

Aus der Medizinischen Klinik für Pädiatrie  
m. S. Pneumologie und Immunologie  
Sektion Mukoviszidose  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Prävalenz medikamentenabhängiger erythrozytärer  
Antikörper bei Patienten\*innen mit  
Mukoviszidose**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Philip Specht  
aus Lübeck

Datum der Promotion: 06.09.2019

## **Vorwort**

Im Zusammenhang mit meiner Promotion sind seit Beginn meiner Mitarbeit im Oktober 2015 in der Arbeitsgruppe Mukoviszidose der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie bzw. am Christiane-Herzog-Zentrum-Berlin folgende Veröffentlichungen entstanden:

## **Posterbeiträge bei Konferenzen**

- Postervortrag beim Drug Hypersensitivity Meeting der EAACI in Malaga/Spanien 4/2016: P Specht, D Staab, B Mayer, JF Roehmel „Piperacillin-Induced Immune Haemolytic Anaemia – A Severe And Frequent Complication Of Antibiotic Treatment in Patient with Cystic Fibrosis”

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>10</b>
1.1 Antikörper .....	10
1.2 Medikamenteninduzierte Autoimmunhämolyse .....	11
1.2.1 Inzidenz, Pathogenese.....	11
1.3 Diagnostik einer medikamenteninduzierten Autoimmunhämolyse .....	13
1.3.1 Klinische Symptome / Diagnose.....	13
1.3.2 Serologische Diagnostik.....	13
1.4 Therapie der medikamenteninduzierten Autoimmunhämolyse .....	14
1.5 Pathophysiologie und klinisches Bild der Mukoviszidose .....	15
1.5.1 Pathogenese.....	15
1.5.2 Epidemiologie .....	15
1.5.3 Diagnose.....	16
1.5.4 Therapie der CF.....	17
1.5.4.1 Antiinfektive Therapie.....	17
1.5.5 Komplikationen der Therapie von Mukoviszidose.....	19
<b>2. Fragestellung und Motivation.....</b>	<b>21</b>
<b>3. Methodik.....</b>	<b>23</b>
3.1 Durchführung am Christiane Herzog-Zentrum und dem Institut für Transfusionsmedizin Charité Berlin.....	23
3.2 Einschlusskriterien der Studienpopulation.....	23
3.3 Datenerhebung .....	24
3.3.1 Stammdaten der Patienten*innen.....	24
3.3.2 Behandlungskurse mit parenteralen Antibiotika.....	25
3.3.3 Überempfindlichkeitsreaktionen auf parenterale Antibiotika .....	26
3.3.3.1 Definition und Dokumentation von ÜRPA.....	26
3.4 Risikofaktorerhebung .....	26
3.5 Probengewinnung (Labordiagnostik).....	27
3.6 Laboranalyse .....	28
3.6.1 Hämolyseparameter .....	28
3.6.2 Antikörpersuchtest .....	28
3.6.2.1 Direkter-/Indirekter-Coombstest .....	29
3.6.2.2 Weiterführende Differenzierung.....	30
3.6.3 Medikamententestung.....	32

3.7 Statistische Auswertung.....	33
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>34</b>
4.1 Charakterisierung der Studienteilnehmer*innen .....	34
4.2 Laborergebnisse .....	35
4.2.1 Antikörpertestung.....	35
4.2.2 Hämolyseparameter.....	35
4.3 Verlaufscharakterisierung .....	36
4.3.1 Patientin 1 .....	36
4.3.2 Patientin 2.....	43
4.4 Risikofaktoranalyse.....	49
4.4.1 FEV1.....	49
4.4.2 IgE .....	50
4.4.3 Pseudomonasbesiedlung.....	51
4.4.4 Piperacillin/Tazobactam .....	52
4.4.5 ÜRPA.....	52
4.4.5.1 Charakteristika der ÜRPA .....	54
4.4.5.2 Zeitliches Auftreten der ÜRPA.....	55
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>56</b>
5.1 Medikamentenabhängige Antikörperentwicklung .....	56
5.2 Risikofaktoranalyse.....	57
5.3 ÜRPA.....	58
5.4 Prävention/ Screening.....	59
5.5 Limitationen und Stärken der Studie .....	60
<b>6. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>63</b>
<b>7. Anhang .....</b>	<b>69</b>
7.1 Eidesstaatliche Versicherung.....	69
7.2 Anteilserklärung an erfolgten Publikationen .....	70
7.3 Lebenslauf .....	71
7.4 Publikationsliste .....	73
7.5 Danksagung.....	74

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Mögliche Hypothesen für medikamenteninduzierte Antikörperreaktionen.....	12
Abb. 2: Darstellung der errechneten kumulativen Lebenszeitdosen.....	19
Abb. 3: Zeitlicher Ablauf der Blutentnahmen (BE) und Probengewinnung für die Labordiagnostik .....	28
Abb. 4: Beispielhafte Darstellung unterschiedlicher Reaktionsstärken.....	30
Abb. 5: Vergleich von Piperacillin/Tazobactam und Eigenurin (eMet) bei Patientin 1.....	37
Abb. 6: IAT (1,2,3) von Tag 12 vor und nach der Dialyse des Plasmas .....	38
Abb. 7: Hämoglobinwerte im Verlauf bei Patientin 1 .....	39
Abb. 8: Retikulozytenwerte im Verlauf bei Patientin 1.....	40
Abb. 9: Haptoglobinwerte im Verlauf bei Patientin 1 .....	41
Abb. 10: LDH-Werte im Verlauf bei Patientin 1 .....	42
Abb. 11: Vergleich von Piperacillin/Tazobactam, Eigenurin (eMet) und Fremdurin (Met) bei Patientin 2 .....	44
Abb. 12: Hämoglobinwerte im Verlauf bei Patientin 2 .....	45
Abb. 13: Retikulozytenwerte im Verlauf bei Patientin 2.....	46
Abb. 14: Haptoglobinwerte im Verlauf bei Patientin 2 .....	47
Abb. 15: LDH-Werte im Verlauf bei Patientin 2.....	48
Abb. 16: FEV1 in % aller Patienten*innen zum Zeitpunkt der Studienteilnahme aufgeteilt in Antikörper positiv und negativ.....	49
Abb. 17: Gesamt IgE der Teilnehmenden zum Zeitpunkt der Studienteilnahme .....	50
Abb. 18: Jahre mit Pseudomonasbesiedlung aufgeteilt in Patienten*innengruppen mit und ohne medikamentenabhängigen Antikörpern .....	51
Abb. 19: Kumulative Piperacillin/Tazobactam-Dosis bei den Patienten*innengruppen mit und ohne medikamentenabhängige Antikörper .....	52
Abb. 20: Anzahl der Behandlungskurse mit ÜRPA .....	53
Abb. 21: Zusammenfassung aller 136 Symptome zu Symptomgruppen mit Angabe ihres prozentualen Anteils.....	54
Abb. 22: Prozentuale Angabe der ÜRPAs pro Behandlungstag.....	55

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Patienten*innencharakteristika.....	34
Tabelle 2: Antikörpertestung bei Patientin 1 mit den jeweiligen Reaktionsstärken .....	36
Tabelle 3: Medikamententestungen bei Patientin 1 .....	37
Tabelle 4: Medikamententestung bei Patientin 1 mit dem dialysierten Plasma von Tag 12.....	38
Tabelle 5: Medikamententestung bei Patientin 2 .....	43

## **Zusammenfassung**

### **Einleitung:**

Die medikamenteninduzierte Autoimmunhämolyse stellt eine seltene, aber schwerwiegende und lebensbedrohliche Nebenwirkung bei der Gabe von Medikamenten dar. Die Fallserie „Piperacillin-induced immune hemolysis: new cases and a concise review of the literature“ des Instituts für Transfusionsmedizin der Charité Berlin konnte zeigen, dass ein Großteil der untersuchten Proben mit medikamenteninduzierter Autoimmunhämolyse von Patienten\*innen mit Mukoviszidose stammten und diese auf intravenös verabreichte Antibiotika reagierten<sup>1</sup>. Auf Grundlage dieser Daten wurde die aktuelle Studie konzipiert, um die Hypothese zu untersuchen, dass die Prävalenz für medikamenteninduzierte Autoimmunhämolyse in diesem Patientenkollektiv erhöht ist. Zusätzlich wurde das Auftreten von Überempfindlichkeitsreaktionen auf parenteral verabreichte Antibiotika untersucht, um diese als mögliche prädisponierende Faktoren zu identifizieren.

### **Methoden:**

In dieser prospektiven Studie wurden alle Patienten\*innen eingeschlossen, die während des Studienzeitraums mit einer mindestens 10-tägigen intravenösen Antibiotika Therapie behandelt wurden und älter als 12 Jahre alt waren. Die Blutproben wurden auf spezifische medikamentenabhängige Antikörper getestet. Zusätzlich wurden mit den Patienten\*innen Interviews geführt und die Patientenakten systematisch ausgewertet, um Informationen zu Alter, Geschlecht, expiratorischer Einsekundenkapazität, Genotyp, Bakterienbesiedlung, Allergianamnese (inklusive Informationen zu IgE-Serumspiegel, allergischer bronchopulmonaler Aspergillose und spezifische IgE-Screeningtests für Aeroallergene), parenteraler Antibiotikaexposition und vorangegangene Überempfindlichkeitsreaktionen gegen intravenös verabreichte Antibiotika (Zeitpunkt, Symptome und Behandlung) zu gewinnen.

### **Ergebnisse:**

Bei zwei der 43 eingeschlossenen Patienten\*innen waren medikamentenabhängige Antikörper auf Piperacillin nachweisbar. Eine Patientin davon entwickelte aufgrund der Antikörper eine leichte, laborchemisch nachweisbare Hämolyse. Klinisch blieben beide

Patientinnen unauffällig. Medikamentenabhängige Antikörper gegen andere Antibiotika wurden nicht nachgewiesen. Die Untersuchungen von kumulativer Medikamentendosis, gesamt IgE, chronischer Pseudomonasbesiedlung, expiratorischer Einsekundenkapazität und Überempfindlichkeitsreaktionen gegen intravenös verabreichte Antibiotika konnten keine signifikanten Risikofaktoren für eine medikamenteninduzierte Autoimmunhämolyse identifizieren.

### **Schlussfolgerungen:**

Die Ergebnisse der hier vorliegenden prospektiven Studie weisen darauf hin, dass medikamentenabhängige Antikörper bei Patienten\*innen mit Mukoviszidose ein häufigeres Phänomen sind als bisher vermutet. Ebenso scheinen subklinische Verläufe einer medikamenteninduzierten Autoimmunhämolyse bei Patienten\*innen mit Mukoviszidose häufiger vorzukommen. Behandelnde Ärzte sollten deswegen besser über die Möglichkeit einer medikamenteninduzierten Hämolyse unter der Therapie mit Antibiotika informiert werden, um diese rechtzeitig zu erkennen. Besonderes Augenmerk sollte hierbei auf Piperacillin gelegt werden. Um die wahrscheinlich höhere Prävalenz von Piperacillin-abhängigen Antikörpern in diesem Patientenkollektiv zu untersuchen, sollten weitere Studien durchgeführt werden. Damit mögliche, statistisch signifikante Risikofaktoren identifiziert werden können, sind größere Kohorten empfehlenswert.

## **Abstract**

### **Introduction:**

Drug-induced autoimmune hemolysis is a rare but severe and life threatening adverse reaction to drug administration. A case series entitled "Piperacillin-induced immune hemolysis: new cases and a concise review of the literature" by the Institute of Transfusion Medicine - Charité Berlin showed that most samples with drug-induced autoimmune hemolysis were from patients with cystic fibrosis, who reacted to parenterally administered antibiotics<sup>1</sup>. This study builds upon this previous work by investigating the hypothesis that the prevalence of drug-induced autoimmune hemolysis is higher in cystic fibrosis patients. Additionally, hypersensitivity reactions to parenteral antibiotics were evaluated in order to identify possible predisposing factors.

### **Methods:**

This prospective study included all patients who received parenteral antibiotic treatment for a minimum of 10 days and were at least 12 years of age. Blood samples were tested for drug-dependent antibodies. Furthermore, interviews were conducted with the patients and their medical records were analyzed to obtain information regarding age, gender, forced expiratory volume in 1 second, genotype, bacterial colonization, previous history of allergies (including information about IgE serum level, allergic bronchopulmonary aspergillosis, and specific IgE screening for aeroallergens), parenteral antibiotic exposure, and hypersensitivity reactions to parenteral administered antibiotics (date, symptoms and treatment).

### **Results:**

Two out of 43 included patients developed piperacillin-dependent antibodies. One of the two developed a mild hemolysis due to the antibodies. Both had no clinical symptoms. No drug-dependent antibodies to other antibiotics were detected. The investigation of cumulative drug dose, IgE serum level, chronic colonization with *Pseudomonas aeruginosa*, forced expiratory volume in 1 second and hypersensitivity reactions to parenteral antibiotics did not reveal any significant risk factors for drug-induced autoimmune hemolysis.

## **Conclusions:**

Drug-dependent antibodies seem to develop more commonly in patients with cystic fibrosis. Additionally, drug-induced autoimmune hemolysis appears to be more frequent in this group of patients. Therefore, physicians should be aware of the risk of drug-induced hemolysis as an adverse reaction to intravenous antibiotics.

Thus, enabling them to readily identify autoimmune hemolysis. Close attention should be paid to piperacillin in this clinical setting. To investigate the presumably higher prevalence of piperacillin-dependent antibodies within this patient population, further studies are needed. Moreover, larger study cohorts are required to identify potentially significant risk factors.

# 1. Einleitung

## 1.1 Antikörper

Antikörper, auch Immunglobuline (Ig) genannt, sind Proteine und Teile der humoralen Immunabwehr. Sie werden von B-Zellen produziert. Im ersten Schritt muss die B-Zelle an ein Antigen binden, welches sie dann aufnimmt, zerlegt und wieder an ihrer Oberfläche präsentiert. Erkennt nun eine T-Helferzelle dieses Antigenmuster aktiviert sie über Zytokine die B-Zelle, was zu einer Vermehrung der B-Zelle und zur Bildung von Antikörpern führt. Zusätzlich kann jedoch auch eine T-Zell unabhängige Aktivierung der B-Zellen durch Oberflächenantigene von Bakterien erfolgen. Einmal mit einem Antigen konfrontiert, werden spezifische Informationen über das Antigenmuster im Immungedächtnis gespeichert und spezialisierte B-Zell-Gedächtniszellen gebildet. Diese sorgen dafür, dass es bei einer Reexposition mit dem Antigen innerhalb von kürzester Zeit zur Bildung von spezialisierten Antikörpern kommt<sup>2</sup>.

Es gibt verschiedene Wirkungsweisen von Antikörpern, um Antigene zu neutralisieren. Zum einen können Antigene direkt durch Bindung an den Antikörper blockiert werden, sodass sie ihr Effekt unterbunden wird. Zum anderen können die Antigene durch Antikörper „markiert“ werden, sodass sie von anderen Immunzellen erkannt und opsoniert werden können. Die dritte Variante besteht in der Aktivierung des Komplementsystems, das für eine Perforation und dadurch bedingte Zerstörung der Antigen-tragenden Zelle sorgt. Des Weiteren können Antikörper natürliche Killerzellen aktivieren, die daraufhin den Zelluntergang initiieren<sup>3,4</sup>.

Es existieren fünf Antikörper-Hauptklassen:

### **IgM**

IgM ist der erste Antikörper, der von B-Zellen produziert wird. Daher eignet es sich gut, um akute Ereignisse zu diagnostizieren. IgM aktiviert den klassischen Weg des Komplementsystems.

### **IgG**

IgG ist mit einem Anteil von 75% das häufigste Immunglobulin im Blutserum. Es entfaltet seine Wirkung unter anderem über die Aktivierung des Komplementsystems und über eine Fc-Rezeptor vermittelte Phagozytose.

## **IgA**

IgA kommt insbesondere in Schleimhäuten und Körpersekreten, wie Speichel oder Muttermilch, vor. Es verhindert dort das Eindringen von Erregern in den Körper oder zerstört diese.

## **IgD**

IgD ist im Serum nur in sehr geringen Konzentrationen vorhanden und hat eine sehr kurze Halbwertszeit. Die genaue Funktion ist bisher noch nicht bekannt.

## **IgE**

IgE ist im Serum in der geringsten Konzentration von allen Immunglobulinen enthalten, dennoch spielt es eine wichtige Rolle für das Immunsystem. Es ist hauptverantwortlich für die Abwehr von Parasiten. Darüber hinaus ist es mit der Auslösung von allergischen Reaktionen assoziiert.

## **Fc-Rezeptor**

Dieser Rezeptor verbindet das humorale mit dem zellulären Immunsystem. Hierbei bindet der Fc-Rezeptor von Immunzellen, wie Leukozyten, an die Fc-Rezeptorbindungsstelle der Antikörper. Die Auswirkungen der Bindung sind abhängig von der Funktion der jeweiligen Zelle, an die der Antikörper bindet<sup>5</sup>.

## **1.2 Medikamenteninduzierte Autoimmunhämolyse**

### **1.2.1 Inzidenz, Pathogenese**

Die medikamenteninduzierte Autoimmunhämolyse (drug-induced immune hemolytic anemia = DIIHA) ist eine seltene, aber schwerwiegende und lebensbedrohliche Nebenwirkung bei der Gabe von Medikamenten. Die vermutete Inzidenz liegt bei 1-4:1.000.000/Jahr<sup>6</sup>, wobei die Diagnosestellung auf Grund der variablen klinischen Präsentation schwierig (siehe Kapitel 1.3.1) und eine genaue Zahl deswegen schwer ermitteln werden kann. Die Medikamentengabe führt bei der DIIHA durch die Zerstörung von Erythrozyten (red blood cell = RBC) zu einem Hämoglobinabfall. Dies geschieht über die Bildung von medikamentenabhängigen Antikörper (drug-dependent antibodies = ddab) und/oder medikamenteninduzierten Autoantikörpern (autoantibodies = aab). Der erste vermutete Fall einer DIIHA wurde 1953 beschrieben<sup>7,8</sup>. Seitdem hat sich die Liste von Medikamenten, die eine DIIHA auslösen können, stetig erweitert. Bis

jetzt sind über 130 verschiedene Medikamente bekannt, die eine DIIHA provozieren können. Aktuell ist Piperacillin in Deutschland einer der häufigsten Auslöser<sup>6</sup>. Aber auch andere Antibiotika wie Cephalosporine der zweiten und dritten Generation oder platinhaltigen Chemotherapeutika wurden als häufige Auslöser beschrieben<sup>1,9,10</sup>. Der genaue Pathomechanismus der Antikörperbildung und Bindung der Antikörper an die Oberfläche der RBCs ist nicht bekannt. Folgende mögliche Pathomechanismen werden diskutiert<sup>8</sup> (Abbildung 1):

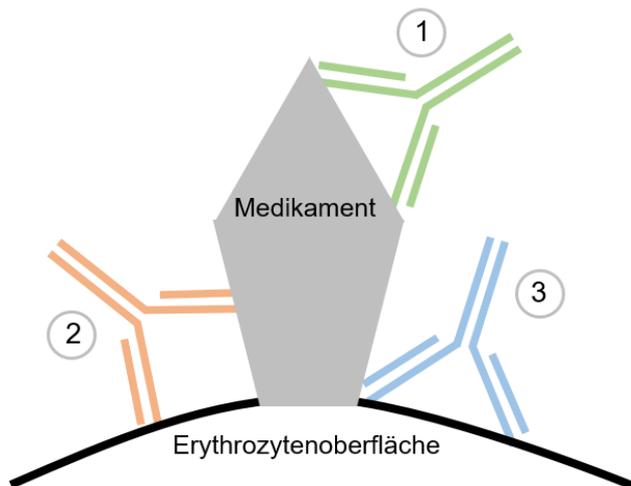


Abb. 1: Mögliche Hypothesen für medikamenteninduzierte Antikörperreaktionen

Das Medikament bindet an die Zellmembranoberfläche und führt dort vermutlich zur Bildung eines sog. „Neoantigens“. Die Antikörper können nun wirken über 1) Bindung an das Medikament, 2) Medikament und Zellmembran (1+2 = ddab), 3) hauptsächlich Zellmembran (aab)

Ddabs reagieren mit den RBCs nur in Anwesenheit des Medikaments. Hierbei kann es zu einer Aktivierung des Komplementsystems kommen, was zu einer fulminanten intravasalen Hämolyse mit rapidem, progressivem Verlauf bis hin zu Herz- und Kreislaufversagen führen kann. Ddabs können jedoch auch ohne Aktivierung des Komplementsystems mit RBCs interagieren und eine sogenannte extravasale Hämolyse mit mildereren klinischen Symptomen induzieren<sup>11,12</sup>. Im Kontrast dazu stehen die medikamenteninduzierten Autoantikörper, die auch in Abwesenheit des Medikaments mit den RBCs reagieren können. Sie lassen sich daher weder klinisch, noch serologisch von idiopathischen Autoantikörpern unterscheiden, wie sie z.B. bei der Autoimmunhämolytischen Anämie (AIHA) vom Wärmetyp vorliegen<sup>8,12</sup>.

## **1.3 Diagnostik einer medikamenteninduzierten Autoimmunhämolyse**

### **1.3.1 Klinische Symptome / Diagnose**

Die Diagnose einer DIIHA gestaltet sich im klinischen Alltag häufig schwierig. Die klinischen Symptome einer Hämolyse variieren zwischen den Patienten\*innen und sind abhängig von der Akuität und dem Schweregrad der Hämolyse einerseits und eventuellen Begleiterkrankungen der Patienten\*innen andererseits. Vor allem bei sekundären Symptomen einer Hämolyse wie z.B. Bauch- oder Rückenschmerzen wird eine möglichen DIIHA nicht primär als Ursache in Betracht gezogen, sodass es häufig zu Fehldiagnosen kommt<sup>13</sup>. Zudem kann eine extravasale Hämolyse mit nur milden klinischen Symptomen einhergehen, sodass diese bei ohnehin schon kranken Patienten\*innen nicht diagnostiziert wird. Weiter ist der Zeitpunkt des Auftretens sehr variabel. Bei erstmaliger Medikamentengabe bilden sich Antikörper frühestens nach dem sechsten Tag<sup>14</sup>. Bei einer stattgefundenen Sensibilisierung gegen ein Medikament kann sich eine DIIHA jedoch zu jedem Zeitpunkt nach Medikamentengabe manifestieren. Hinzu kommt, dass das Wissen über DIIHA unter medizinischem Fachpersonal wenig verbreitet ist und diese Differentialdiagnose teilweise nicht bedacht wird oder falsche Schlüsse gezogen werden. So werden Zustandsverschlechterungen eher neu angesetzten, denn zuvor gut vertragenen Medikamenten zugeschrieben<sup>13</sup>. Im immunhämatologischen Referenzlabor des Instituts für Transfusionsmedizin der Charité Berlin wurde eine Mortalität von 23% aller dort eingegangenen Fälle ermittelt<sup>6</sup>. Die bessere Aufklärung von medizinischem Fachpersonal, um eine frühzeitige Diagnostik und Therapie einer DIIHA zu gewährleisten, ist daher entscheidend für das Überleben der betroffenen Patienten\*innen.

