

Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin  
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Inhalatives Colistin in der Intensivmedizin:  
Wirkstoffspiegelbestimmung in Plasma und Tracheobronchialsekret**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lukas Wagner

aus Trier

Datum der Promotion: 06. März 2020



## Vorveröffentlichungen

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden vorab publiziert:

### **Abstract**

Wagner L, Tafelski S, Angermair S, Tröger U, Deja M.

*Arterial blood levels of colistin after application of aerosolized CMS - a way to monitor dosing and toxicity?* Poster (1231) präsentiert in der Session: Colistin and polymyxin B pharmacokinetics. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 9.-12. April 2016. Amsterdam, Niederlande.

*Gefördert durch ein Reisestipendium der „Freunde und Förderer der Berliner Charité e.V.“*

# INHALTSVERZEICHNIS

1. ABBILDUNGS-, TABELLEN-, und ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	6
2. ABSTRACT UND ZUSAMMENFASSUNG	9
3. EINLEITUNG	12
3.1. Multiresistente Erreger	12
3.2. Ursachen, Prävention und Bekämpfung der MDR-Problematik	13
3.3. Nosokomiale Infektionen und VAP durch MDR-GNR	14
3.4. Das Polymyxin Colistin als therapeutische Alternative	15
3.5. Inhalatives Colistin	19
3.6. Ziele der Studie	22
4. PATIENTEN UND METHODEN	23
4.1. Studiendesign und Erhebungszeitraum	23
4.2. Ethik-, Datenschutzvotum und Registrierung	23
4.3. Studienlokalisierung	23
4.4. Ein- und Ausschlusskriterien	23
4.5. Identifikation der Patienten	24
4.6. Datenerfassung	24
4.7. Inhalative Applikation des Colistins	25
4.8. Probengewinnung	26
4.9. Etablierung der Colistin-Messung	26
4.10. Probenverarbeitung und -analyse	27
4.11. Outcome-Parameter	29
4.12. Endpunkte	29
4.13. Statistische Auswertung und graphische Darstellung	30
5. ERGEBNISSE	31
5.1. Eingeschlossene Patienten und Basischarakteristika	31
5.2. Daten bei ITS-Aufnahme	32
5.3. Daten bei Studieneinschluss und Beobachtungszeitraum	33
5.4. Mikrobiologie und antibiotische Therapie	36
5.5. Primäre Endpunkte	38
5.6. Sekundäre Endpunkte	40
6. DISKUSSION	42
6.1. Etablierung der Colistin-Messung und aktuelle Situation in Deutschland	42

<b>6.2. Wirkstoffspiegel im Plasma</b>	<b>43</b>
<b>6.3. Nephrotoxizität</b>	<b>47</b>
<b>6.4. Neurotoxizität und weitere Nebenwirkungen</b>	<b>48</b>
<b>6.5. Mikrobiologische Befunde</b>	<b>49</b>
<b>6.6. Antibiotische Therapie und Colistin-Resistenz</b>	<b>50</b>
<b>6.7. Wirkstoffspiegel im Tracheobronchialsekret</b>	<b>51</b>
<b>6.8. Limitationen</b>	<b>54</b>
<b>6.9. Schlussfolgerungen</b>	<b>55</b>
<b>7. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>56</b>
<b>8. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG &amp; ANTEILSERKLÄRUNG</b>	<b>65</b>
<b>9. LEBENSLAUF</b>	<b>67</b>
<b>10. DANKSAGUNG</b>	<b>69</b>

# 1. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

<b>Abbildung 1</b>	<i>Regionale Prävalenz Carbapenem-resistenter, invasiver P. aeruginosa-Isolate 2017 in Europa</i>	13
<b>Abbildung 2</b>	<i>Colistin A Strukturformel (Skelettformel)</i>	16
<b>Abbildung 3</b>	<i>Reaktionsgleichung der forcierten Hydrolyse</i>	28
<b>Abbildung 4</b>	<i>Verlauf des APACHE II-Scores</i>	34
<b>Abbildung 5</b>	<i>Verlauf des SOFA-Scores</i>	34
<b>Abbildung 6</b>	<i>Verlauf des TISS-28-Scores</i>	35
<b>Tabelle 1</b>	<i>Basischarakteristika der eingeschlossenen Patienten</i>	31
<b>Tabelle 2</b>	<i>Übersicht über die ITS-Scores zum Aufnahmezeitpunkt</i>	33
<b>Tabelle 3</b>	<i>Beatmungsparameter bei Studieneinschluss</i>	35
<b>Tabelle 4</b>	<i>Resistenzcharakteristika der mikrobiologischen Isolate</i>	37
<b>Tabelle 5</b>	<i>Intravenös verabreichte Antibiotika</i>	38
<b>Tabelle 6</b>	<i>CB-Plasmaspiegel und Colistin-Therapie</i>	38
<b>Tabelle 7</b>	<i>Serum-Creatinin in mg/dl im Beobachtungszeitraum</i>	39
<b>Tabelle 8</b>	<i>TBS-Colistinkonzentration</i>	40
<b>Tabelle 9</b>	<i>Gegenüberstellung der Erreger und ihrer Clearance</i>	40
<b>Tabelle 10</b>	<i>Messwerte nach einer einmaligen CMS-Inhalation bei CF-Patienten</i>	44
<b>Tabelle 11</b>	<i>Messwerte nach einer einmaligen CMS-Inhalation bei Intensivpatienten</i>	45

## Abkürzungsverzeichnis

AG	Aminoglykoside
APACHE II	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BGA	Blutgasanalyse
CB	Colistin-Base
CF	Mukoviszidose/Zystische Fibrose [Cystic fibrosis]
CIM	Critical-Illness-Myopathie
CIP	Critical-Illness-Polyneuropathie
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
CMS	Colistin-Methansulfonat
comCol	Kombinierte intravenöse und inhalative Colistin-Kotherapie
CRP	C-reaktives Protein
eGFR	Errechnete/geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
ELF	Epithelial lining fluid
ESBL	$\beta$ -Laktamase mit breitem Wirkungsspektrum [Extended-spectrum betalactamase]
FC	Fluorchinolone
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GNR	Gramnegative Stäbchen [Gram-negative rods]
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie [High-performance liquid chromatography]
iCol	Inhalative Colistintherapie
IDSA	Infectious Diseases Society of America
ITS	Intensivstation
IU	Internationale Einheiten [International units]
ivCol	Intravenöse Colistintherapie
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
KI	Konfidenz-Intervall
KISS	Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System
MDR	Multiresistent [Multiple drug resistant]
MIC	Minimale Hemmkonzentration [Minimal inhibitory concentration]

MIU	Mega-IU ( $10^6$ IU)
MPC	Mutant-prevention concentration
MRGN	Multiresistente gramnegative Stäbchen
MS	Massenspektroskopie
MS/MS	Tandem-Massenspektroskopie
MW	Mittelwert
p.i.	Verabreichung als Inhalation [per inhalationem]
RIFLE	Kriterien zur Klassifikation einer akuten Niereninsuffizienz
RKI	Robert-Koch-Institut
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
STD	Standardabweichung
TBS	Tracheobronchialsekret
TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
TISS-28	Therapeutic Intervention Scoring System-28
VAP	Beatmungs-assoziierte Pneumonie [Ventilator-associated pneumonia]
WHO	Weltgesundheitsorganisation [World Health Organization]



## 2. Abstract

**Introduction** Colistin is one of the last available antibiotics to deal with infections caused by multidrug-resistant gram-negative rods. It belongs to the polymyxin-group of antibiotics and members of this group show remarkable therapeutic effects along with relevant risks concerning nephro- and neurotoxicity. When given as inhalation, high pulmonary drug-levels can be achieved and a low systemic resorption is assumed. Aim of this pilot-study was to provide further evidence concerning the amount of systemic colistin-resorption and related systemic side-effects in the topical, inhalative usage of the drug in intensive care unit (ICU)-patients.

**Patients and methods** After establishing of a tandem mass spectrometry-based therapeutic drug monitoring (TDM) for colistin and its prodrug colistin methanesulfonate (CMS) in plasma and tracheobronchial secretions this technique was exemplarily applied in an observational, clinical study in patients treated with nebulized colistin on intensive care units in order to study the pulmonary distribution and systemic resorption of the antibiotic. For observing side effects of the drug, a clinical, laboratory and if necessary technical (e.g. by electrophysiological methods) surveillance was performed.

**Results** Altogether nine patients (mean age  $60 \pm 17$  years, mean SOFA-score:  $9.4 \pm 3.4$ ) were eligible for the study. Seven of them presented in septic shock and in five cases *Pseudomonas aeruginosa* could be detected. The plasma-TDM proved a systemic resorption to a minor degree in six patients whereas the levels in three patients stayed below the limit of detection. Complete hydrolysis of prodrug was observed in all samples. The high pulmonary drug-levels in most of the patients showed a large variation. Four patients showed a temporary increase in the serum creatinine level as possible evidence for renal impairment. During their hospital stay, three patients developed critical-illness neuropathy.

**Conclusion** Colistin given as inhalation in ICU-patients is systemically resorbed only to a small extend. The measured drug levels achieve a dimension in which drug-related adverse effects seem unlikely. However, in all patients treated with aerosolized colistin careful monitoring concerning drug-related events should be performed. In risk patients as those with renal insufficiency or pre-existing neuronal diseases, TDM might be helpful in detecting potential toxic colistin-levels.

## Zusammenfassung

### Hintergrund:

Eines der wenigen wirksamen Antibiotika zur Bekämpfung multiresistenter gramnegativer Stäbchen ist das Polymyxin-Antibiotikum Colistin. Seiner Wirksamkeit stehen Bedenken v.a. aufgrund einer Nephro- und Neurotoxizität gegenüber. Bei der inhalativen Gabe können lokal hohe Wirkspiegel erreicht werden. Gleichzeitig wird die Inzidenz systemischer Nebenwirkungen im Vergleich zur intravenösen Therapie als vermindert angenommen. Ziel dieser Studie war die Quantifizierung der systemischen Resorption von inhalativem Colistin bei intensivstationären Patienten und die Surveillance von unerwünschten Arzneimittelwirkungen.

### Patienten und Methoden:

Nach Etablierung der Wirkstoffspiegelbestimmung (TDM) von Colistin und seinem Prodrug Colistin-Methansulfonat aus Plasma und Tracheobronchialsekret mittels Tandem-Massenspektroskopie wurde diese exemplarisch im Rahmen einer observationalen, prospektiven Pilotstudie zur Untersuchung der lokalen Verfügbarkeit und systemischen Resorption bei der inhalativen Colistintherapie bei intensivstationären Patienten eingesetzt. Zur Erfassung lokaler und systemischer Nebenwirkungen erfolgte eine klinische, laborchemische und ggf. apparative (elektrophysiologische) Überwachung.

### Ergebnisse:

Neun Patienten (mittleres Alter:  $60 \pm 17$  Jahre, mittlerer SOFA-Score:  $9,4 \pm 3,4$ ) konnten in die Studie eingeschlossen werden. Sieben der Patienten wiesen einen septischen Schock auf und bei fünf Patienten konnte *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen werden. Das TDM im Plasma wies bei sechs Patienten eine geringe systemische Colistin-Resorption nach, wogegen bei drei Patienten die systemischen Spiegel unterhalb der Nachweisgrenze blieben. Die Hydrolyse der Medikamentenvorstufe in das antibiotisch wirksame Colistin war in allen Proben vollständig. Die tracheobronchialen Colistin-Spiegel zeigten eine große Variation. Eine transiente Creatinin-Erhöhung als Hinweis auf eine mögliche Medikamenten-assoziierte Nierenfunktionseinschränkung konnte bei vier Patienten beobachtet werden. Drei Patienten entwickelten im Verlauf eine Critical-Illness Polyneuropathie.

**Schlussfolgerungen:**

Inhalatives Colistin wird bei intensivstationären Patienten nur in geringem AusmaÙe resorbiert. Die systemischen Plasmaspiegel erreichen Konzentrationen, bei denen die Verursachung systemischer, unerwünschter Nebenwirkungen unwahrscheinlich ist. Dennoch sollte bei allen Patienten eine sorgfältige klinische Überwachung Colistin-assoziiierter Nebenwirkungen gewährleistet werden und bei Risikopatienten, die z. B. eine Niereninsuffizienz oder vorbestehende neurologische Schäden aufweisen, ein entsprechendes TDM zur Detektion potenziell toxischer Spiegel erwogen werden.

### 3. Einleitung

#### 3.1. Multiresistente Erreger

Bakterielle Krankheitserreger, die gegen eine Vielzahl an antibakteriellen Wirkstoffen resistent sind, stellen weltweit bereits seit Jahren aufgrund der limitierten Behandlungsoptionen ein wachsendes Problem in der antiinfektiösen Therapie bei ambulanten und stationären Patienten dar.<sup>1</sup>

Das *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* definiert Resistenz als die „Fähigkeit eines Mikroorganismus, der Wirkung einer oder mehrerer antimikrobieller Substanzen zu widerstehen“.<sup>2</sup> Neben den seit mehreren Jahrzehnten bekannten, multiresistenten grampositiven Erregern, wie bspw. dem *Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus (MRSA)* oder den *Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE)* sind vor allem multiresistente gramnegative Stäbchen (*MDR-GNR*) ein wachsendes, aktuelles Problem.<sup>3</sup>

Bakterien mit einer besonderen Relevanz für die klinische Therapie werden unter dem Akronym „*ESKAPE*“ zusammengefasst und umfassen neben den grampositiven Erregern *Enterococcus faecium* und *Staphylococcus aureus* die *MDR-GNR Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa* sowie Mitglieder der gramnegativen Gattung *Enterobacter*.<sup>4</sup> Diesen Bakterien ist gemein, dass sie gegenüber einigen Wirkstoffklassen primär resistent sind und sich häufig durch Plasmid-codierte, erworbene Pathogenitätsfaktoren, wie z. B. die *Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)*, die eine Resistenz gegenüber sämtlichen Antibiotika der  $\beta$ -Lactam-Gruppe mit Ausnahme der Carbapeneme vermittelt, auszeichnen.<sup>5</sup>

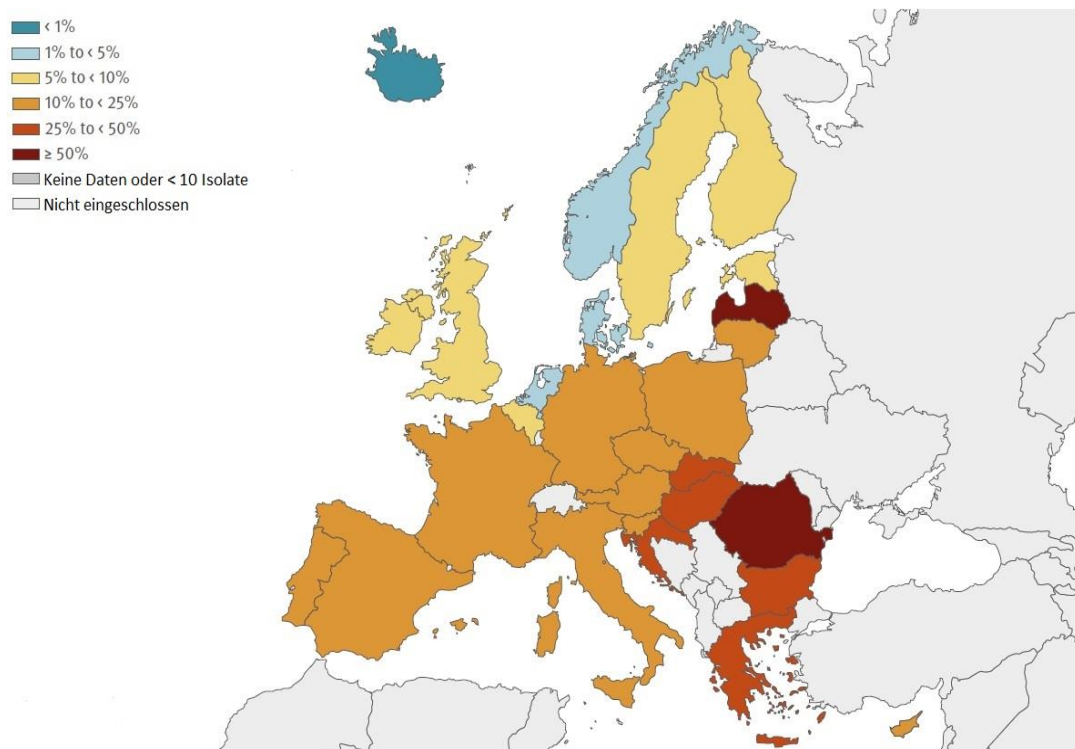
Wie *Abbildung 1* beispielhaft zeigt, war 2017 ein regional unterschiedlicher, jedoch relevanter Anteil der invasiven *Pseudomonas*-Isolate in Europa bereits unempfindlich gegenüber Carbapenemen.<sup>2</sup>

Neben ihrer Multiresistenz weisen einige diese Erreger zudem eine allgemeine Stabilität gegenüber diversen Umwelteinflüssen wie z. B. Dehydration, Hitze und Kälte auf, die stark zu ihrer Transmission beiträgt – insbesondere im Kontext von stationären Behandlungen.

Da bei Infektionen mit MDR-Erregern nur eine begrenzte Anzahl antimikrobiell-wirksamer Medikamente verbleibt, steigen bei diesen Erkrankungen Morbidität und Mortalität gegenüber vergleichbaren Infektionen mit sensiblen Erregern an.<sup>6</sup> Da es voraussichtlich in absehbarer Zeit keine neuen Antiinfektiva bis zur Marktreife schaffen werden, die eine

Wirksamkeit gegenüber MDR-GNR aufweisen, warnt die Weltgesundheitsorganisation (WHO) vor einer drohenden „postantibiotischen Ära“.<sup>7</sup>

Aktuell mehren sich Einzelfallberichte, die von panresistenten Erregern berichten, bei denen kein zugelassenes Antibiotikum mehr eine therapeutisch verwertbare Aktivität aufweist.<sup>8</sup> Die Therapie kann sich hierbei nur noch auf supportive Maßnahmen oder experimentelle Verfahren stützen.



**Abbildung 1** - Regionale Prävalenzen Carbapenem-resistenter, invasiver *P. aeruginosa*-Isolate 2017 in Europa, modifiziert nach <sup>2</sup>

### 3.2. Ursachen, Prävention und Bekämpfung der MDR-Problematik

Eine Ursache für die starke Entwicklung von MDR-Stämmen ist u.a. in der unsachgemäßen und übermäßigen Anwendung antibakterieller Wirkstoffe in der Human- und v.a. der Veterinärmedizin in der Massentierhaltung zu finden.<sup>9</sup> Insbesondere eine inkonsequent geführte Therapie bzw. Prophylaxe mit Wirkstoffmengen im subtherapeutischen Bereich kann die Selektion Antibiotika-resistenter Erregerstämme fördern. Diese Beobachtung machte der Entdecker des Penicillins, *Sir Alexander Fleming*, bereits Mitte des letzten Jahrhunderts.<sup>10</sup>

Aufgrund einer Vielzahl geringer, stochastisch verteilter genetischer, epigenetischer und nicht-genetischer Unterschiede (z. B. geschützte Lage im Biofilm) zwischen den einzelnen Individuen eines Stammes weisen diese nicht die gleichen

Sensibilitätscharakteristika auf – einen Zustand den man als *Heteroresistenz* bezeichnet.<sup>11</sup> Bei einem inadäquaten Therapieregime, das subtherapeutische Wirkstoffkonzentrationen am Ort der Infektion bereitstellt oder für zu kurze Zeit wirkt, werden resistenterere Klone eines sensiblen Stammes nicht erfasst. Diese resistenteren Bakterien bilden aufgrund der häufigen Mutationen im prokaryotischen Erbgut durch den entsprechenden Selektionsdruck in Form einer „Mikroevolution“ weitere Resistenzmechanismen aus.<sup>12</sup> Um diesem Phänomen zu begegnen, sollten die am Ort der Infektion erreichten Wirkstoffspiegel für eine ausreichend lange Dauer entsprechende Spiegel erreichen, um auch die resistenteren Individuen eradizieren zu können. Die Konzentration, bei der auch resistenterere Subpopulationen eines als sensibel getesteten Stammes bekämpft werden, bezeichnet man als *mutant prevention concentration (MPC)*.<sup>13</sup> Die MPC liegt über der minimalen Hemmkonzentration (MIC) und muss für jedes Isolat experimentell bestimmt werden.

