

Optimierung der inhalativen Therapie bei Patienten mit Cystischer Fibrose und bei Kleinkindern

Untersuchungen zur physikalisch-chemischen Kompatibilität
ausgewählter Inhalationsmischungen zur simultanen
Feuchtinhalation und zur Anwendbarkeit des Respimat® Soft
Mist™ Inhalers bei Kleinkindern

Dissertation

zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

im Promotionsfach Pharmazie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anja Wollstadt, geborene Klemmer

geboren in Kirchheimbolanden

Mainz, 2012

Dekan:

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der mündlichen Prüfung: 08. Juni 2012

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	IV
TABELLENVERZEICHNIS	VI
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	VII
1 EINLEITUNG	1
1.1 Feuchtinhalation als Applikationsform.....	1
1.2 Feuchtinhalation bei Mukoviszidose	11
1.3 Simultane Feuchtinhalation von Inhalationsmischungen.....	20
1.4 Besonderheiten der Inhalation bei Kleinkindern	24
1.5 Inhalationsgeräte zur Anwendung bei Kleinkindern	27
1.5.1 Druckgasdosieraerosole mit Inhalierhilfe	28
1.6 Auswahl eines geeigneten Inhalationsgerätes für Kinder: Vernebler oder Dosieraerosol mit Spacer?	31
1.7 Respimat® Soft Mist™ Inhaler als Applikationsform	33
2 ZIELSETZUNG.....	37
2.1 Physikalisch-chemische Kompatibilität ausgewählter Mischinhalationslösungen/-suspensionen zur simultanen Feuchtinhalation	37
2.2 Bewertung der Anwendbarkeit des Respimat® Soft Mist™ Inhalers bei Kindern unter 5 Jahren.....	38
3 PHYSIKALISCH-CHEMISCHE KOMPATIBILITÄT AUSGEWÄHLTER MISCHINHALATIONS- LÖSUNGEN/- SUSPENSIONEN ZUR SIMULTANEN FEUCHTINHALATION	40
3.1 Physicochemical compatibility and stability of nebulizable drug admixtures containing dornase alfa and tobramycin.....	41
3.2 Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing colistimethate and tobramycin	67
3.3 Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing budesonide and colistimethate or hypertonic saline	86
3.3.1 Anlage zu “Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing budesonide and colistimethate or hypertonic saline”	106
4 BEWERTUNG DER ANWENDBARKEIT DES RESPIMAT® SOFT MIST™ INHALERS BEI KINDERN UNTER 5 JAHREN	112
4.1 Materialien.....	112

4.1.1	Chemikalien.....	112
4.1.2	Materialien	112
4.1.3	Geräte	113
4.1.4	Software	113
4.2	Methoden.....	115
4.2.1	Studienprotokoll.....	115
4.2.1.1	Patientenkollektiv	115
4.2.1.2	Studienablauf	116
4.2.2	Patientenunterweisung	119
4.2.3	Bewertung der Handhabung.....	119
4.2.4	Aufnahme der Inhalationsprofile.....	122
4.2.5	Datenauswertung	126
4.2.6	Zufriedenheit der Anwender	128
4.2.7	Statistische Auswertung.....	130
4.3	Ergebnisse	131
4.3.1	Studienprotokoll.....	131
4.3.1.1	Patientenkollektiv	131
4.3.2	Bewertung der Handhabung.....	132
4.3.3	Inhalationsprofile	134
4.3.4	Zufriedenheit der Anwender	137
4.4	Diskussion	141
4.4.1	Studienprotokoll.....	141
4.4.1.1	Patientenkollektiv	141
4.4.2	Bewertung der Handhabung.....	142
4.4.3	Inhalationsprofile	144
4.4.4	Zufriedenheit der Anwender	148
5	ZUSAMMENFASSUNG	150
5.1	Physikalisch-chemische Kompatibilität ausgewählter Mischinhalationslösungen/-suspensionen zur simultanen Feuchtinhalation	150
5.1.1	Physikalisch-chemische Kompatibilität und Charakterisierung der aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationslösungen aus Dornase alfa und Tobramycin.....	150
5.1.2	Physikalisch-chemische Kompatibilität von Mischinhalationslösungen aus Tobramycin und Colistin	151

5.1.3	Physikalisch-chemische Kompatibilität von Mischinhalationssuspensionen aus Budesonid und Colistin oder Budesonid und hypertoner Natriumchloridlösung	152
5.2	Bewertung der Anwendbarkeit des Respimat® Soft Mist™ Inhalers bei Kindern unter 5 Jahren.....	154
6	LITERATURVERZEICHNIS	156
7	ANHANG	168

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Die Abbildungen der Publikationen sind an dieser Stelle nicht aufgelistet (siehe dazu jeweilige Publikation).

Abbildung 1: Prinzip der Düsenvernebler	3
Abbildung 2: Prinzip der Ultraschallvernebler	5
Abbildung 3: Prinzip der Membranvernebler mit statischer Membran	6
Abbildung 4: Prinzip der Membranvernebler mit vibrierender Membran	6
Abbildung 5: Pulmonale Abscheidungsmechanismen	8
Abbildung 6: Zusammenhang zwischen aerodynamischem Partikeldurchmesser und Deposition	9
Abbildung 7: Chemische Struktur von Tobramycin	12
Abbildung 8: Struktur von Colistin A und B	16
Abbildung 9: Deposition durch Impaktion	25
Abbildung 10: Aerosoldeposition eines radioaktiv-markierten Arzneimittels bei einem 3-jährigen Kind	26
Abbildung 11: Typisches Atemmuster eines 10 Monate alten Säuglings wach und schlafend	26
Abbildung 12: Funktionsweise eines VHCs mit Gesichtsmaske am Beispiel des AeroChamber Plus®	29
Abbildung 13: Aufbau des Respimat® Soft Mist™ Inhalers	34
Abbildung 14: Graphische Darstellung der pH-Wert-Messungen	109
Abbildung 15: Etikettierung der Placebo-Respimate®	112
Abbildung 16: Graphische Darstellung der gemessenen Signale eines Inhalationsprofils	114
Abbildung 17: Darstellung des Studienablaufs im Flussdiagramm	118
Abbildung 18: Screenshot aus RITA Software zur Bewertung der Handhabung	122
Abbildung 19: Schematischer Versuchsaufbau für Messungen mit Respimat®	124
Abbildung 20: Einbau des Placebo-Respimat® in das Testgehäuse	124
Abbildung 21: Schematischer Versuchsaufbau für Messungen mit AeroChamber Plus®	125
Abbildung 22: Versuchsaufbau mit AeroChamber Plus®	125
Abbildung 23: Schematische Darstellung der ermittelten Parameter anhand der Inhalationsprofile durch Inhalation mit dem Respimat® ohne Inhalierhilfe (Handhabungsstufen 1 und 2)	126
Abbildung 24: Schematische Darstellung der ermittelten Parameter der Inhalationsprofile durch Inhalation mit AeroChamber Plus® (Handhabungsstufe 3)	127
Abbildung 25: Fragen zur Erfassung der Zufriedenheit mit dem Respimat®	129
Abbildung 26: Graphische Darstellung der Bestehensquoten je Handhabungsstufe in Abhängigkeit vom Alter	133
Abbildung 27: Korrelationen von PIF, VA und Größe vom Alter	137
Abbildung 28: Prozentuale Häufigkeit der Zufriedenheit signalisierenden Antworten auf die Fragen 1-4	138
Abbildung 29: Prozentuale Häufigkeit der Antworten auf die Frage 7	138
Abbildung 30: Prozentuale Häufigkeit der Antworten auf die Frage 8	139

Abbildung 31: Frage 5 „Was gefällt Ihnen an dem Gerät gut“, Häufigkeit der
genannten Antworten 140

Abbildung 32: Frage 6 „Was gefällt Ihnen am Gerät weniger gut?“, Häufigkeit
der genannten Antworten 140

TABELLENVERZEICHNIS

Die Abbildungen der Publikationen sind an dieser Stelle nicht aufgelistet (siehe dazu jeweilige Publikation).

Tabelle 1:	In Deutschland zugelassene Fertigarzneimittel mit den Wirkstoffen Tobramycin oder CMS	14
Tabelle 2:	Übersicht über Untersuchungen zum Vernehlungsverhalten von Inhalationsmischungen.....	22
Tabelle 3:	Studien mit radioaktiv-markierten Aerosolen bei Kleinkindern	32
Tabelle 4:	Ergebnisse der pH-Wert-Messungen	110
Tabelle 5:	Ein- und Ausschlusskriterien.....	116
Tabelle 6:	Alters- und Geschlechtsverteilung zwischen den beiden Studienzentren.....	131
Tabelle 7:	Demographische Daten der Studienpopulation.....	132
Tabelle 8:	Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreicher Handhabungsmanöver pro Handhabungsstufe und Altersgruppe. ..	133
Tabelle 9:	Prozentuale Häufigkeit nicht-korrektter Handhabungsschritte in Abhängigkeit von der Altersgruppe und der Handhabungsstufe.....	134
Tabelle 10:	Inhalationsprofilparameter der Stufen 1 und 2 (bestes individuelles Profil).....	135
Tabelle 11:	Inhalationsprofilparameter der Stufe 3 (bestes individuelles Profil).....	136

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Absorbance (Absorption)
AMG	Arzneimittelgesetz
AO	Aerosol Output
Asn	Asparagin
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CF	Cystische Fibrose
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Protein
CMS	Colistimethate Sodium
DNA	Desoxyribonukleinsäure
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CRF	Case Report Form
DPI	Dry Powder Inhaler
f	Frequenz
FDA	Food and Drug Agency
FEV ₁	Forced Expiratory Volume in 1 s
FPF	Fine Particle Fraction
FCKW	Fluor-Chlor-Kohlenwasserstoffe
g	Gramm
GSD	Geometric Standard Deviation
h	hour/ hours
HC	Holding Chamber
HFKW	Hydrogen-Fluor-Kohlenwasserstoff
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IU	International Units
I.E.	Internationale Einheiten
L	Liter
(p)MDI	(pressurized) Metered Dose Inhaler
M	Mol
Max	Minimum
Min	Maximum
mg	Milligramm
min	Minute

ml	Milliliter
mM	Millimol
mm	Millimeter
MMAD	Mass Median Aerodynamic Diameter
MPG	Medizinproduktegesetz
µm	Mikrometer
µl	Mikroliter
NaCl	Natrium Chlorid
NGI	Next Generation Pharmaceutical Impactor
nm	Nanometer
Pa	Pascal
PDA	Photodiodenarray
PIF	Peak Inspiratory Flow
PIFA	Peak Inspiratory Flow innerhalb von 10 s nach dem Auslösen
REM	Rapid Eye Movement
RSD	Relative Standard Deviation
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
RF	Respirable Fraktion
rhDNase	rekombinante humane Desoxyribonuklease
RT	Retention Time
s	Sekunde
SD	Standard Deviation
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
SE-HPLC	Size-Exclusion-HPLC
^{99m} Tc	metastabiles Isotop von Technecium mit der Massenzahl 99
Tin	Inhalationsdauer
TOR	Total Output Rate
UV-VIS	Ultraviolet-Visible
t-RNA	transfer-Ribonukleinsäure
VA	gesamtes inhaliertes Volumen innerhalb von 1,5 s bzw. 10 s nachdem Auslösen
VCin	gesamtes inhaliertes Volumen
VHC	Valved Holding Chamber

1 EINLEITUNG

1.1 Feuchtinhalation als Applikationsform

Bei der Feuchtinhalation wird eine Lösung oder eine Suspension mit Hilfe eines Verneblers in ein Aerosol zur Inhalation überführt. Die Inhalationstherapie hat den Vorteil, dass der Wirkstoff gezielt an den Wirkort appliziert wird, woraus ein unmittelbarer Wirkungseintritt resultiert. Es ist eine geringere Dosis als bei systemischer Gabe erforderlich, wodurch auch das Nebenwirkungspotential geringer ist (1).

Die Feuchtinhalation mittels Vernebler wird in der Regel bei Patienten mit niedrigem inspiratorischen Fluss als Inhalationsform gewählt, so beim akuten Asthma-Anfall, bei chronischer Obstruktion der Atemwege durch COPD oder Mukoviszidose.

Ein weiteres Haupteinsatzgebiet von Verneblern ist die Verabreichung von Arzneistoffen wie Antibiotika, Enzyme oder Mukolytika, die nicht als MDIs oder DPIs formuliert sind. Auch die patientenindividuelle Verabreichung von Mischinhalaten oder individuellen Dosierungen ist mittels Feuchtinhalation möglich. Weiterhin erfordert die Inhalation mittels Vernebler keine Koordination zwischen Auslösung des Sprühstoßes und Inspiration, was bei Kindern und bei älteren Menschen von Bedeutung ist.

Die Auswahl an verschiedenen Verneblersystemen ist groß. Die Zahl der die Inhalationstherapie beeinflussenden Parameter ist vielfältig (2).

Eine Reihe von verschiedenen Faktoren beeinflussen die Deposition eines Aerosols in den Atemwegen und diese sind teilweise voneinander abhängig (3):

Gerät

- Prinzip der Aerosolerzeugung

Aerosol

- Tröpfchengröße
- Form des Tröpfchens
- Elektrische Ladung
- Hygroskopie

Arzneistoff

- Stabilität
- Viskosität
- Konzentration
- Volumen

Patient

- Atemmanöver
- Atemwegsgeometrie

Die Unterschiede zwischen den mit Verneblern generierten Aerosolen sind enorm. Dies lässt sich allein schon auf die unterschiedlichen Techniken zurückführen mit denen die Vernebler ein Aerosol erzeugen. Man unterscheidet im Wesentlichen drei Systeme:

Düsenvernebler

Düsenvernebler sind die am weitesten verbreiteten Verneblersysteme (4). Sie benötigen Druckluft zur Erzeugung des Aerosols. Üblicherweise wird die Druckluft mittels eines Kompressors erzeugt. Die vom Kompressor erzeugte Druckluft wird über eine Düse beschleunigt. Um den Luftstrom herum wird ein lokaler Unterdruck erzeugt (Venturi- bzw. Bernoulli- Effekt), wodurch Verneblerflüssigkeit durch feine Kanäle angesaugt wird und durch die hohe Geschwindigkeit des Luftstroms an der Grenzschicht Tröpfchen entstehen (Abbildung 1). Die im Aerosol enthaltenen Tröpfchen sind unterschiedlich groß. Zu große Tröpfchen werden an Prallplatten abgeschieden und wieder dem Medikamentenreservoir zugeführt (Aerosol Recycling). Die kleinen Tröpfchen verlassen mit dem Luftstrom den Vernebler und stehen zur Inhalation zur Verfügung.

Die primäre Tröpfchengröße wird beeinflusst von Düsendurchmesser, Flussraten von Luft und Inhalationsflüssigkeit sowie von physikalischen Eigenschaften der Luft und der Inhalationslösung. Mercer (5) drückte das Verhältnis mathematisch aus:

$$\frac{D}{D_L} = 0,64 \left[1 + 0,011 \left(\frac{G_L}{G_A} \right)^2 \right] x \left[\frac{2\gamma}{9\rho V^2 D_L} \right]^{0,45} \quad \text{Gleichung (1)}$$

D = Mittlerer Tröpfchendurchmesser, D_L = Düsendurchmesser, G_L , G_A = Massenflussrate der Luft (A) und der Inhalationsflüssigkeit (L), γ = Oberflächenspannung, ρ = Dichte der Luft, V = Geschwindigkeit der Luft

Eine höhere Geschwindigkeit der Luft und ein kleinerer Düsendurchmesser verkleinern die Tröpfchengröße des Primäraerosols. Allerdings wird die tatsächliche Teilchengröße des Aerosols durch die im System befindlichen Prallplatten modifiziert(1). Man unterscheidet je nach Konstruktionsprinzip kontinuierlich arbeitende Düsenvernebler, mittels Unterbrechertaste vom Patienten getriggerte Systeme und atemzugstriggerte Systeme. Mittels Düsenvernebler können nahezu alle Arten von wässrigen Formulierungen, Lösungen und Suspensionen, vernebelt werden. Auch Proteinlösungen können mit Düsenverneblern sicher angewendet werden. Empfindliche Zubereitungen wie Liposomen können teilweise mechanisch zerstört werden.

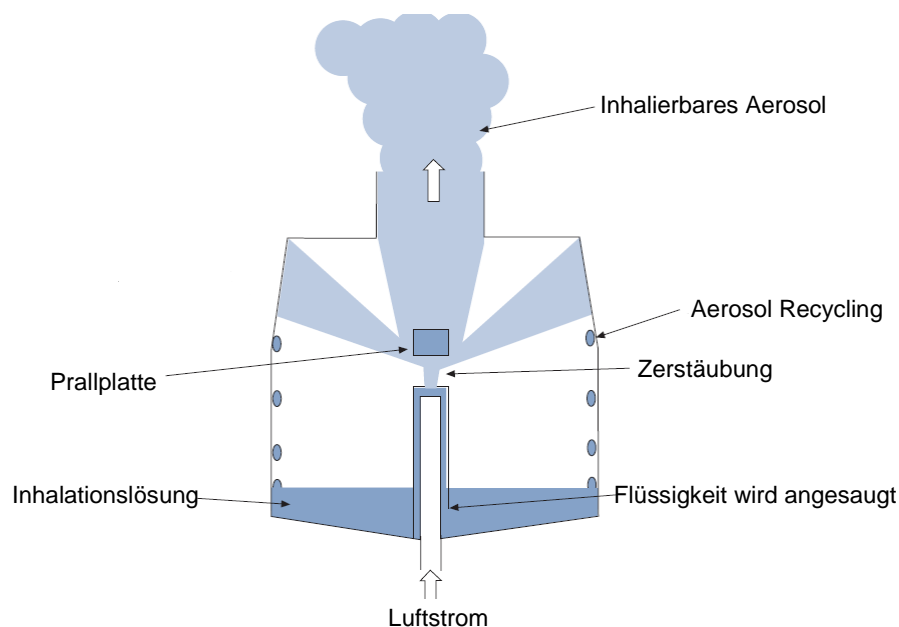


Abbildung 1: Prinzip der Düsenvernebler, modifiziert nach (6).

Ultraschallvernebler

Ultraschallvernebler (Abbildung 2) nutzen die Schwingungen piezo-elektrischer Kristalle zur Aerosolerzeugung. Die Ultraschallwellen werden auf die Flüssigkeit übertragen und erzeugen Kapillarwellen, Tröpfchen lösen sich von der Oberfläche und es entsteht ein heterodisperses Primäraerosol.

Nach Mercer (5) beträgt die Schwellenamplitude zur Bildung von Kapillarwellen:

$$A = \frac{4\eta}{fl} \quad \text{Gleichung (2)}$$

A = Schwellenamplitude, η = Viskosität, f = Frequenz des akustischen Signals, l = Kapillarwellenlänge

Die Tröpfchen werden von der Oberfläche abgelöst, wenn die Amplitude die Schwellenamplitude um etwa das Vierfache übersteigt. Der mittlere Tröpfchendurchmesser ist proportional zur Kapillarwellenlänge l. Diese resultiert aus:

$$l = \left(\frac{8pg}{rf^2} \right)^{\frac{1}{3}} \quad \text{Gleichung (3)}$$

g = Oberflächenspannung der Lösung, r = Dichte der Lösung, f = Frequenz des akustischen Signals, p = Proportionalitätskonstante

Zu große Tröpfchen werden an Prallplatten abgeschieden, kleine Tröpfchen werden inhaliert. Je höher die Schwingungsfrequenz desto kleinere Tröpfchen werden gebildet, umso höher ist aber auch der Energieaufwand, wodurch die Inhalationslösung erwärmt wird. Proteinlösungen sollten aus diesem Grund nicht mit Ultraschallverneblern angewendet werden. Suspensionen können mit Ultraschallverneblern nur bedingt vernebelt werden.

Membranvernebler

Man unterscheidet bei den Membranverneblern statische und vibrierende Membranvernebler. Bei den statischen Membranverneblern wird die Inhalationsflüssigkeit durch eine unbewegliche Membran gepresst (Abbildung 3). Bei den Verneblern mit vibrierender Membran wird die Schwingung eines elektronisch angeregten Piezorings auf eine dünne Membran aus Edelmetall übertragen. Die entstehenden periodischen Druckschwankungen pressen die Medikamentenlösung durch Mikrodüsen definierter Größe und Form (Abbildung 4). Da die benötigte Energie im Vergleich zu Ultraschallverneblern geringer ist, können auch chemisch und physikalisch labile Substanzen appliziert werden.

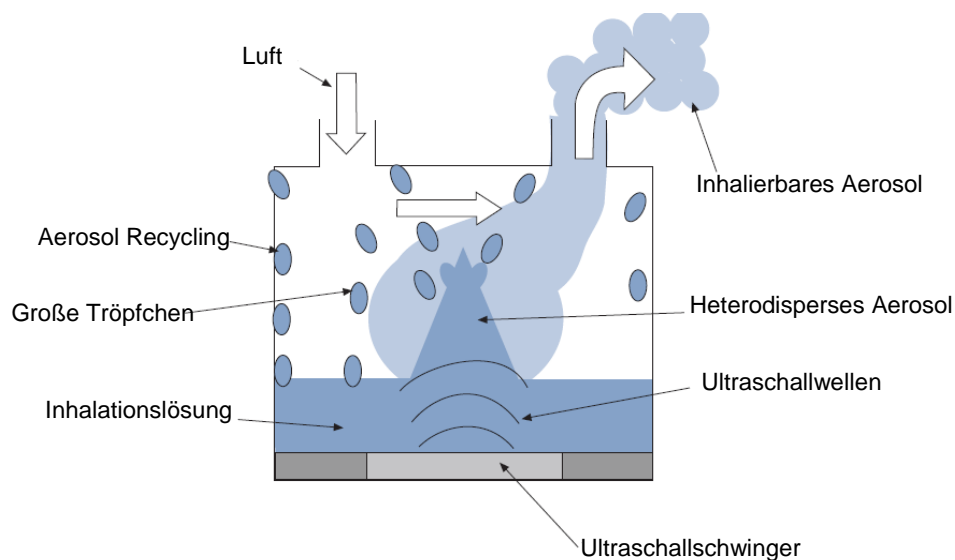


Abbildung 2: Prinzip der Ultraschallvernebler, modifiziert nach (6)

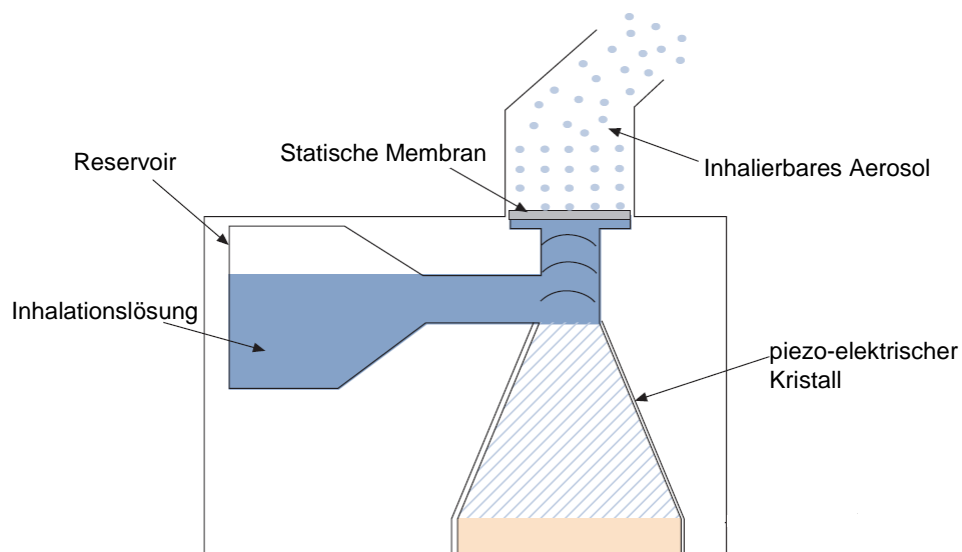


Abbildung 3: Prinzip der Membranvernebler mit statischer Membran, modifiziert nach (6)

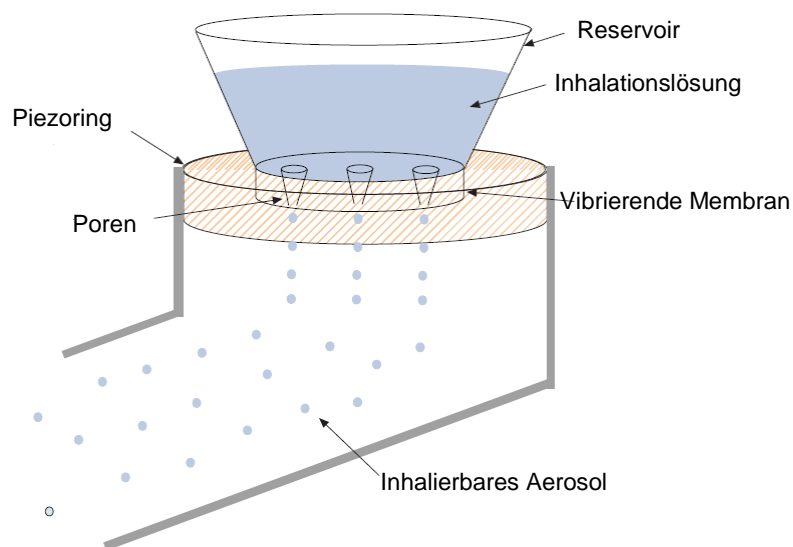


Abbildung 4: Prinzip der Membranvernebler mit vibrierender Membran, modifiziert nach (6)

Die Vernebler unterscheiden sich darüber hinaus im Füllvolumen, der Verneblereffizienz und im Residualvolumen. Beim Residualvolumen, auch sog. „Totvolumen“, handelt es sich um das Volumen der Inhalationslösung, welches nach Beendigung der Verneblung im Vernebler verbleibt. Der Anteil kann mit 0,5

bis 1,5 ml einen sehr hohen Anteil vom typischen Füllvolumen (z.B. 2,5 ml) betragen (4) und sollte bei der Auswahl eines Verneblers berücksichtigt werden. Die gravimetrische Bestimmung des Residualvolumens ist nicht adäquat, da es während des Verneblungsvorgangs durch Verdampfen von Lösungsmittel (7;8) zu einer Konzentrationserhöhung im Verneblergefäß kommen kann.

Zur Bewertung der Verneblerqualität bzw. Verneblereffizienz werden vor allem folgende Faktoren herangezogen (Definitionen nach PARI):

- Aerosol Output (AO)= gravimetrisch bestimmter Massenausstoß von Arzneimittelaerosol
- Total Output Rate (TOR) = gesamter Massenausstoß von Arzneimittelaerosol pro Zeiteinheit
- Medianer Aerodynamischer Massendurchmesser (MMAD) = mittlere Tröpfchengröße, d.h. 50% der Partikel sind kleiner als dieser Wert
- Respirable Fraction (RF) oder Fine Particle Fraction (FPF) = prozentualer Anteil von Teilchen kleiner als 5 µm
- Respirable Drug Delivery Rate (RDDR) = Menge an Arzneimittel mit Tröpfchen kleiner 5 µm, die pro Minute vom Inhalationsgerät abgegeben wird.

Neben den oben genannten Problemen bei der gravimetrischen Bestimmung von AO und TOR wird der Output der Vernebler und damit die Dosis, die dem Patienten zu Verfügung steht, bei diesen Methoden prinzipiell überschätzt. Grund ist, dass die Menge Arzneimittelaerosol, die während der Expiration des Patienten verloren geht, ebenfalls eingerechnet wird. Ausgenommen davon sind die diskontinuierlichen Systeme. Eine bessere Beurteilung der Verneblerqualität lässt sich über die RDDR erreichen, welche die Menge an respirablem Arzneimittel beschreibt, die dem Patient pro Zeiteinheit zu Verfügung steht.

Die Tröpfchengröße eines Aerosols ist ein wichtiger Faktor für die Deposition des vernebelten Arzneimittels in den Atemwegen des Patienten.

Die pulmonale Abscheidung von Partikeln beruht prinzipiell auf den Mechanismen der: Impaktion, Sedimentation, Diffusion, Interzeption und elektrostatischen

Abscheidung (9). Dabei kommen Impaktion, Sedimentation und der Diffusion die größte Bedeutung zu.

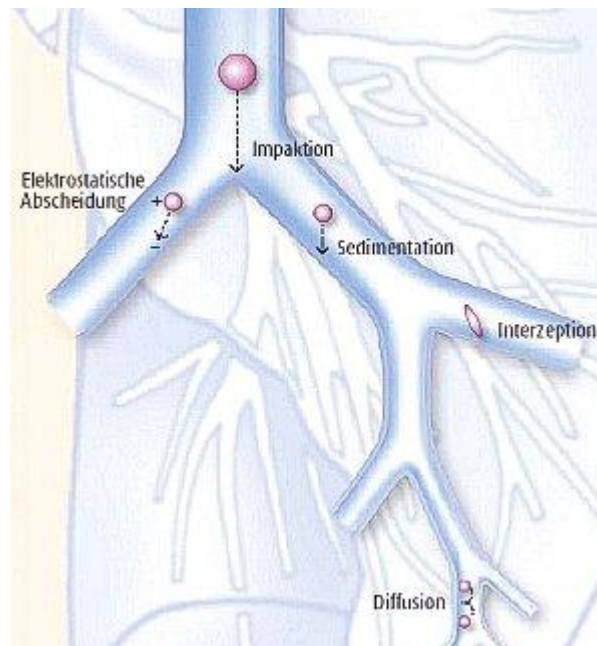


Abbildung 5: Pulmonale Abscheidungsmechanismen nach (9)

Können Partikel dem Luftstrom in die unteren Atemwege nicht mehr folgen und werden aufgrund ihrer Trägheit abgeschieden, spricht man von Impaktion. Davon betroffen sind vor allem Partikel mit einem Durchmesser $> 3\mu\text{m}$. Der Vorgang der Impaktion ist umso wahrscheinlicher je größer die Geschwindigkeit der Luft, der Durchmesser des Partikels und dessen Dichte sind.

Partikel im Größenbereich von $0,5 - 4\mu\text{m}$ unterliegen vorwiegend der Abscheidung durch Sedimentation. Die Partikel gehorchen dabei dem Stokeschen Gesetz. Die Sedimentationsgeschwindigkeit ist dabei umso größer, je größer der Durchmesser und die Dichte des Partikels sind.