### **1.3.2 Serologische Diagnostik**

Bei Verdacht auf medikamentenabhängige Antikörper wird das Plasma des\*der Patient\*in in Anwesenheit des verdächtigen Medikaments getestet. Es gibt jedoch keinen allgemeingültigen, standardisierten Ablauf für die Testung. Zudem ist die nötige Expertise für die Diagnostik nur in wenigen Speziallaboren vorhanden, was eine zuverlässige und flächendeckende serologische Diagnostik der DIIHA erschwert.

Falsch-negative Ergebnisse können zum Beispiel durch einen zu späten Testzeitpunkt entstehen. So können die Antikörper zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht mehr nachweisbar sein.

Andere Antikörper wiederum reagieren nur in Gegenwart der Medikamentenmetabolite. Da es für die Antibiotika zwar industrielle Metabolite gibt, diese aber teilweise schwer erhältlich sind, hat sich die Nutzung von Urin als ex-vivo Metabolit etabliert. Hierbei wird Urin von Patienten\*innen, die das entsprechende Antibiotikum einnehmen, im Testansatz verwendet, um eine mögliche Reaktion mit den ex-vivo Medikamentenmetaboliten festzustellen<sup>15,16</sup>. Daher sollte immer auch auf Medikamentenmetabolite getestet werden, um falsch-negative Ergebnisse zu vermeiden.

Eine weitere Schwierigkeit ist die fehlende serologische Unterscheidbarkeit von idiopathischen und medikamenteninduzierten Autoantikörpern. Daher ist eine autoimmunhämolytische Anämie (AIHA) eine häufige Fehldiagnose bei DIIHA<sup>6,13,14</sup>.

#### **1.4 Therapie der medikamenteninduzierten Autoimmunhämolyse**

Die Entscheidenden Maßnahmen, nachdem die Diagnose DIIHA gestellt wurde, sind das rechtzeitige Erkennen und das sofortige Absetzen des verantwortlichen Medikaments. Dies stellt die einzige kausale Therapieoption dar. Hierbei ist es irrelevant, ob es sich um eine intra- oder extravasale Hämolyse handelt. In der Regel bildet sich die Hämolyse nach Absetzen spontan wieder zurück. Das Erkennen des richtigen Medikaments ist jedoch in der klinischen Praxis bei Patienten\*innen unter Multitherapie nicht immer einfach. Je nach Schwere der Reaktion müssen die Patienten\*innen zusätzlich symptomatisch therapiert werden. Insbesondere eine intravasale Hämolyse führt zu einer schnellen klinischen Verschlechterung. Ein wichtiger Pfeiler bei der Behandlung ist die Volumengabe durch Erythrozytenkonzentrat-Transfusionen, um einem hämorrhagischen Schock vorzubeugen. Weitere notwendige Maßnahmen reichen von kardiopulmonalen Unterstützungsmaßnahmen wie Sauerstoffgabe, bis hin zur Überprüfung und Unterstützung der Nierenfunktion, da eine gefürchtete Komplikation die akute tubuläre Nekrose ist. Häufig werden Steroide intravenös verabreicht, es gibt jedoch aufgrund eines fehlenden Nutznachweises keine allgemeine Empfehlung dazu. Einzelne Fallberichte empfehlen ebenfalls die intravenöse Gabe von Immunglobulinen<sup>17-19</sup>.

## **1.5 Pathophysiologie und klinisches Bild der Mukoviszidose**

### **1.5.1 Pathogenese**

Bei der in dieser wissenschaftlichen Arbeit beschriebenen Kohorte handelt es sich um Patienten mit Mukoviszidose, auch Zystische Fibrose (CF) genannt. Bei dieser Erkrankung handelt es sich um eine autosomal-rezessive Stoffwechselkrankheit, bei der ein Gendefekt im "Zystische-Fibrose-Transmembran-Regulator-(CFTR-)Gen" auf dem langen Arm von Chromosom 7 vorliegt<sup>20</sup>. Die Mutationen werden in sechs Klassen unterteilt. Je nach Klasse kommt es zu keiner CFTR-Protein Bildung (Klasse I), zu fehlgefalteten CFTR-Proteinen (Klasse II), zu einer verminderten Öffnungswahrscheinlichkeit aufgrund einer gestörten Kanalregulation (Klasse III), zu einer verminderten Kanaldurchgängigkeit (Klasse IV), zu einer verminderten CFTR-Synthese (Klasse V) oder zu einer verminderten Membranstabilität (Klasse VI)<sup>21</sup>. Die Folge ist die verminderte oder fehlende Sekretion von Chloridionen. Daraus resultiert die Bildung von zähem Sekret in allen exokrinen Drüsen. Beeinträchtigt sind unter anderem die oberen und unteren Atemwege, der Gastrointestinaltrakt, allen voran die Leber und das Pankreas, sowie die Fertilität. Die pulmonale Erkrankung determiniert primär die Morbidität und Mortalität. In ca. 63% der Todesfälle liegt eine respiratorische oder kardiorespiratorische Ursache vor<sup>22</sup>.

Ein weiteres Problem ist die chronische Besiedelung mit pathogenen Erregern, allen voran *Pseudomonas aeruginosa*, und die chronische Entzündung. Beides führt zu einer Schädigung des zilienträgenden Epithels der Atemwege mit Abnahme oder vollständiger Zerstörung der mukoziliären Clearance. Mögliche Folgen sind Bronchiektasien, Hämoptysen, eine Destruktion des Lungengewebes mit einer kontinuierlichen Abnahme der Lungenfunktion und eine erhöhte Mortalität<sup>23-25</sup>.

Ein wichtiger klinischer Parameter ist daher die gemessene expiratorische Einsekundenkapazität (FEV1) der Patienten\*innen. Je besser die FEV1, desto besser ist die Lungenfunktion. Die FEV1 ist der wichtigste Endpunkt in klinischen Studien im Kontext von Mukoviszidose.

### **1.5.2 Epidemiologie**

Erstmals wurde in den 30iger Jahren über Zystische Fibrose in der Fachliteratur berichtet<sup>26</sup>. Anfang der 50iger wurde dann der Zusammenhang zwischen einem erhöhten Chloridgehalt im Schweiß und der Mukoviszidose beschrieben<sup>27</sup>.

Mittlerweile sind mehr als 2000 Mutationen bekannt<sup>28</sup>. Die Krankheit ist die häufigste erbliche, lebensverkürzende Stoffwechselerkrankung in der kaukasischen Bevölkerung Europas und der USA<sup>29</sup>. Die Erkrankungshäufigkeit liegt bei ca. 1:2500 Geburten in Großbritannien und bei ca. 1:4000 in den USA<sup>28,30</sup>. In Deutschland ist die Häufigkeit mit 140 Neudiagnosen 2015 etwas geringer. Aktuell leben hier geschätzt circa 8000 Menschen mit Mukoviszidose<sup>31</sup>. Weltweit wird die Zahl der Patienten auf ca. 70.000 geschätzt, wobei die tatsächliche Anzahl vermutlich höher liegt, da in einigen Regionen keine Register existieren<sup>32</sup>.

### 1.5.3 Diagnose

Die mangelnde Rückresorption von Chlorid aus dem Schweiß sorgt für dessen erhöhte Chloridkonzentration. Erstmals wurde sich dies Ende der 50iger Jahre zu Nutze gemacht und ein Test zur Messung der Chloridkonzentration im Schweiß beschrieben<sup>33</sup>. Dieser Schweißtest ist bis heute der Goldstandard in der Diagnostik der Mukoviszidose. Chloridionenkonzentrationen von über 60 mmol/l im Schweißtest bestätigen den Verdacht. Werte zwischen 30-59 mmol/l bedürfen weiterer Abklärung. Bei Werten unter 30 mmol/l ist die Diagnose sehr unwahrscheinlich. Seit September 2016 werden Kinder im Rahmen des Neugeborenen Screenings in Deutschland auf CF untersucht. Als Marker dient das Immunreaktive Trypsin (IRT), welches bei Patienten mit CF im Blut erhöht ist. Bei pathologischen Werten größer/gleich der 99. Perzentile schließt sich ein Test auf Pankreatitis Assoziiertes Protein (PAP) an. Das PAP ist durch die Pankreasschädigung im Rahmen der CF ebenfalls erhöht<sup>34</sup>. Werte größer/gleich der 87,5. Perzentile gelten als pathologisch und werden in der dritten Stufe des Neugeborenen Screenings weiter abgeklärt. Hierbei handelt es sich um einen Gen-Test, der die 31 häufigsten CFTR-Mutationen in Deutschland umfasst. Lässt sich mindestens eine Mutation nachweisen, gilt das Neugeborenen Screening als positiv. Bei einem IRT-Wert ab der 99,9. Perzentile gilt das Screening darüber hinaus ohne weiterführende Untersuchungen als automatisch positiv<sup>35</sup>.

Die abschließende Bestätigungsuntersuchung bei einem positivem Neugeborenen Screening ist der Schweißtest. Je früher die Diagnose gestellt wird, desto früher kann mit einer Behandlung begonnen werden, was sowohl die Lebenserwartung als auch die Lebensqualität erhöht<sup>36</sup>.

In nicht-gescreenten Populationen ist die Diagnose CF aufgrund der unterschiedlichen klinischen Manifestation der verschiedenen CFTR-Fehlfunktionen schwierig<sup>28</sup>. Ergibt

sich hierbei der klinische Verdacht auf CF wird im Gegensatz zum Neugeborenen-Screening sofort ein Schweißtest durchgeführt und dann gegebenenfalls ein Gentest angeschlossen.

#### **1.5.4 Therapie der CF**

Die Therapie der Mukoviszidose folgt einem multimodalen Behandlungskonzept. Sinnvoll ist hierbei die Betreuung in einem Schwerpunktzentrum, um eine interdisziplinäre Behandlung zu gewährleisten und dem klinisch vielfältigen Bild der Mukoviszidose gerecht zu werden. Schwerpunkte sind hierbei die Behandlung der Malabsorption, der beeinträchtigten mukoziliären Clearance, sowie die antiinfektive Therapie. Das Wissen über den Genotyp des Patienten gewinnt an immer größerer Bedeutung, da erste mutationsspezifische CFTR-modulierende Therapien bereits zugelassen sind und kurz- bis mittelfristig mit einer Vielzahl von weiteren CFTR-modulierenden Therapien zu rechnen ist<sup>37</sup>. Ergänzt wird das Behandlungskonzept durch eine regelmäßige Physiotherapie zur Stärkung der Atemmuskulatur und eine begleitende psychologische Betreuung<sup>36</sup>.

##### **1.5.4.1 Antiinfektive Therapie**

Die meisten Patienten\*innen mit CF leiden unter chronischen Infektionen mit Staphylokokken oder *Pseudomonas aeruginosa*. Studien konnten einen Zusammenhang zwischen der chronischen Besiedlung mit *Pseudomonas aeruginosa* und einer schnelleren Abnahme der Lungenfunktion, häufigeren pulmonalen Exazerbationen und erhöhter Mortalität zeigen<sup>25</sup>. Eine frühe Detektion und Behandlung sind daher ausschlaggebend für den Behandlungserfolg der CF.

Während bei jüngeren Kindern vor allem *Staphylokokkus aureus* der häufigste isolierte Keim ist, nimmt die Anzahl an *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen mit steigendem Alter zu<sup>25,38</sup>. Im Rahmen der Erkrankung treten oftmals weitere gramnegative, stäbchenförmige Bakterien wie beispielsweise *Acromobacter xylosoxidans*, *Stenotrophomonas maltophilia* oder *Burkholderia* auf. Die frühe antibiotische Behandlung steht im Mittelpunkt der Therapie, um langfristig eine möglichst gute Lungenfunktion zu erhalten.

Seit Mitte der 80iger Jahre hat sich dafür die 14-tägige intravenöse Antibiotikatherapie bei Patienten\*innen mit CF als antiinfektive Therapie etabliert<sup>39</sup>. Seit Einführung der inhalativen *pseudomonas*-wirksamen Antibiotikatherapien orientiert sich die Entscheidung, eskalierend eine intravenösen Antibiotikatherapie zu beginnen, weniger

an einem starren Schema, sondern zunehmend an den Symptomen der Patienten\*innen. Der Behandlungszeitraum variiert von 10 bis zu 21 Tagen. Bei klinischer Indikation oder multiresistenten Keimen können aber auch längere Therapiezeiträume angebracht sein. Im Falle eines kürzeren Behandlungszeitraums besteht die Gefahr einer schlechteren Infektionsbekämpfung und einem daraus resultierenden erhöhten Risiko für eine Lungenschädigung. Gleichzeitig wird durch eine kürzere Therapie allerdings das Risiko von Überempfindlichkeitsreaktionen auf die angewandten Medikamente reduziert<sup>40</sup>. Ein längerer Zeitraum ohne notwendige Indikation verbessert nicht den Erfolg der Behandlung und erhöht das allergische Risiko<sup>40</sup>.

Durch den häufigen Einsatz von Antibiotika bilden sich zusätzlich Resistenzen aus. Eine Eradikation der chronischen Besiedelung mit pathogenen Erregern wird in der Regel nicht erreicht. Aus diesem Grund ist es bei Erreger-Erstnachweis essentiell, insbesondere bei *Pseudomonas aeruginosa*, eine Eradikation anzustreben, um die Lebenserwartung zu verlängern<sup>25,41</sup>. Zudem ist die Kontrolle der Exazerbation durch eine regelmäßige Antibiotikatherapie entscheidend für den weiteren Verlauf. Als Eckpfeiler der antibiotischen Therapie haben sich Aminopenicilline und Acylureidopenicilline in Kombination mit beta-Laktamaseinhibitoren, Cephalosporine der Generation 3b und Aminoglykoside etabliert. Aufgrund der oft schlechten Bioverfügbarkeit systemisch verabreichter Antibiotika im Lungenparenchym stehen inhalative Antibiotika als ergänzende Therapie zur Verfügung. Dadurch wird eine höhere Antibiotikakonzentration im Lungengewebe erreicht und die systemische Toxizität reduziert<sup>42</sup>. Zudem können so Krankenhausaufenthalte reduziert werden. Aktuell sind Tobramycin, Colistin, Levofloxacin und Aztreonam als Inhalationsmedikamente zugelassen.

Zusätzlich erfolgt eine anti-inflammatorische Behandlung, um Lungengewebsumbau und -zerstörung vorzubeugen und so eine Abnahme der Lungenfunktion zu verhindern. Die für diesen Zweck gebräuchlichsten Medikamente umfassen systemische und inhalative Corticosteroide sowie Ibuprofen<sup>43</sup>. Die für diesen Zweck angewandten Corticosteroide sind jedoch nicht für diese Indikation zugelassen und sollten nicht routinemäßig inhaliert werden<sup>44</sup>. Ibuprofen zeigt vor allem bei Kindern eine Verlangsamung des Fortschreitens der Lungenerkrankung<sup>45</sup>.

### 1.5.5 Komplikationen der Therapie von Mukoviszidose

In den letzten Jahren ist durch die verbesserten Therapiemöglichkeiten die durchschnittliche Lebenserwartung von Patienten\*innen mit CF deutlich angestiegen. So liegt sie aktuell bei 40 Jahren und für die heutigen Neugeborenen wahrscheinlich bei 55 Jahren<sup>46</sup>. Ein Faktor hierfür sind die regelmäßigen intravenösen Antibiotikabehandlungen, die verabreicht werden, um die chronischen, pulmonalen Infektionen zu kontrollieren und Exazerbationen zu verhindern oder abzumildern. In dieser Studienkohorte konnten kumulativen Lebenszeitdosen von über 1kg pro Antibiotikum pro Patient\*in beobachtet werden. Bei den beiden häufigsten verabreichten Antibiotika wurden Spitzenwerte von über 3kg und 4kg bei einzelnen Patienten\*innen in dieser Studienkohorte erreicht (Abbildung 2).

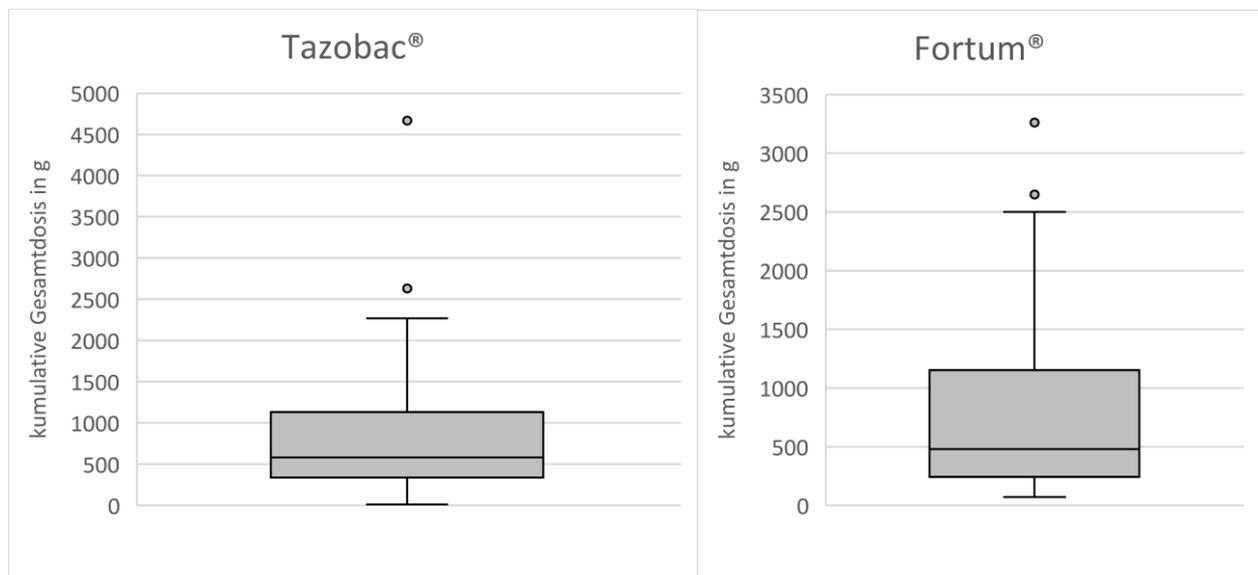


Abb. 2: Darstellung der errechneten kumulativen Lebenszeitdosen

Abgebildet sind die kumulativen Dosen von zwei der am häufigsten verabreichten Antibiotika, Tazobac® (Piperacillin/Tazobactam) und Fortum® (Ceftazidim), innerhalb der Studienkohorte.

Die verabreichten Antibiotika variieren dabei je nach Erregerspektrum. Die gebräuchlichsten Antibiotika sind Acylureidopenicilline, Cephalosporine der Generation 3b und Aminoglykoside. Im klinischen Alltag kommt es häufig zu Überempfindlichkeitsreaktionen auf parenteral verabreichte Antibiotika (ÜRPA). Diese stellen ein erhebliches Problem bei der Behandlung der Patienten\*innen dar. Die häufigsten Symptome im Falle einer Überempfindlichkeitsreaktion sind Pruritus und dermatologische Symptome wie Exantheme<sup>47</sup>, aber auch bronchopulmonale Obstruktion und Medikamentenfieber. Aufgrund der ÜRPAs kommt es häufig zu

Einschränkungen und einem Wechsel oder Abbruch der Therapie. Des Weiteren legen bisher veröffentlichte Fallstudien die Vermutung nahe, dass eine medikamenteninduzierte Autoimmunhämolyse besonders häufig durch Piperacillin hervorgerufen wird und dass Patienten\*innen mit CF auffällig häufig davon betroffen sind<sup>1,48</sup>. Weitere Fallberichte unterstützen diese Vermutung<sup>19,49-52</sup>. Bei Auftreten dieser lebensbedrohlichen Reaktion im Therapieverlauf wird aktuell eine lebenslange Karenz des betroffenen Antibiotikums empfohlen. Dies schränkt allerdings langfristig die Therapie der chronischen Entzündung weiter ein.

## 2. Fragestellung und Motivation

Aufgrund der chronischen Besiedlung mit pathogenen Erregern werden Patienten\*innen mit CF mit hohen Dosen von parenteralen, oralen und inhalativen Antibiotika behandelt. Die am häufigsten verwendeten Antibiotika sind Penicilline, Cephalosporine und Aminoglykoside. Im klinischen Alltag werden dabei regelmäßig Überempfindlichkeitsreaktionen im Zusammenhang mit intravenös verabreichten Antibiotika beobachtet<sup>47</sup>. Diese stellen ein großes Problem im therapeutischen Management der Krankheit dar. Häufig ist die klinische Konsequenz einer Überempfindlichkeitsreaktion ein Abbruch oder Wechsel der Therapie. Die immunologischen Ursachen bleiben jedoch meistens ungeklärt. Eine lebensbedrohliche Komplikation bei der Behandlung mit intravenösen Medikamenten ist die Bildung von Thrombozytopenien, die zu einer akuten, klinisch lebensbedrohlichen Hämolyse bis hin zum hämorrhagischen Schock führen können.

Grundlage für die Durchführung dieser Studie war die Beobachtung des Instituts für Transfusionsmedizin Charité Berlin, dass mehr als 50% der in ihrem Labor serologisch bestätigten Fälle von Piperacillin-abhängigen Antikörpern und ungefähr 30% der publizierten Fälle Patienten\*innen mit der Grunderkrankung Mukoviszidose betrafen<sup>1</sup>. Zudem wurde erstmals bei einer Patientin mit CF über eine milde, Piperacillin-abhängige hämolytische Anämie berichtet, die sich klinisch asymptomatisch präsentierte und keiner therapeutischen Intervention bedurfte<sup>11</sup>.

Die hier vorliegende prospektive Arbeit soll zur Klärung beitragen, ob medikamentenabhängige erythrozytäre Antikörper bzw. medikamenteninduzierte Autoimmunhämolysen bei Patienten\*innen mit CF häufiger auftreten als bisher für die Allgemeinheit vermutete Wahrscheinlichkeit von 1-4:1.000.000/Jahr<sup>6</sup> und ob es sich daher um eine besonders gefährdete Patientengruppe handelt. Des Weiteren wurde untersucht, ob es häufiger zu subklinischen Verläufen kommt, die nicht erkannt oder fehlinterpretiert werden<sup>53</sup>.