Nebst der Verhinderung neuer MDR-GNR-Übertragungen, z. B. durch die konsequente Beachtung der 5 WHO-Indikationen zur Händedesinfektion,<sup>14</sup> sollte somit zur Reduktion der Entwicklung neuer MDR-Stämme eine Reevaluation der Anwendungspraxis antiinfektöser Medikamente erfolgen. Bereits 2001 rief daher der Rat der Europäischen Union „zur umsichtigen Verwendung antimikrobieller Mittel in der Humanmedizin“ auf.<sup>15</sup> Die WHO stellte im Jahr 2015 mit ihrem „*Global Action Plan on Antimicrobial Resistance*“ ein Paket an Maßnahmen auf, welche die globale Bedrohung der antimikrobiellen Resistenz eindämmen sollen.<sup>7</sup>

Antibiotika dürfen nur bei klarer Indikation angewandt werden und die Therapie sollte in ausreichender Dosierung über einen angemessenen Zeitraum erfolgen, um eine weitere Selektion und Entstehung multiresistenter Bakterien zu vermeiden. Auch zur Erreichung dieses Zieles bietet sich v.a. im stationären Rahmen die Etablierung eines *Antibiotic Stewardship* an.<sup>16</sup>

### **3.3. Nosokomiale Infektionen und VAP durch MDR-GNR**

Das *Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS)* des *Nationalen Referenzzentrums für die Surveillance von nosokomialen Infektionen am Robert-Koch-Institut (RKI)* geht von einer *nosokomialen Infektion* aus, „wenn der Infektionstag (= Tag mit dem ersten Symptom) frühestens der Tag 3 des Krankenhausaufenthaltes ist“.<sup>17</sup>

Vor allem stationär-behandelte Patienten weisen eine starke Akkumulation an Risikofaktoren für eine durch MDR-GNR verursachte Infektion auf, sodass hier gehäuft Infektionen mit diesen Erregern gefunden werden.<sup>6</sup> Risikofaktoren stellen bspw. antibiotische Vorbehandlungen, Immunsuppression, schwere Allgemeinerkrankungen und vorangegangene stationäre Krankenhausbehandlungen dar.<sup>18</sup>

Die ausgeprägte Umweltstabilität einiger MDR-Gattungen fördert u.a. durch ihre Persistenz aerogene bzw. Schmier-Infektionen, was insbesondere im intensivstationären Umfeld problematisch ist.

Dritthäufigste nosokomial-erworbene Infektion in Deutschland sind Infektionen der unteren Atemwege.<sup>19</sup> Besondere Bedeutung im intensivstationären Rahmen weisen hierbei nosokomial erworbene Beatmungs-assoziierte Pneumonien (VAP) auf, welche u.a. in Abhängigkeit von der Beatmungsdauer bei ca. 10-20% aller beatmeten Patienten diagnostiziert werden können und im Vergleich zu ambulant erworbenen Pneumonien signifikant häufiger durch gramnegative Bakterien verursacht werden.<sup>20</sup>

Die 2017 aktualisierte deutsche S3-Leitlinie für die „*Epidemiologie, Diagnostik und Therapie erwachsener Patienten mit nosokomialer Pneumonie*“ weist für die gramnegativen Erreger *P. aeruginosa*, *E. coli* und *Klebsiella*-Spezies bei Patienten mit nosokomialer Pneumonie Multiresistenzraten von jeweils 13,6%, 13,0% und 11,7% aus. Hierbei ist zu beachten, dass diese Resistenzcharakteristika erheblichen Unterschieden, selbst innerhalb eines Krankenhauses, unterliegen. Nationale Daten können daher nur eingeschränkt zur individuellen Therapieentscheidung herangezogen werden.<sup>21</sup>

Aus den KISS-Daten lassen sich für Deutschland ca. 11.300 Beatmungs-assoziierte Pneumonien pro Jahr auf Intensivstationen (ITS) ableiten.<sup>22</sup> Die, der VAP zuschreibbare, Letalität liegt bei ca. 10%, gleichwohl präzise Angaben zu Morbidität und Mortalität der VAP in der Literatur verschieden berichtet werden.

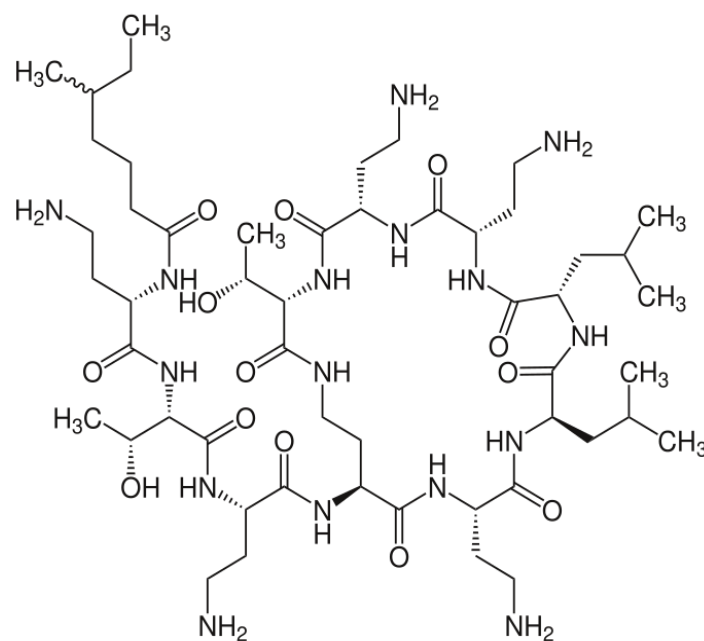
Aus den Daten lassen sich für Deutschland ca. 4000 Todesfälle auf Normal- und Intensivstationen ableiten, die jährlich durch eine nosokomiale Pneumonie verursacht werden.<sup>23</sup>

### **3.4. Das Polymyxin Colistin als therapeutische Alternative**

Eines der wenigen Medikamente, das bei vielen MDR-GNR aktuell eine ausreichende Wirksamkeit zeigt, ist das Polymyxin-Antibiotikum Colistin (Polymyxin E). Colistin gehört in eine Antibiotikaklasse, die vor diesem Hintergrund bspw. in der gezielten, kalkulierten

Therapie einer invasiven *P. aeruginosa*-Infektion als wirksam anzusehen ist.<sup>21</sup> Da Colistin biologisch gewonnen wird, besteht es aus einer Reihe von antibakteriell wirksamen Substanzen. Die beiden Hauptwirkstoffkomponenten sind das Colistin A (Polymyxin E<sub>1</sub>) und Colistin B (Polymyxin E<sub>2</sub>).

Polymyxine gehören zur Gruppe der Polypeptid-Antibiotika und bestehen aus chemisch modifizierten Dekapeptiden, die eine intramolekulare Ringbildung aufweisen und einen hydrophoben Fettsäure-Anhang besitzen (s. *Abbildung 2*). Während sich Colistin A und B in ihren Aminosäuresequenzen nicht unterscheiden, findet sich bei Colistin A 6-Methyloktansäure und bei Colistin B 6-Methylheptansäure an das Peptid angekoppelt.<sup>24</sup>



**Abbildung 2** - Colistin A Strukturformel (Skelettformel), gemeinfrei nach <sup>25</sup>

Bedingt durch die fünf freien Amino-Gruppen der Lysin-Aminosäuren reagiert die antibiotisch wirksame Substanz – die Colistin-Base (CB) – alkalisch. Aufgrund der molekularen Größe (Molekularmasse > 1000Da) und der stark positiven Ladung des Moleküls bei physiologischen pH-Werten weist Colistin schlechte Penetrationseigenschaften auf und sollte daher z. B. bei der Therapie von intrakraniellen Infektionen intrathekal gegeben werden, da bei alleiniger intravenöser Therapie meist keine ausreichenden Liquor-Spiegel erreicht werden.<sup>26</sup>

Der genaue Wirkmechanismus der Polypeptid-Antibiotika ist noch nicht gänzlich erforscht. Als molekularer Wirkansatz wird eine direkte Interaktion mit den gramnegativen Zellmembranen postuliert, bei der durch die Komplexbildung und Verdrängung



zweiwertiger Metall-Kationen (v.a.  $Mg^{2+}$  und  $Ca^{2+}$ ) deren Integrität zerstört und so eine rasch bakterizide Wirkung erreicht wird. Colistin wirkt ausschließlich gegen gramnegative Erreger. Klinisch wichtige Ausnahmen mit natürlicher Resistenz stellen gramnegative Kokken (*Neisserien*) sowie die Gattungen *Serratia*, *Burkholderia* und *Proteus* dar.

Während  $\beta$ -Lactame eine zeitabhängige Wirkung aufweisen und bei Aminoglykosiden (AG) v.a. die Höhe des Spitzenspiegels für die therapeutische Effektivität maßgeblich ist, zeigen Polymyxine einen kombinierten Wirkmechanismus. Ihre Wirkung ist abhängig vom Integral der Zeit-Konzentrationskurve – der „area under the curve“ (AUC).<sup>27</sup>

Eine bessere Verträglichkeit (s.u.) zeigte das Methansulfonsäurederivat der Colistin-Base, das Colistin-Methansulfonat (CMS). Da die CB die antibakteriell wirksame Substanz darstellt, muss das Prodrug CMS im Körper zunächst durch unspezifische Esterasen in die CB überführt werden.<sup>28</sup> Um eine bessere Vergleichbarkeit der antibiotischen Potenz verschiedener Chargen zu erreichen, wird die Dosis in Internationalen Einheiten (IU) angegeben. Die IU definiert sich biologisch: Eine IU ist die Menge an Colistin, welche das Wachstum eines Milliliters einer *E. coli*-Boullion eines definierten Stammes bei einem pH von 7,2 hemmt.

Für die Reinsubstanzen gilt approximativ:

$$\begin{aligned} 1\text{mg CB} &\triangleq 30.000 \text{ IU} \\ 1\text{mg CMS} &\triangleq 12.500 \text{ IU.}^{29} \end{aligned}$$

### **Unerwünschte Arzneimittelwirkungen**

Obwohl Colistin bereits Mitte des letzten Jahrhunderts in Japan aus dem grampositiven *Bacillus polymyxa* var. *colistinus* isoliert und seine Wirksamkeit gegenüber gramnegativen Bakterien entdeckt wurde, erreichte bzw. behielt es aufgrund seines ungünstigen pharmakokinetischen Risikoprofils keine breite Anwendung.<sup>30</sup> Gefürchtete Nebenwirkungen sind v.a. die Nephro- und Neurotoxizität, die sich vermutlich durch eine unerwünschte Interaktion mit den Zellmembranen von Nierentubuluszellen sowie Neuronen und deren Begleitzellen erklären lässt.<sup>31</sup>

Lediglich topische Anwendungsgebiete in Form von Augentropfen, enteralen Dekontaminationen oder die inhalative Gabe bei Patienten mit zystischer Fibrose (CF) verblieben aufgrund der als vernachlässigbar angenommenen systemischen Resorption.<sup>32</sup>

Neuere Studien berichten nach Maßgabe der RIFLE-Kriterien bei 10-54% der systemisch mit Colistin behandelten Patienten von einer meist reversiblen Einschränkung der Nierenfunktion.<sup>33</sup> Im Umfeld schwerkranker Patienten ist eine genaue Bewertung der Colistin-bedingten Nierenschädigung aufgrund der begleitenden Grunderkrankungen sowie der Gabe weiterer nephrotoxischer Medikamente allerdings schwierig. Risikofaktoren für die Nierenschädigung unter einer Colistintherapie sind veränderbare, Patienten-unabhängige Faktoren:

- Dosierung
- Therapielänge<sup>34</sup>
- Gabe weiterer nierenschädigender Medikamente.

Hinzu kommen weitere unveränderbare, Patienten-abhängige Eigenschaften:

- vorbestehende Nierenschädigung<sup>35</sup>
- hohes Alter
- Diabetes mellitus.

Neben den peripheren Parästhesien als häufigste neurologische Manifestation sind weitere mögliche neurologische Nebenwirkungen Schwindel, Übelkeit, Ataxien und Krämpfe. Eine neuromuskuläre Blockade als gefürchtetste neurologische Nebenwirkung kann bei Befall der Atemmuskulatur zu einer peripheren Apnoe führen.

Neurologische Schäden werden in der Literatur seit 1990 in deutlich geringeren Raten (<10%) beschrieben, als Mitte des letzten Jahrhunderts. Für diese Differenz werden modernere Herstellungsmethoden in der großtechnischen Produktion des Antibiotikums, ein verbessertes Monitoring und das zunehmende Wissen um eine korrekte Dosierung verantwortlich gemacht.<sup>36</sup> Da bei intensivstationär-behandelten Patienten auch ohne Colistin-Therapie in bis zu 25% von einer *Critical-Illness-Polyneuropathie* und *-Myopathie* (CIP/CIM) berichtet wird, ist in Analogie zur Nierenschädigung eine genaue Attribution der medikamentös-bedingten Schäden bei den bisher geringen Fallzahlen nur schwer möglich.<sup>37</sup>

Unerwünschte Nebenwirkungen bei der inhalativen Therapie sind auch auf lokaler Ebene möglich. Insbesondere bei Patienten mit vorbestehenden (irritativen) chronischen Lungenerkrankungen ist die Ausbildung von Bronchokonstriktionen unter einer Colistin-Inhalation beschrieben worden.

Zusammenfassend gilt sowohl für die Nephro- wie auch die Neurotoxizität eine positive Korrelation mit der applizierten Dosis, die durch Patienten-abhängige und –unabhängige Faktoren moduliert wird.

### **3.5. Inhalatives Colistin**

Aufgrund der schlechten Penetrationseigenschaften des Makromoleküls scheint ein Übertritt aus dem Blut in den Alveolarraum – und somit z. B. an den Ort der Infektion bei pneumonischen Geschehen – auch bei inflammatorischer Veränderung der Membranen nicht in relevantem Maße stattzufinden.<sup>38</sup> Untersuchungen an VAP-Patienten konnten beispielsweise bei intravenöser Colistin-Therapie (ivCol) keinen Wirkstoff in der bronchoalveolären Lavage (BAL) detektieren.<sup>39</sup>

Um im Alveolarraum für die Therapie wirksame Konzentrationen zu erreichen, kann Colistin per Inhalation (p.i.) gegeben werden und erreicht so über das Bronchialsystem den Alveolarraum. Verwandt wird zur Inhalation meist eine wässrige Lösung, wobei auch die inhalative Anwendung eines Colistin-Pulvers möglich ist. Zur inhalativen Therapie wird aufgrund einer besseren lokalen Verträglichkeit überwiegend das Prodrug CMS eingesetzt.

Durch die primär topische Anwendung können vor Ort mit geringeren Wirkstoffmengen deutlich höhere Konzentrationen als bei der systemischen Anwendung erreicht werden.<sup>40</sup> Bei beatmeten Patienten ist eine Gabe über den Tubus oder das Tracheostoma möglich. Bezüglich der Dosierung bei der inhalativen VAP-Therapie besteht immer noch kein internationaler Konsens.<sup>41</sup> In der Prophylaxe und Therapie bei CF-Patienten werden 1 bis 2 Mega-IU (MIU;  $\pm 10^6$  IU) im 8-12 stündlichen Intervall, einer maximalen Tagesdosis von 6 MIU entsprechend, empfohlen.<sup>42</sup> In Studien, welche die inhalative CMS-Therapie bei VAP-Patienten untersuchten, wurden überwiegend Tagesdosen zwischen 2 und 4 MIU eingesetzt.<sup>43</sup> Generell weist laut bisheriger Studienlage die inhalative Gabe von Colistin abgesehen von einer möglichen, moderaten Bronchokonstriktion eine gute Verträglichkeit auf. Aufgrund eines Todesfalles, der im Zusammenhang mit der Inhalation auftrat, ist die Indikation dennoch sorgfältig zu prüfen. Zudem besteht für die Anwendung außerhalb der CF gegenwärtig keine Zulassung.<sup>44</sup>

## **Inhalatives Colistin in der Mukoviszidose-Therapie**

Inhalatives Colistin (iCol) wird bereits seit mehreren Jahrzehnten erfolgreich bei der Prophylaxe und der Bekämpfung pulmonaler Infektionen bei CF-Patienten eingesetzt.<sup>45</sup> Auf Basis der gestörten mukoziliären Clearance findet sich bei erwachsenen CF-Patienten ein überwiegend gramnegatives Erregerspektrum, welches durch rezidivierende Infekte und den häufigen Antibiotika-Einsatz Resistenzen aufweist bzw. entwickelt.<sup>46</sup>

## **Stellenwert der iCol-Therapie bei der VAP**

Die „*Infectious Diseases Society of America*“ (IDSA) empfiehlt in ihrer Richtlinie von 2016 für die VAP-Behandlung von Erregern, die nur noch Colistin-sensibel sind, die kombinierte Gabe von iCol und ivCol (comCol) bei der VAP-Therapie. Zusätzlich kann iCol als Therapieoption bei VAP-Patienten unabhängig vom Resistenzcharakter erwogen werden, die auf eine intravenöse Therapie nicht (mehr) ausreichend ansprechen.<sup>47</sup>

Gemäß der deutschen S3-Leitlinie zur nosokomialen Pneumonie sollte beim „Vorliegen multiresistenter gramnegativer Erreger, die nur auf Colistin und/oder Aminoglykoside empfindlich sind (...) eine ergänzende inhalative Therapie (...) zusätzlich zur systemischen Antibiotikatherapie erwogen werden“.<sup>21</sup> Diese schwache Empfehlung hat den Evidenzgrad C.

Eine Metaanalyse aus dem Jahr 2015 untersuchte die Evidenz für die zusätzlich-adjuvante Gabe von iCol bei der ivCol-Therapie von MDR-VAP bzw. nosokomialen Pneumonien.<sup>48</sup> Die 9 ausgewerteten Studien (eine prospektive Kohortenstudie, 8 retrospektive Analysen) mit insgesamt 672 Teilnehmern verglichen die ivCol-Therapie mit einer Kombinationstherapie aus ivCol und iCol.<sup>49-57</sup>

Die comCol-behandelten Patienten zeigten ein signifikant besseres klinisches Ansprechen auf die Therapie [OR=1,81; 95% Konfidenz-Intervall (KI) 1,30-2,53; p=0,0005], eine höhere Erreger-Eradikation [OR=1,66; 95% KI 1,11-2,49; p=0,01] sowie eine geringere Gesamtmortalität [OR=0,69; 95% KI 0,5-0,95; p=0,02]. Bezüglich einer Nierenschädigung konnten die Autoren keinen signifikanten Unterschied feststellen [OR=1,11; 95% KI 0,69-1,80;p=0,67].

