	1	1	1	0	1	2	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
orange TPO 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	LT_{max} [µm]	7	5	6	5	4	4	8	kein Trend p = 0.78 n = 7
	MLT_{max} [µm]	3.0	2.6	2.5	2.2	2.4	2.4	3.3	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	1.10	0.94	1.10	0.99	0.75	1.18	1.88	
	LT > 5 µm	1	0	1	0	0	0	3	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
schwarz Lipide 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	LT_{max} [µm]	9	6	8	8	9	6	8	kein Trend p = 0.07 n = 7
	MLT_{max} [µm]	5.4	4.0	3.5	3.6	3.6	3.3	3.5	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	1.27	0.80	1.24	1.41	1.70	1.41	1.97	
	LT > 5 µm	26	3	3	5	7	4	7	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
orange Lipide 0.7 ml·h ⁻¹ Tag = 1	LT_{max} [µm]	7	6	6	5	7	6	9	kein Trend p = 0.30 n = 7
	MLT_{max} [µm]	4.6	2.4	3.9	3.9	3.8	3.6	3.4	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	0.98	0.73	0.79	0.78	0.96	1.68	1.12	
	LT > 5 µm	8	1	2	0	2	1	1	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
orange Lipide 0.1 ml·h ⁻¹ Tag = a	LT_{max} [µm]	10	9	7	9	9	7	6	Abnahme p = 0.006 r = -0.8571 n = 7
	MLT_{max} [µm]	5.4	3.9	3.6	3.8	3.8	3.6	3.5	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	1.63	1.29	1.09	1.69	1.58	1.93	1.01	
	LT > 5 µm	20	3	3	6	7	4	2	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
orange Lipide 0.7 ml·h ⁻¹ Photo = b	LT_{max} [µm]	8	6	6	6	7	6	7	kein Trend p = 0.84 n = 7
	MLT_{max} [µm]	4.6	3.6	3.8	3.6	3.8	3.9	3.8	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	1.05	0.84	0.88	1.03	0.96	0.84	0.97	
	LT > 5 µm	11	1	1	3	2	2	2	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
orange Lipide 0.1 ml·h ⁻¹ Photo = ab	LT_{max} [µm]	9	7	6	6	8	7	7	kein Trend p = 0.18 n = 7
	MLT_{max} [µm]	5.2	4.0	3.4	3.5	3.5	3.2	3.9	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	1.48	1.10	0.92	1.12	1.36	1.22	1.34	
	LT > 5 µm	19	4	1	2	4	2	6	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
orange Lipovenös® 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	LT_{max} [µm]	6	5	7	6	5	6	9	kein Trend p = 0.60 n = 7
	MLT_{max} [µm]	4.2	2.3	3.6	3.1	2.7	3.0	3.5	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	0.97	0.78	1.03	0.94	0.83	1.48	1.62	
	LT > 5 µm	4	0	2	1	0	1	4	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
orange AIO 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	LT_{max} [µm]	4	5	5	5	8	7	6	Zunahme p = 0.04 r = 0.7500 n = 7
	MLT_{max} [µm]	2.8	2.9	2.7	3.0	3.4	3.0	3.0	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	0.76	0.92	0.79	0.77	1.42	1.10	1.00	
	LT > 5 µm	0	0	0	0	3	2	1	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
	Aggregate	2.3	0.7	0.7	0.3	0.7	0.7	0.5	
	Präzipitate	0	0	0	0	0	0	0	
orange AIO + Hep 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	LT_{max} [µm]	6	6	4	6	3	6	7	kein Trend p = 0.18 n = 7
	MLT_{max} [µm]	2.0	2.2	2.3	2.3	1.7	1.6	1.9	
	$SDMLT_{max}$ [µm]	1.02	0.90	0.84	0.93	0.73	0.94	1.22	
	LT > 5 µm	1	1	0	1	0	1	1	
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	
	Aggregate	13	13	15	15	15	15	15	
	Präzipitate	11	11	14	14	15	15	15	

Tab. 46: Ausgangswerte für die mikroskopische Spezifizierung von Lipovenös® 20% und Vitalipid® N Infant ohne Passage durch das Applikationssystem. Es wurden 90 GF untersucht.

Identität Probe	Parameter (n = 90)	Flasche 1			Flasche 2		
		Messtag 1	Messtag 2	Messtag 3	Messtag 1	Messtag 2	Messtag 3
Lipovenös® 20%	LT _{max} [µm]	5	6	6	6	7	6
	MLT _{max} [µm]	3.9	4.5	4.3	4.6	5.0	4.9
	SDMLT _{max} [µm]	0.70	0.92	0.96	0.83	0.85	0.80
	LT > 5 µm	0	2	2	2	3	5
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20
Vitalipid® N Infant	LT _{max} [µm]	8	7	10	7	7	7
	MLT _{max} [µm]	5.3	5.3	5.7	4.9	5.1	5.0
	SDMLT _{max} [µm]	1.50	0.96	1.80	0.99	0.92	1.25
	LT > 5 µm	9	9	9	3	7	6
	LT > 2 µm	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20

Tab. 47: Peroxid-Konzentrationen in den verschiedenen Versuchsserien über 24 h. Die Werte wurden aus 9 Bestimmungen gemittelt (n = 9). Die p-Werte stammen aus der Spearman-Rangsummenkorrelation der Konzentrationen über 24 h.