Zusätzlich wurden Daten zu ÜRPAs erhoben. Unter anderem wurden Reaktionen auf Antibiotika und bisherige Therapieregime dokumentiert. Des Weiteren wurden Daten zu Mukoviszidose Verlaufsparemtern, wie FEV1 und Pseudomonasbesiedlung, und zum IgE, als Marker der Typ-I-Allergie und Atopiemarker, erhoben. Die gesammelten Daten dienen dazu, im Falle einer Antikörperbildung, Aussagen zu eventuellen Prädiktoren treffen zu können.

Die folgende Arbeit soll ebenfalls dazu beitragen, mögliche diagnostische Algorithmen zu entwickeln, um in Zukunft frühzeitiger und zuverlässiger eine DIIHA zu diagnostizieren.

## **3. Methodik**

### **3.1 Durchführung am Christiane Herzog-Zentrum und dem Institut für Transfusionsmedizin Charité Berlin**

Der klinische Teil der vorliegenden Studie wurde auf Station 15 im Christiane Herzog-Zentrum für Mukoviszidose im Virchow Klinikum der Charité durchgeführt. Das Zentrum ist spezialisiert auf die Behandlung von Kindern und Erwachsenen mit CF. Es bietet sowohl ambulante als auch stationäre Betreuung an, sodass eine umfassende Versorgung der Patienten\*innen gewährleistet ist. Ebenfalls ist der Station ein Studienzentrum angegliedert, um den Patienten\*innen die Möglichkeit zu bieten, aktiv an der Weiterentwicklung neuer therapeutischer Ansätze mitzuwirken. Dieser Umstand war hilfreich bei der Rekrutierung der Studienteilnehmer\*innen für diese Arbeit.

Die diagnostische Untersuchung auf medikamentenabhängige Antikörper erfolgte am Institut für Transfusionsmedizin - Charité Virchow Klinikum. Das Institut umfasst ein breites Spektrum an hämatologischen und immunhämatologischen Laboreinrichtungen, Ambulanzen und Forschungsabteilungen. Unter anderem dient es Referenzlabor für spezielle immunhämatologische Fragestellungen mit einem Einzugsgebiet aus ganz Deutschland.

Durch die räumliche Nähe der einzelnen Abteilungen ließ sich ein reibungsloser Studienablauf gewährleisten und auftretende Fragen fachübergreifend klären.

### **3.2 Einschlusskriterien der Studienpopulation**

Die Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin hat für die hier vorgestellte Studie ein positives Votum gegeben (Nummer: EA2/079/15). Aktuell werden circa 350 Patienten\*innen mit Mukoviszidose im Christiane Herzog-Zentrum betreut und behandelt. Aus dieser Patientengruppe wurde die vorliegende Kohorte rekrutiert. Um in die Studie eingeschlossen zu werden, mussten die Teilnehmer\*innen älter als 12 Jahre sein und eine intravenöse (iv) Antibiotikatherapie über mehr als 10 Tage erhalten. Ausschlusskriterium war eine erhaltene Organtransplantation und eine schon dokumentierte DIIHA. Patienten\*innen, die eine iv Therapie Zuhause durchführten, wurden ebenfalls eingeschlossen.

58 Patienten\*innen erfüllten die Kriterien und unterschrieben, nach Aufklärung über mögliche Risiken, die Einverständniserklärung. Bei 15 Patienten\*innen kam es jedoch aufgrund fehlender Blutentnahmen oder kürzerer Behandlungsdauer zu einem

Ausschluss aus der Auswertung. Im Verlauf des Studienzeitraums wurde bei 6 Patienten\*innen mehrmals eine iv Therapie durchgeführt. Insgesamt wurden somit Daten von 52 Antibiotikazyklen bei 43 Patienten\*innen ausgewertet.

### **3.3 Datenerhebung**

Alle geeigneten Patienten\*innen wurden zu Beginn Ihres Aufenthaltes über die Studie und die möglichen Risiken aufgeklärt und mussten mit Ihrer Unterschrift Ihr Einverständnis erklären.

Es wurden die Stammdaten der Patienten\*innen, Informationen zu den Behandlungskursen und Reaktionen auf parenterale Antibiotika erhoben.

Bei der aktuellen Datenerhebung zu den Stammdaten, Behandlungskursen und den Überempfindlichkeiten gegen parenterale Antibiotika wurde auf die etablierte Datenbankstruktur einer vorangegangenen Dissertation „Überempfindlichkeit gegen parenterale Antibiotika bei Patienten mit Mukoviszidose“ zurückgegriffen und diese im gleichen Stile fortgeführt<sup>54</sup>.

Ein Teil (n=24) der aktuellen Kohorte (n=43) wurde schon in dieser Dissertation eingeschlossen und hinsichtlich Überempfindlichkeitsreaktionen dokumentiert. Für die aktuelle Studie wurden ausschließlich deren Daten zu Behandlungskursen und ÜRPAs bis 2011 übernommen. Alle weiteren Daten ab diesem Zeitpunkt wurden von mir neu erhoben. Die prospektiven Daten zur Hämolyse und die Labordaten wurden für alle eingeschlossenen Patienten\*innen vom Autor persönlich neu generiert.

#### **3.3.1 Stammdaten der Patienten\*innen**

Mit den Patienten\*innen wurde bei Aufnahme ein strukturiertes Interview geführt und gemeinsam ein standardisierter Fragebogen zu Medikamentenüberempfindlichkeiten (ENDA-Fragebogen<sup>55</sup>) ausgefüllt, der als validiertes Dokumentationsinstrument gilt.

Beim Interview wurde nach folgenden Punkten gefragt:

- Überempfindlichkeitsreaktionen gegen parenteral verabreichte Antibiotika
- Management der Reaktion
- kurze persönliche Anamnese z.B. Allergien, medizinische Vorgeschichte
- Familienanamnese zu Allergien/Medikamentenüberempfindlichkeit
- Zusätzlich zum Fragebogen Besiedlungsstatus und Alter bei Erstdiagnose

Anschließend wurden die Patientenakten ausgewertet, um die Angaben aus den Fragebögen zu validieren und um folgende zusätzliche Informationen zu ergänzen:

- bisherige iv Antibiotikatherapien
- Aktuelle FEV1
- CFTR-Mutation
- Alter bei Erstdiagnose
- Alle bisherigen parenteralen Antibiotikatherapien
- Stattgefundene Überempfindlichkeitsreaktionen gegen parenterale Antibiotika
- Allergie- und Atopiediagnosen, inklusive
  - aktuelles gesamt IgE
  - spezifisches IgE gegen Aspergillus
  - stattgefundene oder aktuelle allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA)
  - aktuelles IgE gegen Aeroallergen (SX1)
- Chronische Besiedlung (definiert als 2 Nachweise/Jahr) mit Pseudomonas aeruginosa-, Stenotrophomonas maltophilia-, Achromobacter xylosoxidans-, Methicillin-resistent Staphylococcus aureus-, Staphylococcus aureus-, Haemophilus influenza-, Burkholderia

Diese Stammdaten wurden anhand einer persönlichen Identifikationsnummer pseudonymisiert.

Nicht alle erhobenen Parameter wurden ausgewertet und im weiteren Verlauf der Doktorarbeit berücksichtigt.

### **3.3.2 Behandlungskurse mit parenteralen Antibiotika**

Die Stammdaten wurden ergänzt um die jeweiligen Behandlungskurse der Patienten\*innen. Die Antibiotikabehandlungskurse wurden mit Hilfe der persönlichen Identifikationsnummer, dem Startdatum und dem jeweiligen Antibiotikum eindeutig zugewiesen. Folgende Daten liegen pro Kurs und Antibiotikum vor:

- Persönliche Identifikationsnummer
- Datum des Kursbeginns
- Medikament
- Tagesdosis

- Dauer des Kurses in Tagen
- Kombinationstherapie (ja/nein)

### **3.3.3 Überempfindlichkeitsreaktionen auf parenterale Antibiotika**

Pro ÜRPA lagen vor:

- persönliche Identifikationsnummer
- Datum des Kursbeginns
- Medikament
- Tag des Kurses bei Auftreten der ÜRPA
- Zeitlicher Bezug zur Infusion der ÜRPA (sofort, weniger als eine Stunde, mehr als eine Stunde)
- Lebensbedrohlich (ja/nein)
- Behandlung der Reaktion bzw. Fortsetzen mit antiallergischer Medikation oder Ändern oder Absetzen der antibiotischen Therapie
- Symptome (bis zu fünf verschiedene) eindeutig gekennzeichnet und jeweils als separater Eintrag erfasst.

#### **3.3.3.1 Definition und Dokumentation von ÜRPA**

Eine ÜRPA wurde in der Datenerhebung definiert als jegliche Form der Überempfindlichkeitsreaktion auf ein Antibiotikum in Zusammenhang mit einer intravenösen Antibiotikabehandlung. Diese Informationen wurden entweder dem Arztbrief oder dem erhobenen Fragebogen entnommen.

Im ersten Schritt wurden unselektiert alle auftretenden Symptome erfasst. Daraufhin wurden diese zu Symptomgruppen zusammengefasst. Um ein Antibiotikum bei einer Kombinationstherapie als Auslöser zu identifizieren, wurde zum einen das Auftreten der Reaktion im zeitlichen Zusammenhang zur Gabe und/oder zum anderen das Vertragen der anderen Antibiotika nach Absetzen des verdächtigten Antibiotikums bewertet. Wenn möglich wurde auch der Tag des Kurses, an dem die Reaktion stattfand, vermerkt.

## **3.4 Risikofaktorerhebung**

Da die FEV1 und Pseudomonasbesiedlung zu den wichtigsten Verlaufsparemtern der Mukoviszidose gehören und das gesamt IgE ein wichtiger Atopie- und Typ-I-Allergiemarker ist, wurden diese Parameter auf ihre Bedeutung in Hinblick auf medikamentenabhängige Antikörperbildung und mögliche Autoimmunhämolyse hin analysiert. Ebenfalls wurden die ÜRPAs, aufgrund ihrer großen klinischen Bedeutung

bei der Behandlung der Mukoviszidose, und die kumulative Dosis von Piperacillin/Tazobactam, als häufigstem Auslöser einer ÜRPA und DIIHA, als Risikofaktoren untersucht. Aufgrund der unterschiedlich weit zurückreichenden Dokumentation Behandlungskurse, wurde bei der kumulativen Dosis nur der Zeitraum seit 2013 betrachtet, um ein möglichst aussagekräftiges Ergebnis zu erzielen.

### **3.5 Probengewinnung (Labordiagnostik)**

Die Studienteilnehmer\*innen wurden mit einer mindestens zehn tägigen intravenösen Antibiotikatherapie behandelt (Therapieschema siehe 1.5.4.1) und wurden begleitend auf medikamentenabhängige Antikörper untersucht.

Den Teilnehmenden wurde an Tag 3 (+1) und an Tag 12 (+/-2) Blut (2\*6ml (Ethyldiamintetraacetat) EDTA Röhrchen) abgenommen. Zusätzlich zu den Blutentnahmen wurde an Tag 3 eine Probe (1\*10ml) des 24h Sammelurin entnommen. Die Blutproben von Tag 3 (+1), Tag 12 (+/-2) und das Urinröhrchen wurden umgehend im Kühlschrank bei 6°- 8°C gelagert und innerhalb von 72h im Labor auf medikamentenabhängige Antikörper untersucht. Des Weiteren wurde vor Beginn der Therapie und zu den oben genannten Zeitpunkten ein EDTA-Röhrchen (3ml) und ein Serum-Röhrchen (3ml) zur Bestimmung des Hämoglobinwerts (Hb) sowie der Hämolyseparameter Laktatdehydrogenase (LDH), Haptoglobin und Retikulozytenzahl abgenommen. Falls die Antibiotika bei klinischem Nichtansprechen oder aufgrund von Überempfindlichkeitsreaktionen gewechselt werden mussten, erfolgten erneute Blutentnahmen für die weitere Diagnostik.

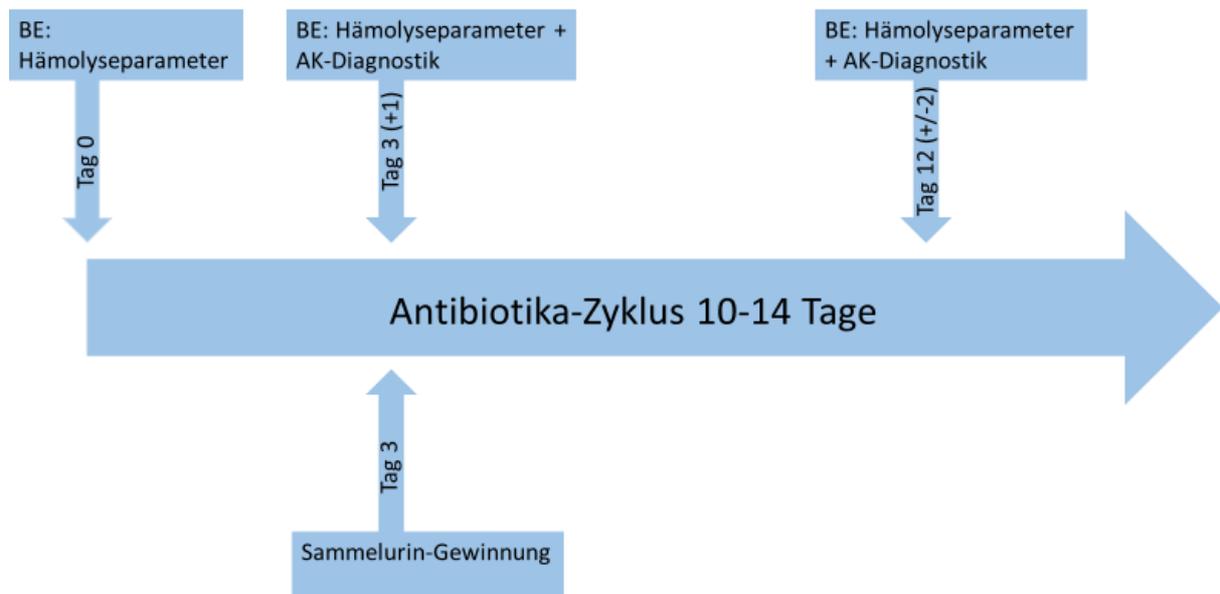


Abb. 3: Zeitlicher Ablauf der Blutentnahmen (BE) und Probengewinnung für die Labordiagnostik

## 3.6 Laboranalyse

### 3.6.1 Hämolyseparameter

Die Bestimmung von Hb und der Hämolyseparameter LDH, Haptoglobin und Retikulozyten wurde im Labor Berlin, welches für die Routinelabordiagnostik der Charité verantwortlich ist, durchgeführt. Die Blutwerte von Tag 0 galten als Referenzwerte für den weiteren Verlauf. Im Falle einer Hämolyse wären ein erniedrigter Hb, ein erhöhtes LDH, ein erniedrigtes Haptoglobin und mit zeitlicher Verzögerung nach Hämolysebeginn eine erhöhte Retikulozytenzahl zu erwarten.

### 3.6.2 Antikörpersuchtest

Am Anfang der Blutprobenauswertung wurde immer ein Antikörpersuchtest durchgeführt. Dieser bestand aus einem indirekten Coombstest (IAT) und einem direkten Coombstest (DAT). Beim DAT wurde untersucht, ob die RBCs mit Antikörpern beladen waren. Bei einem positiven Ergebnis wurde anschließend genauer differenziert, um welche Immunglobulinklasse es sich handelte. Durch den IAT wurde ermittelt, ob sich im Patientenplasma Antikörper gegen RBCs befanden. Bei positivem Ergebnis wurden weitere Test zur Klärung der Antikörperspezifität durchgeführt.

Abschließend wurden alle Blutproben auf medikamentenabhängige Antikörper untersucht.

### **3.6.2.1 Direkter-/Indirekter-Coombstest**

Der DAT und der IAT sind Routineverfahren in der immunhämatologischen Diagnostik. Der IAT dient dem Nachweis von Antikörpern im Plasma gegen Antigene auf RBCs. Dafür werden Patientenplasma und Testerythrozyten mit bekanntem Oberflächenantigenmuster inkubiert und anschließend zentrifugiert. Die Aussagekraft bezüglich spezieller Antigenmuster ist im Falle eines positiven Testergebnisses jedoch zu gering, sodass weitere Antigendifferenzierungen angeschlossen werden müssen (siehe unten). Der DAT weist Erythrozyten-gebundene Antikörper nach. Dafür wird eine Patientenerythrozytenlösung mit Coombsserum (Antihumanglobulinen) inkubiert und anschließend zentrifugiert. Für eine genauere Unterscheidung der Immunglobulinklassen müssen jedoch weitere Tests angeschlossen werden. Für beide Tests wurden sogenannte Liss/Coombs-Karten (Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) verwendet. Der Vorteil besteht darin, dass bei diesen Karten das Coombsserum schon in den Säulen der Karten enthalten ist und nicht mehr extra hinzugefügt werden musste. Im Coombsserum sind Antihumanglobuline enthalten, die aus Kaninchen-Serum gewonnen werden. Im Folgenden werden die Abläufe der beiden Tests detaillierter dargestellt:

Beide Tests erfolgte im Gelkartensystem (Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) im manuellen Ansatz. Zuerst wurde eine Liss/Coombs-Karte für den IAT vorbereitet. Dafür wurde in je eine Säule der Karte ein Tropfen (50µl) mit einer 1%-Testerythrozytenlösung (ID-DiaCell 3-Suchzellen von Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) getropft. Anschließend kamen 25µl Patientenplasma hinzu. Das Plasma wurde gewonnen, indem das EDTA-Röhrchen für drei Minuten bei 3980 Umdrehungen pro Minute (rounds per minute = RPM) zentrifugiert und danach der Überstand abgehoben wurde. Für den DAT wurden die RBCs des Patienten mit ID-Diluent 2 (Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) auf eine 1%-Lösung verdünnt und 50µl in eine freie Liss/Coombs-Säule getropft. Sowohl der IAT als auch der DAT wurden 15 Minuten bei 37°C inkubiert und danach für zehn Minuten mit 910 RPM zentrifugiert. Der Test wurde als negativ gewertet, wenn alle Zellen sich nach dem Zentrifugieren am Boden der Karte befanden. Bei positivem Ausfall kam es zur Antikörper-Antigenbindung

(Agglutination der Erythrozyten) und die Agglutinate wurden im Gel zurückgehalten. Die Stärke der Reaktion wird standardmäßig von 0 bis 4 eingeteilt, je nach der Menge und Lokalisation der Erythrozyten in der Gelsäule (Abbildung 4).



Abb. 4: Beispielhafte Darstellung unterschiedlicher Reaktionsstärken  
II -> 0 (negativ), DCT (DAT) -> 4 (stark positiv)

### 3.6.2.2 Weiterführende Differenzierung

#### Papaintest

Im Falle eines positiven IATs und/oder der DATs, wurde ein Papaintest (ID-DiaCell papainisierte 3-Suchzellen von Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) durchgeführt. Dieser Test bietet eine höhere Sensitivität für erythrozytäre Autoantikörper und bestimmte Alloantikörper als der IAT, sodass bei einem negativem IAT und gleichzeitig positivem DAT oftmals doch eine Aussage über die Antigenspezifität der Antikörper getroffen werden konnte. Hierfür wurden die papainisierten 3-Suchzellen, ebenfalls mit bekanntem Antigenmuster, auf eine Natriumchlorid (NaCl)- Karte (Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) getropft und je Säule 25µl Patientenplasma hinzugefügt. Die Testkarte wurde wieder bei 37°C für 15 Minuten inkubiert und für 10 Minuten mit 910 RPM zentrifugiert.

#### 11er-Differenzierung

Bei einem positiven IAT wurde zusätzlich eine genauere Antigendifferenzierung durchgeführt, um herauszufinden gegen welche oberflächlichen, erythrozytären Antigenmuster die Antikörper gerichtet sind. Hierfür wurden spezielle Erythrozyten mit spezifischem Antigenmuster (ID-DiaPanel von Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) in die Säulen der Liss/Coombs Karten getropft und 25µl Plasma hinzugefügt. Die Karten mussten wie bereits beschrieben (3.6.2.1) inkubiert und zentrifugiert werden.

### **Papainisierte 11er-Differenzierung**

Bei einem positiven Papaintest wurde eine papainisierte 11er-Differenzierung (ID-DiaPanel-P von Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) durchgeführt. Es wurde, wie zuvor bei der Antigendifferenzierung beschrieben (3.6.2.1), verfahren. Es wurden jedoch NaCl-Karten anstelle von Liss/Coombs-Karten verwendet.

### **Mono-DAT**

Bei positivem Ausfall des DAT wurde auf speziellen Liss/Coombs-Karten ein Mono-DAT (DC-Screening I von Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) durchgeführt, um Informationen über die Immunglobulinklassen und Komplementaktivität zu erhalten. Mit dieser Karte ließen sich IgG, IgA, IgM sowie Komplement C3d und C3c auf den Erythrozyten nachweisen. In die jeweiligen Säulen der Gelkarte wurden 50µl, der für den DAT vorbereiteten, 1%-Erythrozytenlösung getropft. Wie bereits beschrieben wurde die Karte bei 37°C für 15 Minuten inkubiert und für 10 Minuten mit 910 RPM zentrifugiert.

### **Eluat**

Bei positivem DAT wurde für die weitere Antikörpertestung ein Eluat angesetzt. Dabei wurden mögliche auf den RBCs sitzende Antikörper abgelöst, sodass ein spezifischer Antikörperrnachweis erfolgen konnte. Dafür wurde 1ml RBCs in ein Reagenzglas gegeben und mit NaCl 0,9% aufgefüllt. Das Reagenzglas wurde daraufhin bei 3980 RPM für 2 Minuten zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand abgesaugt und das Reagenzglas wieder mit NaCl 0,9% aufgefüllt. Dieser Waschvorgang wurde drei Mal wiederholt. Beim dritten Durchgang wurde der Überstand für die spätere Negativkontrolle (s.u.) aufbewahrt. Anschließend wurden die gewaschenen RBCs mit einer Transferpipette tropfenweise in ein anderes Reagenzröhrchen überführt. Nun wurde mit gleicher Anzahl an Tropfen die Säure aus dem BAG-Elutions-Kit (Bio-Rad, Cressier sur Morat, Switzerland) hinzugegeben und die Testkarte für 60s zentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend in ein neues Reagenzglas überführt. Daraufhin wurde die Base aus dem BAG-Elutions-Kit hinzugegeben bis sich die Lösung leicht bläulich verfärbte. Nun wurde die Lösung wieder für 60s zentrifugiert und danach in ein neues Röhrchen übertragen. Der Vorgang wiederholte sich drei Mal. 25µl des nun fertigen Eluats wurden auf eine mit den 3-Suchzellen vorbereiteten Liss/Coombs-Karte pipettiert. Zusätzlich wurde als Negativkontrolle eine weitere beliebige 3-Suchzelle in

eine vierte Säule getropft und 25µl des aufbewahrten Überstands des letzten Waschschriffs (s.o.) hinzugegeben. Der Testansatz wurde bei 37° für 15 Minuten inkubiert und für zehn Minuten mit 910 RPM zentrifugiert.