Ein systematisches Review ebenfalls aus dem Jahr 2015 umfasste zusätzlich auch observationale Studien und Fallberichte, die „einarmig“ lediglich die klinische Wirksamkeit von iCol entweder als inhalative Monotherapie oder als Adjuvans zu einer bestehenden

ivCol-Therapie untersuchten.<sup>58</sup> Hierbei variierte die klinische Anspruchsrate bei der comCol-Therapie zwischen 67% und 100%, während sie bei der inhalativen Monotherapie auf 57%-80% sank. Insgesamt schwankte die Infektions-assoziierte Mortalität bei diesen nicht-vergleichenden Studien zwischen 0% und 22%, während in 0-17% eine Einschränkung der Nierenfunktion registriert werden konnte.<sup>59-67</sup>

### **Systemische Resorption**

Da Colistin ein nicht unerhebliches, Dosis-abhängiges Nebenwirkungsprofil aufweist, muss besondere Aufmerksamkeit auf die Vermeidung einer Überdosierung gelegt werden. Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, wie und in welchem Ausmaße bei einer inhalativen (Ko-) Therapie Colistin aus der Lunge in die systemische Zirkulation übertritt und so ggf. systemische Nebenwirkungen verursachen kann.

Untersuchungen zur systemischen Bioverfügbarkeit bei einer inhalativen Colistin-Monotherapie sind in Tiermodellen an Ratten und Pavianen erfolgt.<sup>68,69</sup> Erste humane Untersuchungen zur systemischen Resorption wurden bei Mukoviszidose-Patienten durchgeführt, da bei diesen eine (prophylaktische) inhalative Colistin-Monotherapie seit längerem ein etabliertes therapeutisches Konzept darstellt.<sup>70,71</sup>

Eine Vergleichbarkeit und Übertragbarkeit der bei CF-Patienten gewonnenen Daten auf Patienten ohne Mukoviszidose ist nur eingeschränkt möglich: Aufgrund der langjährigen pulmonalen Inflammation und der gestörten Clearance bei Mukoviszidose kommt es zu tiefgreifenden Veränderungen der Lungenarchitektur. Insbesondere reduziert sich die verfügbare Austauschfläche, während sich die alveolären Membranen verdicken und strukturell verändern.<sup>72</sup> Daher könnte die systemische Resorption bei Patienten ohne CF effektiver erfolgen und zu höheren, systemisch verfügbaren Mengen führen.

### **Studienlage zum Start der vorliegenden Studie**

Basierend auf der Literaturlage waren vor Start der Studie lediglich zwei Untersuchungen an intensivstationären Patienten ohne Mukoviszidose publiziert worden. In diesen Studien ergaben sich Hinweise auf eine im Vergleich zu CF-Patienten höhere Bioverfügbarkeit:

*Lu et al.* untersuchten bei VAP-Patienten unter einer vergleichsweise hohen inhalativen Colistin-Therapie von 3x5 MIU CMS/d mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) die Tal- sowie Spitzenspiegel von Colistin jeweils nach zwei- bzw. dreitägiger

inhalativer Therapie.<sup>60</sup> Unter dieser Dosierung konnten bei den 16 Patienten im Mittel Colistin-Spitzenpiegel von ca. 2 mg/l gemessen werden. Die Colistin-Talspiegel lagen mit 1 mg/l im Mittel darunter.

Die Athener Arbeitsgruppe von *Athanassa et al.* untersuchte bei invasiv beatmeten Patienten ebenfalls mittels HPLC bei 20 Patienten die Plasmaspiegel nach der erstmaligen Gabe von 1 MIU CMS (Therapieregime 3x1 MIU CMS/d).<sup>73</sup> Die Abnahmen zur Spiegelmessung erfolgten jeweils 1, 2, 4 und 8 Stunden nach der inhalativen Verabreichung. Die mittleren Spiegel zeigten einen Anstieg innerhalb der ersten beiden Stunden auf 1,2 mg/l (1h) und 1,6 mg/l (2h) und fielen anschließend über 0,75 mg/l (4h) auf den Talspiegel von 0,31 mg/l ab.

Zudem existierten nach unserer Kenntnis keine Veröffentlichungen, die eine Spiegelbestimmung nach der inhalativen Therapie mittels Massenspektroskopie (MS) durchführten und Messungen sowohl unmittelbar nach der ersten Gabe als auch im Zustand des Flussgleichgewichts nach 48-72h beschrieben. Studien mit begleitenden Spiegelmessungen im Tracheobronchialsekret (TBS), das im Vergleich zur bronchoalveolären Lavage einfacher zu gewinnen ist, waren zuvor nicht veröffentlicht worden. Insgesamt bestand eine geringe Evidenzlage, die eine spezifische Dosis für Colistin in dieser spezifischen Patientenkohorte unterstützen würde.

### **3.6. Ziele der Studie**

Gegenstand der vorliegenden Studie war es, eine geeignete Präanalytik als Voraussetzungen für das therapeutische Drug Monitoring (TDM) von Colistin und seinem Prodrug CMS zu etablieren. Insbesondere die Adaptation des Prozederes für die Aufarbeitung von Trachealsekreten mit höherer Viskosität erforderte eine Anpassung des Analyseprozesses; es konnte jedoch ein sensitiver und valider Prozess für die Plasma- und Trachealsekret-Analytik etabliert werden, der darüber hinaus auch in der klinischen Routine und für Forschungsfragestellungen genutzt wird. Im Rahmen der observationalen Pilotstudie sollte dann eine Quantifizierung der systemischen Resorption bei der inhalativen Colistintherapie zur Abschätzung des systemisch verfügbaren Wirkstoffanteils als Vermittler möglicher unerwünschter Arzneimittelwirkungen, unter besonderer Berücksichtigung der Nephro- und Neurotoxizität, erfolgen.

## **4. Patienten und Methoden**

### **4.1. Studiendesign und Erhebungszeitraum**

Bei der in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Studie handelt es sich um eine prospektive observationale, klinische Pilotstudie. Die Studie wurde auf den intensivmedizinisch-anästhesiologischen Stationen 8i und 14i sowie der interdisziplinären Intensivstation K1 am Campus Virchow-Klinikum der Charité-Universitätsmedizin Berlin durchgeführt. Die Akquirierung der Patienten erfolgte im Zeitraum von 09/2013 bis 09/2014.

### **4.2. Ethik-, Datenschutzvotum und Registrierung**

Das Studienvorhaben wurde von der Ethikkommission (EA 1/070/13) sowie dem behördlichen Datenschutzbeauftragten der Charité genehmigt. Die Studie wurde unter *ClinicalTrials.gov* registriert (*ClinicalTrials.gov* identifier: NCT01894347).

### **4.3. Studienlokalisierung**

Die Station K1 wird interdisziplinär von Anästhesisten, Neurochirurgen und Neurologen geführt und widmet sich überwiegend der Behandlung schwerer Erkrankungen des zentralen und peripheren Nervensystems.

Die anästhesiologisch geleiteten Stationen 8i und 14i versorgen postoperative Patienten, die eine intensivstationäre Nachbehandlung benötigen. Die Station 8i ist zusätzlich ein überregionales Zentrum für die Versorgung polytraumatisierter Patienten sowie der Behandlung eines akuten Atemnotsyndroms (ARDS).

### **4.4. Ein- und Ausschlusskriterien**

Eingeschlossen werden konnten volljährige Patienten beiderlei Geschlechts, die folgende *Einschlusskriterien* aufwiesen:

- invasive Beatmung und vermutete oder gesicherte Erreger in einem tracheobronchialen Sekret mit oder ohne klinische Zeichen einer pulmonalen Infektion
- indizierte inhalative Colistin Ko-Therapie zur Infektbehandlung bzw. Eradikation eines Erregers

Folgende *Ausschlusskriterien* bestanden:

- Einwilligung des Patienten/des gesetzlichen Vertreters konnte nicht zeitnah eingeholt werden
- nicht volljährige (< 18 Jahre) Patienten
- Einschluss in eine weitere prospektive Antibiotika-Studie
- Überempfindlichkeit gegenüber Colistin oder anderen Polymyxin-Derivaten
- Patienten mit zystischer Fibrose
- Vorliegende Vollmacht/Patientenverfügung, in welcher eine Teilnahme an Studien vom Patienten grundsätzlich ausgeschlossen wird
- Fehlende Einwilligung zur pseudonymisierten Verwendung von Patientendaten
- Unterbringung des Patienten im Krankenhaus auf behördliche/gerichtliche Anweisung

Patienten, welche die Einschlusskriterien erfüllten und bei denen keine Ausschlusskriterien eruierbar waren, wurden vorläufig in die Studie eingeschlossen. War aufgrund der schweren Erkrankungen der Patienten keine Aufklärung vor Einschluss in die Studie möglich, so war die Aufklärung der Patienten bzw. der betreuenden Personen nachfolgend im „*delayed informed consent*“-Verfahren möglich.

#### **4.5. Identifikation der Patienten**

Mögliche Patienten wurden durch regelmäßige Überprüfung der elektronischen Patientendaten der oben genannten Intensivstationen auf Ein- und Ausschlusskriterien hin überprüft. Grundlage dieser Prüfung waren das Krankenhaus-Informationssystem (SAP Deutschland AG & Co. KG, Walldorf, Deutschland) und das ITS-Patienten-Daten-Management-System (COPRA System GmbH, Sasbachwalden, Deutschland).

#### **4.6. Datenerfassung**

Gemäß Studienprotokoll erfolgte die prospektive Erhebung der weiteren Daten mithilfe der Computer-basierten Patientendatenprogramme (s.o.) und der Papier-gebundenen Akte. Erhoben wurden neben Alter und Geschlecht auch die anthropometrischen Daten zu Größe und Gewicht. Anamnestisch wurden Informationen über Substanzmissbrauch (Ethanol, Nikotin, etc.), eventuell vorliegende Immunsuppression, Allergien, vorbestehende Niereninsuffizienz (NI) sowie bereits vorbestehende neurologische und pulmologische Vorerkrankungen dokumentiert.



Der Schweregrad der infektiologischen Gesamtsituation wurde nach dem Vorschlag des *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) Consensus Conference Comitees*<sup>74</sup> in die Kategorien *Sepsis*, *schwere Sepsis* und *septischen Schock* eingeteilt und mittels intensivmedizinischer Scores (TISS-28, SOFA, APACHE II), die jeweils zum Zeitpunkt der ITS-Aufnahme und des Studieneinschlusses dokumentiert wurden, quantifiziert.<sup>75</sup> Bei Studieneinschluss wurden die laborchemischen Daten zur Creatinin-Konzentration im Serum, Inflammations-Surrogatmarker (z. B. CRP, Leukozyten/nl) und die Ergebnisse der Blutgasanalyse (BGA) festgehalten. Eine ausführliche Dokumentation der Beatmungsparameter (z. B. Beatmungsdauer zum Studieneinschluss, Horovitz-Index, Beatmungsdrücke und Volumina) wurde angeschlossen. Zudem wurden die bisherige ITS-Verweildauer, die hämodynamische Situation und ggf. die notwendige Katecholamin-Dosis zu Studienbeginn protokolliert. Während des Aufenthaltes wurde auf Medikamenten-assoziierte und nicht –assoziierte Nebenwirkungen geachtet und diese dokumentiert. Der klinische Therapieerfolg wurde ebenso kontrolliert wie die mikrobiologische Clearance. Nach Beendigung der Behandlung an der Charité wurden die gesamte ITS-Verweildauer, die Summe der invasiven Beatmungsdauer sowie die ITS- und Krankenhaussterblichkeit notiert.

#### **4.7. Inhalative Applikation des Colistins**

Auf den teilnehmenden Intensivstationen ist ein online-basierter Standard für die Anwendung antimikrobieller Medikamente etabliert, der für die inhalative Therapie erwachsener Patienten die Gabe von 1 MIU CMS alle 8h mit einer möglichen Steigerung auf bis zu 6 MIU CMS pro Tag bei klinischer Notwendigkeit empfiehlt.<sup>76</sup>

Das Colistin wurde mit dem Vernebler *Aeroneb® Pro* (Aerogen Nektar Corporation, Galway, Irland) verabreicht. Zur Verneblung wurde die entsprechende Menge Colistin-Methansulfonat (Colistin CF, Forest Laboratories Nederland B.V., Utrecht, Niederlande) in 5 ml isotonischer 0,9%-iger NaCl-Lösung aufgelöst und diese Lösung mithilfe des *Aeroneb® Pro* in ein Aerosol überführt. Das Gerät produziert ein Aerosol, dessen Tröpfchen eine mittlere Größe von etwa 4 µm (Angabe des Herstellers) aufweisen. Das Aerosol wurde in das Beatmungssystem überführt und über den Tubus endotracheal mit der einströmenden Luft appliziert.

Vor der inhalativen Gabe wurde die Ventilation mittels Rekrutierungsmanövern, trachealer Absaugung und der Gabe von Bronchodilatoren (z. B. 2,5 mg Salbutamol,

gelöst in 5 ml isotonischer Kochsalzlösung, appliziert 20 Minuten vor der Colistin-Gabe) optimiert.

#### **4.8. Probengewinnung**

Bei eingeschlossenen Patienten wurden die Blutproben-Reste, die im Rahmen der 1-2 stündlich durchgeführten BGA-Bestimmungen (Pico50 Probennehmer, 2ml, 80IU Heparin; Radiometer A/S, Dänemark) übrig blieben, zum Zeitpunkt 1h und 7h nach Gabe der ersten Inhalation gewonnen. Eine zusätzliche Probe wurde an Tag 3 unmittelbar vor der 7. inhalativen Gabe abgenommen. Auf Grundlage vorausgegangener Studien<sup>70,77</sup> erfolgte aus den Entnahmen 1h, 7h bzw. am Tag 3 nach der ersten Gabe die Bestimmung von CMS und CB. Fand im Rahmen der intensivmedizinischen Behandlung die Gewinnung eines TBS statt, wurden Teile des gewonnenen Materials in ein Probenröhrchen überführt und ebenfalls bei -80°C bis zur Messung gelagert.

#### **4.9. Etablierung der Colistin-Messung**

Zu Beginn dieser Studie war die Messung von Colistin und CMS mittels HPLC-gekoppelter Tandem-Massenspektroskopie (HPLC-MS/MS) in Plasma und Tracheobronchialsekret deutschlandweit nicht verfügbar. Aufgrund der problematischen Präanalytik, insbesondere bedingt durch die Instabilität des Prodrugs CMS, war die Etablierung der Colistin-Bestimmung eine studienimmanente, logistische Herausforderung.

Zur Vermeidung langer und zeitaufwendiger Wege erfolgte daher die Aufstellung eines netzwerkangebundenen -80°C-Kühlschranks unmittelbar auf der Station 8i. Durch die benachbarte Kühlzentrifuge war eine schnelle und vom Zentrallabor unabhängige Probenbearbeitung gewährleistet, bei der mögliche Verzögerungen der Präanalytik vermieden werden konnten. In enger Absprache und Koordination mit dem Labor des *Instituts für Klinische Pharmakologie* der *Otto-von-Guericke* Universität in Magdeburg erfolgte der direkte Transport auf Trockeneis durch einen gesonderten Fahrdienst, sodass die Proben nach Eingang dort zügig abgearbeitet werden konnten.

#### 4.10. Probenverarbeitung und -analyse

Unmittelbar nach Abnahme wurden die BGA-Reste in ein natives Röhrchen (*BD Vacutainer® Z* (No Additive); Becton Dickinson and Company, USA) überführt und sofort bei 4°C bei 4000 g über 10 min lang zentrifugiert (*Megafuge 1.0R*; Heraeus, Hanau). Der Plasmaüberstand (i.d.R. < 1ml) wurde in ein „Eppendorfhütchen“ überführt und bei -80°C bis zur Messung der Proben eingefroren.

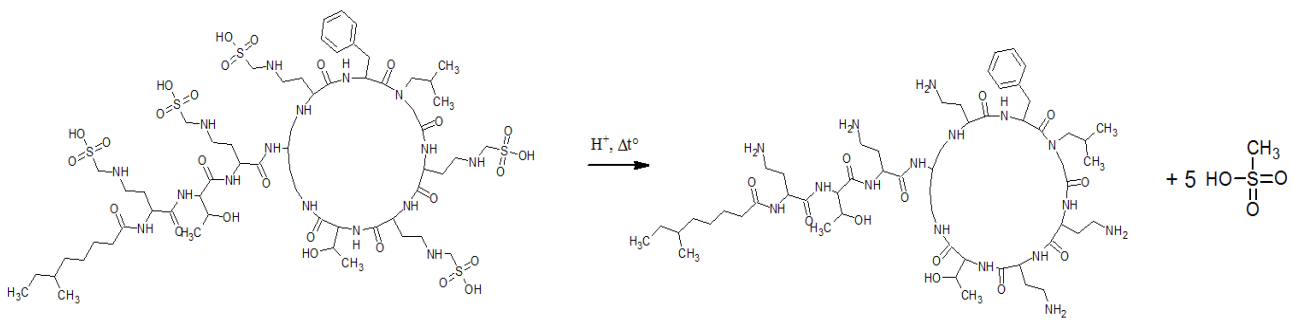
Die Bestimmung der CMS- und Colistin-Spiegel erfolgte am *Institut für Klinische Pharmakologie* der *Otto-von-Guericke Universität* in Magdeburg. Die Messung der gewonnenen Proben fand innerhalb eines Jahres nach Gewinnung statt.

Gemäß den Untersuchungen von *Dudhani et al.* ist in diesem Zeitraum bei -80°C nicht mit einer nennenswerten Zersetzung des Colistins oder einer spontanen Hydrolyse von CMS zur freien Colistin-Base zu rechnen.<sup>28</sup>

Die Proben wurden vor diesem Hintergrund während des maximal vierstündigen Transports von Berlin nach Magdeburg mit Trockeneis (Sublimationstemperatur  $\text{CO}_{2\text{fest}}$ : -78,5°C) gekühlt.

Die Bestimmung des Colistin-Spiegels erfolgte mit einer HPLC-MS/MS nach einem leicht abgeänderten Protokoll nach *Gobin et al.*<sup>78</sup> Gemessen wurden die zwei Hauptkomponenten, Colistin A und B, die zusammen mehr als 85% der Gesamtaktivität von Colistin ausmachen.<sup>79</sup> Da sich deren antibiotische Wirkung nur unwesentlich unterscheidet, wurde das Ergebnis als Gesamtcolistin (Summe aus Colistin A und B) ausgegeben.

Zur Messung wurden die Proben schonend aufgetaut, um eine spontane CMS-Hydrolyse zu vermeiden. Anschließend wurden jeweils 250 µl in zwei getrennte Tubes pipettiert, um eine getrennte Messung von CMS und CB vornehmen zu können. Eine der Aliquote wurde ohne weitere Behandlung zur Messung vorbereitet, während das andere einer forcierten Hydrolyse zugeführt wurde. Hierzu wurde die Probe mit 40 µl 0,5M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versetzt und bei Raumtemperatur über 10 min hydrolysiert. *Abbildung 3* zeigt schematisch die ablaufende Reaktion bei der Hydrolyse.



**Abbildung 3:** Reaktionsgleichung der forcierten Hydrolyse (exemplarisch für Colistin A)

Um den Wirkstoff und den internen Standard (Polymyxin B) aus den so vorbereiteten Proben zu extrahieren, wurden sie mit einer Festphasenextraktion weiter aufgearbeitet. Zu den Proben wurden 50 µl der Lösung des internen Standards

(25 µg Polymyxin B/ml) gegeben und die Probe mit 700 µl Reinstwasser verdünnt.

Die so gewonnenen Lösungen wurden auf ein Oasis HLB-Festphasenextraktionsröhrchen (Waters Artikel-Nr. WAT094225) aufgetragen, anschließend mit 1ml Wasser gewaschen und trocken gesaugt.