Lipide = Lipovenös® + Vitalipid®, Photo = Phototherapie-Licht, Tag = Tageslicht.

Versuchs- serie	Parameter (n = 9)	Messzeitpunkt							Trend Spearman
		0 h	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	
schwarz Lipide 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	MW Konz. ± SD [µmol TBH-Äq·l ⁻¹]	29.2 4.71	129.2 6.48	170.5 17.70	291.4 44.30	375.1 42.46	400.7 46.13	601.8 59.66	Zunahme p < 10 ⁻⁷ r = 1.0000 n = 7
orange Lipide = 1 0.7 ml·h ⁻¹ Tag	MW Konz. ± SD [µmol TBH-Äq·l ⁻¹]	27.0 6.26	42.7 6.36	61.4 7.15	73.6 7.17	59.1 8.99	58.2 9.93	118.8 9.78	kein Trend p = 0.07 r = 0.6786 n = 7
orange Lipide = a 0.1 ml·h ⁻¹ Tag	MW Konz. ± SD [µmol TBH-Äq·l ⁻¹]	23.7 1.58	55.3 3.12	114.2 16.02	163.1 14.47	306.7 34.56	262.3 29.31	283.4 28.43	Zunahme p < 10 ⁻⁷ r = 0.8929 n = 7
orange Lipide = b 0.7 ml·h ⁻¹ Photo	MW Konz. ± SD [µmol TBH-Äq·l ⁻¹]	27.0 3.46	79.9 8.11	118.7 20.22	184.3 10.26	132.8 9.47	157.5 11.79	186.7 25.57	Zunahme p < 10 ⁻⁷ r = 0.8929 n = 7
orange Lipide = ab 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	MW Konz. ± SD [µmol TBH-Äq·l ⁻¹]	36.7 6.41	124.9 7.10	158.2 27.78	245.9 69.19	372.2 54.48	385.5 45.72	596.3 139.6	Zunahme p < 10 ⁻⁷ r = 1.0000 n = 7
orange Lipovenös® 0.1 ml·h ⁻¹ Photo	MW Konz. ± SD [µmol TBH-Äq·l ⁻¹]	36.4 15.55	48.5 2.28	54.5 3.96	139.1 6.89	206.5 12.73	195.3 12.77	287.8 37.51	Zunahme p < 10 ⁻⁷ r = 0.9643 n = 7

Curriculum vitae

Personalien

Name	Claudia Gräflein
Geburtsdatum	29. Juni 1973
Geburtsort	Zürich
Heimatort	Steckborn TG

Ausbildung

1980 - 1986	Primarschule, Thalwil ZH
1986 - 1992	Kantonsschule Freudenberg, Zürich
Sept. 1992	Matura Typus B
1993	Sprachaufenthalt in England (Cambridge Proficiency-Diplom)
1993 - 1995	Grundstudium Pharmazie, ETH Zürich
1995 - 1996	Praktikum in der Central-Apotheke, Thalwil ZH
1996 - 1998	Fachstudium Pharmazie, ETH Zürich Semestersprecherin und Vorstandsmitglied des Fachvereins APV
Dez. 1998	Abschluss mit eidgenössischem Staatsexamen
1999	Wissenschaftliches Projekt zur Stabilität (HPLC) von Zytostatika, Spitalapotheke Kantonsspital Aarau (KSA)
1999 - 2003	Weiterbildung in Spitalpharmazie FPH (GSASA) sowie Durchführung der vorliegenden Dissertation unter der Leitung von PD Dr. S. Mühlebach in der Spitalapotheke KSA
1999 - 2002	Dozententätigkeit in Pharmakologie an den Schulen für Gesundheits- und Krankenpflege, Aarau und Brugg AG
2001	CEIP Nachdiplomvorlesung und Seminarreihe Spitalpharmazie, Uni Basel
Nov. 2003	Abschluss mit Fachtitelprüfung FPH in Spitalpharmazie

Während meiner Studien- und Doktorandenzeit besuchte ich Vorlesungen, Kurse und Praktika folgender Professoren und Dozenten:

H.R. Altorfer, N. Amrhein, M. Badertscher, M. Baltisberger, E.G. Berger, A.A. Borbély, J. Bossy, U. Boutellier, E. Carafoli, L. Dubs, H. Dutler, H. Fenner, G. Folkers, B. Gander, R.H. Gebert, C. Gessler, U.S. Gugerli, R.K. Joshi, F.H. Kayser, R. Kissner, S. Krähenbühl, R. Leu, W. Lichtensteiger, H.U. Lutz, S. Marrer, W. Maurer, P.J. Meier-Abt, H.P. Merkle, H. Möhler, S. Mühlebach, M. Müntener, H.R. Ott, I. Potrykus, P.S. Pregosin, E. Pretsch, S. Rogers, D. Rognan, M.C. Schaub, P.A. Schubiger, O. Sticher, C. Surber, P. Turnheer, O. Vaizoglu, D.J. Vonderschmitt, P. Wachter, K.H. Winterhalter, D.P. Wolfer und H. Wunderli-Allenspach.