### **3.6.3 Medikamententestung**

Mit der Medikamententestung wurde untersucht, ob sich zum Zeitpunkt der Testung medikamentenabhängige Antikörper gegen RBC im Plasma der Patienten\*innen befanden. Untersucht wurden die Proben der Zeitpunkte Tag 3(+1) und Tag 12(+/-2). Da die erstmalige Bildung von Antikörpern eine Latenz von mindestens 6 Tage hat, zeigte ein positiver Test an Tag 3(+1) eine bereits stattgefundenen Immunisierung vor der aktuellen Therapie an<sup>14</sup>. Ein erstmals positiver Test an Tag 12(+/-2) konnte auf eine mögliche neue Immunisierung, aber auch auf eine Boosterung nach stattgehabter Immunisierung zurückzuführen sein. Für den Medikamententest wurde das Plasma der Patienten\*innen auf alle aktuell verabreichten Antibiotika und zusätzlich immer auf Piperacillin/Tazobactam getestet. Hierfür wurden jeweils eine Liss/Coombs-Karte und eine NaCl-Karte pro Säule mit 50µl einer gepoolten 1%-Testerythrozytenlösung vorbereitet. Anschließend wurde 25µl Patientenplasma (Gewinnung siehe 3.6.2.1) pro Säule hinzugefügt. Die zu testenden Antibiotika wurden mit NaCl 0,9% auf eine 1mg/ml Lösung verdünnt. Davon wurden jeweils 25µl in die jeweilige Säule pipettiert. Um mögliche positive Ergebnisse auf ex-vivo Metabolite zu detektieren, wurde der Test zusätzlich mit Patientenurin und wenn möglich mit zwei Fremdurinen von Patienten\*innen, die das zu untersuchende Medikament ebenfalls erhalten hatten, durchgeführt. Der Urin wurde dafür aufbereitet, indem er für 5 Minuten bei 3980 RPM zentrifugiert wurde, sodass sich mögliches Sediment am Boden sammelte. Von dem Überstand wurden 50µl Urin in je eine weitere freie Säule pipettiert. Der Test wurde 30 Minuten bei 37°C inkubiert und anschließend für 10 Minuten bei 910 RPM zentrifugiert. Bei positivem Testausfall (siehe Antikörpersuchtest, 3.6.2.1), wurden Negativkontrollen angesetzt. Dafür wurde der Test mit NaCl 0,9% anstelle der Medikamentenlösung angesetzt (Negativkontrolle I). Zudem wurden Kontrollplasmaproben von gesunden Blutspendern\*innen mit den RBCs, der Medikamentenlösung und den Urinen getestet (Negativkontrolle II). Reagierte das Plasma der Patienten\*innen bereits vor Zugabe von Medikament oder Metabolit positiv, wurde das Plasma der Probe dialysiert, um eventuelle Überreste des Antibiotikums und/oder des Metaboliten zu entfernen und

dann erneut getestet. Dafür wurde die Medikamentenlösung erneut hinzugefügt, um eine medikamentenabhängige Reaktion zu bestätigen.

### **3.7 Statistische Auswertung**

In der statistischen Auswertung wurden die Gruppen Antikörper „positiv“ und „negativ“ in Hinblick auf die vorher genannten, möglichen Risikofaktoren verglichen.

Die deskriptive Statistik wurde auf Grundlage der gesammelten Daten durchgeführt. Hierfür wurden die Mediane (25. und 75. Perzentile) der einzelnen Parameter ermittelt und miteinander verglichen.

Aufgrund der kleinen Gruppengrößen und offensichtlicher Abweichung der Daten von der Normalverteilung wurde die Verwendung parameterfreier Tests begründet. Zur Berechnung von Effekten zwischen den Gruppen hinsichtlich möglicher Risikofaktoren wurde bei unverbundenen, nicht normalverteilten Stichproben der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Ein Signifikanzniveau wurde bei einem ermittelten p-Wert  $<0,05$  angenommen. Das Konfidenzintervall wurde mit 95% angegeben.

Die statistische Auswertung der vorhandenen Daten erfolgte mit der Statistiksoftware IBM SPSS (Version 25). Grafiken wurden mit SPSS oder Microsoft Excel erstellt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Charakterisierung der Studienteilnehmer\*innen

Als mögliche Studienteilnehmer\*innen kamen alle Patienten\*innen mit CF in Frage, die während des Studienzeitraums (Oktober 2015 bis Juni 2016) eine intravenöse Antibiotikatherapie erhielten und die Einschlusskriterien erfüllten. Von den 58 Patienten\*innen, die anfänglich die Kriterien erfüllten und einwilligten teilzunehmen, wurden 15 Patienten\*innen aufgrund von fehlender Blutentnahmen oder früherer Entlassung nicht die Auswertung eingeschlossen. Die Basischarakteristika der Kohorte (n=43) sind in Tabelle 1 beschrieben.

Tabelle 1: Patienten\*innencharakteristika

Variablen	Patienten mit CF
Anzahl der Patienten*innen, n	43 ( $\triangleq$ 100%)
Weiblich, n	28 ( $\triangleq$ 65%)
FEV1 $\bar{\varnothing}$	45,6
Medianes Alter (Standardabweichung)	30 (11)
Patienten*innen mit ÜRPAs in der Vergangenheit, n	28 ( $\triangleq$ 65%)
Patienten*innen ohne bisherige ÜRPAs, n	15 ( $\triangleq$ 35%)
Besiedlung mit <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , n	36 ( $\triangleq$ 84%)
Medianes gesamt Serum IgE kU/l (Standardabweichung)	47,4 (191)
Eindeutige Reaktionen auf Piperacillin/Tazobactam, n	20
Eindeutige Reaktionen auf Ceftazidim, n	14

## **4.2 Laborergebnisse**

Insgesamt wurden 52 Antibiotikazyklen untersucht und ausgewertet. Zwei Patientinnen der 43 Patienten\*innen entwickelten nachweislich während des Studienzeitraums medikamentenabhängige Antikörper gegen Piperacillin. Klinisch blieben beide Patientinnen jedoch unauffällig, sodass keine intensivmedizinische Behandlung notwendig war.

### **4.2.1 Antikörpertestung**

Bei allen Proben wurde ein IAT und ein DAT durchgeführt, um mögliche Antikörper zu entdecken.

Der IAT fiel insgesamt nur bei zwei Patienten\*innen positiv aus. Davon einmal aufgrund von medikamentenabhängigen Antikörper, im zweiten Fall aufgrund nachgewiesener (medikamentenunabhängiger) erythrozytärer Alloantikörpern der Spezifität Anti-E.

Beim DAT hingegen zeigten sich häufiger positive Reaktionen. Insgesamt bei 31 von 52 Antibiotikazyklen fiel zum Ende der Therapie der DAT positiv aus. Davon kam es im Verlauf von 26 Therapiezyklen zu einem Anstieg des DAT-Wertes. Positive DATs nach Gabe von Medikamenten ohne den Nachweis von spezifischen erythrozytären Antikörpern und/oder einer Hämolyse sind ein bekanntes Phänomen<sup>56</sup>. Häufige Auslöser scheinen Cephalosporine und beta-Laktamaseinhibitoren zu sein. Auch in dieser Studie kamen vermehrt positive DATs unter der Therapie mit beta-Laktamantibiotika + beta-Laktamaseinhibitoren und Cephalosporinen vor. Am häufigsten wurde dies bei Piperacillin/Tazobactam und Ceftazidim beobachtet.

Um die genauen Klassen der Immunglobuline und eine Komplementaktivierung bei einem positivem DAT zu ermitteln, wurden Mono-DATs angefertigt. Diese ergaben, dass es sich bei den Antikörpern ausschließlich um IgG handelte. Eine Komplementaktivierung wurde bei keiner der Proben nachgewiesen.

Auch bei den beiden Patientinnen mit medikamentenabhängigen Antikörpern ließen sich keine anderen Immunglobulinklassen oder Komplement nachweisen. Das zusätzlich angefertigte Eluat war ebenfalls in allen Fällen negativ.

### **4.2.2 Hämolyseparameter**

Die bei den Studienteilnehmern\*innen erhobenen Hämolyseparameter Hämoglobin, LDH, Haptoglobin und Retikulozyten sprachen zusammen betrachtet nur bei einer Patientin für eine neu aufgetretene Hämolyse. Zwar gab es bei einigen Patienten\*innen einen Abfall des Hämoglobins vom Aufnahmetag zu Tag 3, doch dies ließ sich klinisch

zurückführen auf die Gabe von intravenöser Flüssigkeit, die viele aufgrund Ihres Gesundheitszustandes erhielten.

Insgesamt entwickelte damit eine von 43 ausgewerteten Patienten\*innen nachweislich eine medikamentenabhängige Autoimmunhämolyse.

### 4.3 Verlaufsscharakterisierung

Im Folgenden werden die beiden Patientinnen mit medikamentenabhängigen Antikörpern genauer charakterisiert, um ein besseres Verständnis für den zeitlichen Bildungsverlauf von medikamentenabhängigen Antikörper und einer DIIHA zu erlangen. Hierfür wurden die wichtigsten Hämolyse- und Laborparameter genauer analysiert.

#### 4.3.1 Patientin 1

Der durchgeführte IAT fiel erstmals an Tag 12 positiv aus. Jedoch zeigten sich schon positive Reaktionen im sensitiveren Papaintest an Tag 3 (Tabelle 2). Die Stärke der IgG-Beladung des DATs nahm über den Verlauf der Therapie stark zu. In der Antikörper-Differenzierung war eine Auto-Anti-e Spezifität nachweisbar. Das medikamentenabhängige Antikörper Blutgruppenspezifitäten aufweisen, vor allem Auto-Anti-e, ist ein bekanntes Phänomen<sup>6,51,57</sup>.

Tabelle 2: Antikörpertestung bei Patientin 1 mit den jeweiligen Reaktionsstärken

Test	Tag 3	Tag 12
IAT I	0	2
IAT II	0	0
IAT III	0	1,5
Papaintest I	3	4
Papaintest II	2	3
Papaintest III	3	4
DAT	2	3

#### Medikamententestung

Bei Patientin 1 ließen sich an Tag 3 medikamentenabhängige Antikörper gegen Piperacillin/Tazobactam im Labor nachweisen (Tabelle 3). Dies sprach dafür, dass die Immunisierung schon in der Vergangenheit stattgefunden hatte, da bei einer Neubildung an Tag 3 wahrscheinlich noch keine Antikörper nachweisbar gewesen wären<sup>14</sup>. Auffällig war, dass an Tag 3 die Reaktion mit Eigenurin (ex-vivo Metabolit) stärker ausfiel als gegen das eigentliche Medikament. Im Verlauf ließ sich eine

Zunahme aller Reaktionen beobachten. Auch nach Beendigung der Therapie stieg die Reaktionsstärke weiter an. Dies bedeutete eine fortlaufende Aktivierung des Immunsystems mit Bildung von weiteren Antikörpern. Selbst nach 7 Monaten (Tag 210) waren noch spezifische Piperacillin-abhängige Antikörper nachweisbar (Abbildung 5).

Tabelle 3: Medikamententestungen bei Patientin 1

Testreagenz	Tag 3	Tag 12	Tag 26
	Reaktionsstärke		
Tazobac® (Piperacillin/Tazobactam)	0,5	1,5	3
Colistin	0	1*	nt
Eigenurin	1	2	3
Patientenurin1 (Tazobac®+Colistin)	1	2	3
Patientenurin2 (Tazobac®+Tobramycin)	0	2	nt
Negativkontrolle II	0	1*	nt

nt= nicht getestet; \* Da sich im Plasma noch Spuren des Medikaments oder seiner Metabolite befanden, waren die Tests der Negativkontrolle und mit Colistin ebenfalls positiv.

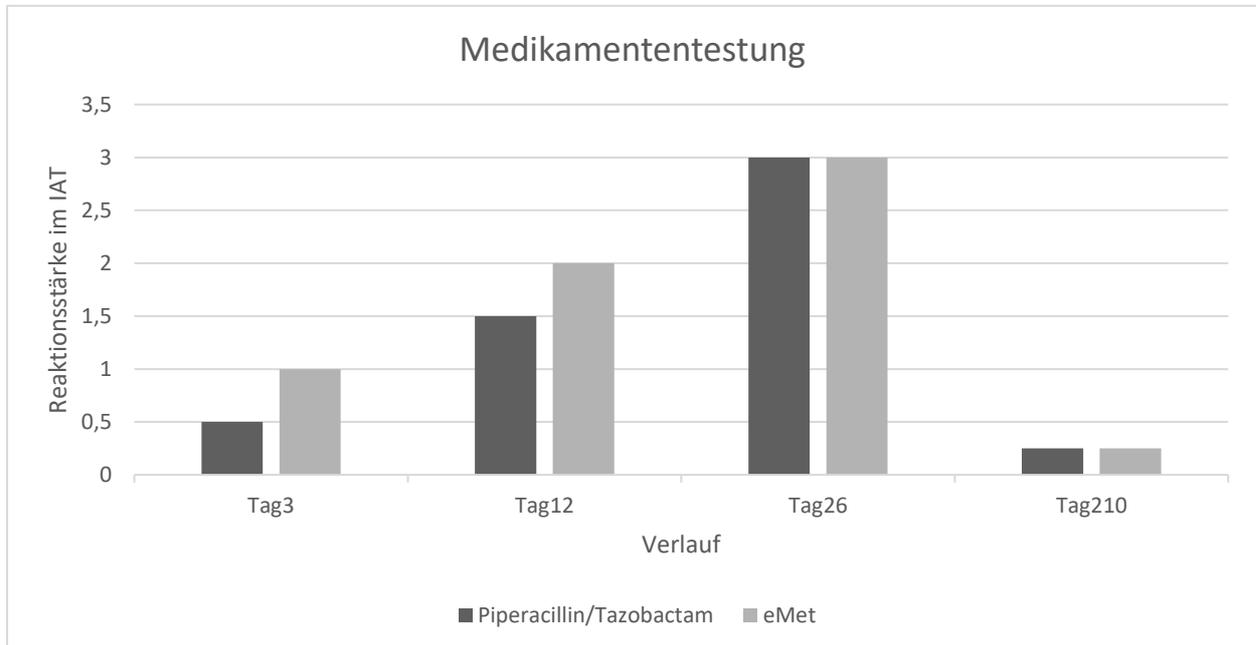


Abb. 5: Vergleich von Piperacillin/Tazobactam und Eigenurin (eMet) bei Patientin 1

Da die Patientin an Tag 12 auch ohne Zugabe von Piperacillin/Tazobactam einen positiven IAT hatte, wurde ihr Plasma dialysiert, um mögliche Reste des Medikaments bzw. seiner Metabolite zu eliminieren. Nach der Dialyse zeigten sich im IAT keine Reaktionen mehr (Abbildung 6).

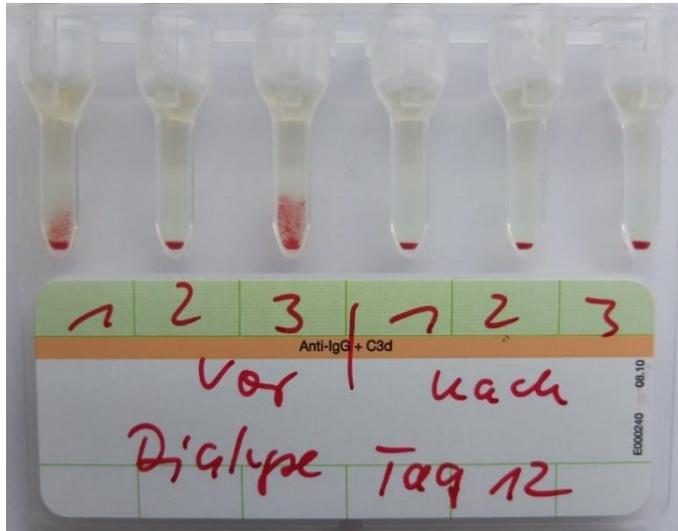


Abb. 6: IAT (1,2,3) von Tag 12 vor und nach der Dialyse des Plasmas

Anschließend wurde das dialysierte Plasma erneut getestet, um eine spezifische Medikamentenabhängigkeit zu bestätigen (Tabelle 4).

Tabelle 4: Medikamententestung bei Patientin 1 mit dem dialysierten Plasma von Tag 12

Testreagenz	Reaktionsstärke
Tazobac® (Piperacillin/Tazobactam)	2
Fremdurin1 (Tazobac®+Tobramycin)	2,5
Fremdurin2 (Tazobac®+Colistin)	1
Eigenurin	2,5
Fremdurin3 (Piperacillin)	0
Fremdurin4 (Piperacillin)	1,5
Fremdurin5 (Piperacillin)	1
Negativkontrolle I (NaCl 0,9%)	0

Die positiven Reaktionen auf Piperacillin/Tazobactam und die Fremdurine mit reinem Piperacillin bestätigten den Verdacht von Piperacillin-abhängigen Antikörpern.

### Hämolyseparameter:

Die Hämoglobinwerte zeigten einen Abfall von 14,3g/dl am Aufnahmetag auf 10,3g/dl am Behandlungsende (Tag 12) (Abbildung 7). Die Patientin zeigte jedoch keine klinisch auffälligen Symptome, weshalb der Abfall als nicht kritisch angesehen wurde. Im Verlauf erholte sich der Hb-Wert der Patientin spontan wieder auf 12,6g/dl trotz Zunahme der Reaktionsstärken in der Medikamententestung (Abbildung 5). Dies erklärte sich aus dem Anstieg der Retikulozyten (Abbildung 8).

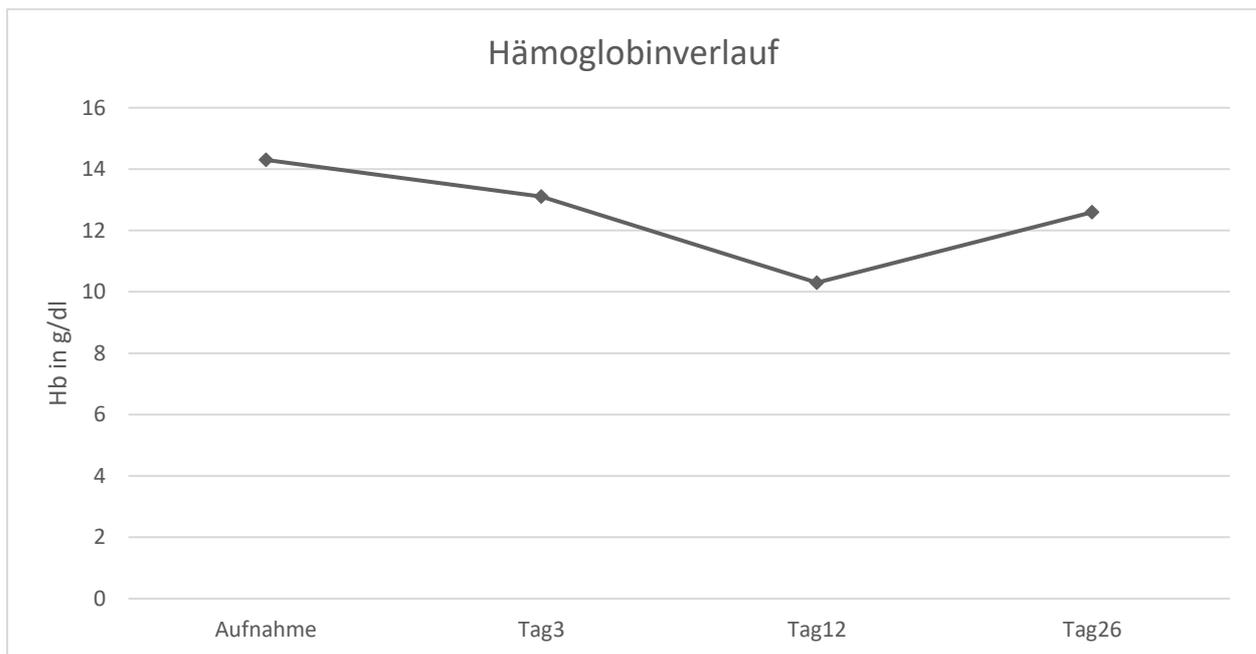


Abb. 7: Hämoglobinwerte im Verlauf bei Patientin 1

Referenzbereich: 12-15,6g/dl

Der Verlauf der Retikulozyten unterstützte die Diagnose einer Hämolyse. Es kam zu einem verzögerten, starken Anstieg des Wertes auf 169/nl nach dem Hämoglobinabfall am Abschlusstag (Tag 12). Dies wurde als Zeichen der Kompensation nach verstärktem Erythrozytenuntergang gewertet.