Partikel $< 1\mu\text{m}$ folgen zunehmend der Brownschen Molekularbewegung der sie umgebenden Gasmoleküle. Diese Bewegung verhindert die Abscheidung durch Sedimentation und führt zur Abscheidung durch Diffusion. Je kleiner der Partikeldurchmesser umso größer ist die Diffusionsgeschwindigkeit.

Die Interzeption tritt als Abscheidungsmechanismus bei anisometrischen Partikeln auf, wenn diese in etwa die gleiche Größe wie die Atemwege haben. Dabei kann der Schwerpunkt des Partikels zwar noch dem Luftstrom folgen, aber ein vom Schwerpunkt entfernter Teil des Partikels berührt die Oberfläche der Lunge und wird dadurch abgeschieden.

Die Partikel können während der Aerosolbildung elektrostatisch aufgeladen und in der Lunge elektrostatisch abgeschieden werden.

Für eine optimale alveolare Deposition in der Lunge eines Erwachsenen sollten die Aerosoltröpfchen im Bereich zwischen 0,5 und 5 μm liegen.

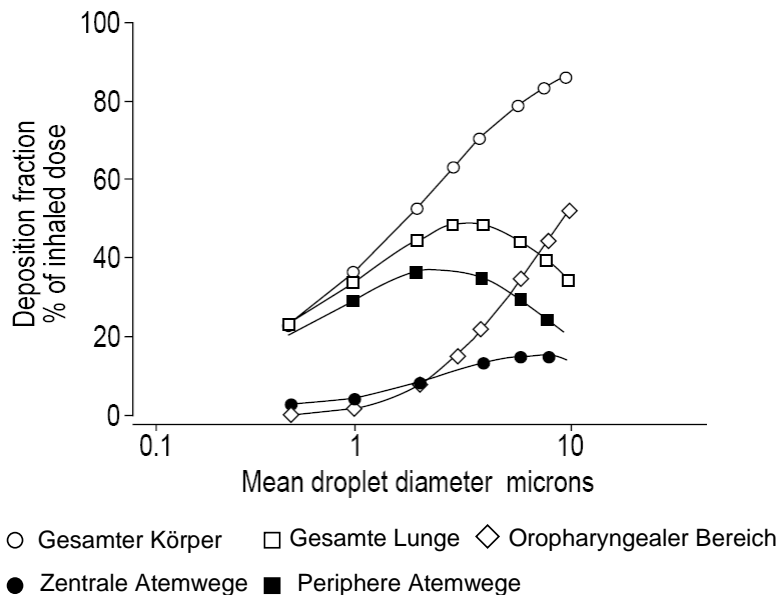


Abbildung 6: Zusammenhang zwischen aerodynamischem Partikeldurchmesser und Deposition im gesunden Erwachsenen nach (4)

Ein möglicher Einfluss der Inhalationslösung auf die Verneblung wird aus den Gleichungen 1 – 3 ersichtlich. Es ist anzunehmen, dass physikalische Eigenschaften wie Viskosität, Oberflächenspannung und damit indirekt auch die Temperatur der Lösung und die Konzentration die Tröpfchengröße beeinflussen.

McCallion et al. (10) fanden einen proportionalen Zusammenhang zwischen Viskosität und Teilchengröße bei Ultraschallverneblung von verschiedenen Glycerol-, Propylenglycol-Wassergemischen und bei verschiedenen Silikonflüssigkeiten.

Neben steigender Teilchengröße, zeigte sich bei steigender Viskosität eine Verlängerung der Verneblungszeit und eine Zunahme des Residualvolumens.

Ein klarer Zusammenhang zwischen Oberflächenspannung und Teilchendurchmesser ließ sich in dieser Studie nicht nachweisen. Ab einer bestimmten Viskosität können Lösungen nicht mehr mittels Ultraschall vernebelt werden (10;11). Untersuchungen von Newman et al. (12) und McCallion et al.

(13) zeigten übereinstimmend, dass bei Verneblung mit Düsenverneblern die Teilchengröße umgekehrt proportional ist und die Verneblungszeit bei höherer Viskosität verlängert ist. Auch hier konnte keine klare Korrelation zwischen Oberflächenspannung und Teilchengröße gezeigt werden. Gleichung 1 stellt nur den Zusammenhang zwischen den physikalischen Eigenschaften des Primäraerosols dar, was eine Erklärung dafür sein könnte, dass in experimentellen Untersuchungen keine Korrelation gezeigt werden konnte.

Ghazanfari et al. (14) untersuchten den Einfluss physikalischer Parameter auf die Verneblung mittels Membranvernebler. Es zeigte sich ein umgekehrt proportionales Verhältnis zwischen Viskosität und Teilchengröße. Die FPF und die Verneblungszeit nahmen mit steigender Viskosität zu.

Betrachtet man die Vielzahl an Faktoren, die das Vernehlungsverhalten, das gebildete Aerosol und letztendlich die Deposition des Arzneistoffs in der Lunge des Patienten beeinflussen, ist es offensichtlich, dass Vernebler nicht ohne weiteres austauschbar sind und nicht jede Inhalationslösung bzw. –suspension mit jedem Vernebler verabreicht werden kann. Herstellerangaben zu TOR, FPF und MMAD eines Verneblers beziehen sich in der Regel auf die Verneblung von 0,9%-iger Natriumchlorid-Lösung. Eine Arzneimittel/ Vernebler Kombination sollte nur zur Anwendung kommen, wenn zu dieser Kombination *in-vitro* Daten zur Verneblung vorliegen.

Ein schwer einschätzbarer Faktor, der den Erfolg der Inhalationstherapie beeinflusst, ist der Patient selbst. Das Atemmuster des Patienten, vor allem Atemstromstärke und Atemfrequenz, sind entscheidende Faktoren für die Lungendeposition. Langsame, tiefe Einatmung mit anschließender Pause (2-5 Sekunden) begünstigt die Abscheidung der Aerosolpartikel in den peripheren Lungenbereichen durch Sedimentation und Diffusion. Mit abnehmender Atemstromstärke nimmt die Partikelabscheidung durch Impaktion ab (siehe Gleichung 4).

$$\text{Impaktion} \sim \log(d^2 F)$$

Gleichung (4)

d = Teilchendurchmesser, F = Atemstromstärke

Neben der Auswahl des richtigen Verneblers ist die konsequente Schulung der Patienten für den Erfolg der Inhalationstherapie unerlässlich.

1.2 Feuchtinhalation bei Mukoviszidose

Mukoviszidose oder Cystische Fibrose (CF) ist die häufigste angeborene, autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung in der kaukasischen Gesellschaft (16).

CF ist eine komplexe Multiorganerkrankung, jedoch werden 85 % der Todesfälle der Erkrankung der Lunge zugeschrieben (17). CF wird verursacht durch eine Mutation in einem Gen, welches das sogenannte Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Protein (CFTR) codiert. CFTR-Mutationen beeinflussen den epithelialen Ionen- und Wassertransport in den Zellen der Lunge, Gastrointestinaltrakt, Pankreas, Galle und den Geschlechtsorganen. In den Atemwegen der Patienten führt das zur Produktion von hochviskosem Sekret und verminderter mukoziliärer Clearance. Neben physiotherapeutischen Maßnahmen zur Steigerung der Sekretclearance und peroraler sowie intravenöser Arzneimitteltherapie spielt die inhalative Arzneimitteltherapie eine wichtige Rolle in der Therapie der Lungenerkrankung. Neben der Inhalation mittels Pulverinhalatoren und Druckgasdosieraerosolen kommt vor allem der Feuchtinhalation eine bedeutende Rolle zu. Folgende Arzneistoffe/Arzneistoffgruppen werden in der Therapie der Mukoviszidose in Form der Feuchtinhalation eingesetzt:

- Antibiotika: Tobramycin, Colistin
- Bronchodilatoren: Ipratropiumbromid, Salbutamol
- Glukokortikoide: Budesonid, Fluticason-17-propionat
- Mukolytika: Dornase alfa, hypertone Natriumchlorid-Lösung (3-7%)

Nachfolgend werden die in dieser Arbeit untersuchten Arzneistoffe vorgestellt.

Tobramycin und Colistin

Tobramycin und Colistin werden zur Behandlung von Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* eingesetzt, welches der häufigste Erreger von

Atemwegsinfekten bei CF Patienten ist (17;18). Die frühe Infektion mit *P. aeruginosa* bestimmt entscheidend die Sterblichkeit von jungen CF Patienten (19;20). Nur wenige Antibiotika sind gegen *Pseudomonas* wirksam.

Tobramycin ist ein Antibiotikum aus der Gruppe der Aminoglykoside. Bei den Aminoglykosiden handelt es sich um Substanzen mit tri- oder tetrasaccharidartiger Struktur, die als gemeinsamen Bestandteil Streptamin oder Streptamin-Derivate, insbesondere 2-Desoxystreptamin enthalten. Tobramycin besteht aus einem zentralen Desoxystreptamin-Ring, wovon eine Hydroxylgruppe mit Kanosamin und eine mit Nebrosamin glykosidisch verküpft ist (21).

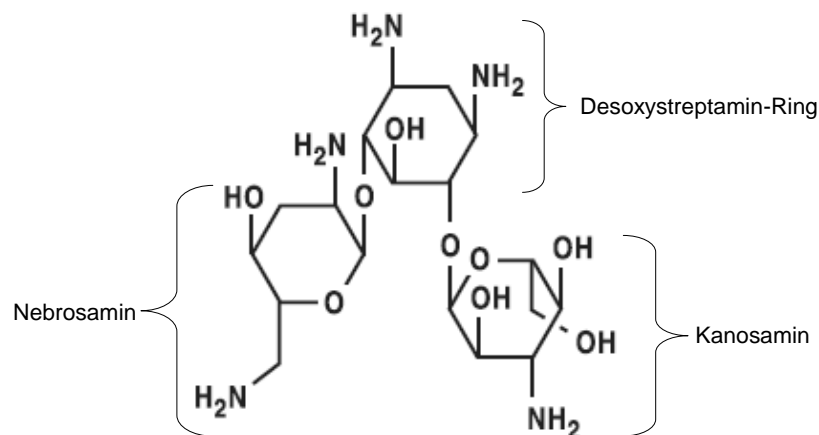


Abbildung 7: Chemische Struktur von Tobramycin

Das Wirkungsspektrum von Tobramycin umfasst *P.aeruginosa*, Staphylokokken, Enterobakterien, Pasteurellen und Brucellen (22). Der Wirkungstyp ist bakterizid.

Aminoglykoside binden über einen irreversiblen Mechanismus an die 30S-Untereinheit der Ribosomen und bewirken auf diese Weise eine komplexe Störung der Proteinsynthese. Die Bindung von N-Formylmethionyl-tRNA an die 30S-Untereinheit wird blockiert und damit die Initiierung der Proteinsynthese unterdrückt. Außerdem unterbleibt die Prolongation der Peptidkette, da auch andere Aminoacyl-tRNA nicht angelagert wird. Desweiteren werden Ablesefehler bei der Translation hervorgerufen wodurch irreversible Membranschäden entstehen(23).

Die Inhalation mit Tobramycin wird von der Foundation of Cystic Fibrosis empfohlen zur Therapie von *P. aeruginosa* Infektionen im mäßigen bis schweren Stadium (Evidenzgrad A) und im asymptomatischen bis leichten Stadium (Evidenzgrad B) (17). In Tabelle 1 sind die in Deutschland zugelassenen Fertigarzneimittel zur inhalativen Therapie von *P. aeruginosa* Infektionen bei CF-Patienten aufgelistet.

Tabelle 1: In Deutschland zugelassene Fertigarzneimittel mit den Wirkstoffen Tobramycin oder CMS zur Therapie von Infektionen mit P. aeruginosa bei CF-Patienten

Name	Darreichungsform	Wirkstoffkonzentration	Hilfsstoffe
Wirkstoff Tobramycin			
Bramitob®	Lösung für einen Vernebler	300 mg/4 ml	Natriumchlorid, Schwefelsäure, Natriumhydroxid, Wasser f. Injektionszwecke
TOBI®	Lösung für einen Vernebler	300 mg/5 ml	Natriumchlorid, Schwefelsäure, Natriumhydroxid, Wasser f. Injektionszwecke
TOBI® Podhaler	Hartkapsel mit Pulver zur Inhalation mit dem Podhaler	28 mg pro Kapsel	1,2-Disteoroyl-sn-Glycero-3-Phosphocholin, Kalziumchlorid, Schwefelsäure
Gernebcin®	Lösung zur Injektion, Infusion und Inhalation	20 mg/2 ml 80 mg/2 ml 160 mg/2 ml 40 mg/1 ml	Natriummetabisulfit, Schwefelsäure, Wasser f. Injektionszwecke
Wirkstoff CMS			
ColiFin®	Pulver zur Herstellung einer Lösung für einen Vernebler	80 mg/3 ml 160 mg/4 ml	Lösungsmittel: NaCl 0,9%-Lösung
Colistin CF	Pulver zur Herstellung einer Lösung für einen Vernebler	80 mg/3 ml	Lösungsmittel: NaCl 0,9%-Lösung
Promixin®	Pulver zur Herstellung einer Lösung für einen Vernebler	80 mg*	Lösungsmittel: Wasser f. Injektionszwecke oder 50:50 Mischung aus Wasser f. Injektionszwecke und NaCl 0,9%-Lösung

*keine Angaben zur Menge des Lösungsmittels

Ein Cochrane Review von 2003 (aktualisiert 2009) (24) zeigte, dass die inhalative Therapie mit Antibiotika die Lungenfunktion verbessern kann. Von 14 eingeschlossenen Studien verglichen 7 Studien Tobramycin mit Placebo mit Tobramycindosierungen zwischen 2-mal täglich 40 mg bis zu 3-mal täglich 600 mg und über unterschiedlich lange Zeiträume (1-32 Monate). Zwei Studien davon untersuchten die 2-mal tägliche intermittierende Gabe von Tobramycin 300 mg über 28 Tage, gefolgt von 28 Tagen Pause. Durch die intermittierende Inhalation von Tobramycin konnte das Auftreten resistenter *P. aeruginosa*-Stämme verringert werden (18). Es gibt bisher keine vergleichenden Dosisstudien zur Ermittlung der optimalen Dosis und des optimalen Dosierungsschemas.

Hodson et al. (25) untersuchten die Wirksamkeit der 2-mal täglichen Inhalation von 300 mg Tobramycin im Vergleich zu 80 mg Colistimethat über 4 Wochen. Tobramycin verbesserte signifikant die Lungenfunktion, Colistin hingegen nicht.

Hinsichtlich Nebenwirkungen sind die Aminoglykoside bekannt für ihr nephrotoxisches und ototoxisches Potential. Schwerwiegende Nebenwirkungen wurden in keiner der Studien des genannten Reviews berichtet.

Die Präparate Gernebcin® und TOBI® bzw. Bramitob® unterscheiden sich bezüglich ihrer Zusammensetzung an Hilfsstoffen (siehe Tabelle 1). Die konservierungsmittelhaltige Zubereitung von Tobramycin kann Bronchokonstriktion nach Inhalation auslösen (26). Ghassan et al. (27) verglichen ein konservierungsmittelhaltiges und -freies Tobramycinarzneimittel bezüglich des Auftretens von Bronchokonstriktion. Dabei zeigte sich, dass bei Patienten ohne zusätzliche Risikofaktoren das konservierungsmittelfreie Präparat weniger Bronchokonstriktion auslöste.

Colistin ist ein Antibiotikum aus der Gruppe der Polymyxine und ist auch unter dem Namen Polymyxin E bekannt. Bei Colistin handelt es sich um ein Gemisch einer Vielzahl chemisch ähnlicher Polypeptide, wobei die beiden Hauptkomponenten Colistin A (Polymyxin E1) und Colistin B (Polymyxin E2) sind (28). Das Polypeptid-Antibiotikum ist ein zyklisches Heptapeptid mit einer Tripeptidseitenkette an die kovalent eine Fettsäure gebunden ist. Oft wird in der Literatur nicht ausreichend zwischen Colistin und Colistimethat-Natrium (CMS) unterschieden, obwohl es sich chemisch um zwei verschiedene Formen des Antibiotikums handelt. Mit Colistin wird oft das Sulfat-Salz gemeint. Bei CMS handelt es sich um das Methansulfonsäure-

Derivat. CMS entsteht durch die Reaktion der freien γ -Amino-Gruppen der 5- α - γ -Diaminobuttersäure-Bausteine des Colistins mit Formaldehyd und anschließend mit Natriumhydrogensulfit (29). Es kann sich um unterschiedliche Mischungen von mono-, di-, tri-, tetra- oder pentasubstituiertem Colistin handeln.

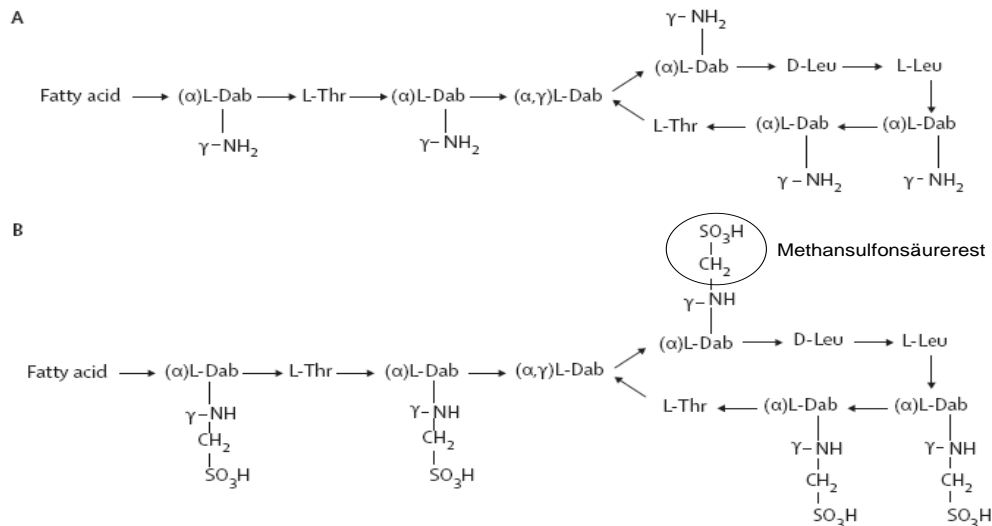


Abbildung 8(30): (A) Struktur von Colistin A und B; (B) Struktur von Colistimethat A und B. Fettsäurerest für Colistin A: 6-Methyloctansäure und für Colistin B: 6-Methylheptansäure, Thr = Threonin, Leu = Leu, Dab = 5- α - γ -Diaminobuttersäure

Bei Colistin-Sulfat, im weiteren Text nur als Colistin bezeichnet, handelt es sich um ein Polykation wohingegen CMS bei physiologischem pH-Wert als Polyanion vorliegt (30). Diese chemischen Unterschiede führen zu Unterschieden in Pharmakodynamik und Pharmakokinetik. Das Methansulfonsäure-Derivat von Colistin wurde entwickelt um die toxischen Wirkungen, insbesondere Nephro- und Neurotoxizität, zu verringern (29-32). Man geht davon aus, dass in früheren Studien gefundene Toxizitäten nach parenteraler Verabreichung von CMS auf eine schlechte Patientenauswahl, zu hohe Dosen und mangelndes Monitoring zurückzuführen sind (33). Neuere Studien zeigten, dass CMS weniger nephrotoxisch als früher angenommen und weniger nephrotoxisch als Tobramycin ist (30;34). Über das Auftreten von Neurotoxizität ist sehr wenig bekannt. Die Kombination von CMS mit anderen nephrotoxischen Substanzen sollte vermieden und die Nierenfunktion streng überwacht werden. Potentielle Nebenwirkungen bei der inhalativen Anwendung sind Engegefühl in der Brust, Bronchospasmus und Dyspnoe wobei diese Nebenwirkungen unter der

Anwendung von Colistin häufiger auftraten als unter CMS (30;35). Nephrotoxizität und Neurotoxizität wurden bisher bei inhalativer Anwendung nicht beschrieben (36). *In-vitro*, sowie *in-vivo* hydrolysiert CMS zu Colistin (31;37). Dieser Vorgang ist Voraussetzung für die antibakterielle Aktivität, da CMS ein inaktives Prodrug von Colistin darstellt (32). Colistin wirkt bakterizid mit einem „Detergentien-ähnlichen“ Mechanismus. Dabei findet eine Interaktion mit dem Lipopolysaccharid der äußeren Membran der gramnegativen Keime statt und schließlich eine Aufnahme in die Bakterienzelle durch einen „self-promoted uptake pathway“. Der polykationische Peptidring bindet an Lipid A und verdrängt die das Lipopolysaccharid stabilisierenden Magnesium- und Calcium-Ionen, was zu einem erheblichen Integritätsverlust der Membranstruktur führt. Durch weitere Interaktion der Fettsäureseitenkette kommt es zu Insertion von Colistin in die äußere Membran, was zu einer erhöhten Membranpermeabilität führt. Letztendlich führt der Verlust der Integrität der Zellmembran zum Zelltod (34). Eine natürliche Resistenz gramnegativer Bakterien gegenüber Colistin kann auf einer Veränderung von Lipid A und einer weniger stabilen Bindung von Colistin beruhen (34).

In Deutschland ist CMS zur parenteralen Anwendung nicht zugelassen. In den USA ist CMS unter dem Namen Coly-Mycin M zur parenteralen und intramuskulären Applikation von der FDA zugelassen. Umgekehrt ist CMS zur inhalativen Anwendung in Deutschland im Handel, aber eine inhalative Anwendung von CMS von der FDA nicht zugelassen. Zugelassene Fertigarzneimittel sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Durch den Mangel an Antibiotika zur Therapie multiresistenter gramnegativer Keime kam Colistin in den letzten Jahren wieder eine wachsende Bedeutung zu. Ein Vorteil von Colistin ist die gleichbleibende Wirksamkeit auf *Pseudomonas aeruginosa* insbesondere im Vergleich zu Tobramycin, welches eine deutlich ansteigende Resistenzentwicklung zeigt (38). Die Kombinationstherapie mit verschiedenen Antibiotika stellt eine Möglichkeit dar, die Behandlung einer *P. aeruginosa* Infektion zu verbessern und das Risiko für Resistenzentwicklung zu verringern (18). Herrmann et al. (39) zeigten in ihrer Studie eine überlegene Wirksamkeit der Kombination Colistin und Tobramycin auf *P. aeruginosa* im Biofilm-Modell. Im Tiermodell reduzierte die Kombination pathologische Veränderungen des Lungengewebes infizierter Ratten. In einer klinischen Studie inhalierten 8 erwachsene CF-Patienten 28 Tage lang konsekutiv je zweimal täglich CMS und Tobramycin. Die Reduktion von

Koloniebildenden Einheiten im Sputum war stärker als in der Literatur für die Einzelsubstanzen beschrieben. Dieses Inhalationsschema bedeutet einen großen Zeitaufwand, so dass die simultane Inhalation von Interesse ist.

Dornase alfa und hypertone Kochsalzlösung

Seit 1994 ist Dornase alfa unter dem Namen Pulmozyme® (Roche) zugelassen zur Behandlung von CF. Bei Dornase alfa handelt es sich um rekombinante humane Desoxyribonuklease I (rhDNase I). Durch den kontinuierlichen Zerfall neutrophiler Granulozyten liegen in den Atemwegssekreten hohe Konzentrationen von DNA vor, die erheblich zur Viskosität beitragen. Bis zu 10 % des Trockengewichts des Atemwegssekrets von Patienten kann aus DNA bestehen (40). Die rhDNase I baut DNA ab, indem sie die 3`-5` Bindungen der DNA spaltet (41). In einem Cochrane Review (42) zum Gebrauch von Dornase alfa bei CF Patienten wird eine Verbesserung der Lungenfunktion im Vergleich zu Placebo als eindeutig eingestuft. Die Cystic Fibrosis Foundation empfiehlt die Inhalation bei Patienten mit mäßiger bis schwerer Erkrankung (Evidenzgrad A) und bei Patienten mit milder oder asymptomatischer Erkrankung (Evidenzgrad B) (17).

Die Inhalation mit hypertoner Natriumchloridlösung stellt einen anderen Ansatz dar, die Viskosität des Sekrets zu verringern. Durch die Erhöhung der Na⁺- und Cl⁻-Ionenkonzentrationen im elektrolytarmen Sekret wird dem osmotischen Gradienten folgend, das Sekret rehydriert. Die 2-mal tägliche Inhalation von 10 ml 6%-iger Natriumchloridlösung über 2 Wochen erhöhte signifikant den FEV₁ gegenüber Placebo (0,9%-ige NaCl-Lösung) (43). Elkins et al. (44) untersuchten den Langzeiteffekt der Inhalation von 4 ml 7%-iger Natriumchlorid-Lösung 2-mal täglich im Vergleich zu 0,9%-iger Natriumchlorid-Lösung. Dabei zeigte sich kein Unterschied zwischen Verum und Placebo bezüglich der Verbesserung des FEV₁ über 48 Wochen. Allerdings traten in der Verum-Gruppe signifikant weniger pulmonale Exazerbationen auf. In einer randomisierten crossover Studie verglichen Suri et al. (45) die Wirksamkeit von 2,5 mg Dornase alfa täglich im Vergleich zu 2,5 mg Dornase alfa alle 2 Tage oder 5 ml 7%-ige Natriumchlorid-Lösung 2-mal täglich über 12 Wochen. Der Vergleich des mittleren FEV₁ zwischen den Behandlungen ergab eine Verbesserung von 8% für die tägliche Gabe Dornase alfa gegenüber der Natriumchlorid-Lösung. Es zeigte sich keine Überlegenheit der täglichen Gabe von Dornase alfa gegenüber der alternierenden. In einem Cochrane Review (Update

2008) zum Gebrauch hypertoner Natriumchlorid-Lösung bei CF Patienten wird trotzdem geschlussfolgert, dass es ausreichend Belege gibt, um die Inhalation empfehlen zu können (46). Auch aufgrund des enormen Kostenunterschieds für die beiden Therapien sollte hypertone NaCl-Lösung als Alternative in Betracht gezogen werden.

Budesonid

Entzündungsprozesse in der Lunge sind schon in den ersten Lebensjahren vieler CF Patienten nachweisbar. Dabei handelt es sich um eine neutrophile Immunantwort auf virale oder bakterielle Infektionen. Die chronische Infektion mit *P. aeruginosa* führt zu chronischen Entzündungsprozessen (47). Es gibt außerdem Hinweise darauf, dass neutrophile, chronische Entzündungsprozesse auch unabhängig von Infektionen in den Atemwegen von CF Patienten bestehen (48). Unabhängig von der Ursache, führt die chronische Entzündung der Atemwege zu einer progredienten Abnahme der Lungenfunktion (48). Weiterhin spielen die chronischen Entzündungsprozesse eine Rolle bei der Entstehung von bronchialer Hyperreaktivität bei CF Patienten (49).

Zurzeit ist das einzige von der Cystic Fibrosis Foundation empfohlene Arzneimittel zur gezielten entzündungshemmenden Therapie orales Ibuprofen (17). Das Cochrane Review von 2010 zum Gebrauch von inhalativen Glukokortikoiden fasst zusammen, dass die bisher vorhandene Studienlage nicht ausreichend ist, um eine Wirksamkeit inhalativer Glukokortikoide in der Therapie der CF zu belegen (49). Trotzdem ist der Gebrauch von inhalativen Glukokortikoiden in der Therapie Standard. Daten aus Nordamerika zeigten eine Zunahme des Verbrauchs an inhalativen Glukokortikoiden. Wurden sie 1995 noch bei 16% der Patienten verwendet, waren es 2005 bereits 49% (50).

Zur Inhalation in Form einer Suspension ist in Deutschland Budesonid (Pulmicort®, AstraZeneca) zugelassen. Bei Budesonid handelt es sich um ein topisches Glukokortikoid, welches aufgrund seines hohen First-Pass-Effekts eine orale Bioverfügbarkeit von nur 11% hat (51). Systemische Nebenwirkungen sind deshalb auch bei Langzeitanwendung nicht zu erwarten (52).

1.3 Simultane Feuchtinhalation von Inhalationsmischungen

CF-Patienten benötigen meist lebenslang eine dauerhafte Inhalationstherapie mit oft mehreren unterschiedlichen Arzneimitteln. Je nach verwendetem Verneblersystem dauert eine Feuchtinhalation durchschnittlich 15 Minuten. Hinzu kommt die benötigte Zeit für das Auseinander- und Zusammenbauen des Verneblers, für Reinigung und Desinfektion. Das Mischen von unterschiedlichen Arzneimitteln im Vernebler und die simultane Inhalation ist eine gebräuchliche Option, um die Zeitdauer zu verkürzen. Bei einer Befragung von 227 CF-Patienten zu ihrer Inhalationspraxis mit Verneblern in nordamerikanischen CF-Zentren gaben 28% an, Medikamente simultan zu inhalieren (53). Eine Befragung von 58 CF-Patienten in der CF-Ambulanz der Universitätsmedizin Mainz ergab, dass 87% der Patienten, die verschiedene Arzneimittel inhalierten, diese auch miteinander mischten (54). Die Kenntnis von Stabilitätsdaten bezüglich der Mischbarkeit von Inhalationslösungen/-suspensionen ist demnach unerlässlich. Eine Reihe von Untersuchungen zur Kompatibilität wurde durchgeführt von Schwabe et al. (55-57) und Stanko et al. (58) und die Ergebnisse in einer übersichtlichen Tabelle zusammengefasst. Diese Tabelle ist zusammen mit patientenverständlichen, erläuternden Hinweisen Inhalt eines Patienteninformationsblattes (Anhang 7A und 7B). Dieses kann Patienten und medizinischem Fachpersonal als Anleitung und Hilfestellung für die simultane Feuchtinhalation dienen.