Wirkstoff und Standard wurden mit 1 ml Methanol/0,1% Trifluoressigsäure vom Festphasenextraktionsröhrchen gelöst und das Eluat in der Vakuumzentrifuge vollständig eingedampft. Der verbleibende Rückstand wurde mit 250 µl der mobilen Phase der HPLC, bestehend aus einer 0,1%-igen wässrigen Trifluoressigsäurelösung, wieder aufgenommen und in ein Autosamplergläschen mit Mikrolitereinsatz überführt.

Die Lösungen durchliefen mit einem Laufmittel bestehend aus 40% Acetonitril, 60% Wasser und 0,1% Trifluoressigsäure eine HPLC (HP1100, HP, Waldbronn, Deutschland). Als Säule fand eine Agilent Zorbax Eclipse SB-C18, 5µm, 2,1x150mm Säule mit Phenomenex Security Guard Filter mit C18 Filtereinsatz Verwendung.

Mittels Tandem-Massenspektrometer (Thermo Finnigan TSQ, Thermo Fisher Scientific, Braunschweig, Deutschland) wurde anschließend die Menge an CB bestimmt. Hierfür wurde im Positiv-Ionen Modus ein Multiple-Reaktion-Monitoring durchgeführt. Detektiert wurden die Massenübergänge (m/z) 585,5 → 101,2 für Colistin A (Molekularmasse 1170 g/mol), 578,5 → 101,2 für Colistin B (Molekularmasse 1155 g/mol) und 602,5 → 241,2 für Polymyxin B (Molekularmasse 1203 g/mol) als Standard.

Die Validationsstudie zur Implementation der Methoden bestimmte die Nachweisgrenze für Colistin mit 0,02 mg/l, während die Optimierung zur quantitativen Messung eine Bestimmungsgrenze von 0,1 mg/l zur validen quantitativen Analyse ergab.

Die Menge an CMS wurde aus der CB-Differenz zwischen der forciert-hydrolisierten und der unbehandelten Probe errechnet.

Die Aufbereitung der TBS-Proben erforderte aufgrund der erhöhten Viskosität initial eine zusätzliche Behandlung gemäß eines adaptierten Protokolls nach *Kontou et al.*<sup>80</sup> Nach schonendem Tauvorgang wurden die TBS-Proben in einem Ultraschallbad (Elma T470, Singen, Germany; 35kHz, max. HF-Energie 170W) verflüssigt. Die so vorbereiteten Proben wurden anschließend wie oben beschrieben analysiert.

#### **4.11. Outcome-Parameter**

Eine Nierenschädigung unter der Therapie wurde angenommen, sofern die Kriterien für das Stadium „*Injury*“ gemäß den RIFLE-Kriterien während des Beobachtungszeitraumes erreicht wurden (mind. zweifacher Anstieg des Serumcreatinins).

Zum Monitoring der Neurotoxizität wurden neurologische Untersuchungen durch erfahrene Intensivmediziner vorgenommen und bei etwaigen Auffälligkeiten schlossen sich weitergehende elektrophysiologische Untersuchungen an.

Die Plasmakonzentrationen von CB und CMS wurden wie oben beschrieben gemessen. Ein klinisches Ansprechen wurde definiert als die Rückbildung bzw. eine deutliche Besserung der klinischen Symptome 14 Tage nach Beginn der Therapie.

Eine mikrobiologische Clearance wurde angenommen, sofern drei Tage nach Beendigung der antimikrobiellen Therapie kein Erreger aus dem Kompartiment, in dem zuvor ein Erreger nachweisbar war, mehr kultiviert werden konnte.

#### **4.12. Endpunkte**

Der antimikrobiellen Effektivität von Colistin steht sein Nebenwirkungsspektrum gegenüber. Besondere Bedeutung bei der Colistintherapie haben daher eine mögliche Nephro- und Neurotoxizität. Deshalb bildete das Monitoring der Nephro- und Neurotoxizität bei der inhalativen CMS-Therapie den *primären Endpunkt*. Da der Vermittler dieser Nebenwirkungen das systemisch verfügbare Colistin darstellt, erfolgte die Überwachung über die

- Messung der Plasmaspiegel von Colistin und seinem Prodrug CMS nach definierten Zeitpunkten zur Detektion und Quantifizierung der systemischen Resorption,
- Bestimmung der Creatinin-Werte und der RIFLE-Kriterien sowie einem
- Neuromonitoring (klinisch-neurologische Untersuchung, bei Auffälligkeiten Nervenleitgeschwindigkeit, ggf. EEG).

Als *sekundäre Endpunkte* wurden neben einer Überwachung weiterer Komplikationen und schwerwiegender, unerwünschter Ereignisse während der antiinfektiven Therapie folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Konzentrationen von Colistin im Tracheobronchialsekret
- Mikrobiologische Evaluation der Erregereradikation.

#### **4.13. Statistische Auswertung und graphische Darstellung**

Die Ergebnisse wurden in Abhängigkeit vom Skalenniveau und der Verteilung als Median mit 25%- und 75%-Quartilen [25 | 75], arithmetisches Mittel  $\pm$  Standardabweichung (MW  $\pm$  STD) oder prozentuale Anteile angegeben. Für die weitergehende statistische Analyse wurde ein nicht-parametrischer Wilcoxon-Test angewandt, wobei ein zweiseitiger Wert von  $p < 0,05$  als statistisch signifikant angesehen wurde. Durch den observationalen Charakter der Pilot-Studie wurden alle Analysen als explorativ angesehen. Sämtliche statistischen Auswertungen erfolgten mit dem Analyseprogramm IBM SPSS Statistics 21 (International Business Machines Corporation, Armonk, USA). Strukturformeln und graphische Reaktionsgleichungen wurden mittels ACD/ChemSketch Version 2018.1.1 (Advanced Chemistry Development Inc. (ACD/Labs), Toronto, Canada) erstellt (vgl. *Abbildung 3*).

## 5. Ergebnisse

### 5.1 Eingeschlossene Patienten und Basischarakteristika

Insgesamt 11 Patienten erfüllten zunächst alle Einschlusskriterien. Bei einem Patienten erfolgte die Colistin-Gabe intravenös, sodass dieser Patient ausgeschlossen wurde. Bei einem weiteren Patienten konnte die Zustimmung des gesetzlichen Betreuers zum Einschluss in die Studie und die weitere Verarbeitung der gewonnenen Daten nicht eingeholt werden. Ein Großteil der im Rekrutierungszeitraum inhalativ mit Colistin behandelten Patienten war aufgrund einer zeitgleich bestehenden intravenösen Colistin-Kotherapie für eine Teilnahme an der Studie nicht geeignet.

Bei allen eingeschlossenen Patienten erfolgte die Aufnahme auf die ITS postoperativ. Die Operationen, die primär zur Aufnahme auf die ITS führten, verteilten sich auf die Bereiche Neurochirurgie (66,7%), Thorax- und Viszeralchirurgie (22,2%) sowie eine Operation an der A. carotis interna (11,1%). Eine der eingeschlossenen Patienten war weiblich (11,1 %). Einen Überblick über die übrigen Basischarakteristika gibt *Tabelle 1*.

**Tabelle 1** - Basischarakteristika der eingeschlossenen Patienten

Pat.-Nr.	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Körpergewicht [kg]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]
1	67	176	70	22,6
2	58	180	70	21,6
3	61	188	200	56,6
4	47	200	85	21,3
5	76	165	60	22,0
6	86	180	80	24,7
7	65	180	75	23,1
8	27	170	75	26,0
9	53	180	90	27,8
<b>MW ± STD</b>	60 ± 17	179,9 ± 10	89,4 ± 42,4	27,3 ± 11,2
<b>25% Median  75% Quartilen</b>	50 61 71,5	173 180 184	70 75 87,5	21,8 23,1 26,9

## 5.2 Daten bei ITS-Aufnahme

### Vorerkrankungen

#### Lunge

6 Patienten (66,7%) wiesen eine pulmonologische Vorerkrankung auf, wobei bei vier Patienten (44,4%) eine Lungengerüstveränderung vorlag (COPD, Lungenfibrose) und bei zwei weiteren Patienten (22,2%) ein reversibles Asthma bronchiale dokumentiert war.

#### Niere

Zum Zeitpunkt der Aufnahme betrug das durchschnittliche Serum-Creatinin 1,12 mg/dl (STD: 0,83 mg/dl; 25%|Median|75% Quartilen: 0,55|0,80|1,72 mg/dl). Der Median der nach Cockcroft-Gault<sup>81</sup> berechneten glomerulären Filtrationsrate (eGFR) betrug hierbei 96 ml/min (STD: 97 ml/min; 25%|75% Quartilen: 56,5|188,5 ml/min). Eine deutlich geringere Streuung der geschätzten GFR ergab sich bei der Berechnung anhand der von der „Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration“ (CKD-EPI)<sup>82</sup> erarbeiteten Formel: Die mittlere, nach CKD-EPI errechnete GFR betrug bei Aufnahme auf die Intensivstation 87 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (STD: 45 ml/min/1,73m<sup>2</sup>; 25%|Median|75% Quartilen: 44|92|130,5 ml/min/1,73m<sup>2</sup>). Letztere eGFR nach CKD-EPI wurde gemäß der von der „Kidney Disease: Improving Global Outcomes“-Gruppe (KDIGO) vorgeschlagenen Stadien<sup>83</sup> stratifiziert: Eine relevante, vorbekannte Einschränkung der errechneten GFR von unter 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> wiesen bei ITS-Aufnahme drei Patienten (33,3%) auf. Diese drei Patienten befanden sich jeweils im KDIGO-Stadium G3a (GFR 45-59 ml/min/1,73m<sup>2</sup>), G3b (GFR 30-44 ml/min/1,73m<sup>2</sup>) und G4 (15-29 ml/min/1,73m<sup>2</sup>). Ein Patient war vor und während der Studie abhängig von Nierenersatzverfahren.

#### Nervensystem

Bei 6 Patienten waren bei ITS-Aufnahme Erkrankungen des zentralen Nervensystems bekannt. Diese verteilten sich auf neuroinflammatorische (Multiple Sklerose) und traumatische Ursachen (traumatisches Subduralhämatom, offenes Schädel-Hirn-Trauma) sowie neurovaskuläre Entitäten (Schlaganfall, Subarachnoidalblutung).

#### Immunsystem

Drei Patienten (33,3%) standen unter einer immunsuppressiven Therapie. Die verwandten Substanzen waren jeweils eine Monotherapie mit Prednisolon sowie den Calcineurin-Inhibitoren Tacrolimus und Cyclosporin A. Die zugrundeliegenden Erkrankungen, die diese Therapie indizierten, waren Asthma bronchiale, Multiple



Sklerose und ein systemischer Lupus erythematodes. Bei einem Patienten (11,1%) war eine Allergie anamnestisch vorbekannt, die sich gegen Acetylsalicylsäure richtete.

#### Substanzmissbrauch

Von den vier Patienten (44,4%), die einen Nikotinabusus betrieben, lag bei der Hälfte ein zusätzlicher schädlicher Ethanol-Missbrauch vor.

### **ITS-Scoring-Werte bei Aufnahme**

Einen Überblick über die Statistik der Scoring-Systeme zum Zeitpunkt der intensivstationären Aufnahme liefert *Tabelle 2*. Wie an den Werten ersichtlich, befanden sich die Patienten u.a. durch Organdysfunktionen in vital bedrohlichen Situationen und wiesen eine eingeschränkte Prognose auf.

**Tabelle 2** - Übersicht über die ITS-Scores zum Aufnahmezeitpunkt

Pat.-Nr.	APACHE II	SOFA	TISS-28
1	22	9	32
2	35	7	45
3	39	15	46
4	22	4	35
5	15	8	52
6	33	10	37
7	31	13	38
8	20	7	45
9	29	12	49
MW± STD	27,3 ± 8,0	9,4 ± 3,4	42,1 ± 6,8
25% Median 75% Quartilen	21 29 34	7 9 13	36 45 47,5

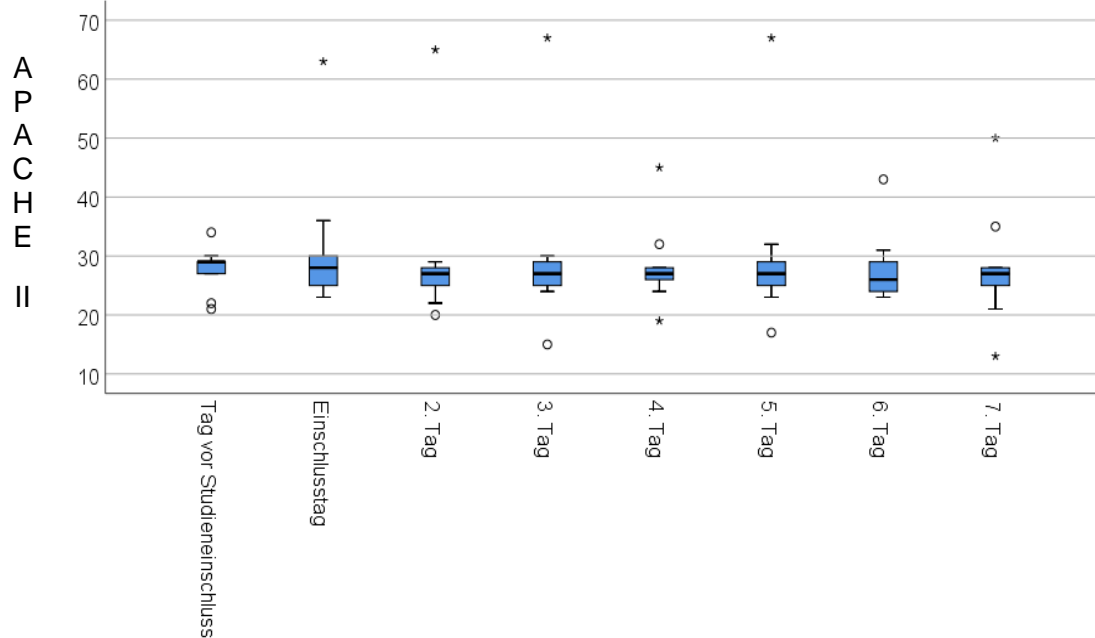
### **5.3. Daten bei Studieneinschluss und Beobachtungszeitraum**

Zwischen der stationären Aufnahme und dem Einschluss in die Studie lagen durchschnittlich 48 Tage (STD: 29,8 Tage; 25%|Median|75% Quartilen: 23|43|77,5 Tage).

## ITS-Scores

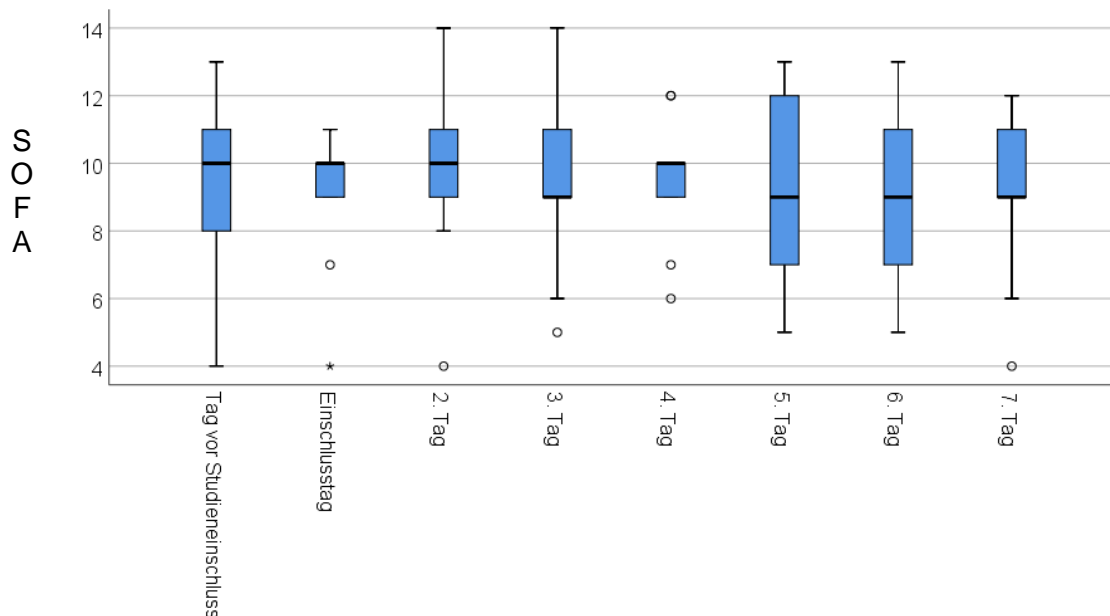
Die nachstehenden *Abbildungen 4-6* zeigen den Verlauf der drei intensivstationären Scores APACHE II, SOFA und TISS-28.

### APACHE II



**Abbildung 4** - Verlauf des APACHE II-Scores, dargestellt als Boxplot

### SOFA



**Abbildung 5** - Verlauf des SOFA-Scores, dargestellt als Boxplot

## TISS-28

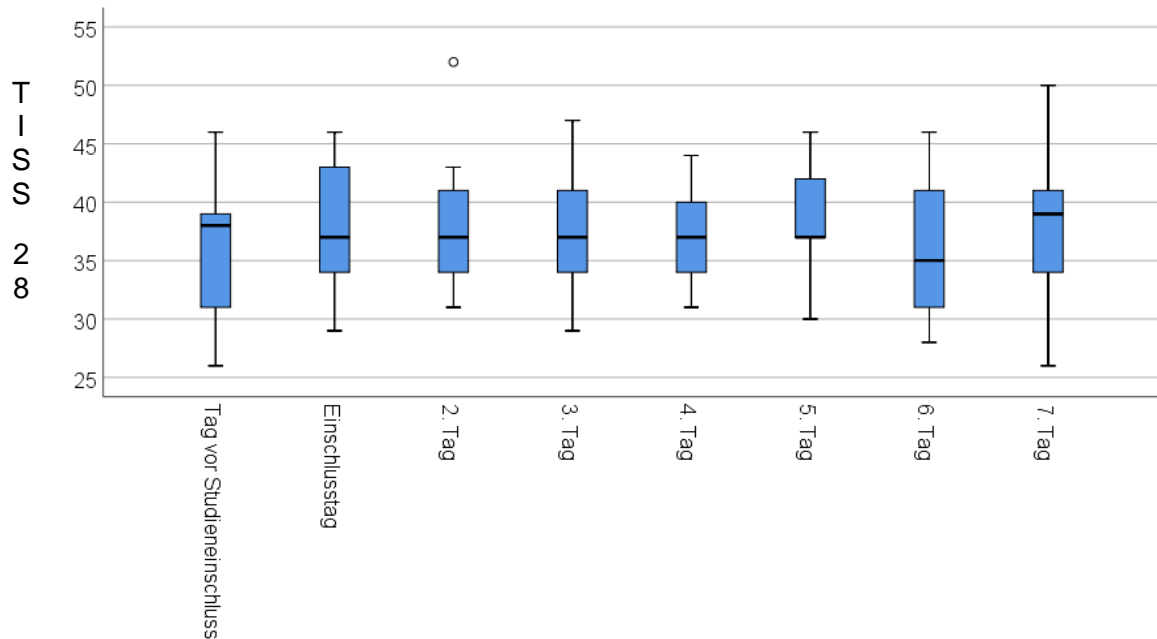


Abbildung 6 - Verlauf des TISS-28-Scores, dargestellt als Boxplot

### Beatmung

Alle Patienten wurden zum Zeitpunkt des Einschlusses invasiv beatmet. Die durchschnittliche Beatmungsdauer zum Moment des Einschlusses betrug 707 Stunden (STD: 471 Stunden; 25%|Median|75% Quartilen: 242|604|1117 Stunden).