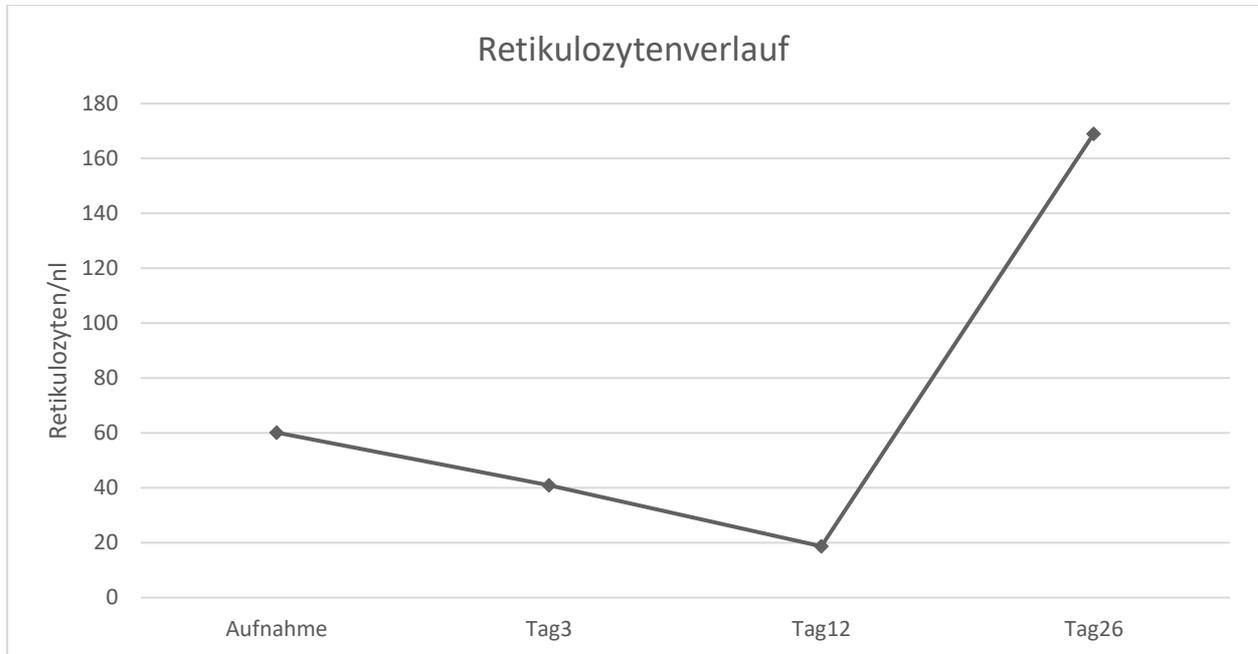


Abb. 8: Retikulozytenwerte im Verlauf bei Patientin 1

Referenzbereich: 25-105/nl

Zu Beginn der Therapie lag der Wert des Haptoglobins oberhalb des Referenzbereichs von 0,3-2g/l. Obwohl Haptoglobin ein sehr empfindlicher Marker für Hämolyse ist und der Wert im Verlauf auch absank, lag der niedrigste Wert von 1,54g/l immer noch innerhalb des Referenzintervalls (0,3-2g/l). Zu beachten galt es jedoch, dass Haptoglobin ein Akut-Phase-Protein ist und die Patientin mit einer chronischen Inflammation und akuter Exazerbation aufgenommen wurde.

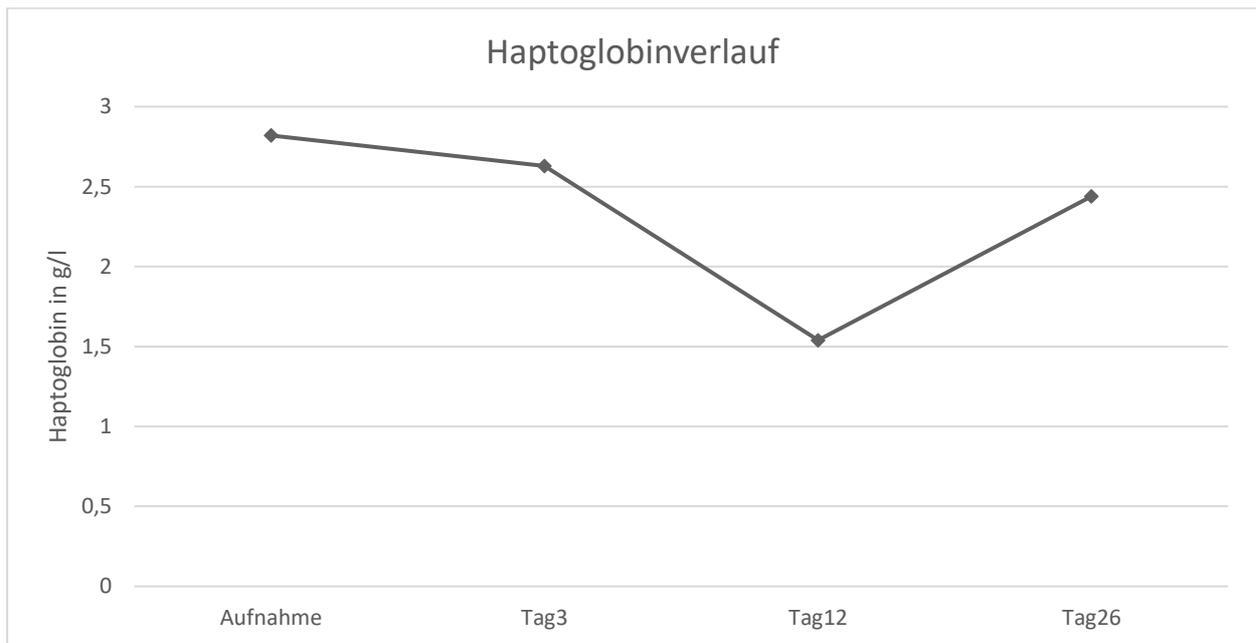


Abb. 9: Haptoglobinwerte im Verlauf bei Patientin 1

Referenzbereich: 0,3-2g/l

Beim LDH war eine Zunahme im akuten Geschehen zu erwarten. Dieser Anstieg fiel jedoch nur sehr gering aus. Dies sprach für eine leichte Hämolyse. Interessanterweise erreichte der Wert 2 Wochen nach Abschluss der Therapie (Tag 26) sein Maximum. Dies korrelierte mit dem Anstieg der Reaktionsstärke im Medikamententest (Abbildung 5) und der Retikulozyten (Abbildung 8). Daher war von einer Zunahme der Hämolyse auszugehen, die mit einem erhöhten LDH einherging (Abbildung 10).

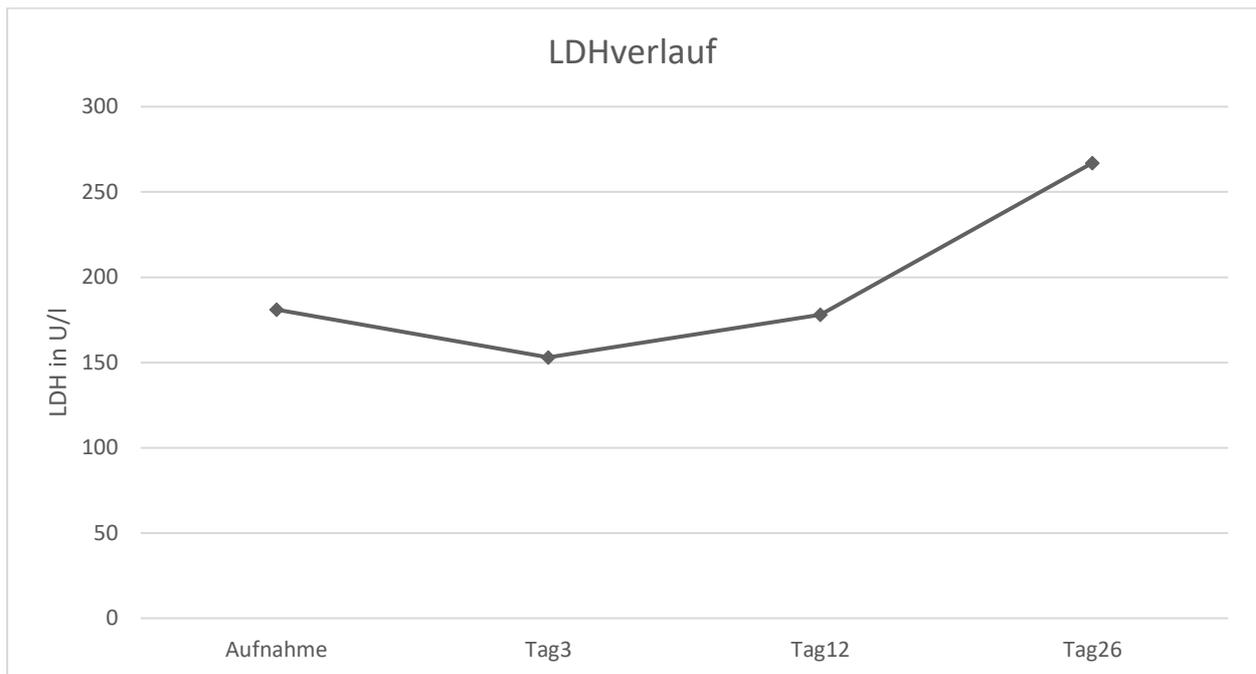


Abb. 10: LDH-Werte im Verlauf bei Patientin 1

Referenzbereich: 135-214U/l

Betrachtet man nun alle erhobenen Hämolyseparameter im Zusammenhang sprechen diese eindeutig für eine stattgefundene Hämolyse während der Antibiotikatherapie. Im Zusammenhang mit den positiven Medikamententestungen bestätigte sich der Verdacht einer medikamenteninduzierten Autoimmunhämolyse.

### 4.3.2 Patientin 2

Patientin 2 erhielt insgesamt 3 AB-Zyklen im Studienzeitraum. Im ersten Zyklus ließen sich unter Therapie mit Piperacillin/Tazobactam keine spezifischen medikamentenabhängigen Antikörper nachweisen. Erst im zweiten Zyklus, der im Folgenden genauer beschrieben wird, konnten zum Ende der Therapie medikamentenabhängige Antikörper nachgewiesen werden. Der IAT war zu allen Testzeitpunkten negativ. Daher war es nicht notwendig das Plasma zu dialysieren. Der DAT war erstmalig an Tag 12 leicht positiv.

### Medikamententestung

Der erste Nachweis von medikamentenabhängigen Antikörpern gelang am Abschlusstag (Tag 12) bei der Testung mit Fremdurinen. Erst nach Abschluss der Therapie wurde der Test auch auf Piperacillin/Tazobactam und den eigenen Urin positiv. Bei den Verlaufskontrollen nahm die Reaktionsstärke weiter zu (Tabelle 5). Das ließ vermuten, dass das Immunsystem trotz Absetzen des Medikaments weiter Antikörper produzierte. Erst nach circa 3 Monaten (Tag 100) waren keine Medikamenten-spezifischen Antikörper mehr nachweisbar.

Tabelle 5: Medikamententestung bei Patientin 2

Testreagenz	Tag 12	Tag 15	Tag 20	Tag 22	Tag 100
	Reaktionsstärke				
Tazobac® (Piperacillin/Tazobactam)	0	1,5	2	3	0
Tobramycin	0	0	0	0	nt
Eigenurin	0	1,5	3	3,5	0
Fremdurin1 (Tazobac®+Tobramycin)	1	3	2,5	2,5	0
Fremdurin2 (Tazobac®+Tobramycin)	0,5	1,5	2,5	2,5	nt
Fremdurin3 (Piperacillin)	0,25	1	2	3,5	nt
Negativkontrolle II	0	0	nt	nt	nt

nt= nicht getestet

Aufgrund der nachgewiesenen Antikörper erhielt die Patientin beim 3. Zyklus kein Piperacillin/Tazobactam. Das Auftreten von medikamentenabhängigen Antikörpern an Tag 12 könnte für eine erstmalige Immunisierung des Immunsystems gegen das Medikament mit Neubildung von medikamentenabhängigen Antikörpern sprechen. Der zeitliche Verlauf dieser Reaktionen ist in Abbildung 11 dargestellt.

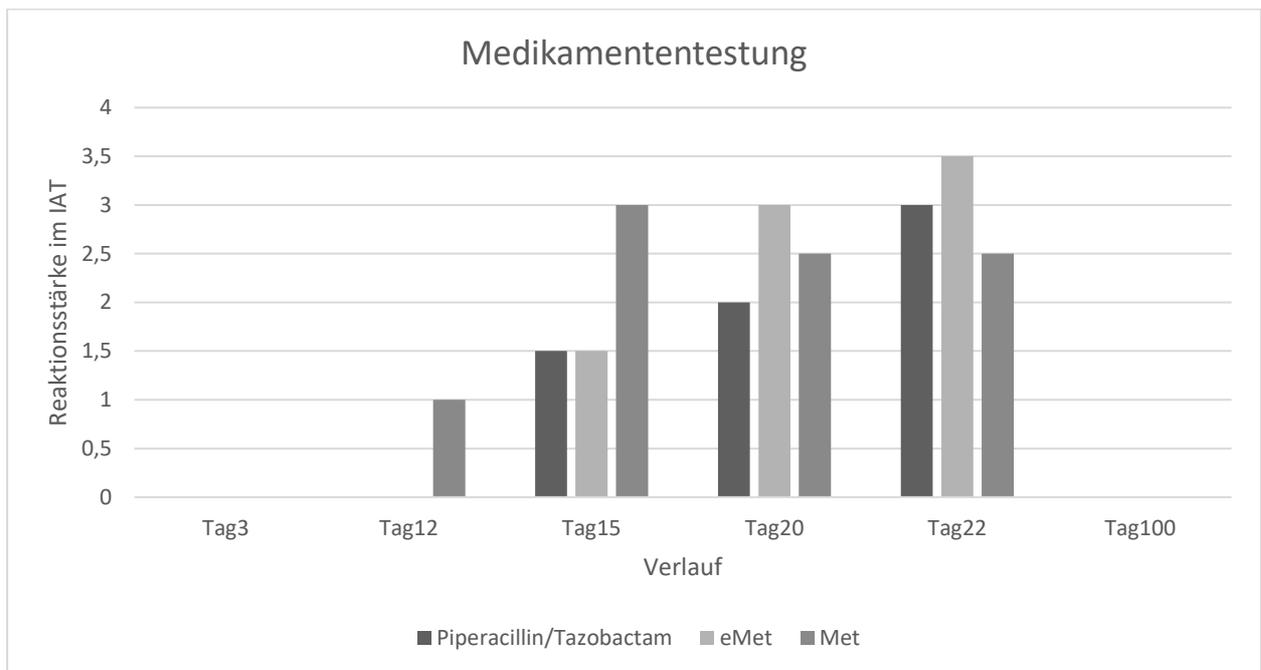


Abb. 11: Vergleich von Piperacillin/Tazobactam, Eigenurin (eMet) und Fremdurin (Met) bei Patientin 2

Da die Patientin nur auf Piperacillin/Tazobactam, nicht aber auf das zweite Antibiotikum (Tobramycin) reagierte und zusätzlich eine positive Reaktion gegen einen Urin mit Piperacillinmetaboliten zeigte, bestätigte sich der Verdacht auf Piperacillin-abhängige Antikörper.

### Hämolyseparameter:

Der stärkste Hb-Abfall fand vom Aufnahmetag von 11,4g/dl auf 9,9g/dl an Tag 3 statt. Dies ließ sich jedoch klinisch erklären, da die Patientin bei Aufnahme Flüssigkeitsinfusionen erhalten hatte. Im weiteren Verlauf blieb der Hb der Patientin weitestgehend konstant und schien sich nicht durch die auftretende Antikörperbildung zu verändern.

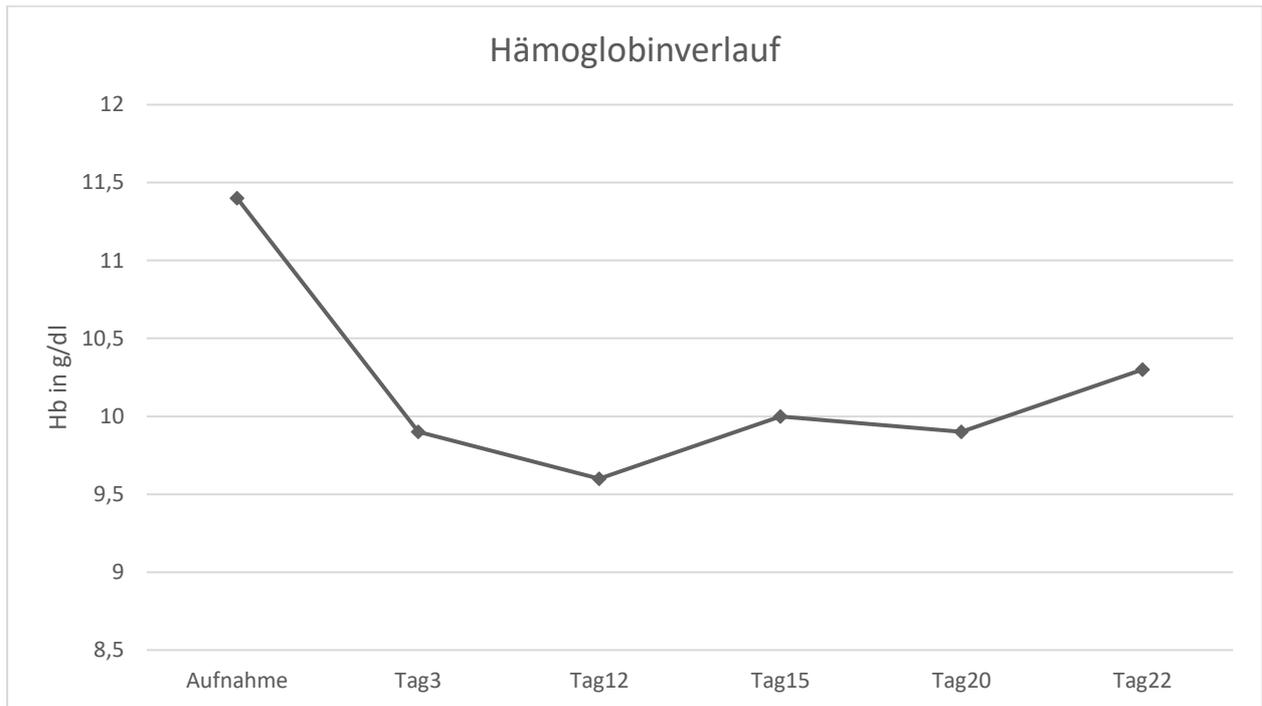


Abb. 12: Hämoglobinwerte im Verlauf bei Patientin 2

Referenzbereich: 12-15,6g/dl

Vom Aufnahmetag bis zum Abschluss (Tag 12) verdoppelten sich die Retikulozyten annähernd. Auch kurz nach Abschluss der Therapie stiegen sie noch leicht an. Der Anstieg war mit dem Bild einer Hämolyse vereinbar. Absolut betrachtet lagen jedoch alle Werte innerhalb des Referenzbereiches.

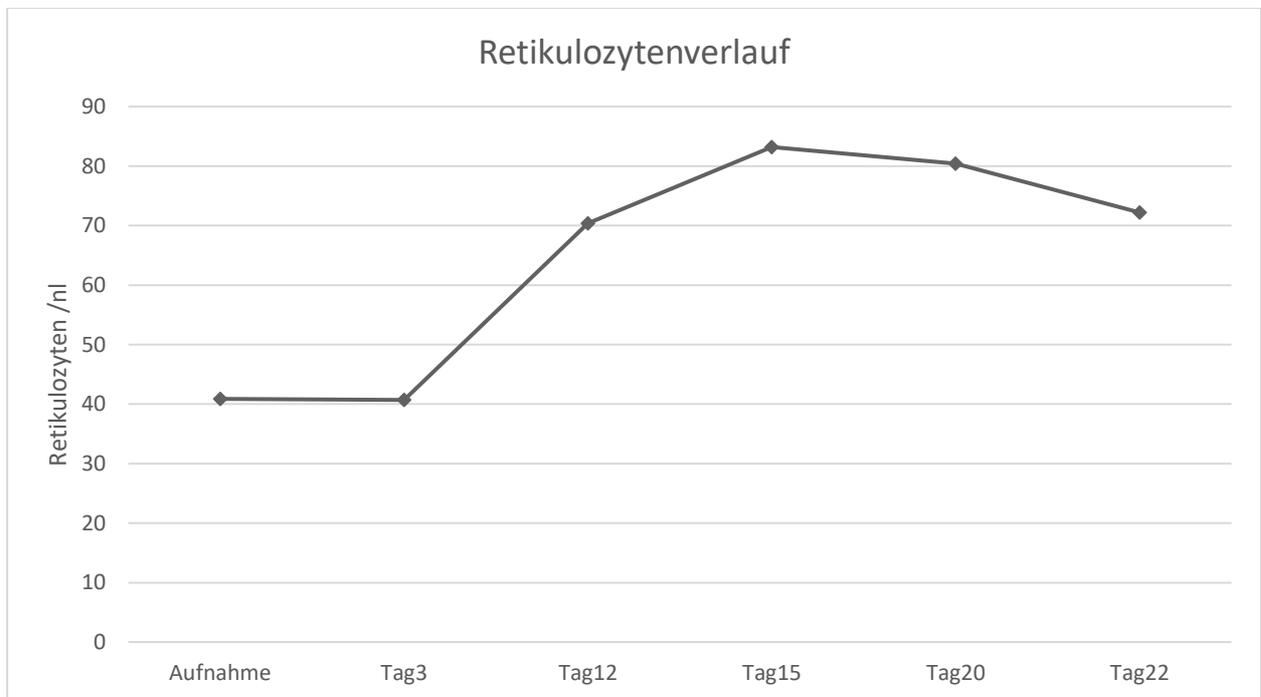


Abb. 13: Retikulozytenwerte im Verlauf bei Patientin 2

Referenzbereich: 25-105/nl

Der Haptoglobinwert fiel nur gegen Ende der Therapie leicht ab. Der Wert lag aber mit 1,56 g/l an Tag 12 noch im oberen Referenzbereich. Damit passten die Werte nicht zu einer ausgeprägten Hämolyse.

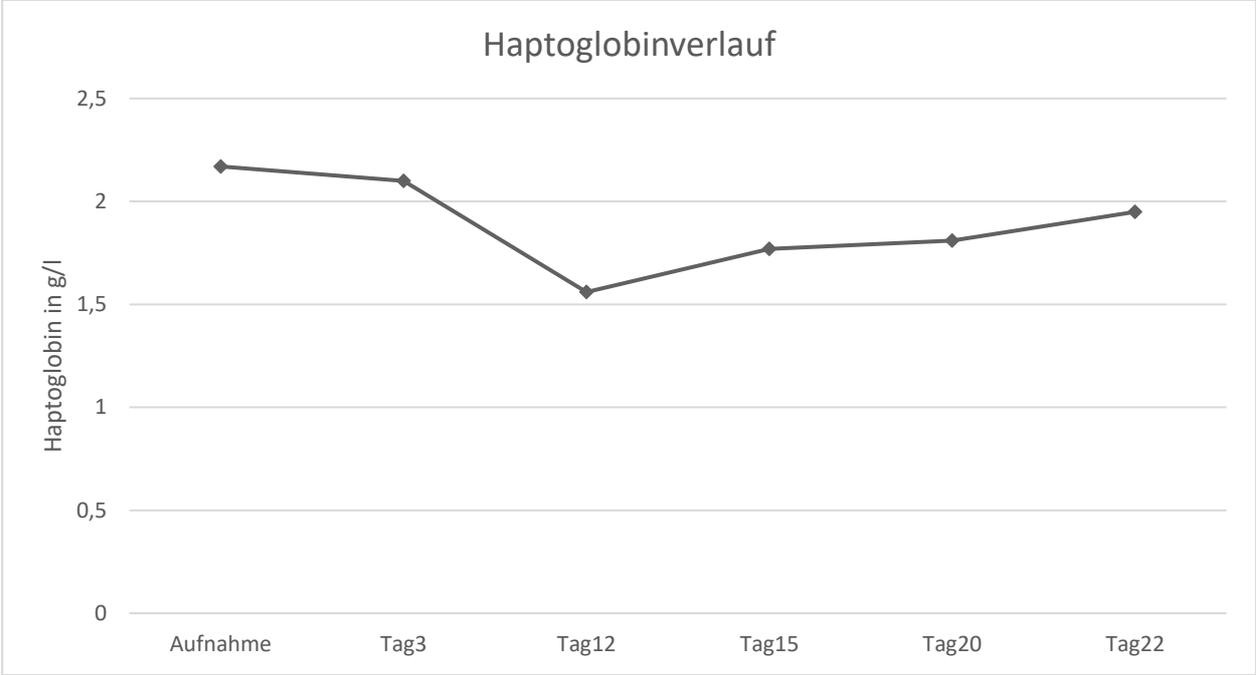


Abb. 14: Haptoglobinwerte im Verlauf bei Patientin 2

Referenzbereich: 0,3-2g/l

Bei Patientin 2 lagen anfänglich alle LDH Werte oberhalb des Referenzbereiches von 214U/l. Der Abfall von 328U/l an Tag 3 auf 143U/l am Abschlusstag (Tag 12) ließ sich klinisch und labortechnisch nicht erklären. Ab dem Zeitpunkt des ersten Antikörpernachweises an Tag 12 fiel das LDH nicht weiter ab. Stattdessen stieg es leicht auf 181U/l am 8 Tag nach Abschluss (Tag 20) an.