Zunächst lag der Schwerpunkt auf der Bestimmung der physikalisch-chemischen Kompatibilität von Mischinhalationslösungen/-suspensionen in dem Verneblergefäß. Dieses ist eine notwendige aber keine hinreichende Voraussetzung, um die simultane Inhalation empfehlen zu können. Bei nachgewiesener Kompatibilität ist die Untersuchung der aerodynamischen Eigenschaften bei simultaner Verneblung von Inhalationsmischungen im Vergleich zu der Verneblung der Mischkomponenten notwendig. Durch das Mischen können sich für die Inhalation bedeutende Parameter wie der MMAD, FPF und GSD ändern. Zur Beeinflussung der Aerosoleigenschaften durch die simultane Verneblung sind nur wenige Untersuchungen bekannt. In Tabelle 2 sind die bekannten Untersuchungen zusammengefasst und die Aerosolcharakteristika der Einzelkomponenten und der Mischungen dargestellt. Inwiefern sich die Ergebnisse auf die Verneblung mit anderen Geräten übertragen

lassen, ist schwer vorherzusagen. In keiner der untersuchten Inhalationsmischungen waren die Aerosoleigenschaften derart verändert, dass eine simultane Inhalation nicht empfohlen werden könnte. Um den Einfluss der Änderungen der aerodynamischen Eigenschaften auf die klinische Effektivität festzustellen, müssten klinische Studien durchgeführt werden. Die Effektivität der simultanen Verneblung muss hierzu mit der konsekutiven Inhalation verglichen werden.

Tabelle 2: Übersicht über Untersuchungen zum Vernehlungsverhalten von Inhalationsmischungen. Die Partikelgrößenbestimmung erfolgte für die Komponenten und Inhalationsmischungen durchgehend mittels Kaskadenimpaktion. Die Aerosoleigenschaften der Inhalationsmischungen wurden mit denen einzeln vernebelter Komponenten verglichen.

Komponenten der Inhalationsmischung	Verneblertyp	Aerosoleigenschaften der Einzelkomponenten und der Mischung		Ref.
		Einzelkomponente	Mischung	
FLU + IPRA + SAL	eFlow® rapid	SAL: MMAD: $5,98 \pm 0,42$ GSD: $1,63 \pm 0,13$ FPF: 36 ± 7 FLU: MMAD: $6,19 \pm 0,51$ GSD: $1,94 \pm 0,34$ FPF: $34,07 \pm 6,1$	IPRA: MMAD: $5,66 \pm 0,67$ GSD: $1,67 \pm 0,12$ FPF: 40 ± 9 FLU: MMAD: $5,43 \pm 0,71$ GSD: $1,79 \pm 0,25$ FPF: 39 ± 12	(58)
BECLO + SAL + IPRA	SideStream VentStream-Pro	keine Angabe von Werten zu MMAD, GSD und FPF	keine Angabe von Werten zu MMAD, GSD und FPF insgesamt Erhöhung des MMAD aber im respirablen Bereich	(59)
BUD + SAL + IPRA	SideStream VentStream-Pro	keine Angabe von Werten zu MMAD, GSD und FPF	keine Angabe von Werten zu MMAD, GSD und FPF insgesamt Erhöhung des MMAD aber im respirablen Bereich	(59)
SAL + CRO	1) PARI LC Plus 2) Hudson T UP-Draft	SAL mit 1) MMAD: $2,71 \pm 0,08$ GSD: 2,33 FPF: 75 ± 2	SAL mit 2) MMAD: $2,57 \pm 0,27$ GSD: 2,66 FPF: 74 ± 4	(60)
SAL + IPRA	1) PARI LC Plus 2) Hudson T UP-Draft	SAL mit 1) MMAD: $2,71 \pm 0,08$ GSD: 2,33 FPF: 75 ± 2	SAL mit 2) MMAD: $2,97 \pm 0,15$ GSD: 2,16 - 2,42* FPF: 72 ± 2	(60)

SAL + TOBRA	1) PARI LC Plus 2) Hudson T UP-Draft	SAL mit 1) MMAD: 2,71 ± 0,08 GSD: 2,33 FPF: 75 ± 2	SAL mit 2) 2,57 ± 0,27 2,66 74 ± 4	SAL mit 1) MMAD: 3,04 ± 0,21 GSD: 2,16 - 2,42* FPF: 70 ± 2	SAL mit 2) 2,67 ± 0,23 2,45 - 2,86* 66 ± 3	(60)
SAL + FLU	1) PARI LC Plus 2) Hudson T UP-Draft	SAL mit 1) MMAD: 2,71 ± 0,08 GSD: 2,33 FPF: 75 ± 2	SAL mit 2) 2,57 ± 0,27 2,66 74 ± 4	SAL mit 1) MMAD: 3,40 ± 0,09 GSD: 2,16 - 2,42* FPF: 67 ± 2	SAL mit 2) 2,98 ± 0,38 2,45 - 2,86* 66 ± 7	(60)
SAL + NAC	1) PARI LC Plus 2) Hudson T UP-Draft	SAL mit 1) MMAD: 2,71 ± 0,08 GSD: 2,33 FPF: 75 ± 2	SAL mit 2) 2,57 ± 0,27 2,66 74 ± 4	SAL mit 1) MMAD: 2,87 ± 0,12 GSD: 2,16 - 2,42* FPF: 77 ± 3	SAL mit 2) 1,97 ± 0,10 2,45 - 2,86* 82 ± 3	(60)
FORM + BUD	PARI LC Plus	FORM: MMAD: 2,9 ± 0,2 GSD: 2,1 ± 0,1 FPF: 73,6 ± 3,4	BUD: 4,9 ± 0,4 1,7 ± 0,1 51,0 ± 6,5	FORM: MMAD: 3,1 ± 0,1 GSD: 2,1 ± 0,1 FPF: 72,1 ± 3,6	BUD: 4,6 ± 0,2 1,8 ± 0,1 55,8 ± 3,5	(61)
FORM + CRO	PARI LC Plus	FORM: MMAD: 2,9 ± 0,2 GSD: 2,1 ± 0,1 FPF: 73,6 ± 3,4	CRO: 3,1 ± 0,8 2,2 ± 0,4 70,9 ± 6,0	FORM: MMAD: 3,1 ± 0,3 GSD: 2,1 ± 0,1 FPF: 70,5 ± 2,5	CRO: 3,3 ± 0,3 2,0 ± 0,1 69,4 ± 4,1	(61)
FORM + IPRA	PARI LC Plus	FORM: MMAD: 2,9 ± 0,2 GSD: 2,1 ± 0,1 FPF: 73,6 ± 3,4	IPRA: 3,1 ± 0,2 2,1 ± 0,2 70,4 ± 0,8	FORM: MMAD: 3,2 ± 0,2 GSD: 2,0 ± 0,1 FPF: 72,4 ± 1,7	IPRA: 3,2 ± 0,1 2,0 ± 0,1 71,7 ± 1,7	(61)
FORM + NAC	PARI LC Plus	FORM: MMAD: 2,9 ± 0,2 GSD: 2,1 ± 0,1 FPF: 73,6 ± 3,4	NAC: 3,5 ± 0,2 1,8 ± 0,1 73,3 ± 3,5	FORM: MMAD: 3,2 ± 0,3 GSD: 1,9 ± 0,1 FPF: 74,4 ± 3,1	NAC: 3,2 ± 0,2 1,9 ± 0,1 73,8 ± 3,2	(61)

BECLO: Beclometasondipropionat, BUD: Budesonid, CRO: Natriumcromoglicat, FLU: Fluticason-17-propionat, FORM: Formoterol, IPRA: Ipratropiumbromid, NAC: N-Acetylcystein, SAL: Salbutamolsulfat, TOBRA: Tobramycin

MMAD: Mass Median Aerodynamic Diameter [μm], GSD: Geometric Standard Deviation, FPF: Fine Particle Fraction < 5 μm [%]

* die Werte für GSD aller in dieser Studie untersuchten Mischungen lagen im angegebenen Bereich

1.4 Besonderheiten der Inhalation bei Kleinkindern

Die effektive inhalative Applikation von Arzneimitteln ist von einer Reihe unterschiedlicher Faktoren abhängig. Ein wesentlicher die Lungendeposition beeinflussender Faktor ist der Patient selbst. Die Menge inhalierten Arzneistoffs sowie dessen Lokalisation in der Lunge werden von folgenden patienten-abhängigen Faktoren beeinflusst:

- Anatomie und Pathologie der Atemwege
- Physiologie der Atemwege
- Atemmuster

Anatomie und Pathologie der Atemwege

Größe und Durchmesser der Atemwege ändern sich beim heranwachsenden Kind bis zum Erwachsenenalter beträchtlich. Da diese Parameter für die Deposition eines Aerosols entscheidend sind, ist es folgerichtig, dass sich die Deposition bei Kindern von derjenigen bei Erwachsenen unterscheidet.

Bei Erwachsenen gilt eine Partikelgröße zwischen 1 und 5 μm als geeignet, um bevorzugt in den zentralen Atemwegen abgeschieden zu werden. Übliche Inhalationsgeräte generieren Partikel mit MMADs größer 3,5 μm . Partikel dieser Größe scheiden sich in den engen Atemwegen von Kindern bevorzugt durch Impaktion im Mund-Rachen-Raum ab. Durch Entzündung, Schleimablagerung oder Bronchokonstriktion kann der Durchmesser der Atemwege noch weiter abnehmen (Abbildung 9).

Physiologie der Atemwege

Die eingeatmete Luft wird bei nasaler Atmung gefiltert. Dabei ist die nasale Filtration effektiver für große Partikel als für kleine. Everard et al. (63) zeigten bei Erwachsenen, dass die Lungendeposition eines Aerosols mit einem MMAD von 4,4 μm bei nasaler Atmung im Mittel um 50% kleiner war als bei Mundatmung. Kleinkinder atmen überwiegend durch die Nase (64), wodurch der extra-thorakalen Abscheidung großer Aerosolpartikel durch nasale Filtration Bedeutung zukommt.

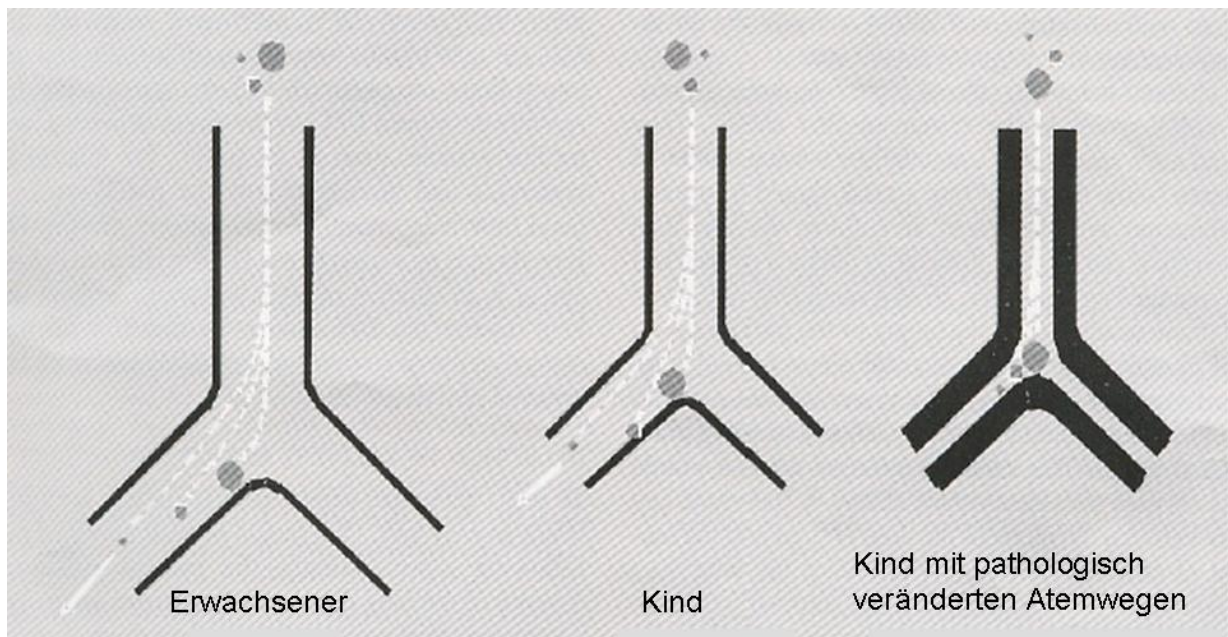


Abbildung 9: Deposition durch Impaktion. Während bei gesunden Erwachsenen große Partikel die peripheren Atemwege erreichen können, können bei Kindern mit pathologischer Verengung der Atemwege nur die ganz kleinen Partikel die peripheren Atemwege erreichen; modifiziert nach (62).

Atemmuster

Kinder haben abhängig vom Alter charakteristische Atemmuster, was einen erheblichen Einfluss auf die Lungendeposition des Aerosols hat. Atemmuster werden charakterisiert durch die Atemfrequenz, die Flussrate und das Atemzugvolumen. Sehr kleine Kinder sind nicht in der Lage zum Zwecke der Inhalation ein gezieltes Atemmanöver durchzuführen. Die Inhalation eines Arzneimittels kann in der Regel nur dem normalen Atemmuster entsprechend erfolgen. Kleinkinder zeigen sehr unregelmäßige Atemmuster, die sich verhaltensabhängig stark unterscheiden (65). Bei einem weinenden Kind erhöht sich der inspiratorische Fluss um das 6-7-fache und die Atemfrequenz steigt (66), wodurch die Abscheidung von Partikeln durch Impaktion im Nasen-Rachen-Raum begünstigt wird.

Gleichmäßige Atemmuster wurden insbesondere während des ruhigen, non-REM Schlafs beobachtet. Die Variabilität der Atemmuster ist im wachen Zustand signifikant höher als während des Schlafs (65). Die Lungendeposition kann durch Inhalation während des Schlafs erhöht werden (65).

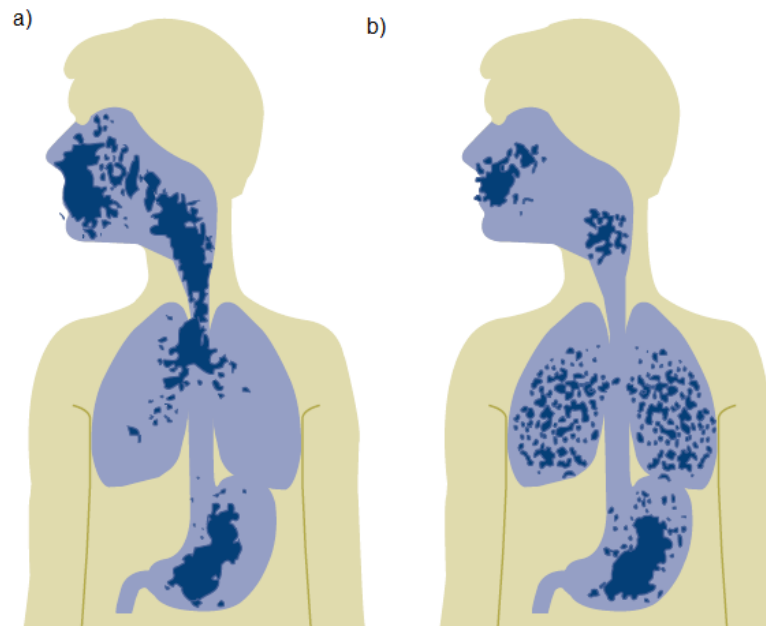


Abbildung 10: Aerosoldeposition eines radioaktiv-markierten Arzneimittels bei einem 3-jährigen Kind, a) Kind schreit während der Inhalation b) Kind atmet ruhig während der Inhalation, modifiziert nach (67).

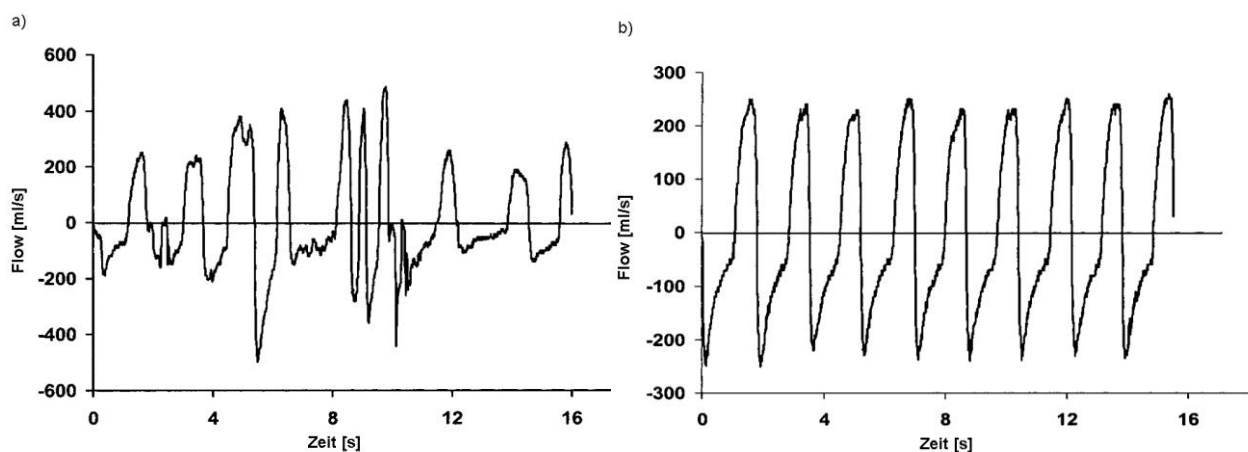


Abbildung 11: Typisches Atemmuster eines 10 Monate alten Säuglings wach (a) und schlafend (b), modifiziert nach (65).

Die Abhängigkeit der Lungendeposition vom Atemmuster kann durch die Partikelgröße des Aerosols überwunden werden. Janssens et al. (68) zeigten in einer *in-vitro* Studie, dass die Lungendeposition eines Aerosols mit feinen Partikeln $<2,1 \mu\text{m}$ unabhängig vom Atemzugvolumen ist. Bei einem Aerosol mit Partikelgrößen zwischen $2,1$ und $4,7 \mu\text{m}$ nahm die Lungendeposition jedoch mit steigendem Atemzugvolumen ab, da mit steigendem Atemzugvolumen der inspiratorische Fluss steigt. In der genannten Studie konnte auch gezeigt werden, dass bei einem Aerosol

mit einem hohen Anteil extra feiner Partikel ($<2,1 \mu\text{m}$) die Lungendeposition um das 15-fache höher lag als bei einem Aerosol mit Partikeln im Bereich zwischen 2,1 und 4,8 μm .

1.5 Inhalationsgeräte zur Anwendung bei Kleinkindern

Die meisten Typen von Inhalationsgeräten sind für Erwachsene entwickelt und nicht an die Besonderheiten der Inhalation bei Kindern angepasst. Die Auswahl eines geeigneten Inhalationsgerätes für Kleinkinder beschränkt sich auf die Gruppe der Feuchtvernebler und der Druckgas-Dosieraerosole (pressurized metered dose inhalers = pMDI). Pulverinhalatoren sind erst für Kinder ab einem Alter von etwa 6 Jahren geeignet, da bei kleineren Kindern in der Regel der benötigte inspiratorische Fluss nicht gegeben ist.

Anforderungen an ein optimales Inhalationsgerät für Kleinkinder:

- Großer Anteil feiner Partikel
- MMAD $< 3 \mu\text{m}$ (66)
- Kleine GSD oder Monodispersität
- Keine bis wenig Koordination erforderlich
- Leichte Handhabung für die Eltern
- Möglichkeit die Dosis mit mehreren Atemzügen zu inhalieren

Vernebler sind nach wie vor die am häufigsten verwendeten Inhalationsgeräte für Kleinkinder. Einige Nachteile von Verneblern liegen auf der Hand: die lange Inhalationsdauer, sie sind teuer, sie sind sperrig und benötigen eine Stromquelle.

Mittlerweile zeigt sich in der Inhalationstherapie von Kindern daher ein Trend hin zu den wesentlich kleineren, tragbaren und günstigeren Druckgasdosieraerosolen in Kombination mit einer Inhalierhilfe (69;70).

1.5.1 Druckgasdosieraerosole mit Inhalierhilfe

Die Kombination eines pMDIs mit einer Inhalierhilfe ermöglicht es, pMDIs auch bei kleinen Kindern anzuwenden. Das Mundstück des pMDIs wird mit der Inhalierhilfe in Form einer Vorschaltkammer verbunden, auch Spacer genannt. Dadurch ergeben sich folgende Vorteile:

- Die Koordination zwischen dem Auslösen und dem Beginn der Atmung verliert an Bedeutung
- Die Partikelgeschwindigkeit wird bis zum Eintritt in die Atemwege verlangsamt
- Durch Verdunstung werden die Partikel kleiner
- Große Partikel scheiden sich bereits im Spacer ab

Im Folgenden werden Faktoren beschrieben, die die Inhalationstherapie mit pMDI und Spacer beeinflussen können.

Spacertypen

Spacer wird als Überbegriff verwendet. Darunter fallen einfache Konstruktionen welche lediglich aus einer Röhre mit zwei offenen Enden bestehen sowie Holding-Chamber (HC) und Valved Holding-Chamber (VHC) (Abbildung 12). Bei einem HC (z.B. Volumatic®) handelt es sich um einen geschlossenen Raum, in dem das Aerosol gehalten wird. VHCs (z.B. AeroChamber Plus®, Vortex®, Babyhaler®) sind zusätzlich mit Ein-Weg-Ventilen versehen, welche bei Inhalation geöffnet sind und sich bei Exhalation schließen. Dadurch ist es möglich den Spacer mit mehreren Atemzügen zu leeren, ohne Aerosol durch Exhalation in den Spacer zu verlieren.

Spacer Design und Volumen

Das Volumen des Spacers bestimmt die Aerosolkonzentration im Spacer. Ist die Konzentration im Spacer hoch, wird das schnelle Abscheiden der Partikel auf der Spacer-Oberfläche begünstigt (71). Ein großes Volumen würde dies verhindern, aber kleine Kinder können großvolumige Spacer aufgrund des geringen Atemzugvolumens nicht in angemessener Zeit leeren. Kleinvolumige Spacer erwiesen sich für Kinder mit kleinen Atemzugvolumina als am geeignetsten (72).

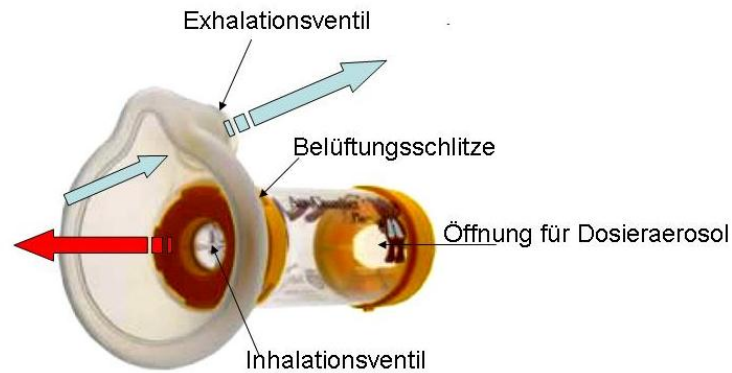


Abbildung 12: Funktionsweise eines VHCs mit Gesichtsmaske am Beispiel des AeroChamber Plus®, blauer Pfeil: Exhalation; roter Pfeil: Inhalation

Die gebildete Aerosolwolke ist bei jedem pMDI unterschiedlich. Deshalb liegt es nahe zu vermuten, dass die Form des Spacers die Abscheidung des Aerosols im Spacer beeinflusst. Janssens et al. (71) zeigten jedoch in einer *in-vitro* Studie anhand des SAINT-Lungenmodells und verschiedener pMDI/Spacer-Kombinationen, dass die theoretische Lungendeposition hauptsächlich von der Art des pMDIs beeinflusst wird und nicht von der Form der verwendeten Spacers.

Gesichtsmaske

Obwohl die Inhalation mittels Mundstück zu bevorzugen ist, um den Filtereffekt der Nase zu umgehen, sind Kinder unter 3 Jahren in der Regel nicht in der Lage, über ein Mundstück zu inhalieren (69). Deshalb müssen bei sehr kleinen Kindern und Säuglingen die Spacer zusammen mit einer Gesichtsmaske verwendet werden. Die Auswahl der Gesichtsmaske bezüglich Form, Größe und Material, kann erheblichen Einfluss nehmen auf das inhalierte Volumen und somit auf die inhalierte Dosis (73). *In-vitro* und *in-vivo* wurde gezeigt, dass eine schlecht sitzende Maske und die dadurch entstehende Undichtigkeit die inhalierte Dosis signifikant reduziert (74-76). Bereits eine minimale Undichtigkeit reduziert den Output des Spacers und die Lungendosis auf mehr als die Hälfte im Vergleich zu einer optimal abgedichteten Gesichtsmaske (77). Durch gezielte Schulung der Eltern kann der Sitz bzw. die Dichtigkeit der Maske signifikant verbessert werden (75).

Elektrostatische Ladung

Spacer aus Plastik können sich elektrostatisch aufladen. Dadurch scheiden sich vermehrt und mit höherer Geschwindigkeit Partikel auf der Oberfläche des Spacers ab, wodurch der Output des Spacers signifikant reduziert wird (78). Das Waschen mit einer Detergentien-haltigen Lösung (z.B. Spülmittel) und anschließendem Trocknen an der Luft erwies sich als effektiv, die elektrostatische Ladung zu reduzieren und die inhalierbare Dosis signifikant zu erhöhen (78-80). Eine effektive Alternative bieten Spacer aus antistatischem Material (z.B. Vortex®).

Multiple Sprühstöße und verzögerte Inhalation

Die Abgabe mehrerer Sprühstöße hintereinander in den Spacer führt zu einer Erhöhung der Aerosolkonzentration. Bei jedem Sprühstoß entsteht eine turbulente Strömung im Spacer. Dadurch erhöhen sich die Geschwindigkeit und die Menge an Aerosol, die sich auf der Oberfläche des Spacers abscheidet. Je nach Spacer /pMDI Kombination nahm bei der Abgabe von 2 Sprühstößen hintereinander die zur Inhalation zu Verfügung stehende Menge um 17% bis 31% ab (78;79;81-83). Je nach Zeitspanne zwischen Auslösen des Sprühstoßes und Beginn der Inhalation scheidet sich unterschiedlich viel Aerosol auf der Oberfläche des Spacers ab, wodurch die inhalierbare Aerosolmenge stark reduziert wird (78;79;81-83). Clark et al. (80) konnten die Ergebnisse der *in-vitro* Studien in einer *in-vivo* Studie bestätigen. Eine Verzögerung von 20 s zwischen einem Sprühstoß Salbutamol in einen Volumatic® und Beginn der Inhalation führte zu einer Abnahme der C_{max} um 57%. Durch die Abgabe von 3-4 Sprühstößen hintereinander wurde C_{max} um die Hälfte reduziert. Durch die Verwendung antistatischer Spacer können die Einflüsse von verzögertem Inhalationsbeginn und multipler Sprühstöße eliminiert werden (78).

1.6 Auswahl eines geeigneten Inhalationsgerätes für Kinder: Vernebler oder Dosieraerosol mit Spacer?

Dosieraerosole mit Inhalierhilfe und Vernebler sind die Inhalationsgeräte der ersten Wahl für Kinder unter 5 Jahren(84;85). Für Kinder dieser Altersgruppe liegen sehr wenige Studien zur Auswahl eines geeigneten Inhalationsgerätes vor. Es fehlt insbesondere der Vergleich zwischen Vernebler und Dosieraerosol mit Inhalierhilfe (86). Lange Zeit wurden vom Kleinkind- bis zum Erwachsenenalter die gleichen Inhalationsgeräte verwendet. Dies hatte zur Folge, dass nur ein sehr geringer Anteil des Aerosols tatsächlich die Lunge eines Kleinkindes erreichte (87).

Die totale Lungendeposition, das heißt die Arzneistoffmenge, die das Zielorgan erreicht, bestimmt die klinische Wirksamkeit und gleichzeitig die systemischen Nebenwirkungen eines inhalierten Medikaments (84).

Die Lungendeposition eines Aerosols kann durch verschiedene Untersuchungen beurteilt werden:

- *In-vitro* Studien mittels Kaskadenimpaktionsanalysen oder Rachenmodellen
- *In-vivo* Filter-Studien
- *In-vivo* Studien mit radioaktiv-markierten Aerosolen

Von den genannten Methoden ist die Inhalation mit radioaktiv-markierten Aerosolen die einzige Methode, bei der die Menge und die tatsächliche Verteilung des Aerosols in der Lunge bestimmt werden können. Das Inhalationsarzneimittel (häufig verwendet wird Salbutamol oder Budesonid) wird mit einem Radionukleotid, meist ^{99m}Tc , markiert und die Deposition des Aerosols mittels Gammazintigraphie bestimmt. Insgesamt liegen nur wenige *in-vivo* Studien zur Lungendeposition bei kleinen Kindern vor. Die mit radioaktiv-markierten Aerosolen durchgeführten Studien sind in vielen Ländern aus ethischen Gründen verboten.

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse existierender Studien mit radioaktiv-markierten Aerosolen bei Kleinkindern im Alter von 0-5 Jahren zusammengefasst.

Tabelle 3: Studien mit radioaktiv-markierten Aerosolen bei Kleinkindern

Alter	Anzahl	Erkrankung	Inhalationsgerät	Lungendeposition	Referenz
A: 25 - 187 Tage B: 13 - 417 Tage	A: 13 B: 10	BPD, A: nicht beatmet B: beatmet	1) Sidestream Jet Vernebler + GM und 2) pMDI+AC + GM	A: 0,87 - 3,43% mit 1) und 0,12 - 2,26% mit 2) B: 0,4 - 2,62% mit 1) und 0,35 - 2,12% mit 2)	(88)
12 - 146 Monate A: <48 Monate B: 49 - 96 Monate C: >96 Monate	18	Asthma	A: pMDI + BH (AS) + GM B + C: pMDI + Volumatic (AS)	A: 16,4% ± 5,5% B: 28,2% ± 6,7% C: 41,8% ± 3,8%	(89)
3 - 14 Monate	12	Bronchiolitis	Micromis Jet Vernebler + GM	1,5% ± 0,7%	(90)
0,3 - 1,4 Jahre	12	CF	Turret Nebulizer + GM	0,3 - 1,6%	(64)
6 - 41 Monate	10	Asthma	PARI eFlow® Baby Vernebler + GM	48,6% ± 10,5%, ruhige Kinder 20,0% ± 10,9, schreiende Kinder	(91)
2,5 Monate - 5 Jahre	15	Asthma, CF	pMDI + AC + GM	1,97% ± 1,4%	(92)

AC: Aerochamber, AS: Antistatische Behandlung, BH: Babyhaler, BPD: Bronchopulmonale Dysplasie, CF: Cystische Fibrose, GM: Gesichtsmaske

Aus den in Tabelle 3 dargestellten Ergebnissen wird deutlich, dass die Lungendeposition sowohl mit Vernebler als auch mit pMDI+Spacer sehr gering ist, wenn kein spezieller Vernebler für Kleinkinder gewählt wird bzw. keine Vorbehandlung des Spacers stattfindet. Der von Schuepp et al. (91) verwendete PARI eFlow® Baby ist ein Prototyp eines modifizierten eFlow® rapid und generiert ein Aerosol mit einem MMAD von 2,6 µm. Ein speziell für Kleinkinder auf dem Markt befindlicher Vernebler ist der PARI LC SPRINT® Baby mit einem MMAD von 2,5µm. Durch den kleineren MMAD kann die Lungendeposition erhöht werden. Wie bereits *in-vitro* gezeigt, kann durch die antistatische Behandlung des Spacers die Lungendeposition enorm verbessert werden.