Der Mittelwert der Horowitz-Quotienten ( $\text{paO}_2/\text{FiO}_2$ ) berechnete sich zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses zu 161,5 mmHg (STD: 72,5 mmHg).

Weitere Beatmungsparameter sind in der folgenden *Tabelle 3* dargestellt.

Tabelle 3 - Beatmungsparameter bei Studieneinschluss

Parameter	MW ± STD
Tidalvolumen ( $V_t$ ) [ml]	478,9 ± 204,2
Atemfrequenz [ $\text{min}^{-1}$ ]	21,3 ± 10,1
Minutenvolumen [l]	9,8 ± 6,1
Spitzendruck [mbar]	22,4 ± 3,7
PEEP [mbar]	10 ± 3

Klinisch zeigten sich im Rahmen der inhalativen Colistin-Therapie keine Hinweise auf einen Bronchospasmus. Statistisch signifikante Veränderungen des Tidalvolumens, z. B. im Sinne eines Abfalls im Rahmen eines Bronchospasmus, zeigten sich nicht.

Ein Patient war vor und während der Studie abhängig von einer *Extrakorporalen Membranoxygenierung* (ECMO).

### **Systemische Inflammationsparameter und Katecholamintherapie**

Bei je einem Patienten (11,1%) wurden die Kriterien für eine Sepsis bzw. schwere Sepsis erfüllt, während bei den verbleibenden Patienten (77,8%) die Diagnosekriterien für einen septischen Schock vorlagen.

Bei diesen lag die mittlere maximale Katecholamindosis bei 0,31 µg / kg\*min Noradrenalin (NA) (STD: 0,35 µg NA/kg\*min; 25%|Median|75% Quartilen: 0,05|0,17|0,59 µg NA/kg\*min).

## **5.4. Mikrobiologie und antibiotische Therapie**

### **Erregerspezies**

Bei allen Patienten ließen sich aus pulmonalen Proben Erreger nachweisen. Die gramnegativen Erreger verteilten sich auf zwei *Escherichia coli* Isolate, zwei *Acinetobacter baumannii* Nachweise sowie fünf positive Kulturen multiresistenter *Pseudomonas aeruginosa* Stämme.

### **Resistenzcharakteristika**

Die Resistenzmuster der Bakterien gemäß der Empfehlung der „Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention“ (KRINKO) am RKI<sup>84</sup> zum Studienzeitpunkt sind *Tabelle 4* zu entnehmen. Des Weiteren finden sich in *Tabelle 4* die Körperregionen bzw. Kompartimente, in denen der Nachweis gelang und die antibiotischen Wirkstoffe, die in vitro eine wachstumshemmende Aktivität zeigten. Das mikrobiologische Labor bestimmte die Resistenzeigenschaften der Isolate mittels Mikrodilution und berichtete die Resultate der Resistenztestung für Colistin qualitativ (sensibel definiert als MIC < 2mg/l).

**Tabelle 4** - Resistenzcharakteristika der mikrobiologischen Isolate

Patient	Erreger	KRINKO	Nachweis in	Sensibilität (nebst Polymyxinen)
1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	TBS	Piperacillin, Imipenem, Meropenem, Gentamicin, Cotrimoxazol, FC
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 MRGN	TBS, Blutkultur	AG, FC
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 MRGN	TBS	Ceftazidim, Cefepim, AG, Fosfomycin
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 MRGN	TBS	Ceftazidim, Cefepim, AG
5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	4 MRGN	TBS	-
6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 MRGN	TBS	Amikacin, Tobramycin
7	<i>Escherichia coli</i>	3 MRGN, ESBL +	TBS	Imi-, Meropenem, Tobramycin, Cotrimoxazol
8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 MRGN	TBS	Tobramycin
9	<i>Escherichia coli</i>	3 MRGN, ESBL +	TBS	Ertapenem, Imipenem, Meropenem

**Abkürzungen:** **AG** = Aminoglykoside (getestete Substanzen: Gentamicin, Amikacin, Tobramycin);  
**FC** = Fluorchinolone (getestete Substanzen: Ciprofloxacin, Levofloxacin)

## Antibiotische Therapie

### Inhalative Colistin-Therapie

Bei 7 Patienten wurde eine Dosierung von 3x1 MIU CMS/d gewählt. Bei den übrigen beiden Patienten wurde vom behandelnden Stationsteam die Dosierung auf 4x1 MIU CMS/d bzw. 3x2 MIU CMS/d erhöht.

Im Rahmen der durchschnittlich 9,4 Tage (STD: 5,4 Tage; 25%|Median|75% Quartilen: 5,5|8|12,5 Tage) dauernden inhalativen CMS-Therapie wurden kumulativ 32,9 MIU Colistin-Methansulfonat (STD: 19,8 MIU CMS; 25%|Median|75% Quartilen: 16,5|24|55 MIU CMS) per Inhalation verabreicht.

### Intravenöse Therapie

Neben der iCol-Therapie erhielten alle Patienten während des Beobachtungszeitraumes eine intravenöse, antibiotische Therapie. *Tabelle 5* zeigt die parenteral verabreichten antimikrobiellen Wirkstoffe. Die Therapie mit  $\beta$ -Lactamen wurde im Mittel für 10,4 Tage (STD: 8,4 Tage) durchgeführt.

**Tabelle 5:** Intravenös-verabreichte Antibiotika

Patient	$\beta$ -Lactam-Antibiotika	Weitere Antibiotika
1	<i>Meropenem</i>	$\emptyset$
2	<i>Meropenem</i>	<i>Linezolid</i>
3	<i>Meropenem + Ceftazidim</i>	<i>Vancomycin</i>
4	<i>Imipenem</i>	$\emptyset$
5	<i>Flucloxacillin</i>	<i>Erythromycin</i>
6	<i>Cefepim</i>	<i>Ciprofloxacin</i>
7	<i>Imipenem</i>	<i>Vancomycin</i>
8	$\emptyset$	<i>Vancomycin</i>
9	<i>Meropenem</i>	<i>Cotrimoxazol</i>

## 5.5. Primäre Endpunkte

### CMS- und CB-Plasmaspiegel

In keiner der untersuchten Blutproben konnten CMS-Spiegel oberhalb der Detektionsgrenze gemessen werden. Die CB-Plasmaspiegel betragen im Mittel eine Stunde nach Inhalation 0,055 ( $\pm 0,11$ ) mg/l, nach 7 Stunden 0,051 ( $\pm 0,10$ ) mg/l und am Tag 3 nach der ersten Probenabnahme 0,14 ( $\pm 0,16$ ) mg/l. *Tabelle 6* zeigt die detaillierten Messwerte des Plasma-TDMs im Vergleich zum Therapieschema.

**Tabelle 6:** CB-Plasmaspiegel und Colistin-Therapie

Patient	Dosisschema pro Tag [MIU]	TDM-Werte für Colistin im Plasma [mg/l] zum Zeitpunkt post inhalationem		
		1h	7h	Tag 3
1	3x1	0	0	0
2	3x1	0	0	0,1
3	3x1	0	0	0
4	3x1	0	0	0,180
5	3x1	0,235	0,231	0,152
6	3x2	0,258	0,230	0,215
7	3x1	0	0	0
8	3x1	0	0	0,511
9	4x1	0	0	0,121

## Nephrotoxizität

Tabelle 7 stellt die Creatininwerte der Patienten über einen einwöchigen Beobachtungszeitraum sowie zum Ende der inhalativen CMS-Therapie dar.

**Tabelle 7** – Serum Creatininwerte in mg/dl am Vortag des Studieneinschlusses (VT), am Einschlusstag (ET) sowie am 1. Folgetag (D1), am 2. Folgetag (D2), usw. sowie zum CMS-Therapieende

Pat.-Nr.	VT	ET	D1	D2	D3	D4	D5	CMS Therapieende	Therapie-Dauer [d]
1	1,03	1,07	-	1,05	1,01	1,05	0,98	1,19	11
2	0,39	0,39	0,44	0,37	0,49°	0,49	0,48	0,49°	4
3*	3,95	3,56	-	3,12	3,62	3,11	3,83	3,34	8
4	0,20	0,23	0,19	-	0,18	0,26	-	0,18	21
5	-	0,54	0,58	0,46	0,42	0,42	0,47	0,47	7
6	0,99	1,0	1,28	1,28	1,08	0,94	0,91	0,98	9
7	0,62	0,68	0,47	0,48	0,50°	0,49	0,50	0,50°	4
8	0,61	0,67	1,09	0,96	0,84	-	-	0,79	7
9	0,33	0,31	0,48	0,36	0,49	0,39	0,44	0,88	14
MW ± STD	1,02 ±1,22	0,94 ±1,02	0,65 ±0,39	1,01 ±0,92	0,96 ±1,04	0,89 ±0,94	1,09 ±1,23	0,98 ± 0,94	9,4 ± 5,4

\* Pat. 3 war vor und während der Studie abhängig von Nierenersatzverfahren; °Ende der CMS-Therapie

Die (transienten) Anstiege des Serumcreatinins, die bei vier Patienten bei Vergleich der Serumcreatininwerte zum Studieneinschluss und zum Therapieende beobachtet werden konnten, erfüllten bei einem Patienten die Definition für das Kriterium „Injury“ nach RIFLE. Mit Ausnahme des bereits vor Beginn der Studie Dialyse-pflichtigen Patienten benötigte keiner der Studienteilnehmer ein (passageres) Nierenersatzverfahren während des Studienzeitraums.

## Neurotoxizität

Bei drei Patienten (33,3%) fanden sich in den klinisch-neurologischen Untersuchungen Auffälligkeiten, die eine weitere elektrophysiologische Abklärung nach sich zogen. Diese drei Patienten erfüllten die klinischen und elektrophysiologischen Diagnose-Kriterien<sup>85</sup> für eine Critical-Illness-Polyneuropathie bzw. Myopathie.

## 5.6. Sekundäre Endpunkte

### Wirkstoffspiegel im Tracheobronchialsekret

Alle Patienten wiesen messbare Colistin-Spiegel im Tracheobronchialsekret auf. Die Colistin-Gesamtkonzentrationen (CB+CMS) lagen im Mittel bei 98,8 (STD  $\pm$ 98,9) mg/l. Wie unten stehende *Tabelle 8* zeigt, lagen bis auf eine Ausnahme die TBS-Werte mindestens eine Größenordnung über der MIC des nachgewiesenen pulmonalen Erregers.

**Tabelle 8:** TBS-Colistinkonzentration

Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9
TBS-Konzentration [mg/l]	73,8	20,1	96,6	129,1	341	67,8	1,4	99,1	60

### Mikrobiologische Clearance

Mikrobiologische Clearance wurde als eine negative Kultur, gewonnen mindestens drei Tage nach Beendigung der antimikrobiellen Therapie aus dem Kompartiment, in dem zuvor ein Erreger nachweisbar war, definiert. Eine solche Eradikation konnte bei 6 der Patienten (66,7%) erreicht werden. *Tabelle 9* zeigt die patientenbezogene mikrobiologische Clearance und stellt sie dem klinischen Ansprechen gegenüber.

**Tabelle 9:** Gegenüberstellung der Erreger und ihrer Clearance

Patient	Erreger	Mikrobiologische Clearance	Klinisches Ansprechen
1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	+	- (†)
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	-
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+
5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	+
6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+
7	<i>Escherichia coli</i>	+	+
8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+
9	<i>Escherichia coli</i>	+	- (†)



### **Surveillance weiterer schwerwiegender, unerwünschter Ereignisse**

Die CMS-Inhalationen wurden von allen Patienten gut toleriert und es zeigten sich keine pulmonalen Nebenwirkungen wie Bronchospasmen oder Desaturationen.

Im Rahmen der Antibiotika-Inhalationen wurden keine weiteren, schwerwiegenden Nebenwirkungen detektiert.

### **Hospitalisierungs-, Beatmungsdauer und Mortalität**

Im Mittel verblieben die Patienten 54,6 Tage (STD: 25,9 Tage; 25%|Median|75% Quartilen: 36,5|52|78,5 Tage) in intensivstationärer Behandlung. Die kumulierte Beatmungsdauer betrug durchschnittlich 1085 Stunden (STD: 478,9 Stunden; 25%|Median|75% Quartilen: 736|1248|1404,5 Stunden).

Zwei Patienten (22,2%) verstarben nach einer 73 bzw. 52 Tage dauernden intensivstationären Therapie. Die übrigen Patienten (77,8%) konnten im Mittel nach 52,3 Tagen (STD: 28,8 Tage) auf Normalstationen bzw. in Rehabilitationseinrichtungen verlegt werden.

## 6. Diskussion

Gegenstand der vorliegenden Studie war es, nach Etablierung einer geeigneten Präanalytik die Voraussetzungen für eine Colistinbestimmung zu schaffen und anschließend exemplarisch im Rahmen einer observationalen Studie zu validieren. Im Rahmen dieser Pilotstudie erfolgte eine Quantifizierung der systemischen Resorption bei der inhalativen Colistintherapie zur Abschätzung des systemisch verfügbaren Wirkstoffanteils als Vermittler möglicher unerwünschter Arzneimittelwirkungen unter besonderer Berücksichtigung der Nephro- und Neurotoxizität.

Hierbei konnte gezeigt werden, dass bei der alleinigen inhalativen Colistin-Therapie bei beatmeten intensivstationären Patienten nur eine geringe systemische Resorption stattfindet. Die hierbei erreichten, systemisch verfügbaren Wirkstoffspiegel machen unerwünschte Arzneimittelwirkungen jenseits des direkten Wirkortes im tracheobronchopulmonalen System unwahrscheinlich.

Weiterhin konnte bestätigt werden, dass auch bei invasiv beatmeten, erwachsenen Intensivpatienten unter der inhalativen CMS-Therapie ein sehr hoher lokaler Wirkstoffspiegel in tracheobronchialen Sekreten nachweisbar ist, der die minimale Hemmkonzentration von Colistin-sensiblen Erregern um bis zu mehrere Größenordnungen übersteigt.

Lokal-pulmonale unerwünschte Nebenwirkungen konnten in der vorliegenden Stichprobe nicht detektiert werden.

### 6.1. Etablierung der Colistin-Messung und aktuelle Situation in Deutschland

Die im Rahmen der vorliegenden Studie geschaffene Infrastruktur und die hierbei etablierten präanalytischen Bedingungen konnten erfolgreich für die Colistinbestimmung im Rahmen von Forschungsfragestellungen sowie der Therapiesteuerung bei der systemischen, intravenösen Therapie in der klinischen Routine eingesetzt werden.

In den letzten Jahren wurde die Messung von Colistin in weiteren deutschen Laboren, wie auch am Standort Berlin (*Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH*), eingeführt.

Zur Erfassung der aktuellen Möglichkeiten der Colistin-Messung in Deutschland erfolgte im Dezember 2018 eine Anfrage per eMail an die jeweiligen Institute für Pharmakologie und die Institute für Laboratoriumsmedizin der 37 medizinischen Fakultäten Deutschlands.

Eine Colistin-Bestimmung inkl. Messung des CMS-Prodrugs ist an zwei (5,4%) universitären Standorten möglich: Sowohl in Magdeburg als auch in Berlin erfolgt die Messung mittels HPLC-gekoppelter Massenspektrometrie. Eine gesonderte Aufarbeitung von mukösen Proben (z. B. TBS) ist in Magdeburg bei speziellen Fragestellungen möglich.

Fünf Fakultäten (13,5%) gaben an, dass der Versand in ein Fremdlabor zur Colistinmessung etabliert ist. Beispielhaft seien als Fremdlabore das „MVZ Labor Dr. Limbach & Kollegen“ in Heidelberg und das „MVZ Labor Diagnostik Karlsruhe“ genannt, die beide mittels HPLC-MS/MS die Analyse der Colistin-Base durchführen.

## 6.2. Wirkstoffspiegel im Plasma

Untersuchungen in Tierversuchen zur Bioverfügbarkeit von inhalativem Colistin sind bei Ratten und Pavianen durchgeführt worden. *Marchand et al.* maßen bei Ratten nach der CMS-Inhalation die Plasma-Spiegel von CMS und CB. Der Median des Spitzenspiegels lag bei 5,6 mg/l für CMS und 3,5 mg/l für CB.<sup>68</sup>

Bei Pavianen wurde der in der Lunge abgelagerte CMS-Anteil szintigraphisch auf unter 5% der eingesetzten Dosis bestimmt. Durch teilweise Resorption dieses Anteils konnten im Plasma Maximalwerte für CMS über 0,3 mg/l und für CB über 0,2 mg/l gemessen werden.<sup>69</sup>

Beim Menschen erfolgten die ersten Untersuchungen zur systemischen Resorption bei der inhalativen Therapie von Mukoviszidose-Patienten, da bei diesen eine inhalative Colistin-Therapie bereits vor der Ära der MDR-GNR eine etablierte Prophylaxe- und Therapieoption war. *Ratjen et al.* sowie *Yapa et al.* untersuchten mittels HPLC die Plasma- und Sputumkonzentrationen von Colistin nach der einmaligen CMS-Inhalation bei selbstständig atmenden CF-Patienten. Die Ergebnisse können *Tabelle 10* entnommen werden. Interessanterweise fanden *Yapa et al.* kein hydrolisiertes Colistin im Plasma (Detektionsgrenze 0,125 mg/l).

**Tabelle 10:** Messwerte nach einer einmaligen CMS-Inhalation bei CF-Patienten

Publikation	n	CMS [MIU]	Max. Plasmaspiegel (Mittelwert $\pm$ SD) [mg/l]	CB-Sputum- konzentration [mg/l]
<i>Ratjen et al.</i> <sup>70</sup>	30	3x2	CB: 0,178 $\pm$ 0,018	> 30
<i>Yapa et al.</i> <sup>71</sup>	6	3x2	CMS: 0,22 $\pm$ 0,055, Range 0,13-0,30	6,0 $\pm$ 3,45, Range 3,63-11,3
		3x4	CMS: 0,33 $\pm$ 0,092, Range 0,21-0,48	12,8 $\pm$ 6,19 Range 4,10-21,2

Bisher gibt es nur vier veröffentlichte Untersuchungen, die sich mit der systemischen Colistin-Resorption von intensivstationären Patienten ohne CF unter iCol-Therapie beschäftigen.<sup>60,73,86,87</sup>

*Lu et al.* bestimmten mittels HPLC die CB-Plasma-Spiegel am zweiten bzw. dritten Tag nach Beginn eines inhalativen Therapieregimes mit 3x5 MIU CMS/d bei 16 Patienten.<sup>60</sup> Die Talspiegel erreichten im Mittel Werte von unter 1 mg/l an Tag 2 und knapp über 1 mg/l an Tag 3. Die Spitzenspiegel lagen am Tag 2 bei etwas unter 2 mg/l, während sie an Tag 3 höher als 2 mg/l gemessen wurden.

*Athanassa et al.* und *Boisson et al.* untersuchten die systemische Resorption und die Spiegel im *epithelial lining fluid* (ELF) nach der einmaligen CMS-Inhalation mittels HPLC bzw. HPLC-MS/MS bei unterschiedlichen inhalativen Dosierungen.<sup>73,86,87</sup> Das ELF stellt den die Alveolen auskleidenden Flüssigkeitssaum dar. Die Berechnung der Wirkstoffkonzentration im ELF erfolgt über eine simultane Harnstoffbestimmung im Plasma sowie in der BAL-Flüssigkeit. Aus dem Quotienten dieser Harnstoffbestimmungen wird dann aus dem in der BAL gemessenen Wert die Konzentration im ELF berechnet. Die errechnete ELF-Konzentration ist durch die Verdünnung höher, als der in der BAL gemessene Spiegel.