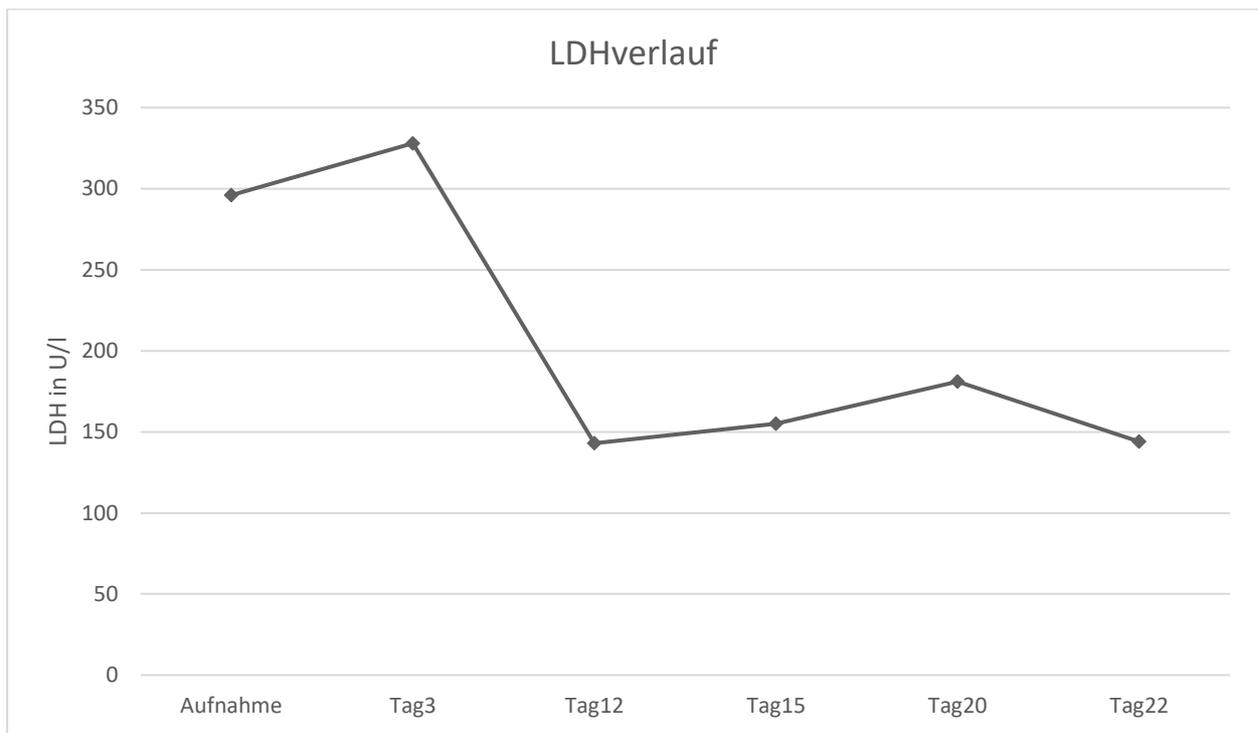


Abb. 15: LDH-Werte im Verlauf bei Patientin 2

Referenzbereich: 135-214U/l

Bezieht man nun alle erhobenen Hämolyseparameter und die Medikamententestungen in die Schlussfolgerung mit ein, lassen sich zwar mit Sicherheit die medikamentenabhängigen Antikörper bestätigen, jedoch ergibt sich kein sicherer Nachweis für eine Hämolyse.

## 4.4 Risikofaktoranalyse

Im Folgenden wurde analysiert, ob sich die beiden Patientinnen mit medikamentenabhängigen Antikörpern in bestimmten Merkmalen signifikant von Patienten\*innen ohne Antikörper unterscheiden. Dafür wurden drei wichtige prognostische Marker der Mukoviszidose (aktuelle FEV1, aktuelles gesamt IgE und Jahre mit Pseudomonasbesiedlung), die kumulative Piperacillin/Tazobactam-Dosis seit 2013 und ÜRPAs genauer betrachtet, um zu prüfen, ob diese im Zusammenhang mit der Entwicklung von medikamentenabhängigen Antikörpern stehen und als Risikofaktoren dienen könnten.

### 4.4.1 FEV1

Es wurden die aktuellen FEV1-Werte aller 43 Teilnehmenden untersucht. Der Median für die Patienten\*innen ohne medikamentenabhängige Antikörper lag bei einer FEV1 von 41,9% ( $q_{0,25-0,75}$  30-55,85). Der Median für die zwei Patientinnen mit medikamentenabhängigen Antikörpern lag bei 60,15%. Deskriptiv hatten die zwei betroffenen Patientinnen damit eine deutlich höhere mediane FEV1 (Abbildung 16). Laut Mann-Whitney-U-Test lag der ermittelte p-Wert jedoch bei 0,204, sodass von keiner signifikanten Unterscheidung zwischen den Gruppen Antikörper „positiv“ und „negativ“ auszugehen war.

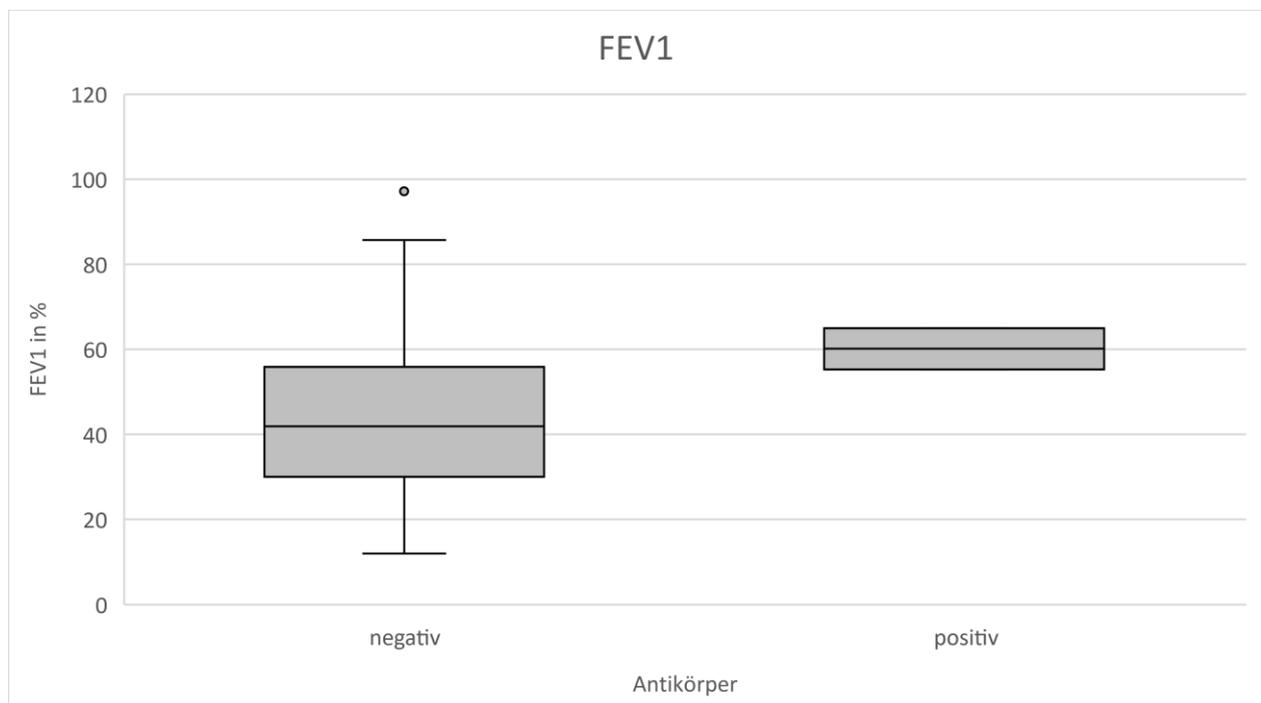


Abb. 16: FEV1 in % aller Patienten\*innen zum Zeitpunkt der Studienteilnahme aufgeteilt in Antikörper positiv und negativ

Ausreißer außerhalb des 1,5-fachen Interquartilsabstands sind als Punkte markiert.

#### 4.4.2 IgE

Es wurden der gesamt IgE-Wert der Teilnehmenden zum Studienzeitpunkt untersucht. Bei zwei Patient\*innen lag dieser Wert nicht vor, sodass nur 41 Werte analysiert wurden. Der Median für die Gruppe ohne Antikörper lag bei 44,25kU/l ( $q_{0,25-0,27}$  20,5-83,5). Der Median für die zwei Patientinnen mit Antikörper lag bei 294,9kU/l. Deskriptiv hatten die zwei betroffenen Patientinnen ein deutlich höheres medianes gesamt IgE (Abbildung 17). Jedoch liegen die beiden Werte mit 17,8kU/l und 572kU/l sehr weit auseinander. Laut Mann-Whitney-U-Test ließ sich mit einem p-Wert=0,723 kein signifikanter Unterschied bezüglich des gesamt IgE-Werts zwischen den beiden Gruppen aufweisen.

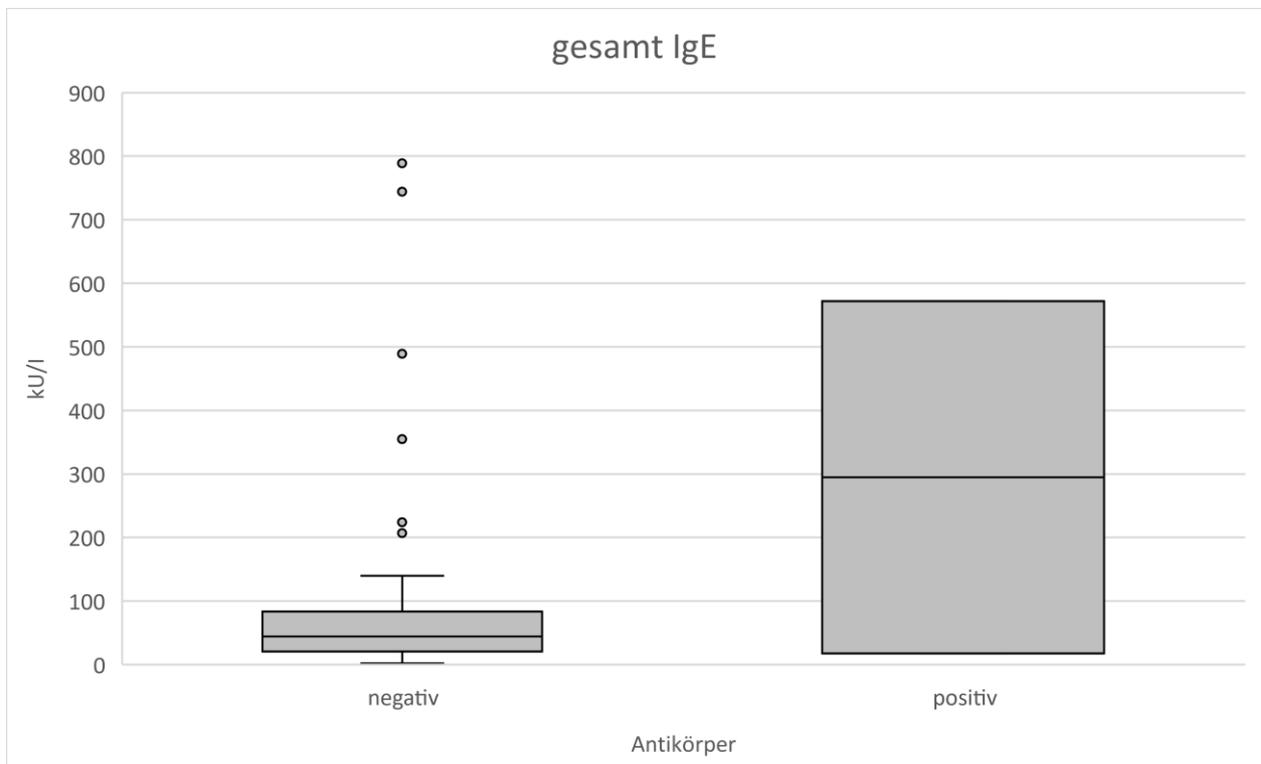


Abb. 17: Gesamt IgE der Teilnehmenden zum Zeitpunkt der Studienteilnahme  
Ausreißer außerhalb des 1,5-fachen Interquartilsabstands sind als Punkte markiert.

#### 4.4.3 Pseudomonasbesiedlung

Es wurden die Anzahl der Jahre mit Pseudomonasbesiedlung bei allen Patienten\*innen mit chronischer Besiedlung untersucht (n=35). Der Median bei der Gruppe ohne medikamentenabhängige Antikörper lag bei 18 Jahren ( $q_{0,25-0,75}$  9-22). Der Median bei den Patientinnen mit Antikörpern lag bei 9,5 Jahren (Abbildung 18). Die Untersuchung der Jahre mit Pseudomonasbesiedlung zwischen den beiden Gruppen mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Test wies bei einem ermittelten p-Wert von 0,24 keinen signifikanten Unterschied auf. Deskriptiv betrachtet hatten die zwei Patientinnen mit Antikörpern jedoch deutlich weniger Jahre mit Pseudomonasbesiedlung.

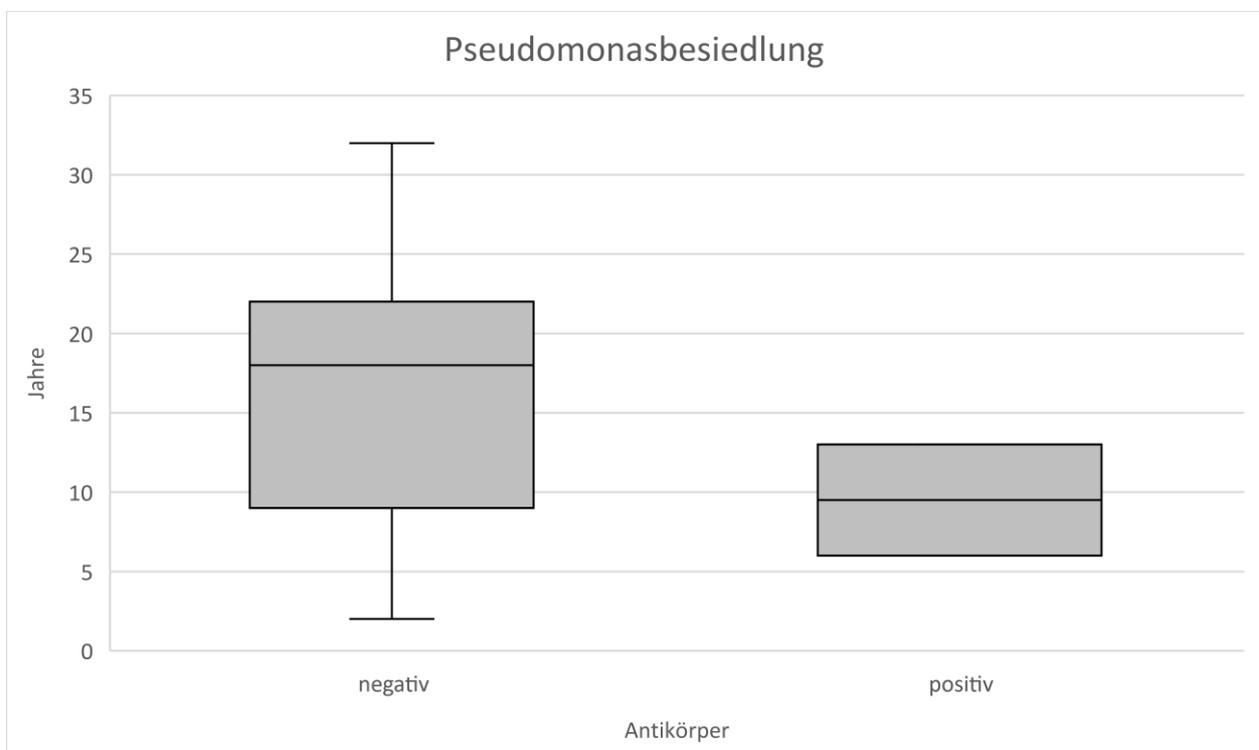


Abb. 18: Jahre mit Pseudomonasbesiedlung aufgeteilt in Patienten\*innengruppen mit und ohne medikamentenabhängigen Antikörpern

#### 4.4.4 Piperacillin/Tazobactam

Untersucht wurde die kumulative Piperacillin/Tazobactam-Dosis seit 2013 bei Patienten\*innen mit und ohne medikamentenabhängige Antikörper (n=29). Der durchgeführte Mann-Whitney-U-Test ermittelte einen p-Wert von 0,276. Somit ließ keine Aussage bezüglich eines möglichen signifikanten Unterschieds zwischen den 2 Gruppen bei der Piperacillin/Tazobactam-Dosis treffen. Der Median lag bei der einen Gruppe (Antikörper positiv) bei 844g deutlich höher als bei der anderen mit 378g ( $q_{0,25}$ - $q_{0,75}$  176-891) (Abbildung 19).

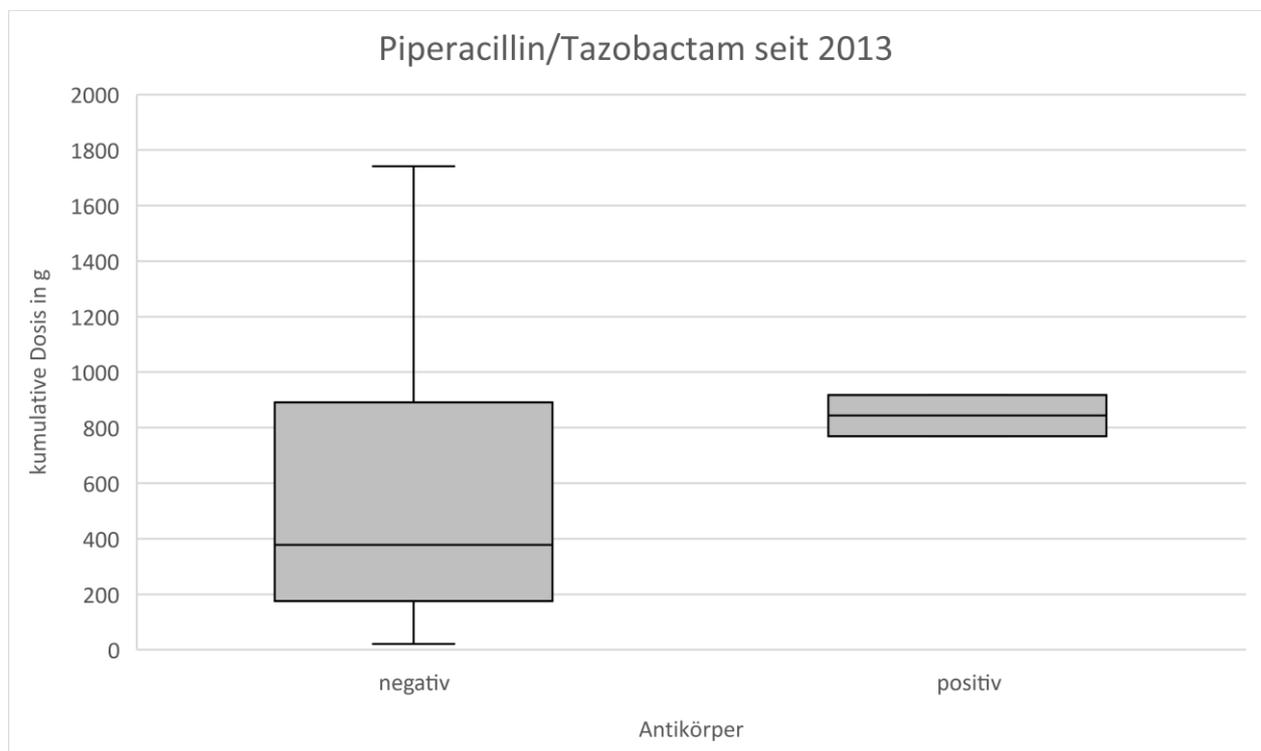


Abb. 19: Kumulative Piperacillin/Tazobactam-Dosis bei den Patienten\*innengruppen mit und ohne medikamentenabhängige Antikörper

Insgesamt erhielten 29 von 43 Patienten\*innen Piperacillin/Tazobactam während dieses Zeitraums.

#### 4.4.5 ÜRPA

ÜRPA sind häufig die ersten klinischen Anzeichen einer Antibiotikaunverträglichkeit.

Bei insgesamt 28 von 43 Patienten\*innen (65,12%) kam es vor Beginn und/oder während der Studie zu einer ÜRPA. Von den 28 Betroffenen waren 10 männlich und 18 weiblich. Zwei von 28 entwickelten medikamentenabhängige Antikörper. Insgesamt wurden 1539 (100%) Antibiotikakurse analysiert. Davon kam es bei 78 Kursen (5,07%) zu einer ÜRPA. 53 Patientinnen und 25 Patienten waren von einer ÜPRA betroffen.

Piperacillin/Tazobactam und Ceftazidim waren mit Abstand die häufigsten Auslöser einer ÜRPA (Abbildung 20).