Sowohl Vernebler als auch pMDI + Spacer sind für die Inhalationstherapie bei Kleinkindern geeignet. Wichtig ist die Auswahl eines für Kleinkinder geeigneten Verneblers und beim pMDI + Spacer die richtige Anwendung. Bei der Auswahl des Inhalationsgerätes sollte darauf geachtet werden, dass die gewünschte Kombination aus Arzneimittel und Vernebler bzw. Arzneimittel und pMDI und Spacer in eben dieser Kombination untersucht wurde. Die Auswahl eines Gerätes soll dann nach den Vorlieben und Fähigkeiten von Eltern und Kind getroffen werden, um die Durchführung eines korrekten Inhalationsmanövers zu ermöglichen und die Compliance zu erhöhen. Bei fehlendem und ungenügendem Therapieerfolg ist vor einer Dosiserhöhung oder Umstellung auf ein anderes Arzneimittel unbedingt die Auswahl des Inhalationsgerätes sowie dessen Anwendung zu überprüfen.

1.7 Respimat® Soft Mist™ Inhaler als Applikationsform

Druckgas-Dosieraerosole (pressurized metered dose inhalers = pMDI) sind die am weitesten verbreiteten Inhalationsgeräte. Die pMDIs sind klein und gut zu transportieren, einfach zu bedienen und preisgünstig. Anstelle von Fluorchlorkohlenwasserstoffen (FCKW) werden aus Umweltgründen als Treibgas heute fluorierte, nicht chlorierte Kohlenwasserstoffe (HFKW) verwendet. Neben der ungeklärten Auswirkung von HFKW auf die Umwelt haben pMDIs einige weitere Nachteile, welche sich auf den Erfolg der Inhalationstherapie auswirken können. Die von pMDIs erzeugten Aerosolteilchen bewegen sich mit einer sehr hohen Geschwindigkeit, was eine hohe Deposition im Oropharynx zur Folge hat.

Entsprechend der hohen Geschwindigkeit besteht die generierte Aerosolwolke nur sehr kurz, weswegen eine gute Koordination zwischen dem Auslösen und dem Beginn der Einatmung erforderlich ist. Wie wichtig die richtige Handhabung von pMDIs ist, zeigten Giraud et al. (93) in einer Untersuchung an 3955 erwachsenen Asthma-Patienten, die Glukokortikoide mittels pMDI inhalierten. Einundsiebzig Prozent verwendeten ihren pMDI nicht korrekt, wovon 47% auf mangelnde Koordination zurückzuführen war. Die schlechte Inhalationstechnik wirkte sich deutlich auf die Asthmastabilität aus (ermittelt anhand eines Asthma Instability Scores).

Der RespiMat® Soft Mist™ Inhaler wurde entwickelt, um die genannten Nachteile zu verbessern. Der RespiMat® lässt sich in keine der bisherigen Kategorien für Inhalationsgeräte einordnen. Der Term „Soft Mist™“ beschreibt sowohl den Mechanismus der Aerosolerzeugung als auch die Qualität der Aerosolwolke. Ein schematischer Aufbau des RespiMats® ist in Abbildung 13 dargestellt.

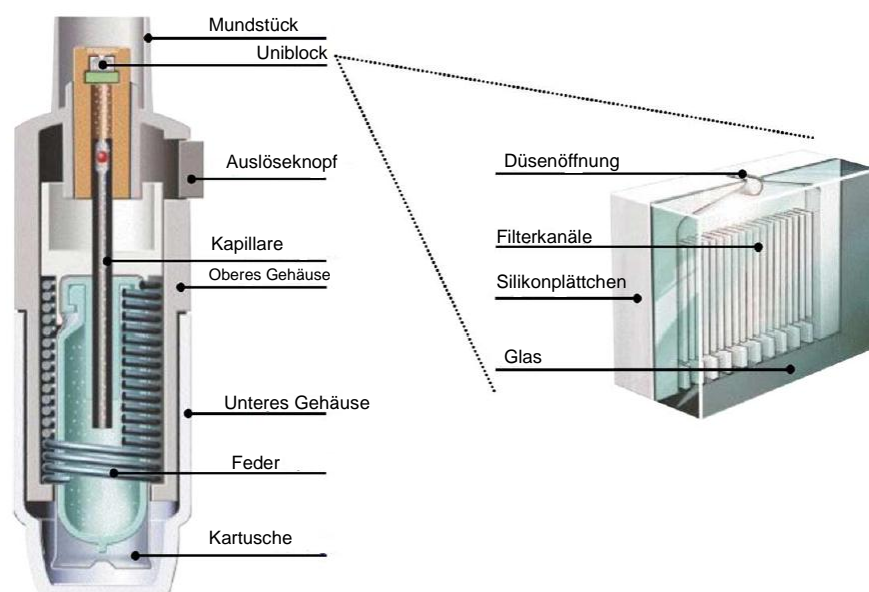


Abbildung 13: Aufbau des RespiMat® Soft Mist™ Inhalers, modifiziert nach (94)

Die Inhalationslösung wird verpackt in einer Kartusche in den Respimat® eingebracht. Die Kartusche besteht aus einem Aluminiumzylinder, welcher einen doppelwandigen Kunststoffbehälter, gefüllt mit Inhalationslösung enthält. Der innere Teil des Kunststoffbehälters ist flexibel und zieht sich mit zunehmender Entleerung zusammen. Mit einer Kartusche können 120 Hübe abgegeben werden, danach verhindert ein automatischer Blockiermechanismus des Gerätes das Auslösen. Die Energie zur Generierung des Aerosols wird im Respimat® mittels einer Feder gewonnen. Der untere Teil des Gerätes wird um 180° gedreht, wodurch eine Feder komprimiert wird. Dadurch werden circa 15 µl der Inhalationslösung aus der Kartusche, durch eine Kapillare in die Dosierkammer gepumpt. Ein Sperrventil verhindert das Zurücklaufen. Durch Drücken des Auslöseknopfes wird die Inhalationslösung aus dem Reservoir mit 250 bar durch eine spezielle Düse, den sogenannten Uniblock, gedrückt. Der Uniblock (siehe Abbildung 13) ist das Herzstück des Respimats® und besteht aus einem Silikonplättchen, welches an einer Borosilikatplatte befestigt ist. In das Silikonplättchen sind Einlass und Auslass, sowie feine Filterkanäle eingeztzt. Zwei feine Aerosolströme treten aus dem Uniblock aus und treffen in einem Winkel von 90° aufeinander, wodurch eine feine Aerosolwolke mit langsamer Geschwindigkeit entsteht. Die Geschwindigkeit der mittels Respimat® erzeugten Aerosolwolke beträgt unter standardisierten Bedingungen 0,8 m/s im Vergleich zu 2,0 – 8,4 m/s bei den pMDIs (31). Dementsprechend ist die Sprühdauer des Respimats® mit 1,5 s maximal 10-mal so lang wie bei den pMDIs (0,15 – 0,36 s). Die Aerosolwolke enthält einen hohen Anteil feiner Partikel (Fine Particle Fraction = FPF) mit einem aerodynamischen Durchmesser von $\leq 5,8 \mu\text{m}$. Kaskadenimpaktionsanalysen einer wässrigen Lösung ergaben 66% FPF mit einem MMAD von $2,0 \pm 0,4 \mu\text{m}$ und einer ethanolischen Lösung 81% FPF mit einem MMAD von $1,0 \pm 0,3 \mu\text{m}$ (94;95). Der Feinpartikelanteil von pMDIs liegt in der Regel bei weniger als 40% (94). Aufgrund der genannten Eigenschaften des Respimats® ist die Lungendeposition größer und die Deposition im Oropharynx geringer im Vergleich zu pMDIs. Dies zeigten unter anderem Newman et al. (96) mittels Gammazintigraphie nach Inhalation von radioaktiv markiertem Fenoterol. Hier zeigte sich eine signifikant höhere Lungendeposition bei Inhalation mit dem Respimat® (39%) im Vergleich zu pMDI (11%) und pMDI mit Spacer (10%). Die Vermutung lag nahe, dass aufgrund der erhöhten Wirkstoffdeposition eine geringere, mit dem Respimat®

verabreichte Dosis einen vergleichbaren klinischen Effekt bewirken könnte. Die klinischen Untersuchungen belegen, dass im Vergleich zu pMDIs bei einer Verabreichung von Ipratropium+Fenoterol mittels Respimat® mit 50% der Dosis die gleiche therapeutische Wirkung erzielt werden kann (97-100). Von Berg et al. (101) untersuchten dies bei 535 Kindern mit Asthma zwischen 6 und 15 Jahren. Es zeigte sich, dass bei Inhalation von Ipratropium + Fenoterol eine um 50% - 75% reduzierte Dosis, inhaliert mittels Respimat®, den gleichen therapeutischen Effekt und das gleiche Sicherheitsprofil hat, im Vergleich mit pMDI + Spacer.

Momentan ist der Respimat® mit 2 Wirkstofflösungen auf dem Markt. Berodual® Respimat® enthält eine Kombination der Wirkstoffe Ipratropiumbromid und Fenoterol, Spiriva® Respimat® enthält den Wirkstoff Tiotropiumbromid. Ersteres ist für die Therapie von Asthma und COPD bei Erwachsenen zugelassen, letzteres zur Therapie von COPD.

Das Aerosolprofil des Respimats® machen ihn auch für die Inhalationstherapie bei Kleinkindern interessant.

2 ZIELSETZUNG

2.1 Physikalisch-chemische Kompatibilität ausgewählter Mischinhalationslösungen/-suspensionen zur simultanen Feuchtinhalation

Eine simultane Inhalation von Inhalationsmischungen reduziert erheblich den Zeitaufwand, wodurch die Compliance und Lebensqualität der Patienten verbessert werden kann.

Grundlegende Voraussetzung für die simultane Inhalation ist die *in-vitro* Kompatibilität der Mischung verschiedener Inhalationsarzneimittel. Als zweite Voraussetzung muss nachgewiesen sein, dass die wichtigen Aerosoleigenschaften wie MMAD und FPF bei simultaner Verneblung den Aerosoleigenschaften bei Verneblung der Einzelkomponenten entsprechen.

Zielsetzung der vorliegenden Untersuchungen war die Bestimmung der Mischbarkeit ausgewählter Inhalationslösungen/-suspensionen zur Feuchtinhalation. Zunächst sollte die *in-vitro* Kompatibilität sowie die aerodynamischen Eigenschaften von Mischungen aus Dornase alfa (Pulmozyme®) und verschiedenen Tobramycin-haltigen Inhalationslösungen untersucht werden. Weiterhin sollte die *in-vitro* Kompatibilität von Mischungen aus Tobramycin-Inhalationslösungen (Bramitob®, TOBI®, Gernebcin®) und CMS (Colistin CF), Budesonid (Pulmicort®) und CMS (Colistin CF), sowie 5,85%-iger Natriumchlorid-Lösung und Budesonid (Pulmicort®) geprüft werden.

Auf Basis der Untersuchungen sollten valide Empfehlungen zur simultanen Inhalationstherapie für Patienten gegeben werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen sollen die bereits vorhandene Patientenbroschüre mit Informationen zur In-/Kompatibilität von Mischinhalationslösungen und -suspensionen ergänzen und vervollständigen.

2.2 Bewertung der Anwendbarkeit des Respimat® Soft Mist™ Inhalers bei Kindern unter 5 Jahren

In früheren Handhabungsstudien (58) wurde die Anwendung des Respimats® bei Kindern im Alter von 4-8 Jahren und 8-12 Jahren untersucht. Die Kinder wurden standardisiert geschult und inhalierten anschließend mit dem Respimat®, der an einen Pneumotachographen angeschlossen war. Eine Bewertung des Inhalationserfolges erfolgte anhand der aufgezeichneten Inhalationsprofile. In der Altersgruppe der 4-8 –Jährigen wurden 71% der Inhalationsmanöver richtig durchgeführt, bei den 8-12-Jährigen waren es 82%. Systematische Untersuchungen zur Anwendbarkeit des Respimats® bei Kindern unter 4 Jahren liegen bisher nicht vor.

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine offene, nicht invasive Machbarkeits/Handhabungsstudie mit dem CE-zertifizierten Medizinprodukt Respimat®.

Ziel der Studie war es herauszufinden, ob und ab welchem Alter Kinder unter 5 Jahren nach standardisierter Schulung mit dem Respimat® inhalieren können. Dabei sollte für unterschiedliche Altersgruppen ermittelt werden, in welchem Umfang Hilfestellung durch die Eltern bzw. eine Inhalierhilfe (AeroChamber Plus®) notwendig sind, um ein korrektes Inhalationsmanöver durchzuführen. Nach steigendem Bedarf an Unterstützung sollten die Kinder den Handhabungsstufen 1 bis 3 zugeordnet werden. Die Inhalationsmanöver sollten durch einen Beobachter anhand vordefinierter, essentieller Handhabungsschritte geprüft und deren erfolgreiche Durchführung dichotom als erfolgreich oder nicht beurteilt werden.

War ein erfolgreiches Inhalationsmanöver in einer der 3 Handhabungsstufen möglich, sollten in der entsprechenden Stufe mit einem Pneumotachographen Inhalationsprofile aufgezeichnet und anhand aufgezeichneter Parameter wie dem inhalierten Volumen, dem inspiratorischen Spitzenfluss, der Zeitverzögerung zwischen Auslösung der Dosis und Start der Inhalation und der Inhalationsdauer bewertet werden.

Mittels eines strukturierten Interviews und standardisierten Fragen sollte die Zufriedenheit der Eltern, und je nach Alter auch die der Kinder, bezüglich der Anwendung des Respimats® evaluiert werden.

Die Ergebnisse der objektiven Beobachtung der Handhabung des Respimats®, die am Pneumotachographen ermittelten Inhalationsprofile und die subjektive Beurteilung durch die Anwender sollten in der Zusammenschau die Eignung des Respimats® für die Inhalation bei Kindern unter 5 Jahren überprüfen.

3 PHYSIKALISCH-CHEMISCHE KOMPATIBILITÄT AUSGEWÄHLTER MISCHINHALATIONSLSÖSUNGEN/ SUSPENSIONEN ZUR SIMULTANEN FEUCHTINHALATION

3.1 Physicochemical compatibility and stability of nebulizable drug admixtures containing dornase alfa and tobramycin

Eingereicht bei: **PULMONARY PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS**

Eingereicht am: 07.02.2012

Manuskriptnummer: PPT 12-17

Manuscript considered for publication in

PULMONARY PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS

Title:

Physicochemical compatibility and stability of nebulizable drug admixtures containing dornase alfa and tobramycin

Authors:

Anja Klemmer¹, Irene Krämer¹, Wolfgang Kamin²

¹Department of Pharmacy of the University Medical Center, Johannes Gutenberg-University, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, Germany

²Pediatric Department, Lutheran Hospital Hamm, Werler Str.130, 59063 Hamm, Germany

Corresponding author:

Prof. Dr. Irene Krämer

Department of Pharmacy, University Medical Center of Johannes Gutenberg-University,

Langenbeckstraße 1,55131 Mainz, Germany

Telephone: +496131 177209, Fax: +49 6131 175525

E-Mail: irene.kraemer@unimedizin-mainz.de

Abstract

The objective of this in-vitro study was to determine whether admixtures of the inhalation solutions Pulmozyme® (Dornase alfa) and either Bramitob® or Tobi® (both containing Tobramycin) are physicochemically compatible and to analyze the aerodynamic parameters of these admixtures. After mixing, test solutions were stored at room temperature and under ambient light conditions over a period of 24 h. Tobramycin concentrations were determined by using a fluorescence immunoassay. Stability of dornase alfa was determined by size-exclusion high performance liquid chromatography, ultraviolet spectroscopy, sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis and tentacle strong cation-exchange chromatography. In addition, pH values and osmolality of the admixtures were measured and test solutions were visually examined for any changes up to 24 hours. Aerosols of Pulmozyme®/Bramitob® or Pulmozyme®/TOBI® admixtures were generated with the PARI eFlow® rapid and aerodynamic particle sizing was performed via cascade impaction with the Next Generation Pharmaceutical Impactor. The stability tests revealed that neither the stability of tobramycin nor the stability of dornase alfa was affected by mixing the inhalation products. Cascade impaction showed no relevant changes in particle size distribution, Mass Median Aerodynamic Diameter, Geometric Standard Deviation and Fine Particle Fraction in comparison to aerodynamic parameters of the unmixed solutions. Thus, admixtures of Pulmozyme® and either Bramitob® or TOBI® can be designated as compatible for a 24 h period and simultaneous inhalation is feasible.

Keywords

Dornase alfa, tobramycin, admixture, stability, nebulization, aerodynamic parameters

1. Introduction

Inhalation therapy especially nebulization is a mainstay of therapy in cystic fibrosis (CF) patients in order to reduce the progressive lung disease [1]. Highest recommendations are given to inhaled dornase alfa and inhaled tobramycin [2]. Aerosolized tobramycin is recommended for the treatment of moderate to severe pulmonary infections with *P. aeruginosa*[3]. Dornase alfa (recombinant human DNase I) hydrolyzes the DNA derived from dead cell debris in sputum/mucus of CF patients, thereby reducing viscosity in the lungs and promoting secretion clearance [1]. Other drugs commonly used in CF inhalation therapy are bronchodilators (albuterol, ipratropium), corticosteroids (budesonide fluticasone), and colistimethate. Patients often need to inhale multiple doses of the different drugs per day and each nebulization procedure takes about 15 minutes. Thus, patients tend to mix drug solutions for simultaneous nebulization [4]. Several combinations of drug admixtures have already been studied and a couple of them were proved to be compatible [4-7]. In the past we studied the stability of the admixture of dornase alfa (Pulmozyme®) and the tobramycin containing nebulizer solutions marketed as TOBI® and Gernebcin® 80 [4]. Combinations of dornase alfa with Gernebcin® 80 mg were found to be incompatible because of the 0.05% sodium metabisulfite used in Gernebcin® as excipient. Incompatibility resulted in loss of dornase alfa activity measured by a kinetic colorimetric activity assay. Compatibility of Pulmozyme® -admixtures with TOBI® could not be assessed finally because of the high standard deviations of the dornase alfa activity assay [4].

Now an additional tobramycin containing inhalation solution (Bramitob®) is licensed and we decided to perform further studies regarding the physicochemical compatibility of dornase alfa and tobramycin. More sophisticated assays were chosen for the determination of dornase alfa activity, i.e. size-exclusion high performance liquid chromatography, ultraviolet spectroscopy, sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis and tentacle strong cation-exchange chromatography.

A further aim of the study was to characterize the aerodynamic parameters of the aerosolized admixtures. Particle size is a main factor influencing the deposition pattern and bioavailability of drugs delivered to the respiratory system by using

inhalers[8]. In order to study potentially occurring changes in particle size by mixing the inhalation solutions, the admixtures were nebulized with the PARI eFlow® rapid and aerosol characteristics, i.e. Mass Median Aerodynamic Diameter (MMAD), Geometric Standard Deviation (GSD) and Fine Particle Fraction (FPF; particles < 5 µm), were determined by impactor technique.

2. Material and methods

2.1 Preparation of inhalation solution admixtures

All tests were performed with the commercially available nebulizer solutions Pulmozyme® 2.5 mg/2.5 ml (Roche Pharma AG, Grenzach-Whylen, Germany, Lot B2061B01), Bramitob® 300 mg/4 ml (Asche Chiesi, Hamburg, Germany, IG015), and TOBI® 300 mg/5 ml (Novartis, Nürnberg, Germany, Lot 06K6A/2). Mixtures were prepared in 10 ml polypropylene tubes with screw caps (Cultube Sterile, Simport, Beloeil, Canada, Lot 423505041). Mixtures were stored at room temperature and under ambient light conditions.

2.2 Physical compatibility

Admixtures were prepared in triplicate by mixing 0.5 ml Pulmozyme® and 0.8 ml Bramitob® or 0.5 ml Pulmozyme® and 1.0 ml TOBI®. Samples were withdrawn directly after mixing and after 24 hrs of storage and were measured in triplicate. Values of pH were measured with a digital pH-meter (pH 2010 Microprocessor, HANNAH Instruments, Kehl, Germany) with glass electrode (InLab Micro, Mettler Toledo, Giessen, Germany). The pH-meter was calibrated by using calibration solutions pH 4.01 and pH 7.01 (HANNAH Instruments, Lot 2358). Validation of the assay was performed by measuring pH-values of 0.9% sodium chloride solution (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany, Lot 20CBF014) and calibration solution pH 4.01 (HANNAH Instruments, Lot 2358) tenfold on the same day (intra-day precision) and by single measurements on three different days (inter-day precision). Relative standard deviations (RSDs) were 0.347% and 0.597% (intra-day precision) and 0.445% and 0.147% (inter-day precision).

Osmolality was determined via the freezing-point depression method with an osmometer (Osmomat 030 Cryoscopic Osmometer, Gonotec GmbH, Berlin, Germany). The osmometer was calibrated by using a calibration standard solution 300 mosmol/kg (Gonotec, Lot 8343C41). Tenfold measurements of 0.9% sodium chloride solution (Fresenius Kabi, Lot 20CBF014) on one day resulted in a RSD of 1.115% (intra-day precision). Single measurements of the solution on three different days (inter-day precision) resulted in a RSD of 0.403%. Whenever samples were withdrawn, the admixtures were visually inspected with the unaided eye for colour changes, turbidity, or particulate matter.

2.3. Chemical stability of Tobramycin

Tobramycin concentrations were analyzed using a commercial fluorescence immunoassay (TDx/TDxFLx, Abbott, Wiesbaden, Germany). Admixtures were prepared in duplicate by mixing 0.8 ml Bramitob® and 0.5 ml Pulmozyme®. From each admixture two samples were withdrawn 1 hr, 6 hrs and 24 hrs after mixing and diluted twofold with 0.9% sodium chloride solution (Fresenius Kabi, Lot 20CBF014) to a final nominal concentration of 4.62 µg/ml. The TDx/TDxFLx system was calibrated by 6 aqueous standard solutions (8 µg/ml, 6 µg/ml, 5 µg/ml, 4 µg/ml, 2 µg/ml, and 1 µg/ml) prepared by diluting Bramitob® with 0.9% sodium chloride solution (Fresenius Kabi, Lot 20CBF014). The calibration curve was linear, with a correlation coefficient of 0.996. Intra-day precision was determined with an aqueous standard solution containing 5 µg/ml tobramycin and fivefold measurement on the same day. RSD was 2.12%. Duplicate determinations of 3 separately prepared samples containing 5 µg/ml tobramycin on 3 different days (inter-day precision) yielded a RSD of 2.49%. The assay was validated as stability-indicating by analyzing forced-degraded tobramycin solutions. Bramitob® was degraded with 35% H₂O₂ solution or 1 M NaOH solution at 80°C for 4 hrs. Tobramycin concentrations declined to 75% (H₂O₂) and 69% (NaOH). Samples with tobramycin concentrations ≥ 90% (mean) of the nominal concentration were defined as chemically compatible with regard to the drug substance tobramycin.

2.4 Chemical stability of Dornase alfa

2.4.1 Size-Exclusion High-Performance Liquid Chromatography

To determine the concentration of dornase alfa and to detect soluble aggregates and fragments a known stability indicating size-exclusion high performance liquid chromatography (SE-HPLC) assay was used [9;10]. The chromatographic system consisted of a Waters 2695 separation module (Waters, Eschborn, Germany) and a Waters 2998 photodiode array (PDA) detector (Waters). Data acquisition and integration were performed with Waters Empower Pro, Empower² software, version 6.10.01.00 (Waters). The TSK-Gel G3000SW_{XL} column (7.8 mm x 30 cm, particle size 5 µm, Tosoh Bioscience, Stuttgart, Germany) was operated with a mobile phase buffer solution pH 7.2 [11]) consisting of 25% 0.2 M potassium dihydrogen phosphate (Merck, Darmstadt, Germany, Lot A585477748) solution

and 17.5% 0.2 M sodium chloride (Merck, Darmstadt, Germany, Lot A0991) solution dissolved in HPLC-gradient-grade water (Mallinckrodt Baker, Griesheim, Germany, Lot 0923200042). The flow rate was set at 1.0 ml/min. Injection volume was 20 µl and run time was 15 min. Detection wavelength was set to 214 nm. In addition PDA chromatograms were obtained regularly. The linearity of the method was evaluated at ten concentrations in the range of 0.02 mg/mL to 0.25 mg/mL prepared with Pulmozyme® inhalation solution. Each concentration was injected five times. The calibration curve constructed from plots of peak areas versus dornase alfa concentrations was linear, with a correlation coefficient of 0.9994. Accuracy was proven by analyzing two different concentrations (0.15 mg/mL and 0.1 mg/mL) performing 10 injections per concentration. Accuracy was 100.8% ± 0.76% (0.15 mg/mL) and 100.9% ± 1.97% (0.1 mg/mL). Inter-day precision was determined with three different dornase alfa concentrations on 5 different days. Fivefold injection of each concentration yielded RSDs of 1.94% (0.15 mg/mL), 1.97% (0.1 mg/mL), and 2.30% (0.05 mg/mL). Intra-day precision, determined by injecting two different concentrations ten times on the same day, resulted in RSDs of 1.13% (0.1 mg/mL) and 0.71% (0.15 mg/mL). The stability indicating nature of the assay was confirmed by analyzing forced degraded samples. Dornase alfa solutions (0.1 mg/mL) were heated at 65°C for 1 hr, 2 hrs, 4 hrs or 6 hrs. The monomer peak at a retention time (RT) of 10.5 min was significantly diminished after one hour heating. Simultaneously peaks of aggregations occurred at RT 6.5 min, 5.5 min and 0 min (Fig. 1).

For stability testing, admixtures were prepared in triplicate by mixing 2.5 ml Pulmozyme® and 4.0 ml Bramitob® or 2.5 ml Pulmozyme® and 5.0 ml TOBI®. Immediately after mixing, after 4 hrs (admixture with TOBI®), after 6 hrs (admixture with Bramitob®) and after 24 hrs 2 samples were withdrawn from each admixture and further diluted with 0.9% sodium chloride solution to a nominal concentration of 0.15 mg/mL. Samples were analyzed in triplicate. Samples with drug concentrations ≥ 90% of nominal concentration were defined as chemical compatible with regard to the drug substance dornase alfa.

2.4.2 Ultraviolet Spectroscopy

Protein concentration was determined by measuring the UV-absorbance at 280 nm. A Spectronic Helios Alpha Ultraviolet-Visible Spectrophotometer (UV-VIS) (Thermo Electron, Dreieich, Germany) and silica glass cells (QS Suprasil, VWR, Darmstadt, Germany) were used. Water HPLC grade was used as blank reference. For the wavelength of 280 nm and a constant layer thickness of 10 mm (d) a linear correlation between the dornase alfa concentration (0.2, 0.15, 0.1, 0.08 and 0.06 mg/mL) and absorbance (A) with a correlation factor of 0.9969 was determined. The molar extinction coefficient for dornase alfa was calculated using the Protparam software program and resulted in $\epsilon_{280} = 46090 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ [12]. The calculation was based on the known amino acid sequence [13] ($M_r = 29254$). The calculated absorbance for a 0.1 percent solution was $A_{0.1\%}^{280} = 1.567$ [12] and was identical with the measured one. All further results were calculated via calibration curve. Accuracy was proven by triplicate measurement of three samples of a test solution containing 0.1 mg/mL dornase alfa. Mean accuracy was $96.77\% \pm 2.97\%$. Intra-day precision was determined simultaneously with accuracy and resulted in a RSD of 2.72%. Inter-day precision was evaluated by triplicate determinations of samples containing 0.1 mg/mL dornase alfa on three different days and resulted in a RSD of 2.78%.

Admixtures were prepared in triplicate by mixing 2.5 ml Pulmozyme® and 4.0 ml Bramitob®. Immediately after mixing and after 24 hrs one sample of each admixture was withdrawn, further diluted to a nominal concentration of 0.1 mg/mL, and analyzed in triplicate. The absorbance of 12 mg/mL Bramitob® solution equalizing to the tobramycin concentration in the admixture was measured and deducted from the absorbance of the admixture to obtain the absorbance of dornase alfa ($A_{\text{dornasealfa}} = A_{\text{admixture}} - A_{\text{tobramycin}}$).

2.4.3 Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis

Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) was used to detect potentially occurring aggregates and fragments of dornase alfa. The gels consisted of polyacrylamide containing tris-glycine 4% to 20% (Anamed Electrophorese, Groß-Bieberau, Germany, Lot 0020012507). The running buffer

consisted of 25 mM tris base (Roth, Karlsruhe, Germany, Lot 269107748) solution in water with 192 mM glycine (Roth, Karlsruhe, Germany, Lot 428100079) and 0.1% sodium dodecyl sulphate (Roth, Karlsruhe, Germany, Lot 249103990). The buffer was adjusted to pH 8.3 with tris base. Sample buffer consisted of 62.5 mM tris base, 10% glycerine (Roth, Karlsruhe, Germany, Lot 269107054), 2% sodium dodecyl sulphate and 0.05% bromphenol blue (Aplichem, Darmstadt, Germany, Lot 4H008146). The solution was adjusted to pH 6.8 with 1M hydrochloride solution (Merck, Darmstadt, Germany, Lot 4C621767).