Die Studienergebnisse von *Athanassa et al.* und *Boisson et al.* finden sich in *Tabelle 11*. Diese Studien bestimmten die systemisch resorbierte Menge auf unter 10% der applizierten Dosis.

**Tabelle 11:** Messwerte nach einer einmaligen CMS-Inhalation bei Intensivpatienten

Publikation	n	CMS	Plasmaspiegel [mg/l]	ELF-Konzentration	Messmethode
<i>Athanassa et al.</i> <sup>73</sup>	20	3x1 MIU	<b>CB:</b> Median <b>1h:</b> 1,2; <b>2h:</b> 1,6; <b>4h:</b> 0,75; <b>8h:</b> 0,31	CB: 6,7 mg/l; Range 4,8- 10,1 mg/l	HPLC
<i>Boisson et al.</i> <sup>86</sup>	12	3x2 MIU	<b>CB:</b> 0,15-0,73	CB: 9,53-1137 mg/l	HPLC-MS/MS
<i>Boisson et al.</i> <sup>87</sup>	12	3x0,5 MIU	<b>CMS:</b> 0,005-0,8 <b>CB:</b> 0,005-0,15	CMS: 1-20 mg/l (Median)	HPLC-MS/MS

Im Gegensatz dazu konnten wir bei unserem Patientenkollektiv kein CMS im Blut detektieren. Ursachen hierfür könnten in der unterschiedlichen Hydrolysestabilität verschiedener Chargen, den sich unterscheidenden Detektionsverfahren oder den von uns gemessenen, geringeren Plasmaspiegeln, bei denen sich das Hydrolisationsgleichgewicht auf Seiten der Produkte verschiebt, gefunden werden. Ein weiterer Unterschied liegt in den verschiedenen Patientenkollektiven sowie den differierenden Applikationssystemen.<sup>71,88,89</sup>

Die Unterschiede in der systemischen Resorption zwischen intensivstationären Patienten und Menschen mit Mukoviszidose scheinen geringer zu sein, als initial aufgrund der veränderten Lungen-Architektur antizipiert.

Gründe für die ähnlichen Ergebnisse bei CF- und intensivstationären Patienten könnten sein, dass die Studien bei CF-Patienten überwiegend bei selbstatmenden Patienten ohne ein akutes pneumonisches Geschehen vorgenommen wurden. Daher stand bei ihnen theoretisch die gesamte – wenn auch durch die Grundkrankheit reduzierte – alveoläre Austauschfläche zur Resorption zur Verfügung, während bei den überwiegend beatmeten ITS-Patienten z. B. aufgrund von Atelektasen oder pneumonischen Veränderungen ein nicht unerheblicher Teil der Fläche verlegt sein könnte. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit wäre, dass die Resorption im überwiegend unaffektierten Bronchialsystem, in dem der Großteil der inhalativen Dosis deponiert wird, maßgeblich zum systemisch-resorbierten Wirkstoffanteil beiträgt.

Einer der eindrucklichsten Funde der Studie war, dass bei drei Patienten auch nach dreitägiger Colistin-Inhalation keine Plasmaspiegel oberhalb des Detektionslimits gefunden werden konnten, obwohl bei zwei von ihnen Colistin-TBS-Konzentrationen von über 20 mg/l gefunden wurden. Eine mögliche Erklärung für diesen Befund wäre, dass die Inhalation nicht die tieferen Lungenabschnitte erreichte und bei der Gewinnung des

TBS die proximal gelegenen Abschnitte, in denen sich der inhalierte Wirkstoff abgelagerte, abgegriffen wurden.

Auffällig ist zudem, dass bei vier Patienten, bei denen im Verlauf an Tag 3 Plasmaspiegel gemessen werden konnten, im Anschluss an die erste inhalative Gabe die Plasmaspiegel unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Die Beobachtung, dass die Plasmaspiegel im Laufe der ersten Tage während der inhalativen Therapie zunehmen, wird mit einer langsamen Wirkstoffpenetration durch die Alveolarmembranen in Verbindung gebracht.<sup>60</sup> Die pulmonal abgelagerte Wirkstoffmenge wirkt gleichsam einem Reservoir, aus dem das Antibiotikum in das Blut penetriert. Nach mehreren Tagen hat sich ein Fließgleichgewicht eingestellt und die über die pulmonale Resorption aufgenommene Menge entspricht der (überwiegend renal) ausgeschiedenen Menge.

Die Pharmakokinetik von intensivstationären Patienten zeigt eine hohe inter- und intraindividuelle Schwankung u.a. aufgrund der sich häufig rasch ändernden Funktion entsprechender Clearance-Systeme.

Die renale Clearance als eines der wichtigsten Ausscheidungs-Systeme zeigt oft bei Intensivpatienten eine eingeschränkte Leistungsfähigkeit bezüglich der Umwandlung und Ausscheidung pharmakologisch wirksamer Substanzen. Da jedoch auch eine Überfunktion in Form einer „*augmented renal clearance*“ bei ITS-Patienten auftreten kann, ist die Vorhersagbarkeit von Wirkstoffspiegeln deutlich erschwert und stellt ein erhebliches Problem bei der Dosisfindung und Abschätzung von möglichen Nebenwirkungen für dieses Patientenkollektiv dar.<sup>90</sup>

Aufgrund der als gering angenommenen systemischen Resorption, der hohen pulmonalen Ablagerung und der überwiegend guten Verträglichkeit der CMS-Inhalation mehren sich die Vorschläge, höhere Dosierungen inhalativ einzusetzen. Vorgeschlagene Dosen reichen bis zu Therapieschemata von 3x5 MIU CMS pro Tag.<sup>42</sup>

Die Rationale für diese Dosen sind die möglichen höheren erreichbaren pulmonalen Konzentrationen und die erwartete, bessere Erreichbarkeit tieferer und ggf. (teil-) atelektatischer Lungenabschnitte. Dieser stehen allerdings Bedenken bezüglich der pulmonalen Verträglichkeit und des Ausmaßes der systemischen Resorption entgegen. So wurden drei Tage nach der täglichen Inhalation von 3x5 MIU CMS Talspiegel von über 1 mg CB/l und Spitzenspiegel über 2 mg CB/l im Plasma gemessen.<sup>60</sup>

Da bei der inhalativen Monotherapie im Blut subtherapeutische Spiegel über einen langen Zeitraum gemessen werden können, stellt sich die Frage nach der möglichen

Induktion einer Colistin-Resistenz bei einer Bakteriämie durch die niedrigen Wirkstoffkonzentrationen, die meist unterhalb der MIC liegen. Dieser theoretischen Möglichkeit steht gegenüber, dass zumindest im Blut durch eine Vielzahl antibakteriell wirksamer Substanzen (u.a. das Komplement-System) und den zellulären Elementen der Immunabwehr die Entwicklung resistenter Stämme eingedämmt wird. Im Blutstrom existieren zudem kaum Möglichkeiten zur Bildung von Biofilmen – abgesehen z. B. von Endokarditiden und Katheter-assoziierten Infektionen, die eher selten von GNR verursacht werden.

Problematischer erscheint unter diesem Aspekt eine intravenöse Colistin-Monotherapie zu sein, da durch die geringe Penetration des Makromoleküls durch die Blut-Luft-Schranke alveolär nur subtherapeutische Konzentrationen erreicht werden können. Bei der dort hohen Erregerkonzentration und der inhomogenen Verteilung der Wirkstoffkonzentration in den Alveolen wäre daher die Entwicklung resistenter Individuen bei einem Therapieschema, das auf einer intravenösen Monotherapie basiert, deutlich wahrscheinlicher, als bei einer inhalativen Mono- oder Kombinationstherapie.

So konnte bereits gezeigt werden, dass eine ivCol-Monotherapie, vermutlich auf Grundlage des geringen Colistin-Penetrationspotenzials in das pulmonale Gewebe und des damit einhergehenden geringen intrapulmonalen Wirkstoffspiegels, das Risiko erhöht, an einer durch panresistente Erreger verursachten VAP zu erkranken.<sup>91</sup>

### **6.3. Nephrotoxizität**

Bei vier Patienten (44,4%) konnte eine Erhöhung des Serum-Creatinins festgestellt werden. Diese Erhöhungen waren im weiteren Verlauf regredient und ein Patient erfüllte die Kriterien für das Stadium „Injury“ nach RIFLE.

Ein Patient wies bereits bei Einschluss in die Studie eine terminale Niereninsuffizienz auf und war abhängig von Nierenersatzverfahren.

Auf Grundlage großer Kohortenuntersuchungen treten als typische Organdysfunktion bei intensivstationären Patienten relevante Einschränkungen der Nierenfunktion bei ca. 10-20% der Behandelten auf.<sup>92</sup>

Die Colistin-Therapie als Ursache der transienten Creatinin-Erhöhung ist auf Grundlage des Plasma-TDMs wenig wahrscheinlich, da die Nephrotoxizität v.a. durch die kumulative, systemische Polymyxin-Exposition vermittelt wird.<sup>31</sup>

Gestützt wird diese Annahme u.a. durch eine Placebo-kontrollierte Studie von *Rattanaumpawan et al.* an 100 intensivstationären Patienten mit einer durch gramnegative Erreger verursachten VAP: Zusätzlich zu der nicht-colistinbasierten, antibiotischen intravenösen Therapie wurden die Patienten in eine inhalative Therapiegruppe (2x2,25 MIU CMS/d) und eine Placebo-Gruppe, die eine Kochsalzlösung inhalierte, randomisiert.<sup>66</sup> Hinweise auf ein erhöhtes Risiko für eine Nierenschädigung in der Verum-Gruppe ließen sich in dieser Untersuchung nicht feststellen.

Auch in mehreren Studien, die eine comCol-Therapie mit einer ivCol-Therapie verglichen, konnte keine Erhöhung des Risikos einer Nierenschädigung durch die zusätzliche inhalative Therapie festgestellt werden.<sup>56,57,93</sup> Bei hoch-dosierter adjunktiver iCol-Therapie bei einer nicht auf Polymyxin-basierten antibiotischen i.v.-Therapie konnte bei VAP-Patienten ebenfalls kein Zuwachs des Nephrotoxizitätsrisikos gefunden werden.<sup>60</sup>

#### **6.4. Neurotoxizität und weitere Nebenwirkungen**

Bei drei Patienten konnten neurologische Auffälligkeiten nachgewiesen werden, welche nach Zusammenschau aller klinischen und apparativen Befunde als CIP/CIM gewertet wurden.

Da bisher weder in Tierstudien noch bei humanen Untersuchungen klinische oder apparative Befundkonstellationen beschrieben wurden, die spezifisch für eine durch Colistin-verursachte neurologische Schädigung wären, kann keine genaue Aussage darüber getroffen werden, welcher Anteil der Schädigung dem Polymyxin zuzuschreiben ist.<sup>94</sup> Die CIP/CIM-Inzidenz in der vorliegenden Studie entspricht derjenigen, die bei intensivstationären Patienten ohne Colistin-Therapie an unserem Zentrum der Charité gefunden wird.<sup>95</sup>

Aufgrund der geringen Plasmaspiegel und der daraus folgenden geringen kumulativen, systemischen Exposition, scheint eine Colistin-bedingte Neuro- und Nephrotoxizität unwahrscheinlich zu sein. Um das genaue Ausmaß der Colistin-bedingten Nephro- und Neurotoxizität im Umfeld intensivstationärer Patienten nachweisen und quantifizieren zu können, benötigt es randomisierte, kontrollierte Studien mit größeren Kohorten sowie eine weitergehende Forschung zur Erkennung von spezifischen Mustern Polymyxin-bedingter Schäden.

Lokale Nebenwirkungen z. B. in Form einer Bronchokonstriktion wurden in der vorliegenden Stichprobe nicht festgestellt. Ursächlich hierfür könnte die (prophylaktische)



Gabe von Bronchodilatoren vor Beginn der Inhalation sein. Diese antiobstruktive Therapie bzw. Prophylaxe verbessert möglicherweise zusätzlich die Verteilung des antimikrobiellen Wirkstoffes v.a. in den tieferen Lungenabschnitten. In der Literatur ist eine gute lokale Verträglichkeit selbst bei der Verwendung eines deutlich höheren Therapieregimes von 3x5 MIU CMS p.i./d beschrieben.<sup>96</sup>

## 6.5. Mikrobiologische Befunde

In Abhängigkeit von verschiedenen Risikofaktoren wie z. B. der Dauer der invasiven Beatmung entwickeln in Deutschland je nach betrachteter Kohorte 10-20% der intensivpflichtigen Patienten eine VAP.<sup>20</sup>

Erreger dieser Pneumonien sind neben Staphylokokken v.a. die gramnegativen Erreger *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* und *A. baumannii*.<sup>97</sup> Das jeweilige Erregerspektrum ist u.a. abhängig von verschiedenen Risikofaktoren.

Die nachgewiesenen Erreger *A. baumannii*, *P. aeruginosa* und *E. coli* sind typische Erreger für die VAP bei schwer kranken Patienten mit einer Vielzahl akkumulierter Risikofaktoren für eine durch MDR-GNR bedingten VAP.

Die Unterscheidung zwischen einer reinen Kolonisation des (oberen) Respirationstrakts und dem ursächlichen Pathogen einer Pneumonie bei pulmonalen Aspiraten bleibt schwierig und den isolierten Resultaten pulmonaler mikrobiologischer Proben wird daher bei der VAP-Diagnose ein begrenzter Stellenwert zugesprochen.<sup>98</sup>

## Mikrobiologische Clearance

Obwohl hohe TBS-Wirkstoffspiegel erreicht werden konnten, war bei drei Patienten eine mikrobiologische Clearance nicht erfolgt, was allerdings nicht mit einem klinischen Therapieversagen assoziiert war. Die fehlende Eradikation trotz hoher lokaler Colistin-Spiegel wurde auch von anderen Autoren beschrieben.<sup>64</sup>

Auch *Zampieri et al.* fanden in ihrer Metaanalyse, dass bei der iCol-Therapie der klinische Therapieerfolg nicht notwendigerweise mit einer erfolgreichen bakteriellen Clearance assoziiert sein muss.<sup>43</sup> Der Stellenwert der mikrobiologischen Clearance für die Einschätzung des Therapieerfolges bei Pneumonien bleibt ein kontroverses Thema.<sup>99</sup> Auch bei der Frage der mikrobiologischen Clearance ist die Unterscheidung zwischen Kolonisation und Infektion schwierig.

## 6.6. Antibiotische Therapie und Colistin-Resistenz

Die Spannweite bisher beschriebener Dosisschemata für die iCol-Therapie schwankt um eine Größenordnung zwischen 3x0,5 MIU und 3x5 MIU CMS/d.<sup>60,61</sup>

Es findet sich keine klare Datenlage bezüglich einer Dosierempfehlung und z. B. die IDSA gibt in ihren Richtlinien keine Empfehlung bzgl. eines favorisierten Dosierungsschemas. Die Dosierungen orientieren sich daher an der Therapie von CF-Patienten sowie der bisherigen Studienschemata.

Mit 4 bis 21 Tagen lag die Therapiedauer in unserem Kollektiv in der Größenordnung der zuvor von anderen Autoren beschriebenen Behandlungsintervalle von 5 bis 19 Tagen.<sup>48,62</sup> Für die empfohlene Dauer einer intravenösen, inhalativen oder einer Kombinationstherapie bei z. B. der VAP-Behandlung besteht ebenfalls keine tiefgreifende Evidenz.<sup>100</sup> Üblicherweise wird die Therapie bis zu einer klinischen oder apparativen Besserung der Befunde fortgeführt, gleichwohl die Behandlungsdauer einer Pneumonie durch Nonfermenter oft bei etwa 10-14 Tagen liegen dürfte.

Ob fixe Therapieschemata und ggf. kürzere Therapiezeiten eine vergleichbare Effektivität bei einem verbesserten Nutzen-Risiko-Verhältnis aufweisen, ist momentan Gegenstand intensiver Forschungen.<sup>101</sup>

Trotz dieser unzureichenden Datenlage bezüglich eines bevorzugten Therapieschemas wurde die grundsätzliche Effektivität der iCol-Therapie auch bei anderen Indikationen gezeigt. Beispielhaft seien die von MDR-GNR verursachte Beatmungs-assoziierte Tracheobronchitis<sup>102</sup> und die additive Behandlung nosokomialer Pneumonien mit insuffizienter intravenöser Antibiotika-Therapie genannt.<sup>64</sup>

Das mögliche Potenzial einer additiven, inhalativ-antibiotischen Therapie zu einer parenteralen antiinfektiösen Behandlung zur Verbesserung der klinischen Anspruchsrate wurde durch die Metaanalyse von *Zampieri et al.*, die auch Colistin miteinschloss, bestätigt.<sup>43</sup>

In Anbetracht der vermutlich weiter steigenden Resistenzproblematik erscheint eine Ausweitung der topischen Therapie bei der Behandlung pulmologischer Infektionen möglich:

Obwohl bereits 1980 ein Colistin-inaktivierendes Enzym, eine *Colistinase*, entdeckt wurde, stellte zum Zeitpunkt der „Colistin-Neuentdeckung“ um die Jahrtausendwende eine Resistenz gegenüber Polymyxinen kein relevantes Problem dar.<sup>103</sup> Eine klinisch relevante, erworbene Colistin-Resistenz ist meist über eine Veränderung der bakteriellen

Zellmembran, dem Angriffsort der Polymyxine, oder über Efflux-Pumpen vermittelt. Diese Resistenzeigenschaften waren überwiegend chromosomal verortet, was eine Weitergabe dieser Information an andere gramnegative Stäbchen erschwert.<sup>104</sup>

Besondere Bedeutung kommt daher dem 2015 erstmalig bei chinesischem Zuchtvieh entdeckten *MCR1-Gen* zu, da dieses auf einem Plasmid zu liegen kommt und eine Resistenz gegenüber der gesamten Substanzklasse der Polymyxine vermittelt.<sup>105</sup> Durch diese Lage ist eine gattungsübergreifende Weitergabe des Resistenzgens via horizontalem Gentransfer möglich, was eine Ausbreitung deutlich vereinfacht und beschleunigt – so wurden bereits erste humane Infektionen durch *MCR1*-tragende Erreger in Deutschland nachgewiesen.<sup>106</sup>

Das *MCR1-Gen* stellt eine ernstzunehmende Gefahr für die Entstehung panresistenter Stämme dar, da sich eine (Re-) Kombinationsmöglichkeit mit anderen Plasmid-codierten Resistenzgenen (z. B. ESBL) ergibt.<sup>107</sup> Durch die Möglichkeit, das *MCR1-Gen* in das bakterielle Chromosom zu integrieren, ist eine stabile, vertikale Weitergabe dieser Resistenzinformation möglich.

Interessanterweise rückt im Rahmen eines tiefergreifenden molekularen Verständnisses der fehlgeleiteten Interaktion zwischen Wirt und Infektionserreger bei Septikämien, die sich auch in der neuen „Sepsis-3“-Definition widerspiegelt, die spezifische Beeinflussung der wirtsabhängigen Abwehr- und Regenerationsprozesse zunehmend in den Fokus.<sup>108</sup> Diesen Maßnahmen ist gemein, dass sie nicht direkt in den Stoffwechsel bzw. die Integrität des Erregers eingreifen und somit keinen Selektionsdruck im klassischen Sinne ausüben. Sollten solche Therapien Eingang in den klinischen Alltag finden, bleibt die langfristige Reaktion der Erreger auf die veränderte Wirtsantwort abzuwarten.