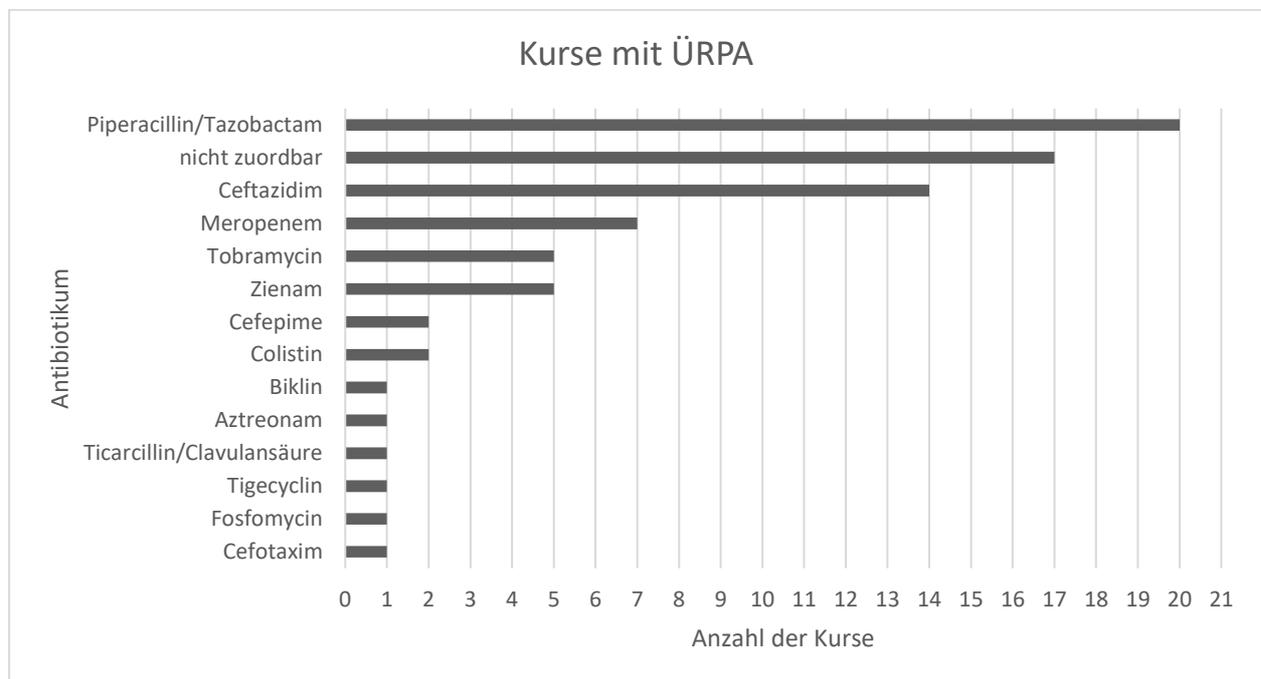


Abb. 20: Anzahl der Behandlungskurse mit ÜRPA

Angegeben sind die jeweiligen Antibiotika, die eine ÜRPA ausgelöst hatten. Aufgrund von Kombinationstherapien oder nicht ausreichender Dokumentation war eine eindeutige Antibiotikazuordnung in 17 Fällen nicht möglich.

Im Folgenden wurde genauer darauf eingegangen, ob die Anzahl der erfahrenen ÜRPAs möglicherweise eine Rolle bei der Entwicklung von medikamentenabhängigen Antikörpern oder DIIHA spielten, und ob sich die beiden Patientinnen in dem Merkmal signifikant vom Rest der Kohorte unterschieden.

Für Patientin1 mit DIIHA, die zum Studienzeitpunkt 50 Jahre war, lag eine Dokumentation seit Mitte 2012 vor. In diesem Zeitraum hatte sie 22 Antibiotikabehandlungskurse erhalten, von denen sie bei fünf mit einer ÜRPA reagierte. Jeweils einmal war Ceftazidim und Piperacillin/Tazobactam verantwortlich und dreimal ließ sich kein Medikament eindeutig identifizieren.

Für Patientin2 mit medikamentenabhängigen Antikörpern, die zum Studienzeitpunkt 23 Jahre war, lag eine Dokumentation seit Anfang 2009 vor. Seitdem hatte sie 41 antibiotische Behandlungskurse erhalten, viermal reagierte sie dabei mit einer ÜRPA. Zweimal war Piperacillin/Tazobactam und zweimal Ceftazidim verantwortlich.

Vergleicht man die mediane Anzahl der ÜRPAs der beiden Patientinnen mit medikamentenabhängigen Antikörpern von 4,5 mit dem Median der restlichen Kohorte 2 ( $q_{0,25-0,75}$  1-4,25), hatten die zwei Betroffenen deutlich mehr Reaktionen auf Antibiotika. Der Mann-Whitney-U-Test, mit einem ermittelten p-Wert von 0,19, konnte aber keinen signifikanten Unterschied finden.

#### 4.4.5.1 Charakteristika der ÜRPA

Die folgende Auswertung bezieht sich auf alle 78 dokumentierten ÜRPAs. Insgesamt wurden dabei 136 verschiedene Symptome beschrieben. Pro ÜRPA konnten bis zu 5 verschiedene Symptome dokumentiert werden. Um die Reaktionen bestimmten Organsystemen zuzuordnen und eine pathophysiologische Auswertung zu ermöglichen, wurden die Symptome zu 9 Symptomgruppen zusammengefasst (Abbildung 21).

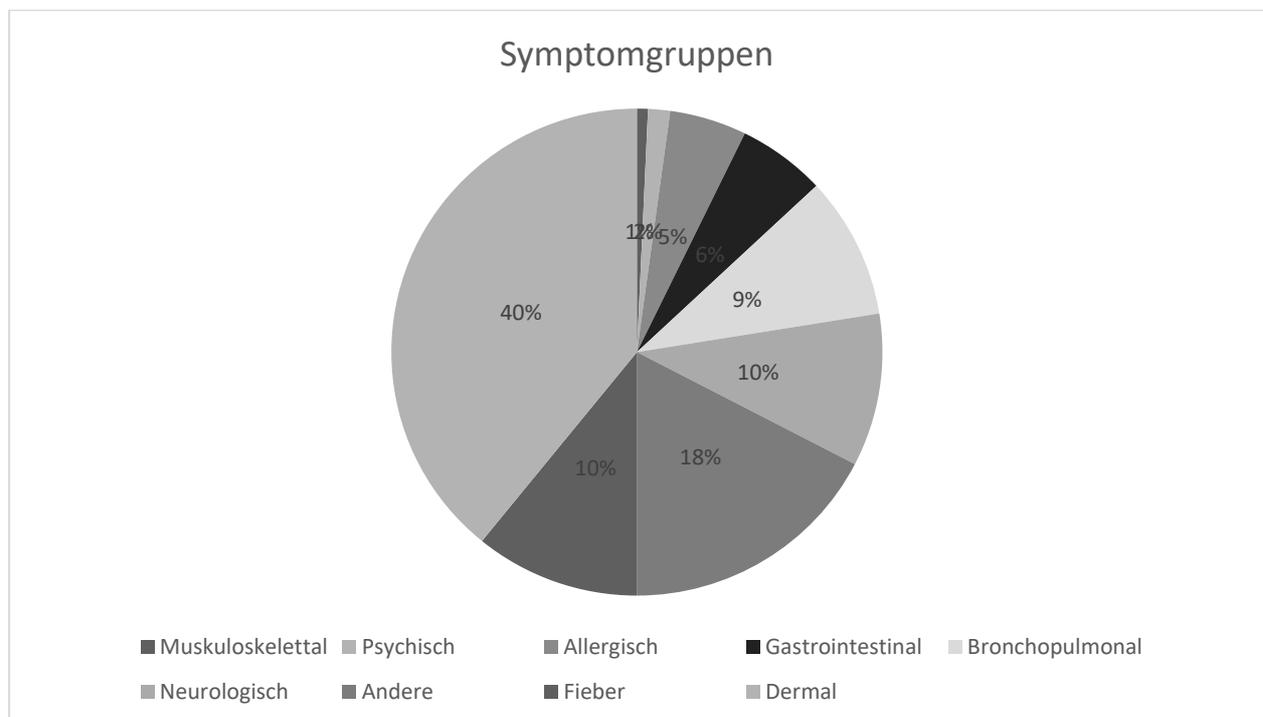


Abb. 21: Zusammenfassung aller 136 Symptome zu Symptomgruppen mit Angabe ihres prozentualen Anteils

Mit 40% traten mit Abstand dermale Symptome wie z.B. Juckreiz oder Rötungen am häufigsten auf. Gefolgt von Symptomen wie Schwitzen mit 18%, die sich keiner Gruppe zuordnen ließen und unter „Andere“ zusammengefasst wurden. Die nächst größeren Gruppen waren „Fieber“ (Medikamentenfieber & Herxheimoidale Reaktionen) und „Neurologisch“ mit 10%. Die weiteren Symptomgruppen teilten sich wie folgt auf: 9% Bronchopulmonal, 6% Gastrointestinal, 5% Allergisch, 1% Psychisch, 1% Muskuloskelettal.

Bei den 5 ÜRPAs von Patientin 1 traten dreimal „Dermal“, dreimal „Fieber“, viermal „Andere“ und einmal „Bronchopulmonal“ als Symptomgruppen auf.

Bei Patientin 2 standen bei den 4 ÜRPAs ebenfalls mit dreimal die „dermalen“ Symptome im Vordergrund. Zusätzlich zeigten sich einmal „bronchopulmonale“ und einmal „andere“ Symptome.

#### 4.4.5.2 Zeitliches Auftreten der ÜRPA

Um ein besseres Verständnis für den Ablauf einer ÜRPA zubekommen, wurden alle Reaktionen bezüglich ihres zeitlichen Auftretens hin analysiert. Hierbei zeigte sich, dass die meisten Reaktionen innerhalb der ersten 3 Tage auftraten (Abbildung 22).

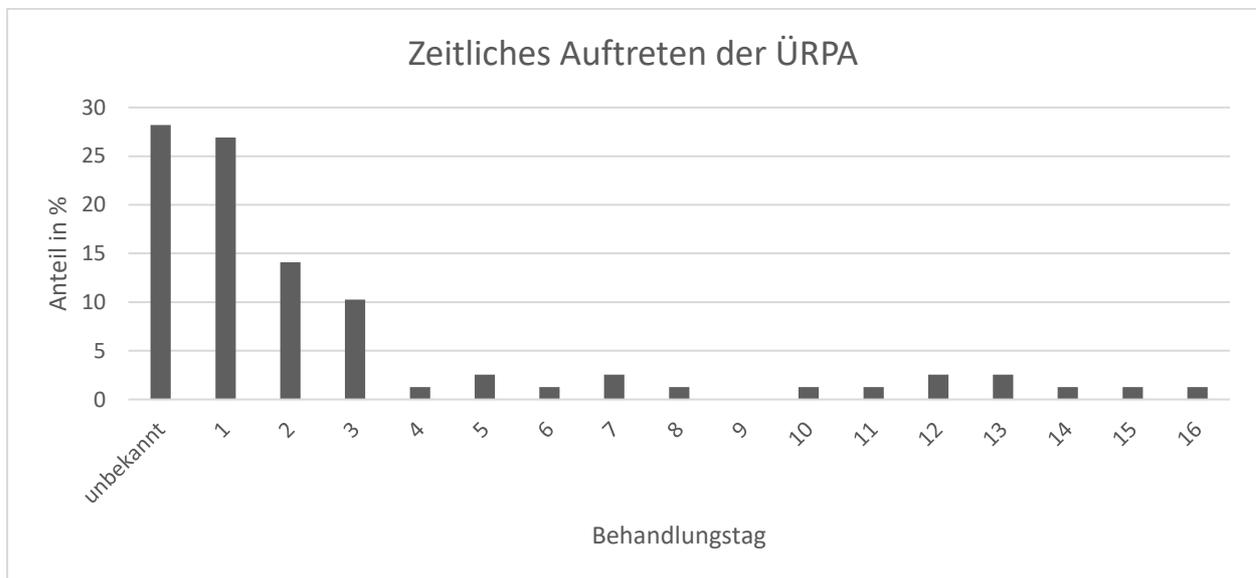


Abb. 22: Prozentuale Angabe der ÜRPAs pro Behandlungstag

26,9% der ÜRPA traten an Tag1 auf. Bei 28,2% ließ sich keine eindeutige Zuordnung zu einem Behandlungstag treffen. Diese ÜRPA wurden deswegen als „unbekannt“ benannt.

## 5. Diskussion

Die auf klinischen Beobachtungen basierende Vermutung, dass Patienten\*innen mit CF eine höhere Prävalenz für medikamentenabhängige Antikörper und mögliche DIIHA haben, wurde bestätigt. Zudem zeigen die Daten, dass klinisch inapparent verlaufende Immunhämolysen häufiger vorkommen als bisher bekannt.

### 5.1 Medikamentenabhängige Antikörperentwicklung

Bei zwei der Patientinnen (4,6%) waren im Rahmen der Studie medikamentenabhängige Antikörper auf Piperacillin nachweisbar. Jedoch zeigten sich bei beiden Unterschiede im Bildungsverlauf. Während Patientin 1 schon zu Beginn der Therapie Antikörper aufwies und diese auch 7 Monate nach Abschluss der Behandlung noch nachweisbar waren, bildete Patientin 2 die spezifischen Antikörper wahrscheinlich erstmalig während des Studienzeitraums. Ebenso waren medikamentenabhängige Antikörper nach einem kürzeren Zeitraum als bei Patientin 1 nicht mehr nachweisbar. Die Ergebnisse legen nahe, dass es Unterschiede in der Stärke und Art der Antikörperbildung gibt. Passend dazu entwickelte Patientin 1 eine medikamenteninduzierte Autoimmunhämolyse und Patientin 2 nicht. Die Frage warum Patientin 2 keine Hämolyse trotz Antikörpernachweis entwickelte, bleibt vorerst ungeklärt. Ein möglicher Faktor könnte der zeitliche Verlauf sein. Da bei Patientin 1 der Antikörper schon zu Beginn der Therapie nachgewiesen wurde, war ihr Immunsystem im Vergleich zu Patientin 2 bereits sensibilisiert. Eventuell wäre es auch bei Patientin 2 zur Hämolyse gekommen, wenn Sie mit dem Medikament länger exponiert worden wäre oder es nach kurzer Pause wiederbekommen hätte. Die Frage, in wie weit die in vitro Ergebnisse einen Anhalt dafür geben, was bei Weitergabe des Medikaments in vivo passiert wäre, bleibt daher weiter ungeklärt.

Möglicherweise wäre es jedoch zu einer lebensbedrohlichen Situation gekommen. So berichten Garcia et al. von einem Patienten mit Hämoglobinabfall und einem anfänglich schwachen DAT, bei dem die Laborbefunde fehlinterpretiert wurden. Dadurch kam es im weiteren Verlauf unter Fortführung der Therapie mit Piperacillin zu einer Zunahme der Hämolyse und der serologischen Aktivität und einer Verschlechterung der klinischen Situation<sup>51</sup>.

Aufgrund der ungeklärten Pathomechanismen und der möglichen Konsequenzen einer weiteren Exposition, wurde bei unserer Patientin vorerst auf Piperacillin/Tazobactam verzichtet. Weitere Studien sind daher dringend notwendig, um das Risiko einer

Hämolyse besser einschätzen und ermitteln zu können, damit Patienten\*innen nicht unnötigerweise ein wirksames Medikament vorenthalten wird.

Bezieht man nun die bekannten, fulminanten klinischen Verläufe in die Auswertung mit ein, erweitert diese Studie das Bild der medikamentenabhängigen Antikörperbildung um zwei weitere Möglichkeiten. Zum einen gibt es die klassische Variante mit fulminantem Verlauf, starkem Hb-Abfall, Antikörperbildung und Komplementaktivierung, die in dieser Studie nicht aufgetreten ist, zum anderen einen klinisch nicht auffälligen Verlauf, mit moderatem Hb-Abfall, Antikörperbildung und keiner Komplementaktivierung. Als dritte Variante präsentiert sich die reine Antikörperbildung ohne Hb-Abfall und Komplementaktivierung. Mögliche immunologischen Zusammenhänge von extra- und intravasaler Hämolyse bei der Entwicklung einer medikamentenabhängigen Hämolyse sind jedoch noch nicht ausreichend geklärt. Daher bleibt es offen, ob sich die beiden leichteren Varianten zu einer fulminanten Variante entwickeln könnten oder es gänzlich unterschiedliche immunologische Vorgänge sind. Mit 2,3% (1/43 Patienten\*innen) entwickelte sich eine DIIHA jedoch häufiger als bisher beschrieben. Daher sind weitere Studien zur genaueren Ermittlung der Häufigkeit von DIIHA und medikamentenabhängigen Antikörpern dringend notwendig.

Kerkhoff et al. beschreiben in ihrem Fallbericht einen moderaten Hämoglobin-Abfall während der Antibiotikazyklen vor der fulminanten Hämolyse<sup>52</sup>. Daher wäre ein prospektives Studiendesign interessant, das mehrere Therapiezyklen beobachtet und die Hämoglobinverläufe dokumentiert. Eventuell könnten so Vorläuferereignisse, die nur mit einem moderaten Hämoglobin-Abfall einhergehen, bei Patienten\*innen mit zukünftiger DIIHA erfasst werden.

## **5.2 Risikofaktoranalyse**

Bei den erhobenen Daten liegt keine Normalverteilung vor. Obwohl bei der vorliegenden Kohortengröße keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen „Antikörper positiv“ und „Antikörper negativ“ in Hinblick auf die ausgewählten Parameter zu erwarten waren, wurden diese dennoch der Vollständigkeit halber statistisch untersucht. In der Auswertung konnten wie erwartet keine signifikanten Merkmale nachgewiesen werden. Zusätzlich gilt es zu beachten, dass die Güte der Tests bei dieser Kohortengröße und Gruppenverteilung sehr gering ist.

Daher wurden die beiden Gruppen Antikörper „positiv“ und „negativ“ deskriptiv mit Hilfe des Median untersucht und verglichen. Jedoch ließen sich aufgrund der kleinen

Stichproben und des großen Unterschieds in den Gruppengrößen nur Tendenzen angegeben. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass Patienten\*innen mit medikamentenabhängigen Antikörpern eine höhere kumulative Piperacillin/Tazobactam-Dosis hatten und häufiger ÜRPAs während der Therapie zeigten.

Für weitere Studien ist es wichtig mehr Patienten\*innen zu rekrutieren. Vor allem müssten mehr Patienten\*innen mit medikamentenabhängigen Antikörpern eingeschlossen werden, um statistisch signifikante Aussagen treffen zu können und um die Güte der Aussagen zu verbessern.

### **5.3 ÜRPA**

Bei Betrachtung der Ergebnisse der ÜRPAs bestätigt sich, dass diese ein deutliches Problem bei der Behandlung der Mukoviszidose darstellen und Patienten\*innen mit CF zu einer Risikokohorte mit erhöhter Prävalenz gehören<sup>47,58,59</sup>. Warum dies so ist, ist nicht abschließend geklärt. Eine Vermutung ist, dass die häufigen Antibiotikabehandlungen und die daraus resultierenden hohen kumulativen Antibiotikadosen eine mögliche Ursache sein könnten. Ebenfalls werden die chronischen Entzündungsvorgänge im Lungengewebe als mögliche Risikofaktoren diskutiert<sup>58</sup>. In dieser Studie hatten 65,12% der Teilnehmenden eine ÜRPA. Dies liegt im ähnlichen Bereich wie bei Roehmel et al.<sup>47</sup> mit 65%. Anzumerken ist hierbei, dass zwischen den Studien einige Jahre Zeitunterschied liegen, beide jedoch in derselben Klinik erhoben wurden und zum Teil dieselben Patienten\*innen an beiden Studien teilgenommen haben.

Wie schon in anderen Studien berichtet, stehen auch in dieser Studie die dermalen Symptome mit 39% mit Abstand im Vordergrund<sup>47,59,60</sup>. In unserer Studie ist Piperacillin/Tazobactam am häufigsten für ÜRPAs verantwortlich, gefolgt von Cephalosporinen der 3.Generation.

Auch für Patienten\*innen ohne CF konnte gezeigt werden, dass beta-Lactam-Antibiotika, zu denen auch Piperacillin/Tazobactam und Cephalosporine zählen, die häufigsten Auslöser einer Überempfindlichkeitsreaktion innerhalb der Gruppe der Antibiotika und die zweit häufigsten allgemein sind<sup>61</sup>.

Zusätzlich war Piperacillin für die Bildung der medikamentenabhängigen Antikörper in dieser Studie verantwortlich. Damit bestätigt diese Studie die Studienlage, die Piperacillin als den führenden Auslöser für medikamentenabhängige Antikörper bei

Patienten\*innen mit CF sieht<sup>6,56</sup>. Die Studie erhärtet zudem den Verdacht, dass Piperacillin/Tazobactam eine sehr starke immunogene Wirkung besitzt<sup>62,63</sup>. So konnten Amali et al. zeigen, dass es bei Patienten\*innen mit Piperacillin-Überempfindlichkeitsreaktionen in vitro zu einer Stimulierung von antigen-spezifischen B- und T-Zellen bei Kultivierung mit Piperacillin kam<sup>62</sup>.

## **5.4 Prävention/ Screening**

Patienten\*innen mit CF erreichen dank neuerer und besserer Therapien und Diagnostik ein immer höheres Lebensalter. Die Anzahl der zu behandelnden Patienten\*innen wird daher weiter ansteigen. Dies bringt auch neue Herausforderungen mit sich.

Aufgrund der damit steigenden Anzahl an Antibiotikatherapien werden Ihre kumulativen Antibiotikadosen ebenfalls weiter zunehmen. Dadurch werden aber auch ÜRPAs und andere Komplikationen, wie medikamentenabhängige Antikörper, häufiger auftreten.

In dieser Studie ließen sich aufgrund der kleinen Kohortengröße keine signifikanten Aussagen zu Risikofaktoren für das Auftreten von medikamentenabhängigen Antikörpern treffen. Die Ergebnisse unserer Studie bestätigen jedoch den Verdacht, dass bei Patienten\*innen mit CF die Prävalenz von medikamentenabhängigen Antikörpern und gegebenenfalls DIIHA erhöht ist. Der Bedarf an weiterer Forschung und Screeningalgorithmen wird deswegen an Relevanz gewinnen.