Admixtures were prepared by mixing 2.5 ml Pulmozyme® and 4.0 ml Bramitob®. Aliquots containing 10 µg dornase alfa were withdrawn after 24 hrs, mixed with 5 µl sample buffer and diluted to 40 µl with 0.9% sodium chloride solution and heated for 10 minutes at 85 °C. Samples of unmixed Pulmozyme® were prepared in the same manner. The Unstained Standard Precision Plus Protein (Biorad, Munich, Germany, Lot 310008455) was used as molecular weight size standard. Running conditions were 150 volt constant in an XCell Sure Lock Mini Cell (Invitrogen, Carlsbad Springs, Canada). Following the electrophoresis the gel was stained with Coomassie brilliant blue solution (Aplichem, Lot 94000701) for visualization of the protein bands.

2.4.4 Tentacle Strong Cation-Exchange Chromatography

Tentacle Strong Cation-Exchange Chromatography (T-SCX) is a specific method for detecting deamidation of dornase alfa at Asn₇₄, the major chemical degradation pathway [14]. The percentage of deamidated and non-deamidated dornase alfa was assessed using a modification of the method of Cacia et al. [15] and Scherer et al. [14]. The chromatography was performed using a Dionex Ultimate® 3000 (Dionex, Idstein, Germany) system and a ProPac® SCX-10 (4 x 250 mm, Dionex) with a ProPac® SCX-10G precolumn (4 x 50 mm, Dionex). Data were acquired and integrated by using Chromeleon® software version 6.80 (Dionex). The protein was eluted using a flow rate of 1.0 ml/min mobile phase A and B (Gradient: 4 min 100% A, over 30 min up to 58% B). Mobile phase A contained 10 mM sodium acetate (AppliChem, Darmstadt, Germany, 7L003314), 1 mM CaCl₂ (Sigma Aldrich, St. Louis, USA, Lot 118K0149) dissolved in water HPLC grade (Mallinckrodt Baker, Griesheim, Germany, Lot 0923200042) and was

adjusted at pH 4.5 with glacial acid (Roth, Karlsruhe, Germany, Lot 211171165). Mobile phase B contained solvent A with 1 M sodium chloride (Roth, Karlsruhe, Germany, Lot 119103906). Detection wavelength was set at 280 nm. The suitability of the assay was proven by analyzing forced degraded dornase alfa solutions. Samples of dornase alfa solution were alkalized with 10% ammonium carbonate buffer pH 8.2 [16] and heated at 38 – 40°C up to 72 hrs to induce deamidation [17].

Admixtures were prepared in triplicate by mixing 0.2 ml Bramitob® and 0.2 ml Pulmozyme® or 0.2 ml TOBI® and 0.2 ml Pulmozyme®. Each admixture and unmixed Pulmozyme® was transferred to a dialysis tube (Spectra/Por molecularporous membrane tubing MWCO 6-8 kD, 6.4 mm, 0.32 ml/cm, Spectrum® Laboratories, Tilburg, Netherlands) and dialyzed over 36 hrs against solvent A. An aliquot of 20 µl was withdrawn from each solution and assayed.

2.5 Aerosol characterization

The aerosols were generated with the PARI eFlow® rapid nebulizer (PARI, Starnberg, Germany). Aerodynamic particle sizing was performed via cascade impaction with the Next Generation Pharmaceutical Impactor (NGI) (Copley Scientific, Nottingham, UK). The NGI was cooled down (5-10 °C) before use to minimize evaporation due to heat transfer from impactor to aerosols [18;19]. The NGI was stored in a freezer at - 20 °C for at least one hour and then at ambient temperature until a temperature of 5 °C was reached. The aerosols were drawn through the cascade impactor with a vacuum pump (HPC5, Copley Scientific). Flow rate was set at 15 L/min via Critical Flow Controller (Model TPK 2000, CopleyScientific) and was monitored by means of flow meter (Model DFM 2000, CopleyScientific). At a steady flow rate the nebulizer was connected to the induction port of the NGI with a mouthpiece adapter (Fig.2). Aerosols were sampled until the automatic switch-off of the eFlow® rapid was reached.

Admixtures were prepared by mixing 2.0 ml Pulmozyme® and 4.0 ml Bramitob® or 2.0 ml Pulmozyme® and 4.0 ml TOBI®. 2.0 ml Pulmozyme® diluted with 4.0 ml 0.9% sodium chloride solution were used as control solutions. All samples were prepared fourfold and nebulized immediately after mixing. The drug deposited on each stage, the induction port, the mouthpiece and the remaining drug in the

nebulizer cup was eluted with exact 4 mL 0.9% sodium chloride solution. Dornase alfa concentrations were determined by SE-HPLC (see 2.4.1). Samples were injected in triplicate. MMAD, GSD and FPF (%) were calculated using Copley Inhaler Testing Analysis Software (CIDATAS, CopleyScientific, version 2.0 Wibu).

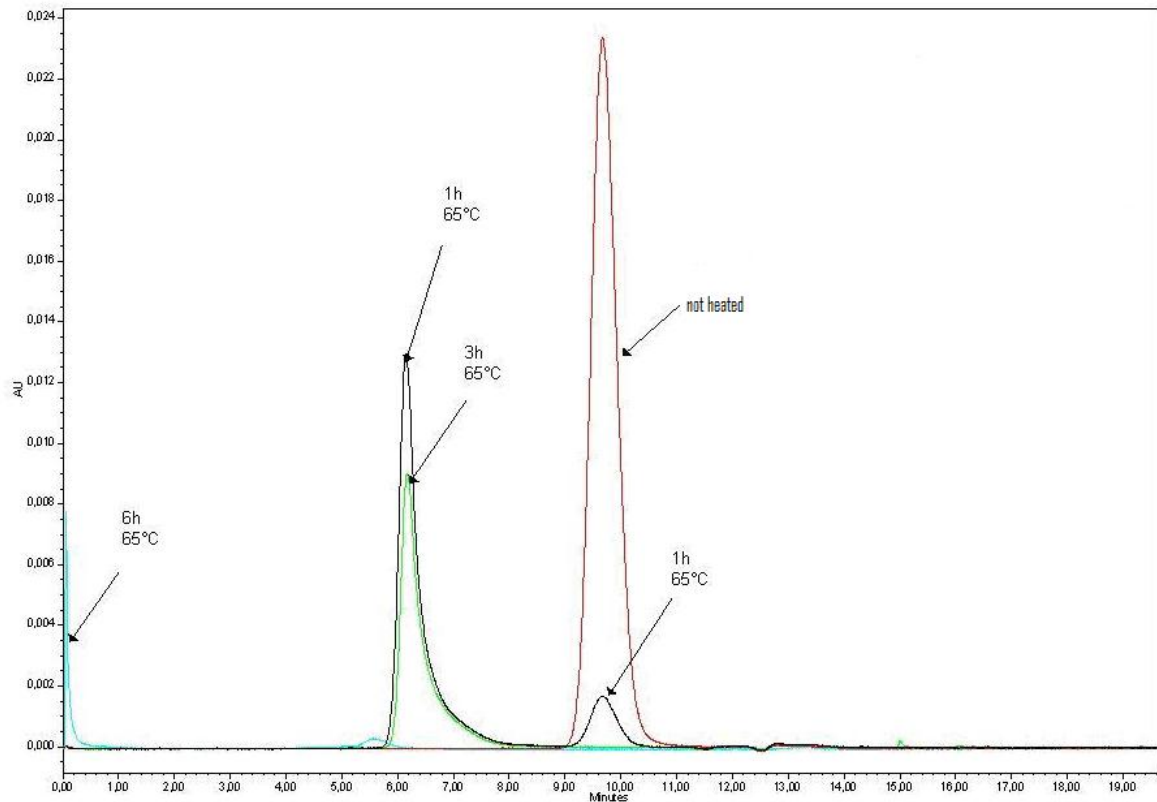


Figure 1: Size-exclusion chromatogram of dornase alfa containing inhalation solution after 0, 1, 3, and 6 hours of heat degradation at 65°C.

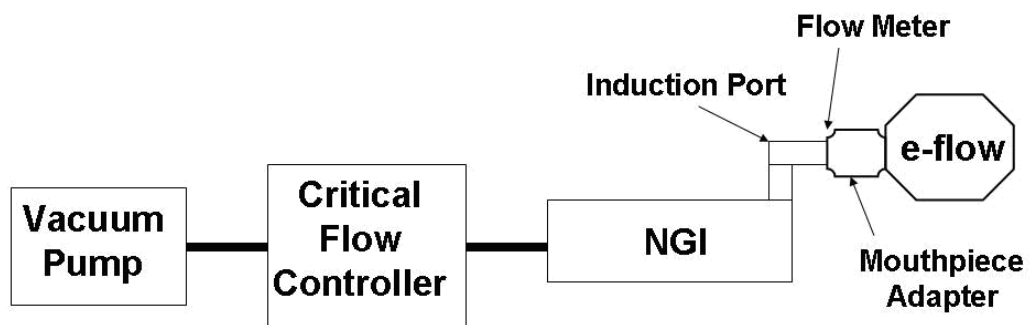


Figure 2: Schematic test set-up of the impaction experiment.

3. Results

3.1 Physical compatibility

Values of pH and osmolality of the admixtures remained unchanged over the test period of 24 hours (Table 1). No colour changes, particulate matter, or turbidity were observed.

3.2 Stability of tobramycin

One hour after mixing tobramycin concentrations determined via fluorescence immunoassay in admixtures of Bramitob® and Pulmozyme® amounted to $95.21 \pm 5.15\%$ of the nominal concentration. After 6 hours and 24 hours of storage the concentrations measured were calculated to $98.12 \pm 13.66\%$ and $94.89 \pm 5.81\%$ of the initial concentrations, respectively. According to these results Bramitob® can be determined as compatible and stable in admixtures with Pulmozyme®.

3.3 Stability of dornase alfa

3.3.1 SE-HPLC assay

Dornase alfa concentrations determined as monomers remained unchanged over the test period (Table 1). No additional peaks, indicating derivatives with higher molecular weights, such as aggregates, or peaks of fragments were detected in the chromatograms.

3.3.2.UV spectrophotometry

In the UV-VIS spectrophotometric assay no decrease of dornase alfa concentration was observed. Immediately after mixing the protein concentration amounted to $93.85 \pm 1.26\%$ of the nominal concentration and remained unchanged ($95.87 \pm 2.70\%$) for a period of 24 hours at room temperature.

3.3.3 SDS-PAGE

Samples taken from the Pulmozyme® admixtures after 24 hours of storage and unmixed dornase alfa exhibited no significant differences. Only one major band (Fig. 3) was identified. This band was located in the region of approximately 30 kD and corresponds to the intact dornase alfa molecule with the known relative molecular mass of ~29 kD.

3.3.4 T-SCX chromatography

In the specialized chromatography assay for deamidated dornase alfa two peaks were identified in the chromatograms. The peak with the retention time 13 minutes was assigned to the deamidated molecule and the second peak with a retention time of 16.5 minutes to the non-deamidated molecule accordingly. Ratios of peak areas (area peak 2/area peak 1) were calculated and proved to be unchanged (Table 1) compared to samples of unmixed dornase alfa (peak ratio: 0.352 ± 0.007). Samples of heat degraded dornase alfa solutions showed decreasing peak ratios corresponding to the period of heating (0.119 ± 0.003 when heated for 24 hrs and 0.031 ± 0.001 when heated for 72 hrs).

3.5 Aerosol characterization

In Figure 4 and Table 2 the aerosol characteristics of the nebulized admixtures of Pulmozyme® and either Bramitob®, or TOBI®, or 0.9% sodium chloride solution are shown. All admixtures generated heterodisperse aerosols with comparable distributions of particle sizes and FPF (Table 2). Nebulization time and delivered dose (defined as the proportion of drug recovered from the NGI) were determined and found to be similar for the different admixtures (Table 2). As determined via nebulizer weight before and after nebulization, the drug output rate was 0.77 ± 0.03 g/min, 0.83 ± 0.05 g/min and 0.85 ± 0.03 g/min for the admixtures with 0.9% NaCl solution, with Bramitob®, and with TOBI®, respectively.

PHYSIKALISCH-CHEMISCHE KOMPATIBILITÄT AUSGEWÄHLTER MISCHINHALATIONS-LÖSUNGEN/-SUSPENSIONEN ZUR
SIMULTANEN FEUCHTINHALATION

Table 1: Physicochemical stability data of Pulmozyme® mixed with Bramitob® or TOBI®

Test solution	Pulmozyme® + Bramitob®			Pulmozyme® + TOBI®			
	Initially after mixing	after 6 hrs	after 24 hrs	Initially after mixing	after 4 hrs	after 8 hrs	after 24 hrs
pH ± SD (n=9)	5.27 ± 0.00	n.d.	5.26 ± 0.00	5.92 ± 0.02	n.d.	n.d.	5.88 ± 0.00
Osmolality [mOsmol/kg] ± SD (n=9)	249.0 ± 1.7	n.d.	251.3 ± 1.2	200.7 ± 0.6	n.d.	n.d.	203.3 ± 1.2
SE-HPLC (n=18)							
Percentage rate of nominal dornase alfa concentration ± rel. SD	97.8 ± 1.02	97 ± 0.77	99.8 ± 3.79	95.93 ± 0.70	96.00 ± 0.83	96.00 ± 0.77	95.41 ± 0.91
T-SCX (n=3; sampling initially after mixing; assay period 36 hrs)							
Percentage rate deamidated dornase α [%] ± SD	74.57 ± 0.38	-	-	74.07 ± 0.49	-	-	-
Percentage rate non-deamidated dornase α [%] ± SD	25.43 ± 0.38	-	-	25.93 ± 0.49	-	-	-
Percentage rate ratio ± SD	0.34 ± 0.007	-	-	0.35 ± 0.009	-	-	-

**PHYSIKALISCH-CHEMISCHE KOMPATIBILITÄT AUSGEWÄHLTER
MISCHINHALATIONS-LÖSUNGEN/-SUSPENSIONEN ZUR SIMULTANEN
FEUCHTINHALATION**

Table 2: Nebulizer and aerosol characteristics of Pulmozyme® mixed with 0.9% NaCl solution, Bramitob® or Tobi®. Results expressed as mean \pm SD of triplicate assays of 4 test solutions (n = 12).

	Pulmozyme mixture with		
	0.9% NaCl solution	Bramitob®	TOBI®
Nebulization time [min] \pm SD	5.85 \pm 0.10	5.46 \pm 0.22	5.66 \pm 0.33
Delivered Dose [%] \pm SD	73.91 \pm 2.78	74.41 \pm 3.97	76.56 \pm 2.62
MMAD [μ m] \pm SD	4.75 \pm 0.13	4.73 \pm 0.17	4.70 \pm 0.08
GSD \pm SD	1.65 \pm 0.06	1.60 \pm 0.00	1.63 \pm 0.05
FPF < 5 μ m [%] \pm SD	54.36 \pm 2.5	55.14 \pm 2.5	54.70 \pm 1.72

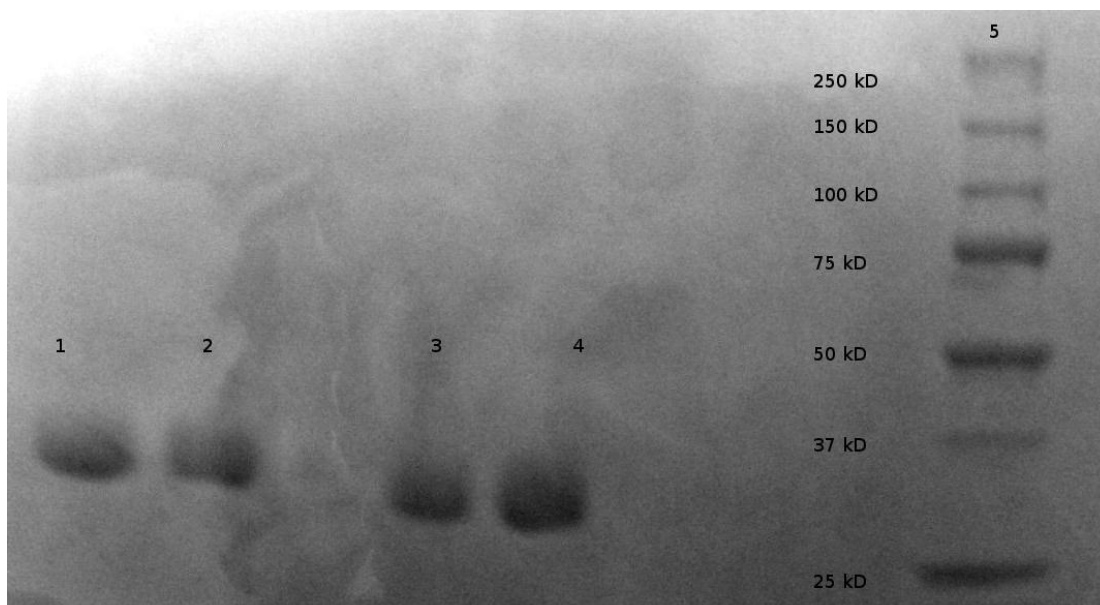


Figure 3: SDS-PAGE of unmixd dornase alfa (lanes 1+2), samples of the admixture with Bramitob® (lanes 3+4) and a molecular weight standard (lane 5).

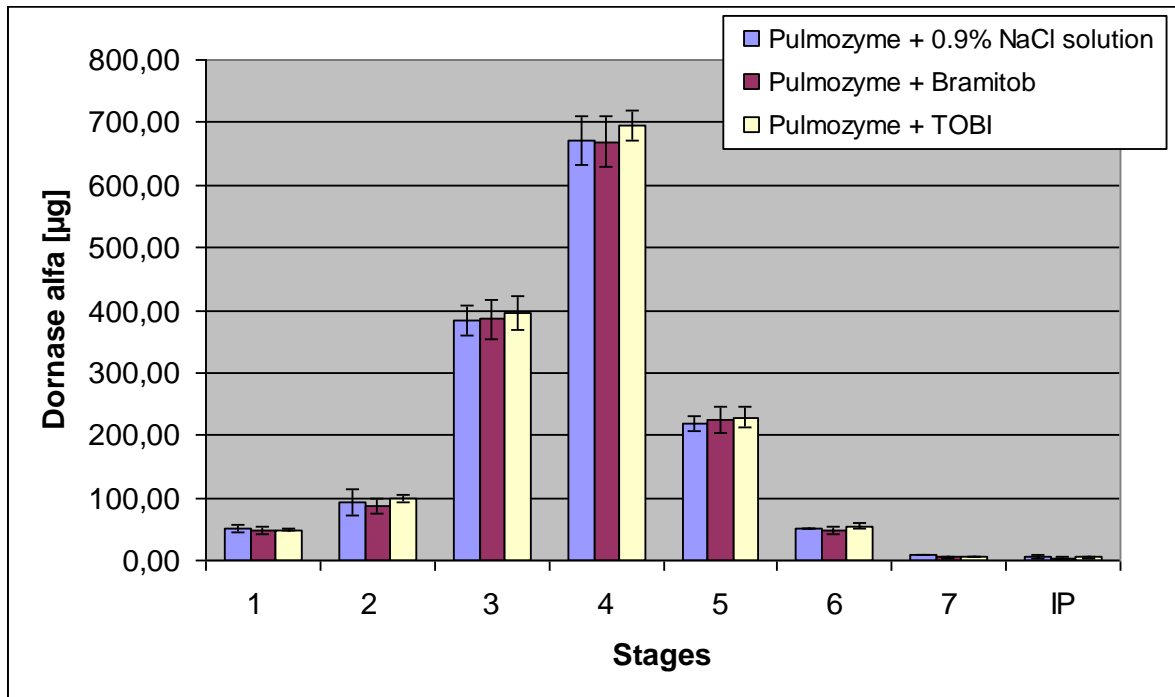


Figure 4: Particle size distribution, effective cut-off diameter (μm) at 15 L/min: Stage 1 = 14.1, Stage 2 = 8.61, Stage 3 = 5.39, Stage 4 = 3.30, Stage 5 = 2.08, Stage 6 = 1.36, Stage 7 = 0.98, IP = Induction Port (n =12).

4. Discussion

In order to ensure the tolerability of nebulizable drugs, inhalation solutions/suspensions should have an osmolality between 150 and 550 mOsmol/kg and pH values in the range of 4.5 to 8.7 [20]. The investigated mixtures fulfilled these specifications and both pH values and osmolality remained unchanged over the test period.

The stability of tobramycin in admixtures of Pulmozyme® and Bramitob® was measured by a fluorescence immunoassay. This method is used routinely in clinical practice to determine the serum levels of tobramycin. Commercially available calibrators contain tobramycin in human serum. Preliminary tests showed that this calibration method is not valid for the measurement of tobramycin concentrations in aqueous solutions. Calibration with aqueous calibration solutions resulted in a linear calibration curve. High standard deviations observed (between 5 and 14%) may be caused by the 10,000-fold dilution in two steps during sample preparation. However, chemical stability of tobramycin can be accepted as proven by these results. In addition, the stability of tobramycin in the admixtures of Pulmozyme® and TOBI® was studied by Krämer et al. [4] and was found to be stable over a testing period of 8 hrs. During these tests standard deviations were below 7%.

The stability of dornase alfa, like other protein drugs, cannot be determined by a single analytical method. Degradation of dornase alfa may result in the formation of higher molecular weight species or in protein fragments. SE-HPLC, UV-VIS and SDS-PAGE were chosen as analytical methods to detect protein aggregates and protein fragments. In SE-HPLC and UV-VIS spectroscopy different detection wavelengths were chosen according to the literature [14;21]. In general the results of the SE-HPLC are expected to be more precise since this method is more specific due to the chromatographic separation step. The results of the different analytical methods were congruent in detecting no aggregation or fragmentation.

Deamidation at asparagine-serine protein sequences under alkaline conditions and elevated temperatures is well known [15;17]. Dornase alfa has been shown to undergo deamidation at Asn₇₄ as a major chemical change on stability [14]. Asn₇₄ is known to be involved in binding of DNA, the substrate of dornase alfa. Deamidation is combined with a decrease in activity of 40-50% in comparison to

the intact molecule due to decreased binding to the substrate[22]. Deamidation increases the number of charged residues in the protein. The charge difference between the deamidated and the intact species is the basis for separation during ion-exchange chromatography (IEC). Cacia et al. [15] showed that the separation of the two variants by IEC is weak. Separation by biomimetic interaction has been shown to be more appropriate. The ProPac®-SCX column is a strong cation-exchange column with sulfonate functional groups. Repeating units of sulfonate groups (n = 5-50) are strung like “tentacles” along the polymeric backbone of the column, creating a flexible polyanionic ligand. This polymeric structure mimics certain characteristics of the DNA and therefore separation of deamidated dornase alfa species is possible. Chromatograms of dornase alfa showed two clearly separated peaks. The first peak was assigned to the deamidated species because fewer biomimetic interactions would lead to a shorter retention time. Analyzing unmixed Pulmozyme® inhalation solution showed a fraction of about 74% deamidated dornase alfa which is in line with findings of other studies [9;14]. Our studies of admixtures of Pulmozyme® and Bramitob® or TOBI® nebulizer solutions show that the deamidated fraction was not increased in the admixtures and during the 36 hours of assaying the solutions. The specificity of the assay was proven by the analysis of heat degraded dornase alfa solutions.

Considering all results of the different analytical methods, mixing of Pulmozyme® with Bramitob® or TOBI® neither led to physical instability nor to chemical alterations influencing the activity of dornase alfa. During previous studies the enzymatic activity of dornase alfa was measured based on the assumption that compatibility and stability of dornase alfa in admixtures result in unchanged enzymatic activity. But because of the large standard deviations found in the biological assays our previous results were equivocal [4]. The combination of methods used here is considered to be sufficient and appropriate to prove the in-vitro compatibility of the admixtures.

However, in previous studies we also stated that in vitro compatibility is a prerequisite for simultaneous inhalation and the resulting aerosol characteristics should prove to be unchanged. One aim of our study was to look for potential changes in aerodynamic parameters, caused by mixing inhalation solutions containing dornase alfa and tobramycin. We investigated the aerosol

characteristics by using the PARI eFlow® rapid. This vibrating membrane nebulizer turned out to be suitable for the nebulization of dornase alfa inhalation solutions [23]. However, due to its maximal volume of 6.0 ml the volumes of the admixtures had to be adjusted. Aerodynamic particle sizing of dornase alfa was performed via cascade impaction with the NGI, and SE-HPLC was used to assess the dornase alfa concentrations deposited on the impactor stages. The aerosol patterns of admixtures of dornase alfa and tobramycin were compared to those of dornase alfa diluted with 0.9% sodium chloride solution in order to achieve the same volume. There was no difference in particle size distribution, MMAD, GSD and FPF (%).

Comparing our results to the literature it was not surprising that the MMADs, drug output rate and FPF (%) resulting from dornase alfa nebulization with the PARI eFlow® rapid differed from results recently published by PARI [23]. Their data were obtained using laser diffraction at 23 °C, 50% relative humidity, and an inspiratory flow of 20 L/min. Due to the different test conditions and analytical method both sets of data can only be compared to a limited extent [24]. Johnson et al. [25] determined aerosol characteristics of dornase alfa nebulized with two different nebulizers (Omron Micro Air and Pari LC +) using the NGI at 15 L/min and 23-24 °C. In spite of the different temperature used the MMADs and FPF < 5% are in accordance with our results. Only values of GSD were found to be smaller in our study.

The clinical relevance of the inhalation sequence of different drugs in cystic fibrosis is not yet investigated in clinical trials. Nevertheless, different drugs are often recommended to be inhaled in a specific order to optimize delivery to the airways: bronchodilators, mucolytic agents, antibiotics. Moreover, Pulmozyme® is regarded as being most beneficial when inhaled before physiotherapy sessions. However, a review of the Cochrane Collaboration states that currently there is no evidence of patient benefit when inhaling dornase alfa before airway clearance techniques [26]. Thus, as long as clinical studies on the appropriate order of inhalation are lacking and no contraindication is shown, mixing dornase alfa and tobramycin for simultaneous inhalation could be an option for patients. Clinical studies comparing the simultaneous and consecutive inhalation of different

nebulizable drugs are necessary to provide evidence for inhalation therapy in CF patients.

5. Conclusions

The results of the experimental studies prove that admixtures of Pulmozyme® and Bramitob® as well as admixtures of Pulmozyme® and TOBI® are physicochemically stable over a period of 24 hours. Relevant aerosol characteristics were not influenced by mixing these nebulizer solutions. Regarding microbiological aspects, mixing should only take place immediately before administration and remaining drug admixture should be discarded.

Acknowledgement

The authors thank Dr. Frank Erdnüß, Wiesbaden, for his help in preparing this manuscript.

Disclosure statement

Bramitob® and Tobi® were kindly provided by Novartis and Asche Chiesi, but the companies played absolutely no role in the performance of the experiments and did not influence the content of this manuscript. The authors negate any financial or other relationship in conjunction with this study that may lead to a conflict of interests.

References

1. Proesmans M, Vermeulen F, De BK: What's new in cystic fibrosis? From treating symptoms to correction of the basic defect. *Eur J Pediatr* 2008;167(8):839-849.
2. O'Sullivan BP, Freedman SD: Cystic fibrosis. *Lancet* 2009;373(9678):1891-1904.
3. Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA, Goss CH, Mogayzel PJ, Jr., Willey-Courand DB, Bujan J, Finder J, Lester M, Quittell L, Rosenblatt R, Vender RL, Hazle L, Sabadosa K, Marshall B: Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176(10):957-969.
4. Kramer I, Schwabe A, Lichtinghagen R, Kamin W: Physicochemical compatibility of mixtures of dornase alfa and tobramycin containing nebulizer solutions. *Pediatr Pulmonol* 2009;44(2):134-141.
5. Kamin W, Schwabe A, Kramer I: Physicochemical compatibility of fluticasone-17-propionate nebulizer suspension with ipratropium and albuterol nebulizer solutions. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2007;2(4):599-607.
6. Kramer I, Schwabe A, Lichtinghagen R, Kamin W: Physicochemical compatibility of nebulizable drug mixtures containing dornase alfa and ipratropium and/or albuterol. *Pharmazie* 2007;62(10):760-766.
7. Kamin W, Schwabe A, Kramer I: Inhalation solutions: which one are allowed to be mixed? Physico-chemical compatibility of drug solutions in nebulizers. *J Cyst Fibros* 2006;5(4):205-213.
8. Pilcer G, Vanderbist F, Amighi K: Correlations between cascade impactor analysis and laser diffraction techniques for the determination of the particle size of aerosolised powder formulations. *Int J Pharm* 2008;358(1-2):75-81.
9. Chen B, Costantino HR, Liu J, Hsu CC, Shire SJ: Influence of calcium ions on the structure and stability of recombinant human deoxyribonuclease I in the aqueous and lyophilized states. *J Pharm Sci* 1999;88(4):477-482.
10. Cipolla D, Gonda I, Shire SJ: Characterization of aerosols of human recombinant deoxyribonuclease I (rhDNase) generated by jet nebulizers. *Pharm Res* 1994;11(4):491-498.
11. Europäisches Arzneibuch, ed 6 Deutscher Apotheker Verlag, 2008.
12. ExPASy. Swiss Institute of Bioinformatics.
www.expasy.ch/tools/ptotparam.html . 17-11-2011.
13. DrugBank. Dornase alfa. <http://drugbank.ca/drugs/DB00003> . 17-11-2011.