## **6.7. Wirkstoffspiegel im Tracheobronchialsekret**

Die hohen, von uns gemessenen TBS-Spiegel sind konkordant mit den in vorgängigen Studien gefundenen Messwerten. Auch die starke Bandbreite zwischen den Messwerten konnte in den Voruntersuchungen dokumentiert werden. Eine mögliche Erklärung liegt in der „blinden“ Gewinnung des TBS, sodass je nach Art und Weise der Gewinnung verschiedene Lungensegmente in jeweils unterschiedlicher Tiefe abgesaugt werden.

Eine Vergleichbarkeit verschiedener (intra-) pulmonaler Wirkstoffmengen erschwert sich durch die differierenden Materialien – Sputum, TBS, BAL und die hieraus errechnete ELF – als auch die sich hierdurch unterscheidenden Gewinnungsverfahren.

Aufgrund der eher prophylaktisch bzw. auf die Bekämpfung von zumeist Pseudomonas-Besiedlungen ausgerichtete Therapie bei selbstständig atmenden CF-Patienten lief die Inhalation bei diesen physiologisch ab. Während bei beatmeten Patienten das Inspirationsgas durch positiven Druck appliziert wird, erfolgt bei eigenständiger Atmung die Inspiration durch negativen Druck. U.a. durch diese Unterschiede ist die Gasdistribution zwischen den beiden Gruppen verändert.

Da bei den nicht-intubierten und bewusstseinsklaren Mukoviszidose-Patienten die invasive Gewinnung von TBS und BAL nicht möglich war, wurde häufig auf die Untersuchung von Sputum zurückgegriffen. Sputum wandert durch den gesamten oberen Respirationstrakt und kann daher durch die Mitnahme des dort deponierten Wirkstoffanteils „falsch hohe“ Werte erreichen. Der im Oropharynx und dem oberen Respirationstrakt abgelagerte Wirkstoff entfaltet allerdings keine antibakterielle Wirkung am Ort der pulmonalen Infektion bzw. Besiedlung.

Der Nachweis dieser als nicht wirksam angenommen Wirkstoffmenge erschwert aber auch bei der Gewinnung endotrachealer Proben die Einschätzung der intraalveolär deponierten Menge. Studien mit radioaktiv markierten Partikeln zeigten, dass sich auch bei fehlender Ablagerung in tieferen Lungenabschnitten beachtliche Mengen eines Inhalats in den oberen Abschnitten ansammeln können.<sup>109</sup> Die selektive Gewinnung von Proben aus den tieferen Lungenabschnitten ist insbesondere im Kontext von VAP-Patienten problematisch und aufgrund möglicher Komplikationen stellt sich die Frage der ethischen Vertretbarkeit z. B. für die Durchführung repetitiver BAL ausschließlich zum Zwecke der Spiegelmessung. Aufgrund des observationalen Charakters der vorliegenden Studie wurde auf TBS als Analysematerial zurückgegriffen, welches aufgrund einer klinischen Indikation heraus gewonnen wurde. Zudem erscheint die Gewinnung eines TBS im klinischen Alltag deutlich einfacher umsetzbar und ist risikoärmer als die Durchführung einer BAL.

Die bronchopulmonalen Proben der Studien der Arbeitsgruppen von *Athanassa et al.* und *Boisson et al.* (s.o.) wurden mittels s.g. „Mini-BAL“ nach einem Protokoll für die Gewinnung von Proben bei der inhalativen Tobramycin-Therapie von *Bonselli et al.* gewonnen.<sup>110</sup> Da diese Mini-BAL nicht unter bronchoskopischer Kontrolle gewonnen wurde, kann auch hierbei nicht selektiv ein spezieller Bronchialbaum untersucht werden. Durch das Anspülen mit 40 ml 0,9% NaCl-Lösung mit anschließender Aspiration werden ebenfalls tracheale Depositionen miterfasst. Auch die Korrektur des BAL-Messwertes

mittels Harnstoffbestimmung als Standard bei der ELF-Berechnung löst nicht das Problem der Miterfassung des proximal deponierten Wirkstoffes.

Da die Werte meist das Vielfache der MIC und MPC erreichen, können sie eine effiziente Eradikation der Erreger ermöglichen und verhindern die Selektion sub-resistenter bis resistenter Individuen.<sup>111</sup> Auch ein Verschwinden bzw. ein Rückgang der bakteriellen Resistenzen konnte durch die hohen Wirkstoffspiegel bereits für inhalativ verabreichte Antibiotika gezeigt werden.<sup>112</sup>

Bei der inhalativen Antibiotika-Therapie bei CF Patienten konnte unter der Therapie allerdings auch die Entwicklung von (transienten) Resistenzen gegen die eingesetzten Wirkstoffe gezeigt werden.<sup>113</sup> Da Studien an intensivstationären VAP-Patienten unter der inhalativen Therapie zudem eine Entwicklung resistenter Bakterien feststellen konnten, sind weitergehende Studien zur abschließenden Bewertung des Effekts inhalativer antibiotischer Therapien auf die Entwicklung entsprechender Resistenzen nötig.<sup>114</sup>

Tiermedizinische Studien bei Lungen-gesunden Pavianen konnten mittels nuklearmedizinischer Markierung des Colistin-Inhalats eine gleichmäßige Verteilung des Antibiotikums in der Lunge nachweisen.<sup>69</sup> Ob diese Verteilung auch bei bspw. pneumonisch veränderten Lungen gilt, ist bisher für CMS-Inhalationen nicht untersucht worden. Eine Ablagerung des Wirkstoffs in den unaffektierten, gut ventilerten Lungenabschnitten bei relativer Unterversorgung der z. B. durch Pus und Sekret verlegten oder (teil-) atelektatischen Segmente ist aus pathophysiologischen Überlegungen im Sinne eines „Steal-Phänomens“ denkbar. Gestützt wird diese Annahme durch die Befunde eines Tier-experimentellen Pneumoniemodells:

*Lu et al.* konnten bei Ferkeln in Lungensegmenten mit „milder Pneumonie“ eine statistisch signifikant höhere Spitzenkonzentration messen als in denjenigen Segmenten mit „schwerer Pneumonie“.<sup>38</sup> Die Spitzenkonzentrationen in den geringer betroffenen Segmenten lagen mit im Mittel 10µg Colistin/g Lungengewebe fast eine Größenordnung über den Werten der stark infizierten Segmente (1,2µg/g). Eine weitere Erklärungsmöglichkeit für diesen Befund stellt die Verdünnung des abgelagerten Wirkstoffes durch Pus und vermehrtes Sekret in infizierten Arealen dar.

Bei einer solchen „Steal“-Verteilung könnte ein Transfer der antimikrobiellen Substanz in die entzündlich-veränderten Lungenbereiche über die anatomischen Korrelate der *kollateralen Ventilation* erfolgen. Bei dieser werden alveoläre Strukturen unter Umgehung der normalen bronchialen Atemwege belüftet.

Die hierfür notwendigen Bypässe bestehen interalveolär (*Kohn'sche Poren*), zwischen Bronchioli terminales und ihren abhängigen Alveolarsäcken (*Lambert'sche Kanäle*) sowie den, bei der iCol-Therapie vermutlich relevanten, intersegmentalen und interlobären Shunts.<sup>115</sup>

Bisher konnte allerdings die Bedeutung dieser Bypässe für die iCol-Therapie nicht gezeigt werden. Sollten diese Shunts keinen therapeutisch wirksamen Wirkstofftransfer ermöglichen, käme dem, in den ventilierten Lungen-Abschnitten abgelagerten, Colistin theoretisch eine „prophylaktische“ Wirkung zu, indem eine weitere Ausbreitung des pneumonischen Geschehens möglicherweise verhindert wird.

## **6.8. Limitationen**

Trotz des prospektiven Designs der vorliegenden Studie weist sie unter anderem aufgrund der Konzeption als deskriptive Pilot-Beobachtungsstudie folgende Limitationen auf:

Die geringe Anzahl erschwert statistisch valide Aussagen, die anschließend auf ein größeres Kollektiv übertragen werden können oder aus denen Hinweise für die unmittelbare Therapie von Patienten abgeleitet werden könnten. Eine Kausalität zwischen der antibiotischen Therapie und etwaigen Nebenwirkungen lässt sich auf Grundlage des begrenzten Patientenkollektivs weder bestätigen noch ausschließen.

Um die hierzu nötige Sicherheit bieten zu können, benötigt es größere Studienpopulationen – insbesondere, um seltene Nebenwirkungen statistisch erfassen zu können.

Die Abschätzung der Nierenfunktion anhand des gemessenen Serumcreatinins ist ein häufig genutztes Instrument. Auch wenn sich die Verwendung des Creatinins als Surrogatmarker für die Nierenfunktion in der klinischen Routine und als Standard für die Einschätzung einer Nierenfunktionseinschränkung anhand von Veränderungen des Serumcreatinins in der Klinik und zahlreichen Studien etabliert hat, sei einschränkend darauf hingewiesen, dass es sich nur um eine Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate handelt. Diese Schätzung der Nierenfunktion anhand eines Surrogatmarkers ist ein kontrovers diskutiertes Thema - insbesondere bei intensivstationären Patienten.<sup>116</sup>

Da zahlreiche Patienten mit einer inhalativen Colistin-Therapie z. B. aufgrund einer zugleich durchgeführten intravenösen Colistintherapie ausgeschlossen werden mussten,

war eine weitere Eingrenzung bzgl. der Basischarakteristika oder der Vorerkrankungen, bspw. durch Ausschluss von Patienten mit einer präexistierenden pulmonologischen Grunderkrankung, nicht möglich. Die beobachteten Differenzen könnten daher auf die Heterogenität der Patienten zurückzuführen sein.

Trotz obiger Einschränkungen konnte die vorliegende Studie weitere Evidenz für das Ausmaß der systemischen Resorption bei intensivstationären Patienten und eine hieraus folgende potentielle Toxizität liefern und Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen durch Etablierung der infrastrukturellen Voraussetzungen sein.

## **6.9. Schlussfolgerungen**

Die inhalative Gabe von CMS wurde in unserem Patientenkollektiv gut toleriert.

Nach erfolgreicher Etablierung einer CMS- und Colistin-Spiegelmessung mittels Tandem-Massenspektroskopie konnte diese Methode zur Untersuchung der systemischen Resorption und lokal-pulmonalen Wirkstoffverteilung durch Spiegelmessungen in Plasma und TBS bei der inhalativen CMS-Therapie eingesetzt werden.

Bei überwiegend hohen intrapulmonalen Wirkstoffspiegeln erreichte das Ausmaß der systemischen Resorption keine toxischen Plasmaspiegel und die Schädigungen an Niere und Nervensystem blieben im Rahmen der bei diesem Patientenkollektiv zu erwartenden Größenordnung.

Da der Stellenwert der inhalativen Colistintherapie in den kommenden Jahren aufgrund der sich verschärfenden Resistenzlage zunehmen könnte, sind weitergehende Studien zur Pharmakokinetik, Therapieeffizienz und dem Nebenwirkungsprofil von iCol als Mono- oder Kombinationstherapie nötig.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Sefton AM. Mechanisms of antimicrobial resistance: their clinical relevance in the new millennium. *Drugs* 2002;62:557-66.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe – Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2017. Stockholm: ECDC; 2018.
3. Hawkey PM, Warren RE, Livermore DM, McNulty CAM, Enoch DA, Otter JA, Wilson APR. Treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria: report of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy/Healthcare Infection Society/British Infection Association Joint Working Party. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:iii2-iii78.
4. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J. Bad bugs, no drugs: no ESCAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;48:1-12.
5. Eller C, Simon S, Miller T, Frick JS, Prager R, Rabsch W, Guerra B, Werner G, Pfeifer Y. Presence of beta-lactamases in extended-spectrum-cephalosporin-resistant *Salmonella enterica* of 30 different serovars in Germany 2005-11. *J Antimicrob Chemother* 2013;68:1978-81.
6. Geffers C, Gastmeier P. Nosocomial infections and multidrug-resistant organisms in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 2011;108:87-93.
7. World Health Organization. Antimicrobial resistance : global report on surveillance. Geneva 2014.
8. Chen L, Todd R, Kiehlbauch J, Walters M, Kallen A. Notes from the Field: Pan-Resistant New Delhi Metallo-Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* — Washoe County, Nevada, 2016. *Morb Mortal Wkly Rep* 2017;66:33.
9. Toutain PL, Bousquet-Melou A. The consequences of generic marketing on antibiotic consumption and the spread of microbial resistance: the need for new antibiotics. *J Vet Pharmacol Ther* 2013;36:420-4.
10. Howard SJ, Catchpole M, Watson J, Davies SC. Antibiotic resistance: global response needed. *Lancet Infect Dis* 2013;13:1001-3.
11. El-Halfawy OM, Valvano MA. Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. *Clin Microbiol Rev* 2015;28:191-207.
12. Martins A, Hunyadi A, Amaral L. Mechanisms of resistance in bacteria: an evolutionary approach. *Open Microbiol J* 2013;7:53-8.
13. Blondeau JM. New concepts in antimicrobial susceptibility testing: the mutant prevention concentration and mutant selection window approach. *Vet Dermatol* 2009;20:383-96.
14. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge - Clean Care Is Safer Care. Geneva 2009.



15. Der Rat der Europäischen Union. Empfehlung des Rates vom 15. November 2001 zur umsichtigen Verwendung antimikrobieller Mittel in der Humanmedizin. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* 2002.
16. de With K, Wechsler-Fordos A. Antibiotic Stewardship (ABS) im Krankenhaus: Voraussetzungen und Empfehlungen zur Gestaltung von ABS-Programmen. *Z Evid Fortbild Qual Gesundhwes* 2015;109:515-20.
17. Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen des Robert Koch-Instituts. Definitionen nosokomialer Infektionen für die Surveillance im Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS-Definitionen). Berlin 2016.
18. Biehl LM, Schmidt-Hieber M, Liss B, Cornely OA, Vehreschild MJ. Colonization and infection with extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in high-risk patients - Review of the literature from a clinical perspective. *Crit Rev Microbiol* 2014.
19. Schroder C, Schwab F, Behnke M, Breier AC, Maechler F, Piening B, Dettenkofer M, Geffers C, Gastmeier P. Epidemiology of healthcare associated infections in Germany: Nearly 20 years of surveillance. *Int J Med Microbiol* 2015;305:799-806.
20. Kohlenberg A, Schwab F, Behnke M, Geffers C, Gastmeier P. Pneumonia associated with invasive and noninvasive ventilation: an analysis of the German nosocomial infection surveillance system database. *Intensive Care Med* 2010;36:971-8.
21. Dalhoff K, Abele-Horn M, Andreas S, Deja M, Ewig S, Gastmeier P. S3-Leitlinie: Epidemiologie, Diagnostik und Therapie erwachsener Patienten mit nosokomialer Pneumonie – Update 2017. 2017.
22. Dalhoff K, Abele-Horn M, Andreas S, Bauer T, von Baum H, Deja M, Ewig S, Gastmeier P, Gatermann S, Gerlach H, Grabein B, Höffken G, Kern WV, Kramme E, Lange C, Lorenz J, Mayer K, Nachtigall I, Pletz M, Rohde G, Rosseau S, Schaaf B, Schaumann R, Schreiter D, Schütte H, Seifert H, Sitter H, Spies C, Welte T. Epidemiologie, Diagnostik und Therapie erwachsener Patienten mit nosokomialer Pneumonie. *Pneumologie*;2012:707–65.
23. Melsen WG, Rovers MM, Koeman M, Bonten MJ. Estimating the attributable mortality of ventilator-associated pneumonia from randomized prevention studies. *Crit Care Med* 2011;39:2736-42.
24. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Johnson DW. A simple method for the assay of colistin in human plasma, using pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate in solid-phase extraction cartridges and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001;761:167-75.
25. Eigenes Werk des Nutzers "Leyo" (<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Colistin.SVG>) [abgerufen am 20.05.2019]; „Colistin“, als gemeinfrei gekennzeichnet.
26. Antachopoulos C, Karvanen M, Iosifidis E, Jansson B, Plachouras D, Cars O, Roilides E. Serum and cerebrospinal fluid levels of colistin in pediatric patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:3985-7.
27. Bergen PJ, Li J, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW. Comparison of once-, twice- and thrice-daily dosing of colistin on antibacterial effect and emergence of resistance: studies with *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro pharmacodynamic model. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:636-42.

28. Dudhani RV, Nation RL, Li J. Evaluating the stability of colistin and colistin methanesulphonate in human plasma under different conditions of storage. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:1412-5.
29. Falagas ME, Kasiakou SK. Use of international units when dosing colistin will help decrease confusion related to various formulations of the drug around the world. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2274-5.
30. Orwa JA, Govaerts C, Busson R, Roets E, Van Schepdael A, Hoogmartens J. Isolation and structural characterization of colistin components. *J Antibiot (Tokyo)* 2001;54:595-9.
31. Spapen H, Jacobs R, Van Gorp V, Troubleyn J, Honore PM. Renal and neurological side effects of colistin in critically ill patients. *Ann Intensive Care* 2011;1:14.
32. Brownlee G, Bushby SR, Short EI. The chemotherapy and pharmacology of the polymyxins. *Br J Pharmacol Chemother* 1952;7:170-88.
33. Shahbazi F, Dashti-Khavidaki S. Colistin: efficacy and safety in different populations. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2015;8:423-48.
34. Hartzell JD, Neff R, Ake J, Howard R, Olson S, Paolino K, Vishnepolsky M, Weintrob A, Wortmann G. Nephrotoxicity associated with intravenous colistin (colistimethate sodium) treatment at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis* 2009;48:1724-8.
35. Doshi NM, Mount KL, Murphy CV. Nephrotoxicity associated with intravenous colistin in critically ill patients. *Pharmacotherapy* 2011;31:1257-64.
36. Kelesidis T, Falagas ME. The safety of polymyxin antibiotics. *Expert Opin Drug Saf* 2015;14:1687-701.
37. Jolley SE, Bunnell AE, Hough CL. ICU-Acquired Weakness. *Chest* 2016;150:1129-40.
38. Lu Q, Girardi C, Zhang M, Bouhemad B, Louchahi K, Petitjean O, Wallet F, Becquemin MH, Le Naour G, Marquette CH, Rouby JJ. Nebulized and intravenous colistin in experimental pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med* 2010;36:1147-55.
39. Imberti R, Cusato M, Villani P, Carnevale L, Iotti GA, Langer M, Regazzi M. Steady-state pharmacokinetics and BAL concentration of colistin in critically ill patients after IV colistin methanesulfonate administration. *Chest* 2010;138:1333-9.
40. Quon BS, Goss CH, Ramsey BW. Inhaled antibiotics for lower airway infections. *Ann Am Thorac Soc* 2014;11:425-34.
41. Biagi M, Butler D, Tan X, Qasmieh S, Wenzler E. A Breath of Fresh Air in the Fog of Antimicrobial Resistance: Inhaled Polymyxins for Gram-Negative Pneumonia. *Antibiotics (Basel)* 2019;8.
42. Honore PM, Jacobs R, Hendrickx I, De Waele E, De Regt J, Spapen HD. Nebulized colistin for treatment of ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria: we still need to straighten out the dose! *Crit Care* 2015;19:265.
43. Zampieri FG, Nassar AP, Jr., Gusmao-Flores D, Taniguchi LU, Torres A, Ranzani OT. Nebulized antibiotics for ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care* 2015;19:150.
44. US Food and Drug Administration (FDA). Information for healthcare professionals: colistimethate (marketed as Coly-Mycin M and generic products). 2013.