Eine besondere Rolle scheint Piperacillin zu spielen, da es bei allen bisher publizierten Fällen bei Patienten\*innen mit CF das auslösende Medikament war<sup>11,19,50,52</sup>. Da die genauen immunologischen Vorgänge noch nicht geklärt sind, empfiehlt es sich präventive Maßnahmen zu ergreifen, um leichte Hämolysen, wie in den vorliegenden Fällen, rechtzeitig zu erkennen und um eine frühzeitige Behandlung einzuleiten. Eine einfache Variante ist die regelmäßige Kontrolle von Hämolyseparametern (Hämoglobin, LDH, Haptoglobin, Retikulozyten) bei Patienten\*innen, die aktuell mit Piperacillin behandelt werden.

Eine weitere Möglichkeit, um auch medikamentenabhängige Antikörper ohne einhergehende Hämolyse zu detektieren, wäre die Durchführung eines DATs unter der Therapie mit Piperacillin. Ist dieser Test negativ muss kein weiterer Test angeschlossen werden. Fällt er jedoch positiv aus, muss eine medikamentenabhängige Antikörpertestung erfolgen. Hierbei sollte auch immer mit Eigen- und Fremdurin getestet werden, da medikamentenspezifische Antikörper manchmal nur in Anwesenheit der Antibiotikametabolite reagieren.

Solange diese Screenings jedoch nicht etabliert sind, ist es umso wichtiger für die behandelnden Ärzte\*innen besser über medikamenteninduzierte Autoimmunhämolyse, als schwere Nebenwirkung einer Antibiotikatherapie, aufgeklärt zu werden. Die einzig sichere kausale Therapie beim Einsetzen einer medikamenteninduzierten Hämolyse besteht im sofortigen Absetzen des Auslösers. Dies erfordert ein schnelles Reagieren der Ärzte\*innen. Für den klinischen Alltag kann es daher hilfreich sein, sich die Gemeinsamkeiten der beiden Patientinnen vor Augen zu führen. Diese sind häufige ÜRPAs, vor allem auf Piperacillin/Tazobactam, die aktuelle Exposition mit Piperacillin und CF als Grunderkrankung.

Schaut man sich zudem die publizierten Fallberichte der letzten Jahre zu Piperacillin-induzierten Hämolysen bei Patienten\*innen mit CF an, fällt auf, dass vor allem Frauen davon betroffen zu sein scheinen<sup>1,11,19,49,52,64,65</sup>. Eine große Kohortenstudie von Park et al. verstärkt diesen Verdacht. In der Studie wurden Patienten\*innen mit bekannter Penicillin-Allergie untersucht und es konnte gezeigt werden, dass vor allem Frauen zu einer Reaktion bei einem Hauttest mit Penicillin neigten<sup>66</sup>.

Frauen scheinen also ein höheres Risiko zu haben mit immunologischen Reaktionen auf beta-Laktam-Antibiotika, zu denen Piperacillin und Penicillin gehören, zu reagieren.

## **5.5 Limitationen und Stärken der Studie**

Diese Studie ist meiner Kenntnis nach die erste Studie mit einem prospektiven Studiendesign zur Ermittlung der Prävalenz von medikamentenabhängigen Antikörpern und DIIHA bei Patienten\*innen mit CF.

Zudem wurden in dieser Studie erstmalig auch weitere klinische Parameter, wie ÜRPA, in die Auswertung miteinbezogen, um mögliche Risikofaktoren zu identifizieren.

Für diese Kohorte liegt eine sehr genaue Dokumentation der Antibiotikatherapien vor. Da nicht abschließend geklärt werden kann, ob die vermehrte Antikörperbildung aufgrund der Grunderkrankung, der höheren kumulativen Antibiotikadosis oder einer anderen Ursache entsteht, wäre eine Kontrollkohorte mit ähnlich hoher Antibiotikabelastung, wie z.B. COPD-Patienten\*innen, und eine Kontrollkohorte mit niedrigerer kumulativer Antibiotikabelastung, die aus anderen Indikationen, wie z.B. einer Pneumonie, mit Piperacillin/Tazobactam behandelt werden, eine sinnvolle Erweiterung des Studiendesigns.

Da bei der Studie nur eine geringe Anzahl an Patienten\*innen eingeschlossen wurde, konnte für die untersuchten Risikofaktoren keine Aussage zur Signifikanz im Hinblick

auf die Entwicklung von medikamentenabhängigen Antikörpern getroffen werden. Daher empfiehlt es sich bei weiteren Studien größere Kohorte zu rekrutieren, um gegebenenfalls doch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Antikörper „positiv“ und „negativ“ zu ermitteln. Die Tatsache, dass bei 2 von 43 Studienteilnehmern\*innen medikamentenabhängige Antikörper nachweisbar waren und 1 Patientin dadurch eine DIIHA entwickelte, erhärtet jedoch den Verdacht, dass dieses Ereignis deutlich häufiger zu sein scheint und weitere Forschung dringend gebraucht wird.

Da nicht alle Patienten\*innen von Geburt an im Christiane Herzog-Zentrum behandelt wurden, wurde ein Teil der Informationen zur Patientengeschichte ausschließlich aus Interviews mit den Patienten\*innen gewonnen. Zudem wurden Patienten\*innen mit unterschiedlich langer CF-Behandlungsdauer eingeschlossen. Dies wirkte sich auf die lebenslange kumulative Antibiotikadosis und damit auch auf die Häufigkeit von ÜRPAs aus.

Bei den Überempfindlichkeitsreaktionen gibt es keine allgemeingültige Definition, sodass der Vergleich mit anderen Studien sich gegebenenfalls schwierig gestaltet. Zudem ist es nicht immer einfach zwischen ÜRPA und Nebenwirkung zu unterscheiden. Deswegen wurden alle Symptome aufgenommen, die von den Patienten\*innen als überempfindlich bezeichnet und/oder in den Akten so vermerkt wurden. Dadurch ist es aber möglich, dass auch unspezifische Nebenwirkungen mit in die Auswertung aufgenommen wurden.

Bei den Antikörpertests ist zu beachten, dass viele Patienten\*innen, auch die beiden Patientinnen mit medikamentenabhängigen Antikörpern, von Anfang an mit Cortison behandelt wurden. Durch die Hemmung des Immunsystems kann es eventuell dazu gekommen sein, dass Testergebnisse deutlich schwächer ausgefallen sind und sich die DIIHA mit einem schwächeren und ungewöhnlicheren klinischen Bild präsentierte als es anders der Fall gewesen wäre.

Eine weitere Limitation ergibt sich aus der nicht immer möglichen Antibiotikazuordnung. So konnte in fast 25% der Fälle aufgrund der Kombinationstherapie nicht eindeutig ein Antibiotikum als Auslöser für eine ÜRPA identifiziert werden. Ebenfalls ließ sich aufgrund der Kombinationstherapie nicht eindeutig klären, welche der Antibiotika für den positiven DAT verantwortlich waren oder ob es gegebenenfalls andere Ursachen hatte.

Zusätzlich war es nicht immer möglich die zeitliche Abhängigkeit der Reaktion zur Gabe genau zu dokumentieren.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Mayer B, Yurek S, Salama A. Piperacillin-induced immune hemolysis: new cases and a concise review of the literature. *Transfusion*. 2010;50(5):1135-1138.
2. Xu Y, Xu L, Zhao M, Xu C, Fan Y, Pierce SK, Liu W. No receptor stands alone: IgG B-cell receptor intrinsic and extrinsic mechanisms contribute to antibody memory. *Cell Res*. 2014;24(6):651-664.
3. Schroeder HW, Jr., Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S41-52.
4. Quast I, Lunemann JD. Fc glycan-modulated immunoglobulin G effector functions. *J Clin Immunol*. 2014;34 Suppl 1:S51-55.
5. Caaveiro JM, Kiyoshi M, Tsumoto K. Structural analysis of Fc/FcγR complexes: a blueprint for antibody design. *Immunol Rev*. 2015;268(1):201-221.
6. Mayer B, Bartolmas T, Yurek S, Salama A. Variability of Findings in Drug-Induced Immune Haemolytic Anaemia: Experience over 20 Years in a Single Centre. *Transfus Med Hemother*. 2015;42(5):333-339.
7. Snapper I, Marks D, Schwartz L, Hollander L. Hemolytic anemia secondary to mesantoin. *Ann Intern Med*. 1953;39(3):619-623.
8. Garratty G. Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. *Blood Rev*. 2010;24(4-5):143-150.
9. Leger RM, Jain S, Nester TA, Kaplan H. Drug-induced immune hemolytic anemia associated with anti-carboplatin and the first example of anti-paclitaxel. *Transfusion*. 2015;55(12):2949-2954.
10. Chen F, Zhan Z. Severe drug-induced immune haemolytic anaemia due to ceftazidime. *Blood Transfus*. 2014;12(3):435-437.
11. Meinus C, Schwarz C, Mayer B, Roehmel JF. Piperacillin-induced mild haemolytic anaemia in a 44-year-old patient with cystic fibrosis. *BMJ Case Rep*. 2016;2016.
12. Salama A. Drug-induced immune hemolytic anemia. *Expert Opin Drug Saf*. 2009;8(1):73-79.

13. Salama A, Mayer B. Diagnostic pitfalls of drug-induced immune hemolytic anemia. *Immunohematology*. 2014;30(2):80-84.
14. Salama A. Drug-induced Immune Hemolytic Anemia. In: Bloom JC, ed. *Toxicology of the Hematopoietic System*. Vol. 4; 1997:73-85.
15. Salama A, Mueller-Eckhardt C, Kissel K, Pralle H, Seeger W. Ex vivo antigen preparation for the serological detection of drug-dependent antibodies in immune haemolytic anaemias. *Br J Haematol*. 1984;58(3):525-531.
16. Salama A, Mueller-Eckhardt C. The role of metabolite-specific antibodies in nomifensine-dependent immune hemolytic anemia. *N Engl J Med*. 1985;313(8):469-474.
17. Vehapoglu A, Goknar N, Tuna R, Cakir FB. Ceftriaxone-induced hemolytic anemia in a child successfully managed with intravenous immunoglobulin. *Turk J Pediatr*. 2016;58(2):216-219.
18. Zanetti RC, Biswas AK. Hemolytic anemia as a result of piperacillin/tazobactam administration: a case report and discussion of pathophysiology. *Mil Med*. 2013;178(9):e1045-1047.
19. Bandara M, Seder DB, Garratty G, Leger RM, Zuckerman JB. Piperacillin-induced immune hemolytic anemia in an adult with cystic fibrosis. *Case Rep Med*. 2010;2010:161454.
20. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, Rozmahel R, Cole JL, Kennedy D, Hidaka N, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science*. 1989;245(4922):1059-1065.
21. Elborn JS. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2016;388(10059):2519-2531.
22. Registry CFFP. 2017. *2017 Annual Data Report*. Available: <https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/2017-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf> [Accessed 24.04.2019];[Latest Update 08.2018]
23. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 2005;352(19):1992-2001.
24. Cutting GR. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat Rev Genet*. 2015;16(1):45-56.

25. Lund-Palau H, Turnbull AR, Bush A, Bardin E, Cameron L, Soren O, Wierre-Gore N, Alton EW, Bundy JG, Connett G, Faust SN, Filloux A, Freemont P, Jones A, Khoo V, Morales S, Murphy R, Pabary R, Simbo A, Schelenz S, Takats Z, Webb J, Williams HD, Davies JC. Pseudomonas aeruginosa infection in cystic fibrosis: pathophysiological mechanisms and therapeutic approaches. *Expert Rev Respir Med.* 2016;10(6):685-697.
26. Gamble RC. Keratomalacia and Cystic Fibrosis of the Pancreas. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1939;37:229-236.
27. Di Sant'Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas; clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics.* 1953;12(5):549-563.
28. Farrell PM, White TB, Ren CL, Hempstead SE, Accurso F, Derichs N, Howenstine M, McColley SA, Rock M, Rosenfeld M, Sermet-Gaudelus I, Southern KW, Marshall BC, Sosnay PR. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr.* 2017;181s:S4-S15.e11.
29. Hirche TO, Smaczny C, Mallinckrodt Cv, Krüger S, Wagner TOF. Pulmonale Manifestation der Mukoviszidose im Erwachsenenalter. *Dtsch Arztebl International.* 2003;100(5):264-.
30. Villanueva G, Marceniuk G, Murphy MS, Walshaw M, Cosulich R. Diagnosis and management of cystic fibrosis: summary of NICE guidance. *Bmj.* 2017;359:j4574.
31. Mukoviszidose e.V. 2017. *Über die Erkrankung.* Available: <https://www.muko.info/informieren/ueber-die-erkrankung/> [Accessed 25.10.2018];[Latest Update 02.10.2018]
32. Stephenson AL, Stanojevic S, Sykes J, Burgel PR. The changing epidemiology and demography of cystic fibrosis. *Presse Med.* 2017;46(6 Pt 2):e87-e95.
33. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics.* 1959;23(3):545-549.
34. Sommerburg O, Lindner M, Muckenthaler M, Kohlmüller D, Leible S, Feneberg R, Kulozik AE, Mall MA, Hoffmann GF. Initial evaluation of a biochemical cystic fibrosis newborn screening by sequential analysis of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein (IRT/PAP) as a strategy that does not involve DNA

- testing in a Northern European population. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33(Suppl 2):S263-271.
35. Naehrig S, Chao C-M, Naehrlich L. Mukoviszidose. *Dtsch Arztebl International*. 2017;114(33-34):564-574.
36. Davies JC, Alton EW, Bush A. Cystic fibrosis. *Bmj*. 2007;335(7632):1255-1259.
37. Strug LJ, Stephenson AL, Panjwani N, Harris A. Recent advances in developing therapeutics for cystic fibrosis. *Hum Mol Genet*. 2018;27(R2):R173-r186.
38. Foundation CF. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2016 Annual Data Report; 2017.
39. Giwercman B, Meyer C, Lambert PA, Reinert C, Hoiby N. High-level beta-lactamase activity in sputum samples from cystic fibrosis patients during antipseudomonal treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36(1):71-76.
40. Plummer A, Wildman M, Gleeson T. Duration of intravenous antibiotic therapy in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;9:Cd006682.
41. Langton H, Hewer SC, Smyth AR. Antibiotic strategies for eradicating *Pseudomonas aeruginosa* in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;4:Cd004197.
42. Wenzler E, Fraidenburg DR, Scardina T, Danziger LH. Inhaled Antibiotics for Gram-Negative Respiratory Infections. *Clin Microbiol Rev*. 2016;29(3):581-632.
43. Heijerman H, Westerman E, Conway S, Touw D, Doring G. Inhaled medication and inhalation devices for lung disease in patients with cystic fibrosis: A European consensus. *J Cyst Fibros*. 2009;8(5):295-315.
44. Mogayzel PJ, Jr., Naureckas ET, Robinson KA, Mueller G, Hadjiliadis D, Hoag JB, Lubsch L, Hazle L, Sabadosa K, Marshall B. Cystic fibrosis pulmonary guidelines. Chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(7):680-689.
45. Lands LC, Stanojevic S. Oral non-steroidal anti-inflammatory drug therapy for lung disease in cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;4:Cd001505.

46. Rosenthal M. Prognostication in cystic fibrosis: another futile pastime? *Arch Dis Child*. 2014;99(1):2-3.
47. Roehmel JF, Schwarz C, Mehl A, Stock P, Staab D. Hypersensitivity to antibiotics in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2014;13(2):205-211.
48. Arndt PA, Leger RM, Garratty G. Serologic characteristics of ceftriaxone antibodies in 25 patients with drug-induced immune hemolytic anemia. *Transfusion*. 2012;52(3):602-612.
49. Marik PE, Parekh P. Life-threatening piperacillin-induced immune haemolysis in a patient with cystic fibrosis. *BMJ Case Rep*. 2013;2013.
50. Chavez A, Mian A, Scurlock AM, Blackall D, Com G. Antibiotic hypersensitivity in CF: drug-induced life-threatening hemolytic anemia in a pediatric patient. *J Cyst Fibros*. 2010;9(6):433-438.
51. Garcia Gala JM, Vazquez Aller S, Rodriguez Vicente P, Morante Pombo C. Immune hemolysis due to piperacillin/tazobactam. *Transfus Apher Sci*. 2009;40(2):97-98.
52. Kerkhoff AD, Patrick L, Cornett P, Kleinhenz ME, Brondfield S. Severe piperacillin-tazobactam-induced hemolysis in a cystic fibrosis patient. *Clin Case Rep*. 2017;5(12):2059-2061.
53. Andersohn F, Bronder E, Klimpel A, Garbe E. Proportion of drug-related serious rare blood dyscrasias: estimates from the Berlin Case-Control Surveillance Study. *Am J Hematol*. 2004;77(3):316-318.
54. Röhmel J. 2015. *Überempfindlichkeit gegen parenterale Antibiotika bei Patienten mit Mukoviszidose*. Available: <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/7264> [Accessed 14.11.2018];[Latest Update]
55. Demoly P, Kropf R, Bircher A, Pichler WJ. Drug hypersensitivity: questionnaire. EAACI interest group on drug hypersensitivity. *Allergy*. 1999;54(9):999-1003.
56. Garratty G, Arndt PA. Drugs that have been shown to cause drug-induced immune hemolytic anemia or positive direct antiglobulin tests: some interesting findings since 2007. *Immunohematology*. 2014;30(2):66-79.
57. Bandara M, Seder DB, Garratty G, Leger RM, Zuckerman JB. Piperacillin-Induced Immune Hemolytic Anemia in an Adult with Cystic Fibrosis. *Case Reports in Medicine*. 2010;2010.

58. Whitaker P, Naisbitt D, Peckham D. Nonimmediate beta-lactam reactions in patients with cystic fibrosis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2012;12(4):369-375.
59. Burrows JA, Nissen LM, Kirkpatrick CM, Bell SC. Beta-lactam allergy in adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2007;6(4):297-303.
60. Koch C, Hjelt K, Pedersen SS, Jensen ET, Jensen T, Lanng S, Valerius NH, Pedersen M, Hoiby N. Retrospective clinical study of hypersensitivity reactions to aztreonam and six other beta-lactam antibiotics in cystic fibrosis patients receiving multiple treatment courses. *Rev Infect Dis*. 1991;13 Suppl 7:S608-611.
61. Dona I, Blanca-Lopez N, Torres MJ, Garcia-Campos J, Garcia-Nunez I, Gomez F, Salas M, Rondon C, Canto MG, Blanca M. Drug hypersensitivity reactions: response patterns, drug involved, and temporal variations in a large series of patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(5):363-371.
62. Amali MO, Sullivan A, Jenkins RE, Farrell J, Meng X, Faulkner L, Whitaker P, Peckham D, Park BK, Naisbitt DJ. Detection of drug-responsive B lymphocytes and antidrug IgG in patients with beta-lactam hypersensitivity. *Allergy*. 2017;72(6):896-907.
63. Meng X, Yerly D, Naisbitt DJ. Mechanisms leading to T-cell activation in drug hypersensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2018;18(4):317-324.
64. Nagao B, Yuan S, Bon Homme M. Sudden Onset of Severe Anemia in a Patient with Cystic Fibrosis. *Clinical Chemistry*. 2012;58(9):1286-1289.
65. Gehrie E, Neff AT, Ciombor KK, Harris N, Seegmiller AC, Young PP. Transfusion medicine illustrated. Profound piperacillin-mediated drug-induced immune hemolysis in a patient with cystic fibrosis. *Transfusion*. 2012;52(1):4-5.
66. Park MA, Matesic D, Markus PJ, Li JT. Female sex as a risk factor for penicillin allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2007;99(1):54-58.

## 7. Anhang

### 7.1 Eidesstaatliche Versicherung

„Ich, Philip Specht, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Prävalenz medikamentenabhängiger erythrozytärer Antikörper bei Patienten\*innen mit Mukoviszidose“ 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/der Betreuer/in, 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

## 7.2 Anteilserklärung an erfolgten Publikationen

Philip Specht hatte folgenden Anteil an folgenden Publikationen:

1. Postervortrag beim Drug Hypersensitivity Meeting der EAACI in Malaga/Spanien 4/2016: P Specht, D Staab, B Mayer, JF Roehmel "Piperacillin-Induced Immune Haemolytic Anaemia – A Severe And Frequent Complication Of Antibiotic Treatment in Patient with Cystic Fibrosis"

Beitrag im Einzelnen: Philip Specht hat die präsentierten Daten selbstständig erhoben und ausgewertet. Er verfasste selbstständig mit Unterstützung der angegebenen Co-Autoren die Texte auf dem Poster. Das Design des Posters wurde mit Jobst Röhmel zusammen erarbeitet. Zusammenfassend hatte Philip Specht einen Anteil von 90% an dem Poster.

---

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift des Doktoranden

### **7.3 Lebenslauf**

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

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

## **7.4 Publikationsliste**

### **1. Posterbeiträge bei Konferenzen**

- Postervortrag beim Drug Hypersensitivity Meeting der EAACI in Malaga/Spanien 4/2016: P Specht, D Staab, B Mayer, JF Roehmel „Piperacillin-Induced Immune Haemolytic Anaemia – A Severe And Frequent Complication Of Antibiotic Treatment in Patient with Cystic Fibrosis”

## 7.5 Danksagung

Hiermit möchte ich mich vor allem bei meiner Doktormutter PD Dr. Doris Staab, meinem Betreuer Dr. Jobst Röhmel und meiner Betreuerin Dr. Beate Mayer bedanken, die mich die letzten Jahre über begleitet und unterstützt haben. Sie hatten immer ein offenes Ohr für meine Probleme und Fragen und haben mich mit konstruktiver Kritik und neuen Impulsen bereichert. Ohne Sie hätte die Planung und Durchführung der Doktorarbeit nicht so reibungslos funktioniert. Zudem gilt mein besonderer Dank Dr. Jobst Röhmel, der mir dankenswerterweise einen kleinen Teil seiner eigenen Doktorarbeitsdaten zur freien Verfügung gestellt hat.

Ebenfalls danke ich meinen Eltern, die es mir ermöglicht haben für meine Doktorarbeit mehrere Freisemester zu nehmen, sodass ich mich ganz auf meine Arbeit konzentrieren konnte. Ohne deren Unterstützung wäre diese Arbeit heute noch nicht fertig.

Weiterhin danke ich allen Patienten\*innen, die an dieser Studie teilgenommen haben. Ihre persönlichen Geschichten und die Möglichkeit, durch diese Doktorarbeit etwas zurückgeben und bewirken zu können, haben mich unwahrscheinlich motiviert.

Mein Dank gilt auch den Mitarbeiter\*innen des Christiane Herzog-Zentrums und des Instituts für Transfusionsmedizin. Ich wurde überall mit offenen Armen empfangen und konnte stets auf Hilfe und Unterstützung zählen.

Zu guter Letzt geht mein Dank an meine Freunde, die mich durch die Höhen und Tiefen dieser wissenschaftlichen Arbeit begleitet und unterstützt haben.