14. Scherer T, Geller DE, Owyang L, Tservistas M, Keller M, Boden N, Kesser KC, Shire SJ: A technical feasibility study of dornase alfa delivery with eFlow(R) vibrating membrane nebulizers: aerosol characteristics and physicochemical stability. *J Pharm Sci* 2011;100(1):98-109.
15. Cacia J, Quan CP, Vasser M, Sliwkowski MB, Frenz J: Protein sorting by high-performance liquid chromatography. I. Biomimetic interaction chromatography of recombinant human deoxyribonuclease I on polyionic stationary phases. *J Chromatogr* 1993;634(2):229-239.
16. Monitoring Monoclonal Antibody Stability by Cation-Exchange Chromatography. www.dionex.de . 8-11-2011.
17. Wakankar AA, Borchardt RT: Formulation considerations for proteins susceptible to asparagine deamidation and aspartate isomerization. *J Pharm Sci* 2006;95(11):2321-2336.
18. Dennis J, Berg E, Sandell D, Ali A, Lamb P, Tservistas M, Karlsson M, Mitchell J: Cooling the NGI - an approach to size a nebulised aerosol more accurately. *Pharmeur Sci Notes* 2008;2008(1):27-30.
19. Berlinski A, Hayden JB: Optimization of a procedure used to measure aerosol characteristics of nebulized solutions using a cooled next generation impactor. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 2010;23(6):397-404.
20. Law S: Stability of Preservative-Free Tobramycin in Half-Normal Saline. *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy* 2011;54(3):214-215.
21. Mach H, Middaugh CR, Denslow N: Determining the identity and purity of recombinant proteins by UV absorption spectroscopy. *Curr Protoc Protein Sci* 2001;Chapter 7:Unit 7.2.:Unit.
22. Shire SJ: Stability characterization and formulation development of recombinant human deoxyribonuclease I [Pulmozyme, (dornase alpha)]. *Pharm Biotechnol* 1996;9:393-426.:393-426.
23. Physician`s information: Inhalation therapy with eFlow rapid. www.pari.de . 17-11-2011.
24. Waldrep JC, Berlinski A, Dhand R: Comparative analysis of methods to measure aerosols generated by a vibrating mesh nebulizer. *J Aerosol Med* 2007;20(3):310-319.
25. Johnson JC, Waldrep JC, Guo J, Dhand R: Aerosol delivery of recombinant human DNase I: in vitro comparison of a vibrating-mesh nebulizer with a jet nebulizer. *Respir Care* 2008;53(12):1703-1708.
26. Dentice R, Elkins M: Timing of dornase alfa inhalation for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(5):CD007923.

3.2 Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing colistimethate and tobramycin

Eingereicht bei: **RESPIRATORY CARE**

Eingereicht am: 28.03.2012

Manuskriptnummer: RC-01921

Manuscript considered for publication in **RESPIRATORY CARE**

Title

PHYSICOCHEMICAL COMPATIBILITY OF NEBULIZABLE DRUG ADMIXTURES
CONTAINING COLISTIMETHATE AND TOBRAMYCIN

Authors

Anja Klemmer¹ PharmD, Irene Krämer¹PhD, Wolfgang Kamin² MD

¹Department of Pharmacy of the Johannes Gutenberg-University Medical Center
Mainz, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, Germany

²Pediatric Department, Lutheran Hospital Hamm, Werler Str.130, 59063 Hamm,
Germany

Corresponding author:

Anja Klemmer

Department of Pharmacy, University Medical Center of Johannes Gutenberg-
University,

Langenbeckstraße 1,55131 Mainz, Germany

Telephone: +49 6131 177209, Fax: +49 6131 175525

E-Mail: anja.klemmer@unimedizin-mainz.de

This research was performed at theDepartment of PharmacyUniversity Medical
Center of Johannes Gutenberg-University, Mainz, Germany

Conflict of interest statement

Colistin CF, TOBI ® and Bramitob were kindly provided by Grünenthal, Novartis
and Asche Chiesi, but the companies had absolutely no role in the content or
conduct of the experiments. All authors negate any financial or other relationship
in conjunction with this study that may lead to a conflict of interests.

Abstract

Background

Inhalation therapy with nebulizable antibiotic drugs is a mainstay in treating *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis patients. The combination of tobramycin and colistin was found to be superior to monotherapy in killing *P. aeruginosa* in biofilms. The prolonged period of time which is needed for the inhalation of the two drugs is unfavourable. The simultaneous inhalation of tobramycin and colistin might be an option to increase the compliance of patients. The objective of this in-vitro study was to determine whether admixtures of inhalation solutions containing colistin methanesulfonate (CMS) and tobramycin are physicochemically compatible.

Methods

Physical compatibility was determined by measuring pH and osmolality. Chemical compatibility was determined by testing the antibiotic activity of the mixtures via the pharmacopoeial microbiological assay and comparing the results to those of standard solutions. Samples were analyzed immediately after mixing and after 24 h.

Results

Values of pH and osmolality remained unchanged and in physiologically acceptable ranges. Neither for colistin methanesulfonate (CMS) nor for tobramycin losses of antibiotic potency were registered at any time.

Conclusions

Admixtures of nebulizer solutions containing CMS and tobramycin were shown to be physicochemically compatible. Further investigations are needed to determine whether drug delivery is affected by mixing the nebulizer solutions to ensure that simultaneous inhalation is recommendable.

Keywords: colistin, tobramycin, admixture, compatibility, nebulization, cystic fibrosis

Introduction

Chronic airway infection is the hallmark of cystic fibrosis (CF) lung disease which may start very early in the life of CF patients (1). Pulmonary insufficiency is responsible for at least 80% of cystic fibrosis-related deaths (2). The most common airway pathogen in patients with CF is *Pseudomonas aeruginosa* (3;4). Epidemiological data from the Cystic Fibrosis Foundation USA, based on 20,000 CF patients, revealed that 30% of patients in the age of 2-5 years and 81% in the age of 26-30 years are infected with *P. aeruginosa*(4). Respiratory infection with *P. aeruginosa* was found to be a major predictor of morbidity and mortality (1). Soon after onset of infection, *P. aeruginosa* evolves into variants forming mucoid, biofilmlike macrocolonies (4;5). The mucoid variant requires 100 – 1,000 times the concentration of a certain antibiotic to be effective compared with its non-mucoid variant (4).

Inhalation therapy with nebulized antibiotics is a mainstay in the treatment of *P. aeruginosa* associated lung infections (2;3;6;7). Potential advantages of aerosol delivery of antibiotics are high drug concentrations in the lung, decreased toxicity as systematic absorption is limited, reduced costs, and less disruption to patient's life especially when compared with IV administration (4;8). Tobramycin, a member of the aminoglycoside antibiotic drug category, is highly recommended for chronic use to improve lung function and reduce exacerbations (3). The long-term use of tobramycin is common all over Europe which causes a remarkable increase in resistance (9;10).

Due to the difficulty of treating *P. aeruginosa* infections and the increasing resistance, combining two antibiotics with different modes of actions is obvious. The well-known polymyxin antibiotic colistin has particular importance (9). Nebulized colistin is used frequently in treating *P. aeruginosa* infections in CF patients although there is poor evidence for colistin monotherapy to improve lung function and reduce exacerbations (3). The resistance of *P. aeruginosa* to colistin is rare and did not significantly raise between 1997 and 2006 (4;11).

Studies of Herrmann et al. (5) showed that combination therapy with colistin and tobramycin is superior to monotherapy for killing *P. aeruginosa* biofilm cells in a rat

lung infection model. Furthermore consecutive inhalation of the two antibiotics resulted in a significant decrease in *P. aeruginosa* colony-forming units in sputum of CF patients (5). The prolonged time period needed for consecutive inhalation of the two antibiotics was mentioned as a disadvantage in the study (5). Regarding the various drug products which CF patients have to inhale, each additional time consuming inhalation procedure further decreases the patient's quality of life.

This prompted us to investigate the physicochemical compatibility of admixtures of inhalation solutions containing colistin methanesulfonate (CMS) and tobramycin, since compatibility is regarded as a prerequisite for effective simultaneous inhalation of different nebulized drugs (12).

Methods

All tests were performed with the commercially available nebulizer solutions Colistin CF 80 mg colistin methanesulfonate/ 3 ml (Grünenthal, Aachen, Germany, Lot 907M02), Bramitob® 300 mg tobramycin/4 ml (Asche Chiesi, Hamburg, Germany, Lot IG015), TOBI® 300 mg tobramycin/5 ml (Novartis, Nürnberg, Germany, Lot 06K6A12) and Gernebcin® 80 mg tobramycin/2 ml (Infectopharm, Heppenheim, Germany, Lot G030904). Colistin CF powder was reconstituted with 3 mL 0.9% NaCl solution for injection resulting in a CMS solution containing 1 Mio I.U./3 mL.

Mixtures were prepared by mixing 3.0 ml CMS solution with either 4.0 ml Bramitob®, 5.0 ml TOBI® or 2.0 ml Gernebcin®. Mixtures were prepared in 10 ml polypropylene tubes with cap (Cultube Sterile, Simport, Lot 423505041). Each admixture was prepared in triplicate. Mixtures were stored at room temperature and under ambient light conditions over a testing period of 24 h.

Physical compatibility

Samples of the admixtures of Colistin CF inhalation solution with the three different tobramycin containing inhalation solutions were analyzed in triplicate immediately after mixing and after 24 h of storage. Values of pH were measured with a digital pH-meter (pH 2010 Microprocessor, HANNAH Instruments, Kehl am Rhein, Germany) with glass electrode (InLab Micro, Mettler Toledo, Giessen, Germany). The pH-meter was calibrated by using calibration solutions pH 4.01 and pH 7.01 (HANNAH Instruments, Lot 2358). Validation of the assay was performed by measuring pH-values of 0.9% sodium chloride solution (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany, Lot 20CBF014) and calibration solution pH 4.01 (HANNAH Instruments, Lot 2358) tenfold on the same day (intra-day precision) and by single measurements on three different days (inter-day precision). Relative standard deviations (RSDs) were 0.347% and 0.597% (intra-day precision) and 0.445% and 0.147% (inter-day precision), respectively.

Osmolality was determined via the freezing-point depression method with an osmometer (Osmomat 030 Cryoscopic Osmometer, Gonotec GmbH, Berlin, Germany). The osmometer was calibrated by using a calibration standard solution

300 mosmol/kg (Gonotec, Lot 8343C41). Tenfold measurements of 0.9% sodium chloride solution (Fresenius Kabi, Lot 20CBF014) on the same day resulted in a RSD of 1.115% (intra-day precision). Single measurements of the solution on three different days (inter-day precision) resulted in a RSD of 0.403%.

Whenever samples were withdrawn, the test solutions were visually inspected with the unaided eye for colour changes, turbidity or particular matter.

Microbiological assays of CMS and tobramycin

To determine the potency of tobramycin and CMS in the admixture, microbiological assays were established according to the monography 2.7.2 “Microbiological Assay of Antibiotics” of the European Pharmacopoeia (13). The general method employed was the diffusion method. The inhibitory effect of a known concentration of an antibiotic drug on sensitive microorganisms is compared to the inhibitory effect of known concentration of a reference standard. The procedures were carried out according to the EUCAST guidelines (14).

Two different bacteria strains were required for testing admixtures of tobramycin and CMS. The strain used in the CMS assay, needed to be sensitive to CMS or rather colistin and resistant to tobramycin and the strain used for testing tobramycin vice versa.

According to the literature *Pseudoxanthomonas mexicana* ATCC 700993 was selected to determine the microbial potency of colistin (15). A suitable strain to assay the potency of tobramycin was identified by testing the Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of tobramycin and CMS against several bacteria strains via Etest® (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, France, Etest® Colistin Lot 1000103390, Etest® Tobramycin BK1085). *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 turned out as most suitable.

Sample preparation for tobramycin assays

Tobramycin standard solutions were prepared in triplicate by diluting Bramitob® with 0.9% sodium chloride solution to nominal concentrations of 21.4 µg/ml, 42.8 µg/ml and 214 µg/ml. Aliquots withdrawn from the mixtures of Colistin CF and Bramitob® were diluted with 0.9% sodium chloride solution to nominal

concentrations according to the standard solutions. Samples were prepared in duplicate.

Sample preparation for CMS assays

CMS standard solutions were prepared in triplicate by diluting Colistin CF solution with 0.9% sodium chloride solution to nominal concentrations of 11 µg/ml, 55 µg/ml and 111 µg/ml. Aliquots withdrawn from the mixtures consisting of Colistin CF with Bramitob®, TOBI® or Gernebcin® were diluted with 0.9% sodium chloride solution to nominal concentrations according to the standard solutions. Samples were prepared in duplicate.

Under aseptic conditions 40 µl aliquots of the samples prepared were transferred to blank BD sensi disks (BD Diagnostics, Heidelberg, Germany, Lot 0272065) and air dried for 10 to 15 min. The discs were placed on inoculated rectangular agar plates; the antibiotic concentrations were taken into account by placing discs with high concentrations not next to each other resulting in 16 discs per plate. The inoculum was prepared from over-night cultures (on blood agar, incubated 18 – 20 h at 37°C) of *Pseudoxanthomonas mexicana* or *Staphylococcus aureus* which were suspended in sterile 0.9% sodium chloride solution and diluted to a standardized density using McFarland standard 0.5. The inoculum suspension was streaked on commercially available Mueller-Hinton II agar plates 12x12 cm (BD Diagnostics, Heidelberg, Germany, Lot 1144322) and incubated for 20 ± 4 h at 35 ± 2 °C. The resulting zones of inhibition were measured in duplicate to the nearest 0.1 mm using vernier callipers. Each sample disc with one of the three concentrations of test samples or standard samples was prepared and assayed in duplicate (in total 12 discs per concentration).

To compare the antibiotic activity of the test solutions and the standard solutions, mean values and standard deviations of diameters of growth inhibition zones were calculated. Differences between the mean values of corresponding concentrations were evaluated using the following equation, where t means test solution, s means standard solution and SD is the standard deviation:

$$f = \frac{\text{mean}(t) - \text{mean}(s)}{\sqrt{SD(t)^2 + SD(s)^2}}$$

f represents the coefficient of the combined standard deviation which expresses the difference between the two mean values; 0 means there is no difference and e.g. 2 means the difference between the mean values is within the range of twofold the combined standard deviation. Additionally, median diameters of growth inhibition zones were calculated and illustrated as box plots.

Results

Physical compatibility

Results of pH and osmolality measurements are shown in Table 1. Mixing the hypotonic inhalation solutions TOBI®, Gernebcin® and Bramitob® with Colistin CF initially resulted in a less hypotonic (TOBI® + Colistin CF) and isotonic solutions (Gernebcin® + Colistin CF and Bramitob® + Colistin CF). In none of the mixtures containing Colistin CF and one of the three different tobramycin containing inhalation solutions significant changes in pH and osmolality were registered over the test period of 24 h. No colour changes, particulate matter or turbidity were observed.

Microbiological potency

In Figure 1 the diameters of inhibition zones determined in the CMS potency assays are illustrated as box plots. With regard to CMS no loss of antibiotic activity was observed in the inhalation mixtures compared to unmixed components. The results rather indicate a slight increase in antibiotic activity in comparison to the standard solutions. However the calculated f-values, expressing the differences between the mean values in no case reached twofold of the combined standard deviation thereby indicating that the microbial activities of the CMS test solutions are not different from the standard solutions immediately after mixing of the components (compare Fig.1). The same results were noticed after 24 h of storage. There was a trend towards increased antimicrobial activity over the storage time and the same trend when comparing test solutions to standard solutions. The differences did not exceed twofold of the combined standard deviation (compare Fig. 1).

Antimicrobial potency of tobramycin was only determined for the mixture of Bramitob® and Colistin CF. Tobramycin potencies were not different when potency in the mixture and the standard solutions were compared neither initially after mixing nor after 24 h of storage (compare Fig. 2).

PHYSIKALISCH-CHEMISCHE KOMPATIBILITÄT AUSGEWÄHLTER
MISCHINHALATIONSLSÖSUNGEN/-SUSPENSIONEN ZUR SIMULTANEN
FEUCHTINHALATION

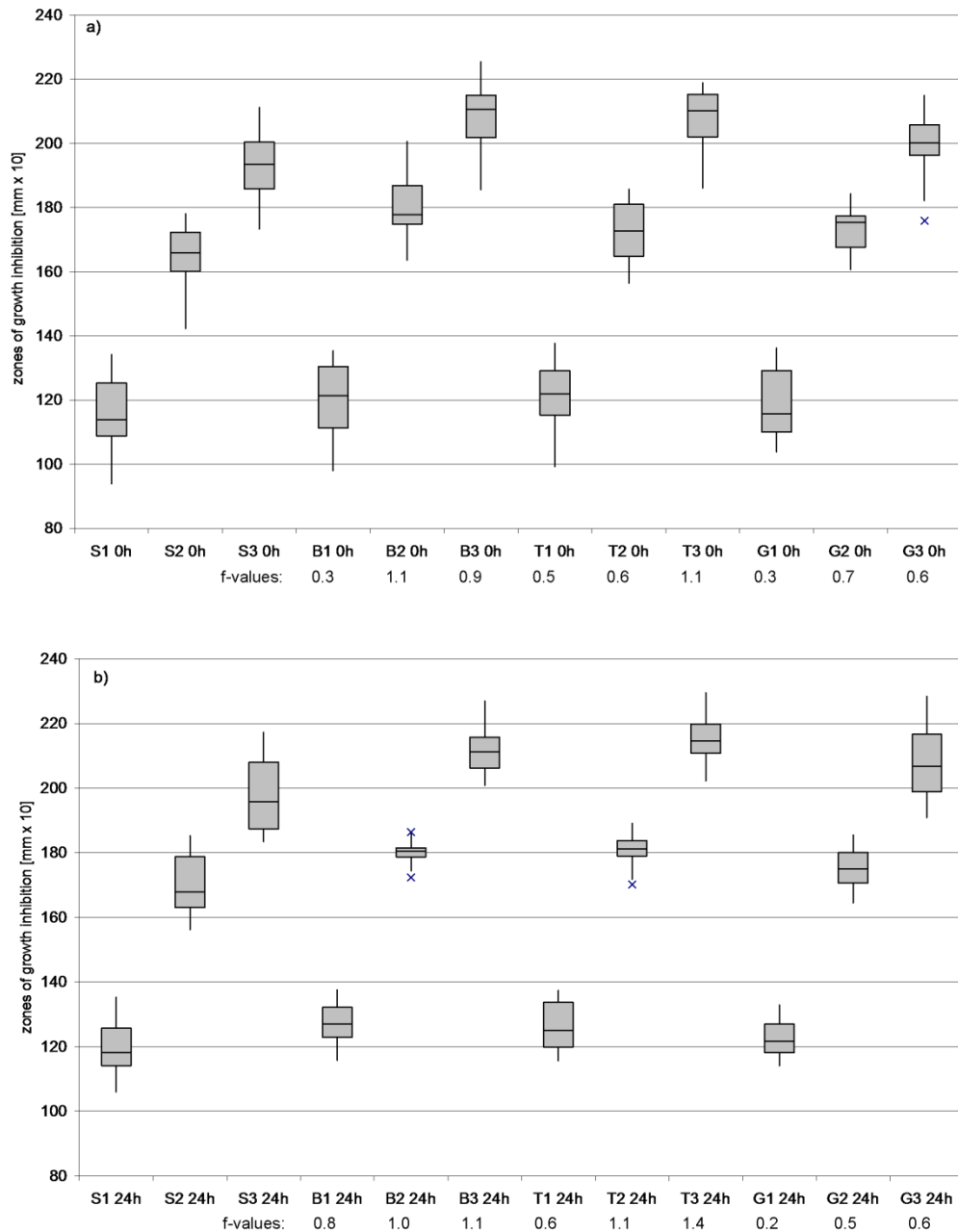


Figure 1: Antibiotic activity of CMS expressed as the diameters of growth inhibition zones (N=24), a) immediately after mixing and b) after 24 h of storage. The whiskers indicate the 1.5 x interquartile range (IQR), the crosses indicate outliers (outside of 1.5 x IQR). S = Colistin CF Standard, B = mixture of Colistin CF with Bramitob®, G = mixture of Colistin CF with Gernebcin®, T = mixture of Colistin CF with TOBI®; 1 = 11 µg CMS/µl, 2 = 55 µg CMS/µl, 3 = 111 µg CMS/µl.

PHYSIKALISCH-CHEMISCHE KOMPATIBILITÄT AUSGEWÄHLTER
MISCHINHALATIONSLSÖSUNGEN/-SUSPENSIONEN ZUR SIMULTANEN
FEUCHTINHALATION

Table 1: pH values and osmolality of mixtures of CMS and tobramycin containing inhalation

Method	PH values \pm SD		Osmolality [mOsmol/kg] \pm SD	
	Initially after mixing	After 24 h	Initially after mixing	After 24 h
Test solution				
Colistin CF + Bramitob® (n=9)	5.10 \pm 0.04	4.88 \pm 0.04	316.8 \pm 13.0	330.0 \pm 8.1
Colistin CF + TOBI® (n=9)	5.85 \pm 0.01	5.57 \pm 0.01	263.6 \pm 6.3	277.2 \pm 3.2
Colistin CF + Gernebcin® (n=9)	5.42 \pm 0.02	5.37 \pm 0.01	303.3 \pm 3.2	307.3 \pm 2.6
Bramitob® (n=3)	5.38 \pm 0.03	n.d.	244.0 \pm 1.0	n.d.
TOBI® (n=3)	6.09 \pm 0.02	n.d.	171.0 \pm 1.5	n.d.
Gernebcin® (n=3)	5.62 \pm 0.01	n.d.	97.3 \pm 0.6	n.d.
Colistin CF (n=3)	7.26 \pm 0.02	n.d.	368.7 \pm 0.6	n.d.

solutions and of unmixed drug products.

SD = Standard Deviation; n.d. = not determined

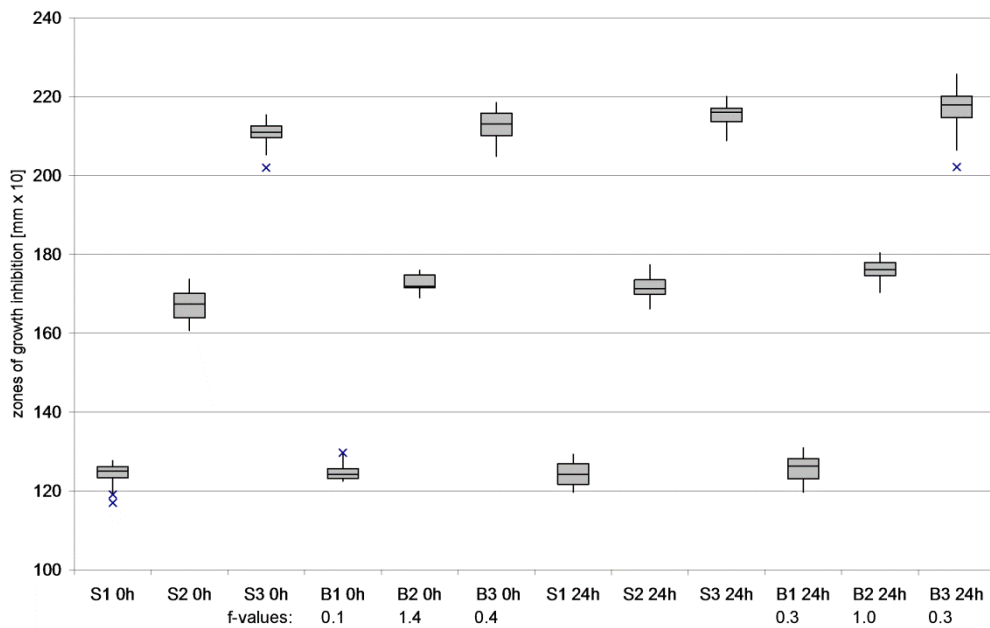


Figure 2: Antibiotic activity of tobramycin expressed as the diameters of growth inhibition zones (N=24), immediately after mixing and after 24 h of storage. The whiskers indicate the 1.5 x interquartile range (IQR), the crosses indicate outliers (outside of 1.5 x IQR). S =Bramitob® Standard, B = mixture of Bramitob® with Colistin CF; 1 = 21.4 μ g tobramycin/ μ l, 2= 42.8 μ g tobramycin/ μ l, 3 = 214 μ g tobramycin/ μ l.

Discussion

Osmolality and pH are important factors influencing the tolerability of nebulizable drugs. Values outside of the pH limits set by the pharmacopoeia (4.5 to 8.7) and an osmolality outside the range of 150 – 550 mOsmol/kg can cause airway hyperreactivity, manifesting as cough or bronchoconstriction or both (16;17). Osmolality and pH of the mixtures stayed within the ranges of the mentioned specifications.

Microbiological assays were chosen for the determination of chemical compatibility of nebulizable drug products containing tobramycin and CMS. The reason is, that CMS hydrolyzes in aqueous solution and forms an extremely complex mixture of partial sulphomethylated derivatives and the active metabolite colistin (18). By microbiological assays the antibiotic activity of CMS and its degradation products is assayed in sum. Even though specific HPLC assays have been developed to determine CMS and colistin in parallel in pharmaceutical products (19;20), partially hydrolyzed CMS derivatives are not captured by these methods and quantification is problematic. Although the variance of results is bigger in bioassays, microbiological assays were considered as the most appropriate ones to detect the overall antibiotic activity and changes due to mixing. The bioassay was reported elsewhere to be accurate and sensitive (21). The two different strains used as indicator organisms differed from those recommended in the Pharmacopoeia because the mixtures contained two antibiotic drugs and selective resistance of the strains against CMS and tobramycin was inevitable to achieve valid results. Appropriateness and sensitivity of the indicator organisms were given.

The trend towards increased antibiotic activity of mixed inhalation solutions in comparison to the standard solution could be a result of the combination of two antibiotics. The combination of colistin and tobramycin was reported to be more effective in killing *P. aeruginosa* in biofilms (5). Considering the degradation pattern of CMS, increased potency can also result from higher concentrations of hydrolyzed CMS. CMS is the inactive prodrug of colistin (22) and the formation of colistin and partially hydrolyzed CMS is a prerequisite for antibacterial activity

against *P. aeruginosa*. CMS was developed because it is less nephrotoxic and neurotoxic than colistin when administered parenterally. Most common potential side effects with inhalation are chest tightness and bronchospasm whereas CMS is associated with lower adverse effects than colistin (9). Due to the very low systemic exposure after inhalation of CMS/colistin, systemic side effects are unlikely.

Our results show that there is no initial loss of antibiotic activity due to mixing. A potential increase of activity due to the reasons mentioned above is particularly small because differences in activity, compared to the CMS standard solutions, lay within the 2-fold variance range. According to the HPLC-studies of Wallace et al. (20), hydrolysis of CMS in pharmaceutical products proceeds faster in diluted solutions and at higher temperatures. Concentrations of the mixtures investigated here varied from 10 to 16 mg/ml and less than 4% of the total CMS is expected to be converted to colistin. The results of the microbiological assays correspond to the results of the HPLC-assays reported by Wallace et al. Furthermore, hydrolysis of CMS to colistin would be expected to be accompanied by an increase in the number of osmotically active species (20). The unchanged osmolality over the entire test period supports our results of the bioassay indicating no or minimal hydrolysis of CMS to colistin.

Tobramycin is known to be very stable in aqueous solution (23). Oxidation is the major degradation pathway for tobramycin at pH values between 5.8 and 7.4 and leads to decreased antibiotic activity. The rate of degradation depends on temperature and time and relevant changes were not to be expected in our setting (23). The experimental findings were in agreement with this estimation.

Mixing the antibiotic drugs offers the possibility to benefit from combination therapy without additional expenditure of time for the patients. Several surveys showed that patients tend to mix inhalation solutions anyway to shorten the time consuming inhalation procedure (22;23).

Simultaneous nebulization of inhalation solutions can affect drug delivery, e.g. drug output and aerosolized droplet size (24;25). Due to the increased charge

volume and the constant dead volume of the nebulizer, nebulization of admixtures can be more efficient. If nebulization is continued until the nebulizer runs dry, total mass output and mass of nebulized drug is increased (24). However future studies should address the effect of mixing colistin and tobramycin nebulizer solutions on aerosol characteristics and drug output.

Conclusions

The results of the compatibility studies prove that all admixtures of Colistin CF with Bramitob®, TOBI®, or Gernebcin® are physicochemical stable over a period of 24 h.

Clinical studies regarding the treatment of *P. aeruginosa* infections by simultaneous inhalation of nebulized tobramycin and colistin are necessary to control our findings *in vivo* and to further improve antibiotic inhalation therapy in CF patients.

Regarding microbiological aspects, mixing should only take place immediately before administration and remaining drug admixture should be discarded.

Reference List

- (1) Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S, Ramsey B, Gibson RL. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002 Aug;34(2):91-100.
- (2) O'Sullivan BP, Freedman SD. Cystic fibrosis. *Lancet* 2009 May 30;373(9678):1891-904.
- (3) Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA, Goss CH, Mogayzel PJ, Jr., Willey-Courand DB, et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med* 2007 Nov 15;176(10):957-69.
- (4) Doring G, Conway SP, Heijerman HG, Hodson ME, Hoiby N, Smyth A, et al. Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. *Eur Respir J* 2000 Oct;16(4):749-67.
- (5) Herrmann G, Yang L, Wu H, Song Z, Wang H, Hoiby N, et al. Colistin-tobramycin combinations are superior to monotherapy concerning the killing of biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis* 2010 Nov 15;202(10):1585-92.
- (6) Hodson ME, Gallagher CG, Govan JR. A randomised clinical trial of nebulised tobramycin or colistin in cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2002 Sep;20(3):658-64.
- (7) Touw DJ, Brimicombe RW, Hodson ME, Heijerman HG, Bakker W. Inhalation of antibiotics in cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1995 Sep;8(9):1594-604.
- (8) Campbell PW, Saiman L. Use of aerosolized antibiotics in patients with cystic fibrosis. *Chest* 1999 Sep;116(3):775-88.
- (9) Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2006 Sep;6(9):589-601.
- (10) Prince A. Antibiotic resistance of *Pseudomonas* species. *The Journal of Pediatrics* 1986;108(2):830-4.

- (11) Theimann N. Resistenzentwicklung von *P. aeruginosa* 1997-2006. Poster presentation, Dtsch Mukoviszidose Tagung, Würzburg 2008.
- (12) Kamin W, Schwabe A, Kramer I. Inhalation solutions: which one are allowed to be mixed? Physico-chemical compatibility of drug solutions in nebulizers. *J Cyst Fibros* 2006 Dec;5(4):205-13.
- (13) Europäisches Arzneibuch. 7.0 ed. Deutscher Apotheker Verlag; 2011.
- (14) Antimicrobial susceptibility testing-EUCAST disk diffusion method. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Disk_method_description_v1_0.pdf 2009 December 18 [cited 2011 Jan 15];
- (15) Thierry S, Macarie H, Iizuka T, Geissdorfer W, Assih EA, Spanevello M, et al. *Pseudoxanthomonas mexicana* sp. nov. and *Pseudoxanthomonas japonensis* sp. nov., isolated from diverse environments, and emended descriptions of the genus *Pseudoxanthomonas* Finkmann et al. 2000 and of its type species. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004 Nov;54(Pt 6):2245-55.
- (16) Law S. Stability of Preservative-Free Tobramycin in Half-Normal Saline. *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy* 2011;54(3):214-5.
- (17) Europäisches Arzneibuch. 7.0 ed. Deutscher Apotheker Verlag; 2011.
- (18) Li J, Coulthard K, Milne R, Nation RL, Conway S, Peckham D, et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* 2003 Dec;52(6):987-92.
- (19) Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K. Stability of colistin and colistin methanesulfonate in aqueous media and plasma as determined by high-performance liquid chromatography. *Antimicrob Agents Chemother* 2003 Apr;47(4):1364-70.
- (20) Wallace SJ, Li J, Rayner CR, Coulthard K, Nation RL. Stability of colistin methanesulfonate in pharmaceutical products and solutions for administration to patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2008 Sep;52(9):3047-51.