45. Michalopoulos A, Papadakis E. Inhaled anti-infective agents: emphasis on colistin. *Infection* 2010;38:81-8.
46. Coutinho HD, Falcao-Silva VS, Goncalves GF. Pulmonary bacterial pathogens in cystic fibrosis patients and antibiotic therapy: a tool for the health workers. *Int Arch Med* 2008;1:24.
47. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, Napolitano LM, O'Grady NP, Bartlett JG, Carratala J, El Solh AA, Ewig S, Fey PD, File TM, Jr., Restrepo MI, Roberts JA, Waterer GW, Cruse P, Knight SL, Brozek JL. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2016;63:e61-e111.
48. Liu D, Zhang J, Liu HX, Zhu YG, Qu JM. Intravenous combined with aerosolised polymyxin versus intravenous polymyxin alone in the treatment of pneumonia caused by multidrug-resistant pathogens: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* 2015;46:603-9.
49. Bogovic TZ, Budimir A, Bosnjak Z, Hrabac P, Baronica R, Tomasevic B, Miric M, Drvar Z. Inhalation plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for treatment of ventilator associated pneumonia. *Signa Vitae* 2014;9:29-33.
50. Doshi NM, Cook CH, Mount KL, Stawicki SP, Frazee EN, Personett HA, Schramm GE, Arnold HM, Murphy CV. Adjunctive aerosolized colistin for multi-drug resistant gram-negative pneumonia in the critically ill: a retrospective study. *BMC Anesthesiol* 2013;13:45.
51. Tumbarello M, De Pascale G, Treçarichi EM, De Martino S, Bello G, Maviglia R, Spanu T, Antonelli M. Effect of aerosolized colistin as adjunctive treatment on the outcomes of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia caused by colistin-only susceptible gram-negative bacteria. *Chest* 2013;144:1768-75.
52. Amin M, Rashad A, Fouad A, Abdel Azeem A. Re-emerging of colistin for treatment of nosocomial pneumonia due to gram negative multi-drug resistant pathogens in critically ill patients. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis* 2013;62:447-51.
53. Kalin G, Alp E, Coskun R, Demiraslan H, Gundogan K, Doganay M. Use of high-dose IV and aerosolized colistin for the treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: do we really need this treatment? *J Infect Chemother* 2012;18:872-7.
54. Naesens R, Vlieghe E, Verbrugghe W, Jorens P, Ieven M. A retrospective observational study on the efficacy of colistin by inhalation as compared to parenteral administration for the treatment of nosocomial pneumonia associated with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Infect Dis* 2011;11:317.
55. Perez-Pedrero MJ, Sanchez-Casado M, Rodriguez-Villar S. Nebulized colistin treatment of multi-resistant *Acinetobacter baumannii* pulmonary infection in critical ill patients. *Med Intensiva* 2011;35:226-31.
56. Kofteridis DP, Alexopoulou C, Valachis A, Maraki S, Dimopoulou D, Georgopoulos D, Samonis G. Aerosolized plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Clin Infect Dis* 2010;51:1238-44.

57. Korbila IP, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Nikita D, Samonis G, Falagas ME. Inhaled colistin as adjunctive therapy to intravenous colistin for the treatment of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia: a comparative cohort study. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:1230-6.
58. Valachis A, Samonis G, Kofteridis DP. The role of aerosolized colistin in the treatment of ventilator-associated pneumonia: a systematic review and metaanalysis. *Crit Care Med* 2015;43:527-33.
59. Falagas ME, Kasiakou SK, Kofteridis DP, Roditakis G, Samonis G. Effectiveness and nephrotoxicity of intravenous colistin for treatment of patients with infections due to polymyxin-only-susceptible (POS) gram-negative bacteria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006;25:596-9.
60. Lu Q, Luo R, Bodin L, Yang J, Zahr N, Aubry A, Golmard JL, Rouby JJ. Efficacy of high-dose nebulized colistin in ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Anesthesiology* 2012;117:1335-47.
61. Michalopoulos A, Fotakis D, Virtzili S, Vletsas C, Raftopoulou S, Mastora Z, Falagas ME. Aerosolized colistin as adjunctive treatment of ventilator-associated pneumonia due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a prospective study. *Respir Med* 2008;102:407-12.
62. Michalopoulos A, Kasiakou SK, Mastora Z, Rellos K, Kapaskelis AM, Falagas ME. Aerosolized colistin for the treatment of nosocomial pneumonia due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria in patients without cystic fibrosis. *Crit Care* 2005;9:R53-9.
63. Motaouakkil S, Charra B, Hachimi A, Nejmi H, Benslama A, Elmdaghri N, Belabbes H, Benbachir M. Colistin and rifampicin in the treatment of nosocomial infections from multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect* 2006;53:274-8.
64. Falagas ME, Siempos I, Rafailidis PI, Korbila IP, Ioannidou E, Michalopoulos A. Inhaled colistin as monotherapy for multidrug-resistant gram (-) nosocomial pneumonia: a case series. *Respir Med* 2009;103:707-13.
65. Kwa AL, Loh C, Low JG, Kurup A, Tam VH. Nebulized colistin in the treatment of pneumonia due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2005;41:754-7.
66. Rattanaumpawan P, Lorsutthitham J, Ungprasert P, Angkasekwinai N, Thamlikitkul V. Randomized controlled trial of nebulized colistimethate sodium as adjunctive therapy of ventilator-associated pneumonia caused by Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:2645-9.
67. Lin CC, Liu TC, Kuo CF, Liu CP, Lee CM. Aerosolized colistin for the treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia: experience in a tertiary care hospital in northern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2010;43:323-31.
68. Marchand S, Gobin P, Brillault J, Baptista S, Adier C, Olivier JC, Mimoz O, Couet W. Aerosol therapy with colistin methanesulfonate: a biopharmaceutical issue illustrated in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:3702-7.
69. Marchand S, Bouchene S, de Monte M, Guilleminault L, Montharu J, Cabrera M, Gregoire N, Gobin P, Diot P, Couet W, Vecellio L. Pharmacokinetics of Colistin Methansulphonate (CMS) and Colistin after CMS Nebulisation in Baboon Monkeys. *Pharm Res* 2015;32:3403-14.

70. Ratjen F, Rietschel E, Kasel D, Schwiertz R, Starke K, Beier H, van Koningsbruggen S, Grasemann H. Pharmacokinetics of inhaled colistin in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:306-11.
71. Yapa SWS, Li J, Patel K, Wilson JW, Dooley MJ, George J, Clark D, Poole S, Williams E, Porter CJ, Nation RL, McIntosh MP. Pulmonary and systemic pharmacokinetics of inhaled and intravenous colistin methanesulfonate in cystic fibrosis patients: targeting advantage of inhalational administration. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2570-9.
72. Sobonya RE, Taussig LM. Quantitative aspects of lung pathology in cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:290-5.
73. Athanassa ZE, Markantonis SL, Fousteri MZ, Myrianthefs PM, Boutzouka EG, Tsakris A, Baltopoulos GJ. Pharmacokinetics of inhaled colistimethate sodium (CMS) in mechanically ventilated critically ill patients. *Intensive Care Med* 2012;38:1779-86.
74. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992;101:1644-55.
75. Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone HG, Bardutzky J, Dempfle CE, Forst H, Gastmeier P, Gerlach H, Grundling M, John S, Kern W, Kreymann G, Kruger W, Kujath P, Marggraf G, Martin J, Mayer K, Meier-Hellmann A, Opper M, Putensen C, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Seifert H, Spies C, Stuber F, Weiler N, Weimann A, Werdan K, Welte T. Prevention, diagnosis, treatment, and follow-up care of sepsis. First revision of the S2k Guidelines of the German Sepsis Society (DSG) and the German Interdisciplinary Association for Intensive and Emergency Care Medicine (DIVI). *Anaesthesist* 2010;59:347-70.
76. Nachtigall I, Tafelski S, Deja M, Halle E, Grebe MC, Tamarkin A, Rothbart A, Uhrig A, Meyer E, Musial-Bright L, Wernecke KD, Spies C. Long-term effect of computer-assisted decision support for antibiotic treatment in critically ill patients: a prospective 'before/after' cohort study. *BMJ Open* 2014;4:e005370.
77. Li J, Coulthard K, Milne R, Nation RL, Conway S, Peckham D, Etherington C, Turnidge J. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:987-92.
78. Gobin P, Lemaitre F, Marchand S, Couet W, Olivier JC. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:1941-8.
79. Dotsikas Y, Markopoulou CK, Koundourellis JE, Loukas YL. Validation of a novel LC-MS/MS method for the quantitation of colistin A and B in human plasma. *J Sep Sci* 2011;34:37-45.
80. Kontou P, Chatzika K, Pitsiou G, Stanopoulos I, Argyropoulou-Pataka P, Kioumis I. Pharmacokinetics of ciprofloxacin and its penetration into bronchial secretions of mechanically ventilated patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:4149-53.
81. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41.

82. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604-12.
83. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* 2009:S1-130.
84. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI). Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. *Bundesgesundheitsbl* 2012;1311–54.
85. Fan E, Cheek F, Chlan L, Gosselink R, Hart N, Herridge MS, Hopkins RO, Hough CL, Kress JP, Latronico N, Moss M, Needham DM, Rich MM, Stevens RD, Wilson KC, Winkelman C, Zochodne DW, Ali NA. An official American Thoracic Society Clinical Practice guideline: the diagnosis of intensive care unit-acquired weakness in adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;190:1437-46.
86. Boisson M, Jacobs M, Gregoire N, Gobin P, Marchand S, Couet W, Mimoz O. Comparison of intrapulmonary and systemic pharmacokinetics of colistin methanesulfonate (CMS) and colistin after aerosol delivery and intravenous administration of CMS in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:7331-9.
87. Boisson M, Gregoire N, Cormier M, Gobin P, Marchand S, Couet W, Mimoz O. Pharmacokinetics of nebulized colistin methanesulfonate in critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 2017;72:2607-12.
88. Couet W, Gregoire N, Marchand S, Mimoz O. Colistin pharmacokinetics: the fog is lifting. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:30-9.
89. Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW, Rayner CR, Li J, Nation RL. Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:1117-24.
90. Sime FB, Udy AA, Roberts JA. Augmented renal clearance in critically ill patients: etiology, definition and implications for beta-lactam dose optimization. *Curr Opin Pharmacol* 2015;24:1-6.
91. Matthaiou DK, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Karageorgopoulos DE, Papaioannou V, Ntani G, Samonis G, Falagas ME. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant gram-negative bacteria: a matched case-control study. *Crit Care Med* 2008;36:807-11.
92. Singbartl K, Kellum JA. AKI in the ICU: definition, epidemiology, risk stratification, and outcomes. *Kidney Int* 2012;81:819-25.
93. Arnold HM, Sawyer AM, Kollef MH. Use of adjunctive aerosolized antimicrobial therapy in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Respir Care* 2012;57:1226-33.
94. Dai C, Tang S, Li J, Wang J, Xiao X. Effects of colistin on the sensory nerve conduction velocity and F-wave in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2014;115:577-80.
95. Koch S, Spuler S, Deja M, Bierbrauer J, Dimroth A, Behse F, Spies CD, Wernecke KD, Weber-Carstens S. Critical illness myopathy is frequent: accompanying neuropathy protracts ICU discharge. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011;82:287-93.

96. Vardakas KZ, Voulgaris GL, Samonis G, Falagas ME. Inhaled colistin monotherapy for respiratory tract infections in adults without cystic fibrosis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* 2017.
97. Delle Rose D, Pezzotti P, Fortunato E, Sordillo P, Gini S, Boros S, Meledandri M, Gallo MT, Prignano G, Caccese R, D'Ambrosio M, Citterio G, Rocco M, Leonardis F, Natoli S, Fontana C, Favaro M, Celeste MG, Franci T, Testore GP, Andreoni M, Sarmati L. Clinical predictors and microbiology of ventilator-associated pneumonia in the intensive care unit: a retrospective analysis in six Italian hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016;35:1531-9.
98. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:388-416.
99. Musher DM. Clinical and microbiological end points in the treatment of pneumonia. *Clin Infect Dis* 2008;47 Suppl 3:S207-9.
100. Dimopoulos G, Matthaiou DK. Duration of therapy of ventilator-associated pneumonia. *Curr Opin Infect Dis* 2016;29:218-22.
101. Bougle A, Foucrier A, Dupont H, Montravers P, Ouattara A, Kalfon P, Squara P, Simon T, Amour J. Impact of the duration of antibiotics on clinical events in patients with *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: study protocol for a randomized controlled study. *Trials* 2017;18:37.
102. Maskin LP, Setten M, Rodriguez PO, Bonelli I, Attie S, Stryjewski ME, Valentini R. Inhaled colistimethate sodium in ventilator-associated tracheobronchitis due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2015;45:199-200.
103. Ito-Kagawa M, Koyama Y. Selective cleavage of a peptide antibiotic, colistin by colistinase. *J Antibiot (Tokyo)* 1980;33:1551-5.
104. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK. Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resist Updat* 2010;13:132-8.
105. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lv L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH, Shen J. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* 2016;16:161-8.
106. Falgenhauer L, Waezsada SE, Yao Y, Imirzalioglu C, Kasbohrer A, Roesler U, Michael GB, Schwarz S, Werner G, Kreienbrock L, Chakraborty T. Colistin resistance gene *mcr-1* in extended-spectrum beta-lactamase-producing and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Germany. *Lancet Infect Dis* 2016;16:282-3.
107. Li R, Xie M, Lv J, Wai-Chi Chan E, Chen S. Complete genetic analysis of plasmids carrying *mcr-1* and other resistance genes in an *Escherichia coli* isolate of animal origin. *J Antimicrob Chemother* 2016.
108. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315:801-10.

109. Thomas SH, O'Doherty MJ, Fidler HM, Page CJ, Treacher DF, Nunan TO. Pulmonary deposition of a nebulised aerosol during mechanical ventilation. *Thorax* 1993;48:154-9.
110. Boselli E, Breilh D, Djabarouti S, Guillaume C, Rimmele T, Gordien JB, Xuereb F, Saux MC, Allaouchiche B. Reliability of mini-bronchoalveolar lavage for the measurement of epithelial lining fluid concentrations of tobramycin in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2007;33:1519-23.
111. Choi MJ, Park YK, Peck KR, Ko KS. Mutant prevention concentrations of colistin used in combination with other antimicrobial agents against *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2014;44:475-6.
112. Lu Q, Yang J, Liu Z, Gutierrez C, Aymard G, Rouby JJ. Nebulized ceftazidime and amikacin in ventilator-associated pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:106-15.
113. Smith AL. Inhaled antibiotic therapy: What drug? What dose? What regimen? What formulation? *J Cyst Fibros* 2002;1:189-93.
114. Kempf M, Djouhri-Bouktab L, Brunel JM, Raoult D, Rolain JM. Synergistic activity of sulbactam combined with colistin against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 2012;39:180-1.
115. Voshaar TH. Collateral ventilation. *Pneumologie* 2008;62:355-60.
116. Wilhelm SM, Kale-Pradhan PB. Estimating creatinine clearance: a meta-analysis. *Pharmacotherapy* 2011;31:658-64.



## 8. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, **Lukas Wagner**, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema

*„Inhalatives Colistin in der Intensivmedizin:  
Wirkstoffspiegelbestimmung in Plasma und Tracheobronchialsekret“*

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind.

Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

---

Datum

---

Unterschrift

## Publikationsliste und Anteilserklärung

Lukas Wagner hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Tafelski S, **Wagner L**, Angermair S, Deja M.

*Therapeutic drug monitoring for colistin therapy in severe multi-resistant  
Acinetobacter intracerebral abscess:*

*A single case study with high-dose colistin and review of literature.*

SAGE Open Med Case Rep 2017;5:1-6.

Beitrag im Einzelnen: Dokumentation der Messwerte, Mithilfe bei  
der statistischen Auswertung der Daten, Mitarbeit bei der Durchführung der  
Literaturrecherche und – auswertung, Erstellung und Korrektur des Manuskripts

---

Datum, Unterschrift und Stempel  
des betreuenden Hochschullehrers

---

Unterschrift des  
Doktoranden

## **9. Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Dissertation nicht veröffentlicht.

## Poster-Präsentationen

**Wagner L**, Tafelski S, Angermair S, Tröger U, Deja M.

Arterial blood levels of colistin after application of aerosolized CMS - a way to monitor dosing and toxicity?

Poster (1231) präsentiert in der Session: Colistin and polymyxin B pharmacokinetics. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 9.-12. April 2016; Amsterdam, Niederlande.

*Gefördert durch ein Reisestipendium der „Freunde und Förderer der Berliner Charité e.V.“*

**Wagner L**, Tafelski S, Angermair S, Francis R, Deja M.

Empyem durch multiresistente gram-negative Stäbchen: Fallbericht und systematische Literaturübersicht zur intraventrikulären Therapie mit Colistin (CMS). Poster (P/01/10) präsentiert in der Session: Ethik, Qualität, Hirn und Nervensystem. 14. Kongress der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin; 3.-5. Dezember 2014; Hamburg, Deutschland.

Angermair S, **Wagner L**, Tröger U, Bode-Böger SM, Deja M.

Colistin levels in patients receiving extracorporeal membrane oxygenation with or without renal replacement.

Poster (0324) präsentiert in der Session: ECMO update. 26th Annual Congress of the European Society of Intensive Care Medicine; 5.-9. Oktober 2013; Paris, Frankreich.

---

Ort, Datum

---

Unterschrift des  
Doktoranden

## 10. Danksagung

Mein großer Dank gilt zuerst Frau Prof. Dr. med. Maria Deja, die mir das vorliegende hochinteressante Thema zur Verfügung stellte und stets engagiert mit Rat und Tat zur Seite stand. Frau Univ.-Prof. Dr. med. Claudia Spies möchte ich für die Möglichkeit, an ihrer Klinik zu promovieren sowie die Etablierung der wunderbaren ABx-Arbeitsgruppe, danken.

Herrn PD Dr. med. Sascha Tafelski gilt mein ganz besonderer Dank. Stand er mir doch von Beginn an als Betreuer und nach Übernahme der Promotionsarbeit von Frau Prof. Deja als Doktorvater jederzeit mit konstruktiver Kritik zur Seite, begleitete mich mit Sorgfalt und Interesse und bewies bei unseren zahlreichen Treffen auch zu später Stunde seine Aufmerksamkeit für den Fortschritt des gemeinsamen Projekts.

Der gesamten ABx-Gruppe unter der Leitung von Frau Univ.-Prof. Dr. med. Claudia Spies gilt für ihren stets unterstützenden Einsatz mein spezieller Dank.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich beim Team des Instituts für Klinische Pharmakologie der Otto-von-Guericke Universität in Magdeburg für die erfolgreiche und gemeinsame Etablierung der Colistinmessung.

Besondere Erwähnung verdienen diesbezüglich Herr Dr. med. Uwe Tröger sowie Herr Dr. rer. nat. Jens Martens-Lobenhoffer, mit denen ein reger und förderlicher Austausch bestand.

Des Weiteren möchte ich mich bei der Patientin und den Patienten für ihre Bereitschaft zur Teilnahme an der Studie bedanken.

Mein unendlicher Dank gilt meiner Frau Saskia sowie meiner Familie, die mir mit großer Hilfsbereitschaft, Geduld und Liebe stets zur Seite standen und immer ein offenes Ohr hatten.

Die Präsentation des Posters zu diesem Studienprojekt auf dem „26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases“ in Amsterdam wurde durch ein Reisestipendium der „Freunde und Förderer der Berliner Charité e.V.“ unterstützt. Für diese Auszeichnung und Unterstützung bedanke ich mich ganz herzlich bei den Freunden und Förderern der Charité.