- (21) Wootton M, Holt HA, Macgowan AP. Development of a novel assay method for colistin sulphomethate. *Clin Microbiol Infect* 2005 Mar;11(3):243-4.
- (22) Bergen PJ, Li J, Rayner CR, Nation RL. Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006 Jun;50(6):1953-8.
- (23) Brandl M, Gu L. Degradation of tobramycin in aqueous solution. *Drug Development And Industrial Pharmacy* 1992;18(13):1423-36.
- (24) Kamin W, Schwabe A, Kramer I. Physicochemical compatibility of fluticasone-17- propionate nebulizer suspension with ipratropium and albuterol nebulizer solutions. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2007;2(4):599-607.
- (25) Berlinski A, Waldrep JC. Nebulized drug admixtures: effect on aerosol characteristics and albuterol output. *J Aerosol Med* 2006;19(4):484-90.

3.3 Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing budesonide and colistimethate or hypertonic saline

Eingereicht bei: **INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL
COMPOUNDING**

Eingereicht am: 09.04.2012

Manuscript considered for publication in

INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL COMPOUNDING

Title

Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing budesonide and colistimethate or hypertonic saline

Authors

Anja Klemmer¹, PharmD, Irene Krämer¹, PhD, Wolfgang Kamin², MD

¹Department of Pharmacy of the Johannes Gutenberg-University Medical Center Mainz, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, Germany

e-mail: irene.kraemer@unimedizin-mainz.de, anja.klemmer@unimedizin-mainz.de

²Pediatric Department, Lutheran Hospital Hamm, Werler Str.130, 59063 Hamm, Germany

e-mail: WKamin@evkhamm.de

Conflict of interests:

Colistin CF was kindly provided by Grünenthal but the company had absolutely no role in the content or conduct of the experiments. All authors negate any financial or other relationship in conjunction with this study that may lead to a conflict of interests.

Abstract

Knowledge of the physicochemical compatibility of admixtures of nebulizable drugs is an important issue. In this article the results of our recent study dealing with the compatibility of drug admixtures containing budesonide and colistin methanesulfonate (CMS) or budesonide and 5.85% sodium chloride solution are presented, as well as the up-to-date version of our compatibility table. Admixtures were prepared by mixing 2.0 ml Pulmicort® either with 3.0 ml Colistin CF or 4.0 ml 5.85% sodium chloride solution. Test solutions were stored for 24 h at room temperature under ambient light conditions. Physical compatibility was determined by measuring pH and osmolality. Concentrations of budesonide were measured by a high-performance liquid chromatography assay. The antibiotic activity of CMS was determined in comparison to standard solutions using a microbiological assay. No loss in drug concentration of budesonide and no change in antibiotic activity of CMS were detected over a test period of 24 h. Osmolality remained unchanged in both types of admixtures. In admixtures of budesonide with CMS pH increased during the first 4 hours of storage, while in admixtures of budesonide and hypertonic saline pH remained unchanged. No visible changes could be detected. Due to these results admixtures of budesonide and CMS or 5.85% sodium chloride solution are designated to be compatible but it is recommended that mixing should take place immediately before administration. Further investigations are needed to determine whether or not drug delivery is affected by mixing the drugs and to ensure simultaneous nebulization is recommendable.

Introduction

Inhalation of aerosolized medications is a mainstay of therapy in pulmonary diseases. Especially for patients with poor inhalation pattern, e.g. small children or patients suffering from Cystic Fibrosis (CF) nebulization is the preferred way of administration. Furthermore some drugs are not available for inhalation with other devices like Dry Powder Inhalers or Metered Dose Inhalers. Drugs most often used for inhalation therapy are: antibiotics i.e. tobramycin and colistin, mucolytic agents i.e. dornase alfa and hypertonic saline, bronchodilators i.e. albuterol and ipratropium, and anti-inflammatory agents i.e. budesonide and fluticasone-17-propionate. Colistin is a polymyxin antibiotic used for the treatment of infections with gram-negative bacteria especially *Pseudomonas aeruginosa* which is the most common airway pathogen in patients with CF (1). It is marketed for nebulization as colistin methanesulfonate (CMS) with the brand name Colistin CF. The glucocorticoid budesonide is used because of its topical anti-inflammatory activity and low systemic effects to treat the pulmonary exaggerated inflammatory response in CF patients. It is marketed as nebulization suspension with the brand name Pulmicort®. Hypertonic saline, defined as sodium chloride solutions greater than or equal to 3% (2) are often used in CF to improve mucociliary clearance and sputum expectoration. Most often concentrations in the range of 3% to 7% NaCl are used.

In general patients often need to inhale multiple doses of different nebulizable drugs per day. Each nebulization procedure takes about 15 min with additional time for nebulizer maintenance like cleaning and disinfection. Therefore patients tend to mix drug solutions and suspensions to shorten this time consuming procedure. Surveys showed that both patients and practitioners either perform or prescribe nebulizer admixtures and even routinely mix nebulizable drugs which are known to be incompatible (3;4). There is a need to provide patients as well as health care personnel with valid information about in-/compatibility of nebulizable drug admixtures. Based on literature research and own compatibility studies we summarized information on in-/compatibility of nebulizable drug admixtures in table format inserted in a leaflet to provide health care personnel and patients with the information (4). The objective of this study was to investigate whether admixtures of Pulmicort® inhalation suspension with either Colistin CF inhalation

solutions or 5.85% sodium chloride solution are physicochemically compatible. The results were planned to supplement information on in-/compatibility of nebulizable drug admixtures. The up-to-date version of our in-/compatibility table should be presented here.

Materials and Methods

Test solutions

All tests were performed with the commercially available nebulizer solution Colistin CF containing 80 mg CMS \pm 1 Mio I.U. (Grünenthal, Aachen, Germany, Lot 417M03), Pulmicort® 1 mg/2 ml suspension (Astra Zeneca, Wedel, Germany, Lot LC6601) and 5.85% sodium chloride solution (B.Braun, Melsungen, Germany, Lot 9121C14). Colistin CF® powder was reconstituted with 3 mL 0.9% NaCl solution for injection resulting in a CMS solution containing 1 Mio I.U. /3 mL. Admixtures were prepared in triplicate by mixing 2.0 ml Pulmicort® with either 3.0 ml Colistin CF or 4.0 ml 5.85% sodium chloride solution in 10 ml polypropylene tubes with screw caps (Cultube Sterile, Simport, Beloeil, Canada, Lot 423505041). Mixtures were stored at room temperature and under ambient light conditions. Samples were withdrawn over a test period of 24 h. Prior to each sampling procedure the admixtures were homogenized by shaking for approximately 30 sec using a vortex mixer.

Physical compatibility

To determine physical compatibility, values of pH and osmolality were measured in the test solutions directly after mixing and after 24 h of storage in triplicate. Values of pH were measured with a digital pH-meter (pH 2010 Microprocessor, HANNAH Instruments, Kehl am Rhein, Germany) with glass electrode (InLab Micro, Mettler Toledo, Giessen, Germany). The pH-meter was calibrated by using calibration solutions pH 4.01 and pH 7.01 (HANNAH Instruments, Lot 2358). Validation of the assay was performed by measuring pH-values of 0.9% sodium chloride solution (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany, Lot 20CBF014) and calibration solution pH 4.01 (HANNAH Instruments, Lot 2358) tenfold on the same day (intra-day precision) and by single measurements on three different days (inter-day

precision). Relative standard deviations (RSDs) were 0.347% and 0.597% (intra-day precision) and 0.445% and 0.147% (inter-day precision) respectively.

Osmolality was determined via the freezing-point depression method with the Osmomat 030 Cryoscopic Osmometer (Gonotec GmbH, Berlin, Germany). The osmometer was calibrated by using a calibration standard solution 300 mosmol/kg (Gonotec, Lot 8343C41). Tenfold measurements of 0.9% sodium chloride solution (Fresenius, Lot 20CBF014) on the same day resulted in a RSD of 1.115% (intra-day precision). Single measurements of the solution on three different days (inter-day precision) resulted in a RSD of 0.403%.

Whenever samples were withdrawn, the admixtures were visually inspected with the unaided eye.

Chemical stability of budesonide

Drug concentrations of budesonide were determined by using a known stability-indicating High Performance Liquid Chromatography (HPLC) assay (5). The chromatographic system used consisted of a Waters 2695 separation module (Waters, Eschborn, Germany) and a Waters 2998 photodiode array (PDA) detector (Waters). Data acquisition and integration were performed with Waters Empower Pro, Empower² software, version 6.10.01.00 (Waters). The Hypersil ODS C18 column (5µm, 150 x 4,6mm, MZ-Analysentechnik, Mainz, Germany, LOT S/120/6093) was operated with a mobile phase containing 68% buffer solution pH 3.2 (prepared according to the Ph. Eur. 7.0 (6)), 30% acetonitrile (Promochem, Wesel, Germany, Lot 0T007326) and 2% ethanol ≥ 99.5% (Roth, Karlsruhe, Germany, Lot 390162709). Buffer solution was prepared by dissolving 4 g potassium dihydrogen phosphate (Applichem, Darmstadt, Germany, Lot 7Y006213) in 1000 ml water HPLC grade (Applichem, Darmstadt, Germany, Lot 0T007326), 100 ml diluted phosphoric acid (2.5 g/L phosphoric acid 85%, Applichem, Lot 5Z005902) were added to 900 ml buffer solution and pH was adjusted to 3.2. The flow rate was set at 1.5 ml/min with an injection volume of 10 µl. The detection wavelength was set to 240 nm.

Under these conditions retention time of the budesonide R-epimer was ~17 min and of the budesonide S-epimer ~19 min. Budesonide concentration was calculated by the total peak area of both peaks.

The linearity of the method was evaluated at seven budesonide concentrations in the range of 0.01 mg/ml to 0.25 mg/ml. The calibration curve constructed from plots of peak areas versus budesonide concentration was linear and the correlation coefficient was 0.9992. Assay precision was proven by injecting a 0.1 mg/ml budesonide solution five times on the same day (intraday precision) and by analyzing in triplicate a 0.1 mg/ml budesonide solution on three different days (interday precision). Intraday precision yielded in a RSD of 0.6% and interday precision in 0.36% respectively. The suitability of the assay was proven by analyzing forced degraded samples. 0.2 mg/ml solutions of budesonide were alkalized with 1M NaOH and were heated at 70 °C for 2 h or were heated without alkalization. In the chromatogram of the alkalized and heated sample, the peaks of budesonide could not be detected anymore. The chromatogram of the heated sample showed smaller peaks of budesonide and in both chromatograms additional peaks of degradation products at retention times ~ 3.5 min, 6.5 min and 7 min were detectable.

Samples of the test solutions were withdrawn immediately after mixing, after 2 h, 12 h and 24 h. After diluting with acetonitrile to a nominal concentration of 0.1 mg/ml, samples were analyzed in triplicate.

Chemical stability of CMS

Chemical stability of CMS was investigated by the antimicrobial potency assay according to the Ph. Eur. 7.0 monograph 2.7.2 "Microbiological Assay of Antibiotics" (6). The method employed was the diffusion method. The inhibitory effect of a known concentration of CMS in the test solutions on sensitive microorganisms was compared to the inhibitory effect of known concentration of standard solutions. The procedures were carried out according to the EUCAST guidelines (7). The bacteria strain used was *Escherichia coli* ATCC 10536.

CMS standard solutions were prepared by diluting Colistin CF stock solution with 0.9% sodium chloride solution to nominal concentrations of 90.000 I.U. (S1), 30.000 I.U. (S2) and 10.000 I.U. (S3). Aliquots withdrawn from the mixtures were diluted with 0.9% sodium chloride solution to the nominal concentrations of the standard solutions (P1, P2, P3). Samples were prepared in duplicate, resulting in 6 samples per concentration. Under aseptic conditions 40 µl aliquots of the samples

or standard solutions prepared were transferred to blank BD sensi disks (BD Diagnostics, Heidelberg, Germany, Lot 0272065) and air dried for 10 to 15 min. Each sample disc prepared with one of the three concentrations of test samples or standard samples was placed on inoculated agar plates (in total 12 discs per concentration). 36 discs were arranged on the rectangular plates in a latin square design. The inoculum was prepared from over-night cultures (blood agar, incubated 18 – 20 h at 37°C) of *Escherichia coli* ATCC 10536 which was suspended in sterile 0.9% sodium chloride solution and diluted to a standardized density using McFarland standard 0.5. The inoculum suspension was streaked on commercially available Mueller-Hinton II agar square plates 12x12 cm (BD Diagnostics, Heidelberg, Germany, Lot 1144322) and incubated for 20 ± 4 h at 35 ± 2 °C. The resulting zones of inhibition were measured in duplicate to the nearest 0.1 mm using vernier callipers. To compare the antibiotic activity of the test solutions and the standard solutions, mean values and standard deviations of diameters of growth inhibition zones were calculated. The differences between the mean values of corresponding concentrations were evaluated using the following equation where t means test solution, s means standard solution and SD is the standard deviation:

$$f = \frac{\text{mean}(t) - \text{mean}(s)}{\sqrt{SD(t)^2 + SD(s)^2}}$$

The resulting value f is the coefficient of the combined standard deviation which expresses the difference between the two mean values, whereas 0 means there is no difference and 2 means the difference between the mean values is within the range of twofold the combined standard deviation. Additionally, median diameters of growth inhibition zones were calculated and illustrated as box plots.

The results of the studies were used to update the information on in-/compatibility of inhalation solutions and suspensions in table format. Hypertonic saline was amended as potential combination partner in the table. To retrieve literature on in-/compatibility of hypertonic saline mixed with other nebulizable drugs a literature research was done in “Pubmed” (www.pubmed.gov) using combinations of the terms “hypertonic saline”, “sodium chloride”, “compatibility”, “combination” and “inhalation”.

Results

Admixtures of the nebulizer solutions are defined as physicochemically compatible, when stability of each active ingredient and no change in osmolality, pH values and physical appearance are proven.

Results of osmolality and pH measurements are shown in Table 1. The pH values of the admixture of budesonide suspension with Colistin CF increased over 24 h of storage from 5.47 to 7.15 but osmolality remained unchanged. Osmolality and pH of the budesonide admixture with hypertonic saline remained unchanged over the entire test period. No visible changes in any of the admixtures could be detected over the test period.

In all admixtures concentrations of budesonide matched the nominal concentration and remained unchanged after mixing and storage at room temperature over 24 h (compare Table 1). No additional peaks of degradation products were detected in the HPLC chromatograms. (see Fig. 1 and Fig. 2).

Neither immediately after mixing nor after 24 h of storage, any loss of antibiotic activity of CMS was observed. In Figure 3 the results are given in form of box plots. The calculated *f* values substantiated that the mean diameters of growth inhibition zones of CMS standard solutions and admixtures were not significantly different (see Figure 3). Even the biggest difference of two mean values stayed within the range of one single standard deviation. Due to these results admixtures of budesonide and CMS or hypertonic saline are designated as chemically compatible.

Literature research revealed that valid information on in-/compatibility of nebulizable drug admixtures containing hypertonic saline is lacking. Fox et al (8) studied the compatibility of 11 nebulizable drugs with 7% sodium chloride solutions, but compatibility was only tested by turbidimetry and visual inspection. Another compatibility study conducted by ourselves showed that admixtures of hypertonic saline (5.85%) and CMS are physico-chemically compatible (Krämer et al., Compatibility of nebulizer solution admixtures containing Colistimethate and hypertonic saline or Colistimethate, Fluticason, Ipratropium, and Salbutamol, 2012, in preparation). Results of a previous literature research (4) and our own compatibility studies (9-11) were summarized in table format (Fig. 4). For easy

understanding a traffic light principle was used. Furthermore compatibility of the following triple and quadruple admixtures of inhalation solutions/suspensions is proven (not shown in the table):

- Ipratropium (Atrovent®) + Albuterol (Sultanol®) + Tobramycin (TOBI® or Gernebcin®) (4)
- Ipratropium + Fenoterol (Berodual®) + Budesonide (Pulmicort®) (4)
- Ipratropium (Atrovent®) + Albuterol (Sultanol®) + Fluticason-17-propionate (Flutide® forte) (Krämer et al., 2012, in preparation)
- Ipratropium (Atrovent® unit dose 2 ml) + Albuterol (Sultanol® unit dose 2.5 ml) + Cromolyn (Intal®) (12)
- Ipratropium (Atrovent® unit dose 2 ml) + Albuterol (Sultanol® unit dose 2.5 ml) + Fluticason-17-propionate (Flutide® forte) + Colistimethate (Colistin CF®) (Krämer et al., 2012, in preparation)

Moreover we tested for some of the inhalation solution admixtures the aerodynamic characteristic in comparison to the aerosol characteristics of the non-mixed nebulization products (Krämer et al., 2012, in preparation; Klemmer et al., Physicochemical compatibility and stability of nebulizable drug admixtures containing dornase alfa and tobramycin, submitted to Pulmonary Pharmacology and therapeutics, 2012).

Aerosols were generated by a PARI eFlow® rapid and aerosol characteristics, were determined using the Next Generation Pharmaceutical Impactor (Copley Scientific). Important aerosol characteristics, these are Fine Particle Fraction (<5µm), Mass Median Aerodynamic Diameter and Geometric Standard Deviation were proven to remain unchanged. Admixtures with proven unchanged aerosol characteristics are especially highlighted in the table.

Table 1: Physicochemical compatibility of admixtures of Pulmicort® inhalation suspension with Colistin CF inhalation solution or 5.85% sodium chloride solution determined via measurement of pH, osmolality and budesonide concentration.

Test solution	Admixture of Pulmicort® and Colistin CF					Admixture of Pulmicort® and 5.85% NaCl solution			
	immediately after mixing	after 2 h	after 6 h	after 12 h	after 24 h	immediately after mixing	after 2 h	after 12 h	after 24 h
PH values \pm SD (n = 9)	5.47 \pm 0.05	6.98 \pm 0.05 ^a	7.25 \pm 0.02 ^a	n.d.	7.15 \pm 0.06	4.34 \pm 0.02	n.d.	n.d.	4.36 \pm 0.01
Osmolality [mOsmol/kg] \pm SD (n = 9)	327.1 \pm 2.6	n.d.	n.d.	n.d.	334.6 \pm 2.8	1430 \pm 3.7	n.d.	n.d.	1452 \pm 5.0
Intact budesonide percentage rate of the nominal concentration [%] \pm SD (n = 9)	100.9 \pm 4.5	100.9 \pm 4.8	n.d.	101.3 \pm 4.5	101.0 \pm 4.7	94.4 \pm 1.7	95.6 \pm 0.6	98.0 \pm 0.6	96.8 \pm 0.6

Abbreviations: n.d.= not determined; a n = 3

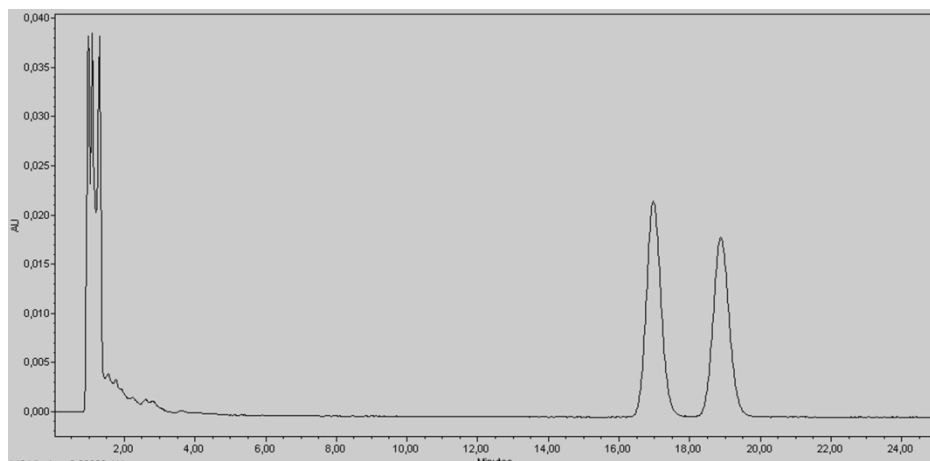


Figure 1: Example of a HPLC chromatogram of the admixture of Colistin CF and Pulmicort® after 24 h of storage. The peak at ~ 1 min is designated to CMS and excipients contained in Pulmicort® (citric acid and sodium citrate).

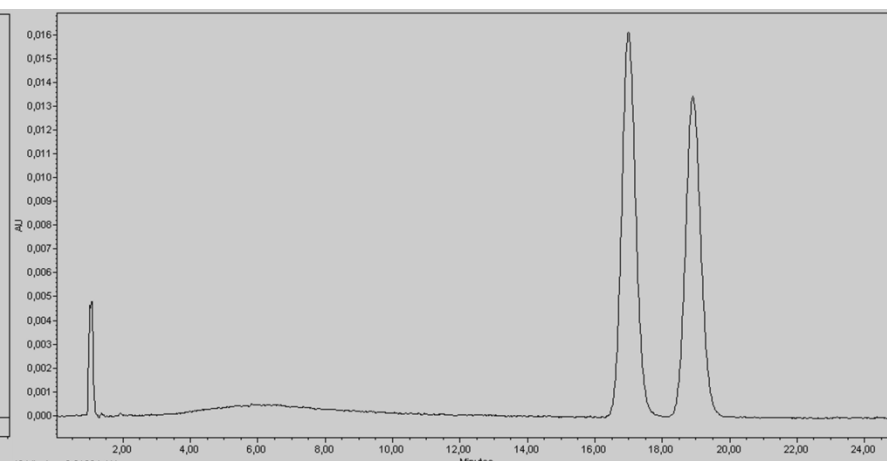


Figure 2: Example of a chromatogram of the admixture of Pulmicort® and 5.85% sodium chloride solution after 24 h of storage. The peak at ~ 1 min is designated to excipients contained in Pulmicort® (citric acid and sodium citrate).

PHYSIKALISCH-CHEMISCHE KOMPATIBILITÄT AUSGEWÄHLTER
MISCHINHALATIONSLSÖSUNGEN/-SUSPENSIONEN ZUR SIMULTANEN
FEUCHTINHALATION

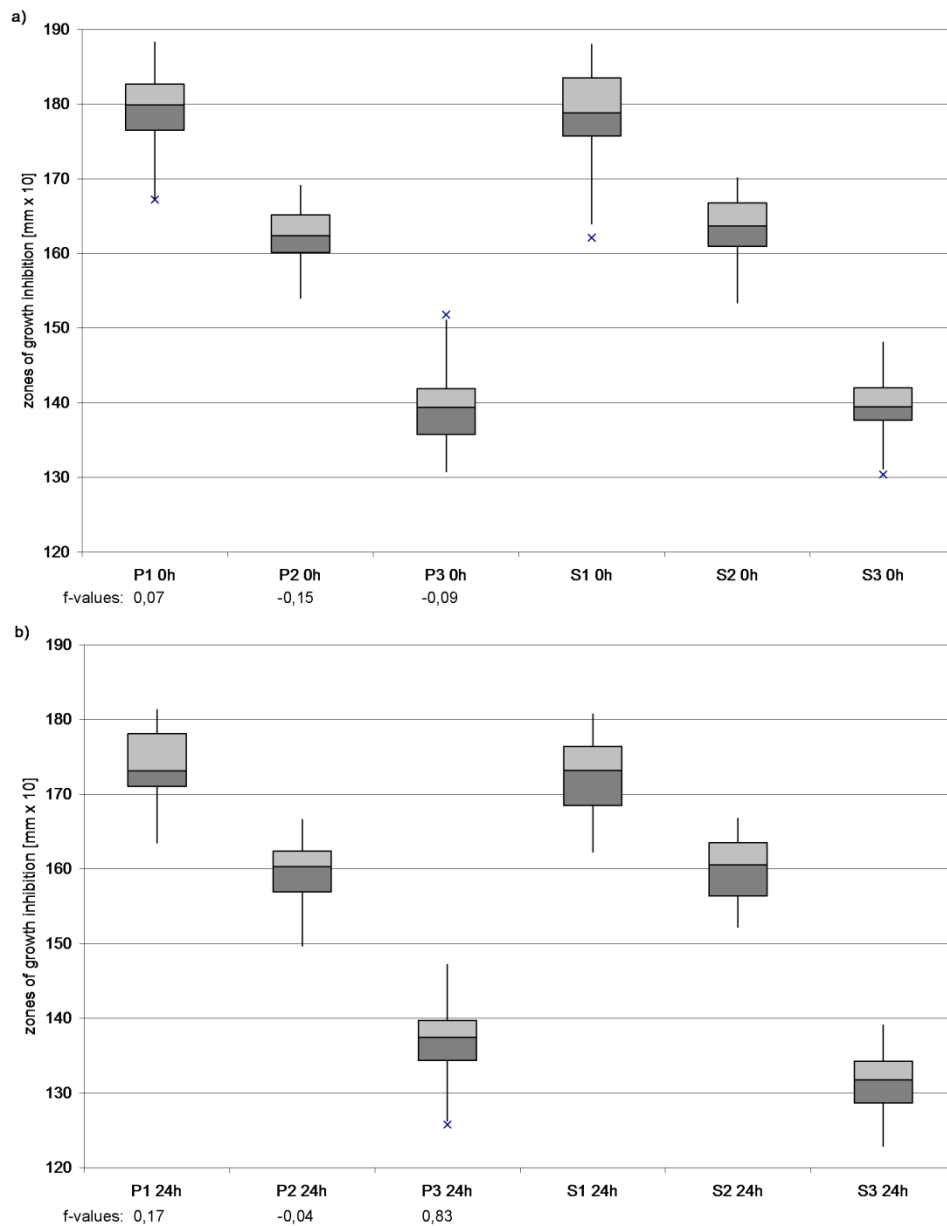


Figure 3: Antibiotic potency of CMS expressed as the diameters of growth inhibition zones a) immediately after mixing and b) after 24 hr of storage. The whiskers indicate the 1.5 x interquartile range (IQR), the crosses indicate outliers (outside of 1.5 x IQR), P = mixture of Pulmicort® and Colistin CF, S = standard solutions of CMS; 1, 2 and 3 indicate the different concentrations of CMS, S1, P1 = 90.000 IU, S2, P2 = 30.000 IU, S3, P3 = 10.000 IU.

PHYSIKALISCH-CHEMISCHE KOMPATIBILITÄT AUSGEWÄHLTER MISCHINHALATIONS-LÖSUNGEN/-SUSPENSIONEN ZUR SIMULTANEN FEUCHTINHALATION

	Dornase alfa Pulmozyme®	Tobramycin Bramitob® TOBI®,	Tobramycin Gernebcin®	Colistimethate Colistin CF®	Ipratropium Atrovent®, Atrovent®unit dose 2 ml	Albuterol Sultanol®, Sultanol®unit dose 2.5 ml	Budesonide Pulmicort®	Fluticasone-17- propionate Flutide®	Cromolyn Intal®	Hypertonic saline 5.85% NaCl solution
Dornase alfa		Mixable [#]	Do not mix	Do not mix	Do not mix	Do not mix	Mixable	Do not mix	Do not mix	Do not mix
Tobramycin Bramitob®, TOBI®	Mixable [#]			Mixable	Mixable	Mixable	Mixable	Mixable	Do not mix	Do not mix
Tobramycin Gernebcin®	Do not mix			Mixable	Mixable	Mixable	Mixable	Mixable	Do not mix	Do not mix
Colistimethate	Do not mix	Mixable	Mixable		Mixable**	Mixable**	Mixable	Mixable	Do not mix	Mixable
Ipratropium	Do not mix	Mixable	Mixable	Mixable**		Mixable [#]	Mixable	Mixable [#]	Mixable**	Do not mix
Albuterol	Do not mix	Mixable	Mixable	Mixable**	Mixable [#]		Mixable	Mixable [#]	Mixable**	Do not mix
Budesonide	Mixable	Mixable	Mixable	Mixable	Mixable	Mixable		*	Mixable	Mixable
Fluticasone-17- propionate	Do not mix	Mixable	Mixable	Mixable	Mixable [#]	Mixable [#]	*		Do not mix	Do not mix
Cromolyn	Do not mix	Do not mix	Do not mix	Do not mix	Mixable**	Mixable**	Mixable	Do not mix		Do not mix
Hypertonic saline	Do not mix	Do not mix	Do not mix	Do not mix	Do not mix	Do not mix	Mixable	Do not mix	Do not mix	

Figure 4: Compatibility of inhalation solutions/suspensions. Compatibility or incompatibility are visualized using a traffic light principle (red=incompatible, yellow=not determined, green=compatible)

*Mixtures not recommendable from a clinical point of view

**Compatibility is only proven for preservative free dosage forms

unchanged aerosol characteristics and drug output are proven

Discussion

To ensure tolerability and prevent bronchoconstriction and cough, pH of inhalation solutions should be in the range of 3 to 8.5 (6) and osmolality should be in the range of 150 to 550 mOsm/kg (13). Osmolality of the admixture with hypertonic saline was out of the range because of the high osmolality of 5.85% (= 1 molar) sodium chloride solution (~2000 mOsmol/kg). The high concentration of ions in the inhalation solution is a prerequisite for the mechanism of action of hypertonic saline. To prevent bronchoconstriction a bronchodilator should be inhaled before the administration of hypertonic saline (14). Common dosages of Colistin CF and Pulmicort® were chosen for mixing. Dosages of nebulized hypertonic saline for inhalation differ widely. A very common dosage is 4 ml of a 6% solution which is marketed by PARI with the brand name MucoClear®. Thus, 4 ml of a 5.85% solution were considered as appropriate volume for our study.

No physical signs for change, such as colour changes or non-resuspendibility, were detectable by visual inspection during the observation period. Although precipitations are hardly detected in an admixture containing suspension it is unlikely with regard to the results of the quantitative assays.

The pH values of all investigated admixtures fulfilled the pharmacopoeial specifications.

PH of the Pulmicort® admixture with Colistin CF increased from 5.47 to 7.15 over a period of 24 h. The measured pH values of the unmixed Pulmicort® suspension was 4.6 and of the unmixed Colistin CF solution was 7.2. The pH value of 5.5 immediately after mixing was as expected but increased rapidly over a 4 h interval to pH 7 and remained unchanged over the remaining test period of 20 h. The commercially available budesonide drug product for inhalation contains excipients to increase stability of the suspension. These are citrate buffer pH 4.5 (consisting of citric acid monohydrate and tri-sodium citrate dehydrate), polysorbate 80 and disodium edetate. Additional tests revealed (data not shown) that the increase of pH was not due to polysorbate 80 or citrate buffer. But mixing disodium edetate solution (pH 4.0 to 5.5) with CMS inhalation solution resulted in an increase of pH. The raise of pH is to be explained by the formation of trisodium and tetrasodium edetate. Aqueous solutions of the latter ones have pH-values > 9. However it is unlikely that the increase of pH of the admixtures affects the stability of CMS.

is known to be stable for 30 days in citrate buffered solution with pH-values between 4 and 7 (15).

CMS undergoes hydrolysis in aqueous solution to form a complex mixture of partially sulfomethylated derivatives, as well as colistin (16). Li et al. (17) reported that hydrolysis of aqueous CMS solutions and the formation of colistin (up to 80%) is not associated with changes of pH. However hydrolysis is accompanied by a corresponding increase in the number of osmotically active species and thereby a measurable increase in values of osmolality (18), which we did not observe in our test admixtures.

The microbiological assay was chosen for determining chemical stability of CMS because the antibiotic activity of CMS and its degradation products is assayed in sum. Even though specific HPLC methods have been developed to determine CMS and colistin separately (17;18), partially hydrolyzed CMS derivatives are not captured by these methods and quantification is problematic. Although the variance of results is bigger in bioassays, microbiological assay was considered as the most appropriate to detect the overall antibiotic activity and changes due to mixing. The bioassay for determination of colistin was reported elsewhere to be accurate and sensitive (19). Our results of the microbiological assay show that there is no initial loss of antibiotic activity due to mixing. Even after 24 h of storage the differences in activity compared to the CMS standard solutions are less than one combined standard deviation and are therefore designated as unchanged. According to the HPLC-studies of Wallace et al. (18), hydrolysis of CMS in pharmaceutical products proceeds faster in diluted solutions and at higher temperatures. Concentration of the mixtures investigated here was 16 mg/ml and less than 4% of the total CMS is expected to be converted to colistin (18). The results of the microbiological assays correspond to the results of the HPLC-assays reported by Wallace et al. (18).

The HPLC assay used for the quantification of budesonide was adapted from the literature and was additionally validated to be stability indicating. In spite of the difficulty in sampling suspensions the standard deviations were acceptable. Budesonide is a mixture of two active epimers (epimer ratio: 22R 60 – 49%, 22-S 40 – 51% (5)), which were clearly separated in all chromatograms. Budesonide is known to be most stable in slightly acidic pH environment. Major degradation of

budesonide takes place under alkaline conditions (20;21). Therefore mixing with the pH-neutral inhalation solutions Colistin CF and 5.85% sodium chloride solution was not expected to affect budesonide stability. No loss in budesonide content and no additional peaks over the test period could be observed.

The conventional definition of compatibility postulates decomposition of 10% or less of each active ingredient and unchanged pH values, osmolality and physical appearance over the entire test period. According to this definition, mixtures of Pulmicort® inhalation suspension and Colistin CF inhalation solution are physically incompatible over 24 h because of the detected increase of pH. But regarding the other results, major incompatibility reactions influencing the efficacy of the drugs are disproved. Therefore mixtures containing Pulmicort® inhalation suspension and Colistin CF inhalation solution or 5.85% sodium chloride solution are designated to be compatible. Considering alteration of pH over time in the admixture of Pulmicort® and Colistin CF and microbiological aspects in general, mixing should only take place immediately before inhalation.

Changes of the aerosol characteristics of the admixtures are not expected. Melani (22) studied the influence of mixing budesonide inhalation suspension with albuterol and ipratropiumbromide inhalation solution on the drug output and the aerodynamic parameters of the aerosol. Mass median aerodynamic diameters remained within the respirable range.

Knowledge of the in-/compatibility of nebulizable drug admixtures is important to increase the safety of inhalation therapy. In a first step in vitro compatibility must be proven. If compatibility is given, influence on aerosol characteristics should be studied. Further studies are needed to complete our table, especially with information on aerosol characteristics of admixtures defined as physicochemical compatible.

Using a traffic-light principle in our table, information on whether nebulizable drugs can be mixed or not is provided in a quick and easy way. Summarizing such information in a reference chart like Burchett et al. (23) might be interesting but not practical in clinical routine and for the patient's use at home.

Few clinical studies have assessed the appropriate order of inhaling the nebulizable drugs. More such studies are needed and efficacy of simultaneous inhalation and consecutive inhalation should be compared.

Conclusion

Results of the recent compatibility studies revealed that mixing Pulmicort® inhalation suspension and either Colistin CF inhalation solution or 5.85% sodium chloride solution is feasible but should only take place immediately before administration. Further investigations are needed to determine whether the aerodynamic characteristics are influenced by mixing. To provide patients and health care personnel with valid information on compatibility of inhalation solutions admixtures can help to make the common practice of mixing inhalation solutions more secure. Clinical studies comparing the simultaneous and consecutive inhalation of different nebulizable drugs are necessary to bring evidence to inhalation therapy in CF patients.

Reference List

- (1) Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA, et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176(10):957-69.
- (2) Wark P, McDonald VM. Nebulised hypertonic saline for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;(2):CD001506.
- (3) Berlinski A, Waldrep JC. Nebulized drug admixtures: effect on aerosol characteristics and albuterol output. *J Aerosol Med* 2006;19(4):484-90.
- (4) Kamin W, Schwabe A, Kramer I. Inhalation solutions: which one are allowed to be mixed? Physico-chemical compatibility of drug solutions in nebulizers. *J Cyst Fibros* 2006;5(4):205-13.
- (5) Hou S, Hindle M, Byron PR. A stability-indicating HPLC assay method for budesonide. *J Pharm Biomed Anal* 2001;24(3):371-80.
- (6) Europäisches Arzneibuch. 7.0 ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; 2011.
- (7) Antimicrobial susceptibility testing-EUCAST disk diffusion method Available at.
http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Disk_method_description_v1_0.pdf 18-12-2009 [Accessed 15-1-2011];
- (8) Fox LM, Foushee JA, Jackson DJ, et al. Visual compatibility of common nebulizer medications with 7% sodium chloride solution. *Am J Health Syst Pharm* 2011;68(11):1032-5.
- (9) Kamin W, Schwabe A, Kramer I. Physicochemical compatibility of fluticasone-17- propionate nebulizer suspension with ipratropium and albuterol nebulizer solutions. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2007;2(4):599-607.
- (10) Kramer I, Schwabe A, Lichtinghagen R, et al. Physicochemical compatibility of mixtures of dornase alfa and tobramycin containing nebulizer solutions. *Pediatr Pulmonol* 2009;44(2):134-41.
- (11) Kramer I, Schwabe A, Lichtinghagen R, et al. Physicochemical compatibility of nebulizable drug mixtures containing dornase alfa and ipratropium and/or albuterol. *Pharmazie* 2007;62(10):760-6.
- (12) Iacono M, Johnson GJ, Bury RW. An investigation of the compatibility of ipratropium and sodium cromoglycate nebuliser solutions. *Australian Journal of Hospital Pharmacy* 1987;17:158-61.

- (13) Law S. Stability of Preservative-Free Tobramycin in Half-Normal Saline. *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy* 2011;54(3):214-5.
- (14) Elkins MR, Robinson M, Rose BR, et al. A controlled trial of long-term inhaled hypertonic saline in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2006;19;354(3):229-40.
- (15) Hofner A. Monographie Colistimethat-Natrium; Kommentar zur Ph.Eur. 5.7. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart; 2007.
- (16) Bergen PJ, Li J, Rayner CR, et al. Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(6):1953-8.
- (17) Li J, Milne RW, Nation RL, et al. Stability of colistin and colistin methanesulfonate in aqueous media and plasma as determined by high-performance liquid chromatography. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(4):1364-70.
- (18) Wallace SJ, Li J, Rayner CR, et al. Stability of colistin methanesulfonate in pharmaceutical products and solutions for administration to patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(9):3047-51.
- (19) Wootton M, Holt HA, Macgowan AP. Development of a novel assay method for colistin sulphomethate. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(3):243-4.
- (20) Sonali R, Bajaj N, Bajaj A. Development of a validated specific HPLC method for budesonide and characterization of its alkali degradation product. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy* 2007;53(3):113-22.
- (21) Blewett AJ, Varma D, Gilles T, et al. Development and validation of a stability-indicating high-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of albuterol, budesonide, and ipratropium bromide in compounded nebulizer solutions. *J AOAC Int* 2011;94(1):110-7.
- (22) Melani AS. Effects on aerosol performance of mixing of either budesonide or beclomethasone dipropionate with albuterol and ipratropium bromide. *Respir Care* 2011;56(3):319-26.
- (23) Burchett DK, Darko W, Zahra J, et al. Mixing and compatibility guide for commonly used aerosolized medications. *Am J Health Syst Pharm* 2010;67(3):227-30.

Corresponding author:

Prof. Dr. Irene Krämer

Department of Pharmacy, University Medical Center of Johannes Gutenberg-
University,

Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, Germany

Telephone: +49 6131 177209, Fax: +49 6131 175525

E-Mail: irene.kraemer@unimedizin-mainz.de

3.3.1 Anlage zu“Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing budesonide and colistimethate or hypertonic saline”

Untersuchungen zum Einfluss von Hilfsstoffen auf den pH-Wert einer Mischung aus CMS Inhalationslösung und Budesonid Inhalationssuspension

Hintergrund

Die Untersuchungen zur physikalischen Stabilität von Mischungen aus CMS Inhalationslösung (Colistin CF) und Budesonid Inhalationssuspension (Pulmicort®) zeigten einen signifikanten Anstieg des pH-Wertes der Mischung von 5,47 unmittelbar nach dem Mischen auf 7,15 nach 24 Stunden Lagerung. Chemische Instabilität von CMS und Budesonid wurde aufgrund der übrigen Versuchsergebnisse ausgeschlossen.

Die Inhalationssuspension Pulmicort® enthält Hilfsstoffe zur Erhöhung der Stabilität der Suspension. Die Zusammensetzung ist laut Fachinformation (52) wie folgt:

- Citronensäure
- Natriumcitrat
- Natriumedetat
- Natriumchlorid
- Polysorbat 80

Natriumchlorid wurde nicht als relevanter Hilfsstoff gewertet und nicht weiter in die Untersuchung eingeschlossen.

Citronensäure und Natriumcitrat dienen als Puffersystem der stabilen Einstellung des pH-Wertes der Suspension bei etwa 4,5, da Budesonid im leicht sauren pH-Bereich am stabilsten ist. Polysorbat 80 dient als nicht-ionogenes Netzmittel zur Dispergierung der Feststoffpartikel (15). EDTA, als Dinatriumsalz, komplexiert vorhandene Spuren von Schwermetall-Ionen, welche Oxidationsreaktionen katalysieren können(15). Des Weiteren wirkt Natriumedetat als Konservierungsmittel gegen gramnegative Bakterien, Pilze und Hefen(102).

Die Hilfsstoffe sollten als Ursache für eine pH-Wert Erhöhung in der Mischung aus Pulmicort® mit Colistin CF untersucht werden.

Material

Budesonid-Inhalationssuspension:	Astra Zeneca; Pulmicort® 1,0 mg/ 2 ml, ChB.:LC6601
Colistimethat-Inhalationslösung:	Grünenthal; Colistin CF 1.000 000 I.E./ 3 ml ChB.: 417M03
Citronensäure-Monohydrat:	Caelo; ChB.: 10111528
Natriumcitrat-Dihydrat:	Fagron; ChB.: 10128-M05
Polysorbat 80:	Caelo; ChB.: 10235204
Dinatriumedetat:	Titriplex III; Merck; 8421E029 126
pH-Meter:	pH 2010 Microprocessor; HANNAHInstruments
pH-Elektrode:	InLab Micro, Mettler Toledo

Versuchsdurchführung

Die genaue mengenmäßige Zusammensetzung der Hilfsstoffe war nicht bekannt. Eine Anfrage bei Astra Zeneca ergab, dass die Firma keine Auskunft darüber gibt. Im Folgenden wird die Herstellung der Hilfsstofflösungen beschrieben:

Citratpuffer

Ein Citratpuffer mit pH-Wert 4,5, bestehend aus 3,08% (m/V) Citronensäure-Monohydrat und 5,49% (m/V) Natriumcitrat-Dihydrat in destilliertem Wasser (103), wurde hergestellt.

Polysorbat-Lösung

Es wurde eine 2%-ige Lösung von Polysorbat 80 in destilliertem Wasser hergestellt. Dabei handelt es sich um eine übliche Konzentration für Öl in Wasser-Emulsionen (104).

Natriumedetat-Lösung

Entsprechend den Angaben von Livocab™ Augentropfensuspension (105) wurde eine 0,015%-ige Lösung in destilliertem Wasser hergestellt.

Die Mischungen wurden in 10 ml Probenröhrchen aus Polypropylen hergestellt und mit einem Deckel verschlossen. Die Lagerung erfolgte bei Raumtemperatur und Tageslicht. Folgende Mischungen wurden hergestellt:

- 1,5 ml Colistin CF + 1 ml Pulmicort®
- 1,5 ml Colistin CF + 1 ml Citrat-Puffer
- 1,5 ml Colistin CF + 1 ml Polysorbat-Lösung
- 1,5 ml Colistin CF + 1 ml Natriumedetat-Lösung

Die pH-Werte wurden je 3-mal mit einem digitalen pH-Meter mit Glaselektrode unmittelbar nach dem Mischen, nach einer Stunde, nach 2, 4, 6 und 24 Stunden gemessen. Die Mischungen wurden visuell auf Veränderungen wie verstärkte Trübung, Ausfällungen und Farbveränderungen geprüft.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der pH-Wert-Messungen sind in Tabelle 4 zusammengefasst. In Abbildung 14 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt.

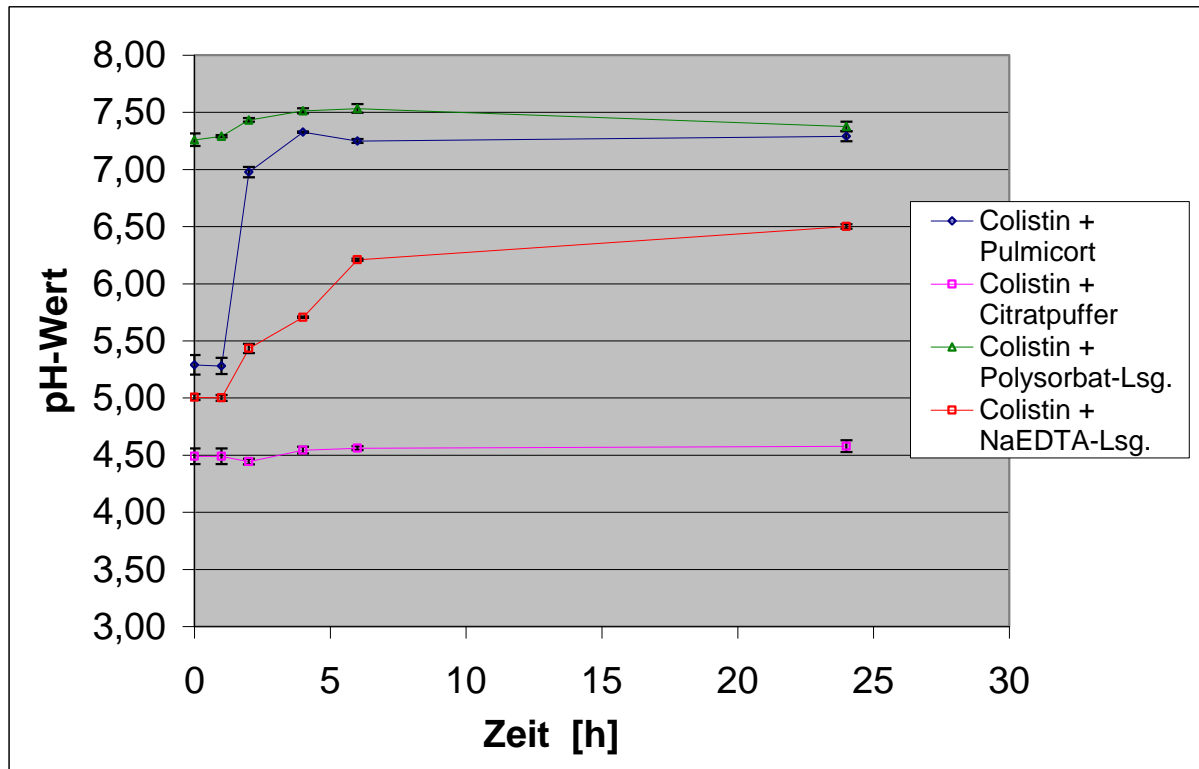


Abbildung 14: Graphische Darstellung der pH-Wert-Messungen

Tabelle 4: Ergebnisse der pH-Wert-Messungen

Zeit nach dem Mischen [h]	0	1	2	4	6	24
Untersuchungslösung						
Colistin CF + Pulmicort®	5,29 ± 0,09	5,28 ± 0,07	6,98 ± 0,05	7,33 ± 0,01	7,25 ± 0,02	7,29 ± 0,04
Colistin CF + Citrat-Puffer	4,49 ± 0,07	4,49 ± 0,07	4,44 ± 0,03	4,54 ± 0,03	4,56 ± 0,02	4,58 ± 0,05
Colistin CF + Polysorbat-Lösung	7,26 ± 0,06	7,20 ± 0,01	7,43 ± 0,02	7,51 ± 0,02	7,53 ± 0,04	7,38 ± 0,04
Colistin CF + Na ₂ EDTA-Lösung	5,01 ± 0,03	5,00 ± 0,03	5,43 ± 0,04	5,71 ± 0,01	6,21 ± 0,01	6,50 ± 0,02
Pulmicort®	4,46 ± 0,04	4,47 ± 0,02	4,45 ± 0,01	4,50 ± 0,03	n.b.	4,51 ± 0,05
Citrat-Puffer	4,46 ± 0,02	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Na ₂ EDTA-Lösung	4,51 ± 0,02	n.b.	n.b.	n.b.	4,57 ± 0,02	4,56 ± 0,02
Polysorbat-Lösung	6,33 ± 0,01	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

n.b.: nicht bestimmt; n = 3

Die Messungen zeigten, dass die Hilfsstoffe Polysorbat 80, sowie Citronensäure und Natriumcitrat keine Erhöhung des pH-Wertes von CMS-Lösung verursachen.

In der Mischung mit Natriumedetat hingegen zeigte sich eine deutliche Erhöhung des pH-Wertes der Mischung. Der pH-Wert der Mischung mit Pulmicort® stieg über einen Zeitraum von 24 Stunden um 2 pH-Einheiten an, die Mischung mit Natriumedetat um 1,5 pH-Einheiten. Die Unterschiede in den pH-Werten und im pH-Wert-Anstieg lassen sich durch die wahrscheinlich nicht ganz identische Hilfsstoffkonzentration erklären.

Eine Erklärung für den Anstieg des pH-Wertes ist die Entstehung von Tri- und Tetranatriumedetat. Einprozentige wässrige Lösungen von Trinatriumedetat und Tetranatriumedetat haben einen pH-Wert von 9,3 (106).

Ein Einfluss auf die Wirksamkeit des Antibiotikums wurde durch die Versuche zur antibiotischen Aktivität von CMS/Colistin ausgeschlossen. In der Literatur ist die Stabilität wässriger Citrat-gepufferter CMS-Lösungen im pH-Bereich von 4-7 mit 30 Tagen angegeben(107). Ebenso wurde eine chemische Veränderung von Budesonid mittels der HPLC-Untersuchungen ausgeschlossen. Das Stabilitätsmaximum von Budesonid-Suspensionen liegt im leicht sauren Bereich zwischen pH 2 – 5 (108). Erst pH-Werte im alkalischen Bereich nehmen relevant Einfluss auf die Stabilität von Budesonid (109).

4 BEWERTUNG DER ANWENDBARKEIT DES RESPIMAT® SOFT MIST™ INHALERS BEI KINDERN UNTER 5 JAHREN

4.1 Materialien

4.1.1 Chemikalien

Descogen®, Firma Antiseptica

Wirkstoff: 30g Carcoat in 100 g

Anwendung: Zur Reinigung der austauschbaren Mundstücke.

15 g Descogen® wurden in 1L Wasser gelöst. Nach mindestens 15 Minuten Einwirkzeit wurde mit destilliertem Wasser abgespült und an der Luft getrocknet.

4.1.2 Materialien

Placebo-Respimat®, Boehringer Ingelheim

Die verwendeten Placebo-Respimate® wurden speziell für diese Studie von Boehringer Ingelheim zu Verfügung gestellt und entsprechend gekennzeichnet (Abbildung 15). Die Geräte waren mit einer fortlaufenden Nummer versehen. Die verwendeten Placebo-Respimate® enthielten keine Inhalationslösung.

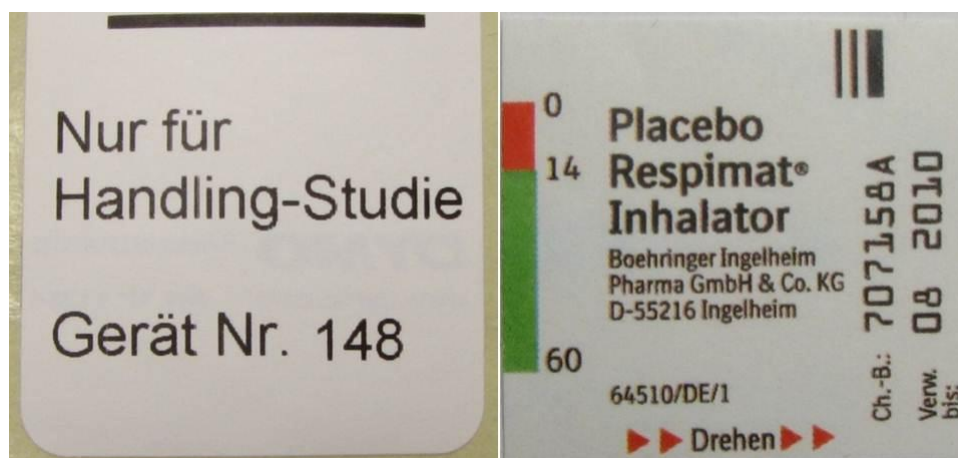


Abbildung 15: Etikettierung der Placebo-Respimate®

AeroChamber Plus® Inhalierhilfe für Säuglinge bis 1 Jahr, Cegla, Montabaur, Deutschland

AeroChamber Plus® Inhalierhilfe für Kleinkinder bis ca. 4 Jahre, Cegla, Montabaur, Deutschland.

Die beiden AeroChamber unterscheiden sich in der Größe der Gesichtsmaske.

4.1.3 Geräte

Modifizierter MasterScope-PC, VIASYS Healthcare GmbH, Hoechberg, Deutschland
In der Regel besteht der MasterScope-PC aus einem Pneumotachographen, einem Shutter, einem Netzteil und einem Computer. Die Elemente zur Modifizierung entsprechend den Anforderungen der Studie wurden ebenfalls von VIASYS geliefert, ebenso die 3L Kalibrierpumpe.

Technische Daten des Pneumotachographen:

Flussmessung	Nicht heizbarer JAEGER Pneumotachograph
Flussbereich	0- ±20 L/s
Flussgenauigkeit	±2% im Bereich von 0,2 – 12L/s
Widerstand	< 0,05 kPa/ (L/s) bei 10L/s
Volumenmessung	Digitale Integration
Volumenbereich	0- ±20 L/s
Volumenauflösung	< 1ml
Druckmessung	ROCC Option, mittels Shutter
Druckbereich	0- ±20 kPa

4.1.4 Software

RITA Respimat Inhaler Training Assessment, Boehringer Ingelheim

Mit diesem Programm wurden alle Patientendaten, die Handhabungsbewertung und die Zufriedenheitsbefragung in Form eines elektronischen CRF (Case Report Form) gespeichert.

Lab Manger mit JSCOPE Version 4.50j, VIASYS

Mittels dieser Software wurden die Atemflussprofile aufgezeichnet.

Der Datenoutput erfolgte in Form von Ascii-Dateien mit dem folgenden Format:

Boehringer Ingelheim

#2373

-0-, Name, Keiner [#3]

116

kbs

2

#1: Flow [l/s]

#2: Volume [l]

#3: Shutter pressure [Pa]

0.000

0.000

146.000

0.000

0.000

146.000

0.000

0.000

146.000

....

....

Die Datenaufnahme erfolgte alle 10 Millisekunden.

Zur direkten Kontrolle und Beobachtung des Inhalationsmanövers wurden die gemessenen Signale wie folgt dargestellt:

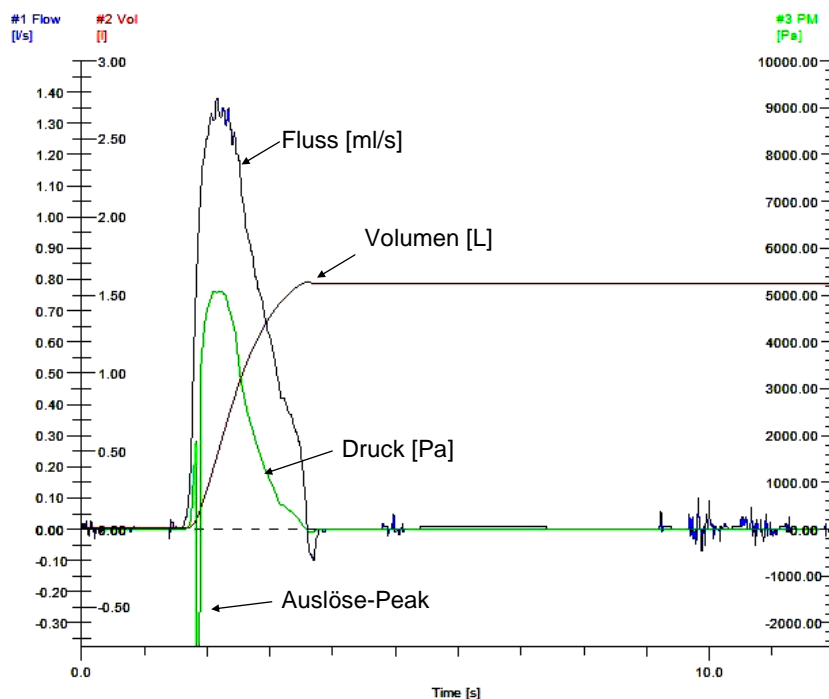


Abbildung 16: Graphische Darstellung der gemessenen Signale eines Inhalationsprofils

IPP (ipp.exe), Boehringer Ingelheim

SAS® Statistical Software, Version 8.2, Cary, USA

4.2 Methoden

4.2.1 Studienprotokoll

Die Studie wurde als offene, prospektive, nicht-invasive Handhabungsstudie durchgeführt. Es handelte sich um eine bizenrische Studie in den Studienzentren Mainz und Frankfurt. In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten beider Studienzentren in der Summe ausgewertet.

Der Durchführung der Studie wurde von der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz zugestimmt. Die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes, die Deklarationen von Helsinki und die ICH-GCP Guidelines wurden berücksichtigt. Die für das Studienergebnis relevanten Daten wurden pseudonymisiert ausgewertet und gespeichert.

4.2.1.1 Patientenkollektiv

Die Studie war geplant für Kinder zwischen 0 und 4 Jahren. Die Patientenaufnahme sollte in zwei Studienzentren erfolgen. Bei den Studienzentren handelte es sich um die Pneumologie- und Allergologie-Ambulanzen der Kinderklinik der Universitätsmedizin Mainz und der Kinderklinik des Universitätsklinikums Frankfurt am Main. Die Ein- und Ausschlusskriterien sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> • männliche und weibliche Patienten unter 5 Jahren • jede Form einer akuten oder stattgehabten Atemwegserkrankung • Einverständniserklärung der Eltern 	<ul style="list-style-type: none"> • Erkrankung an Tuberkulose • Patienten mit einer schweren nicht-pulmonalen Erkrankung bei denen der Patient durch die Teilnahme an der Studie einem gesundheitlichen Risiko ausgesetzt wird oder zu erwarten ist, dass die Krankheit die Fähigkeit des Probanden zur Teilnahme an der Studie beeinflusst • Akutes Krankheitsstadium mit Fieber über 38,5 °C • Sauerstoffsättigung unter 94% • vorherige Teilnahme an der Studie

Die Patientendaten wurden im elektronischen CRF anonym gespeichert. Jedem Patient wurde eine Nummer zugeordnet. Zur Pseudonymisierung wurden die Patientennamen mit der zugehörigen Nummer in einer separaten Liste dokumentiert. Im CRF erschien lediglich die Patientennummer.

4.2.1.2 Studienablauf

Vor Einschluss in die Studie wurden die Eltern der Studienteilnehmer über Inhalt, Bedeutung und mögliche Risiken der Studie anhand einer Informationsschrift (Anhang 1) schriftlich und mündlich informiert und unterzeichneten im Falle ihrer Zustimmung zum Studieneinschluss die Einverständniserklärung (Anhang 2).

Die Patienten wurden aufgrund ihres Alters folgenden Handhabungsstufen zugeordnet:

Stufe 1, Respimat® ohne Inhalierhilfe:

Der Respimat® kann von den Eltern zur Inhalation vorbereitet werden. Das Auslösen der Dosis unmittelbar vor Inhalation erfolgt durch das Kind.

In Stufe 1 wurden nur Kinder über 3 Jahre aufgenommen, da davon ausgegangen wurde, dass Kinder unter 3 Jahren die Koordination von Inhalation und Dosisfreisetzung nicht beherrschen.

Stufe 2, Respimat® ohne Inhalierhilfe:

Der Respimat® kann von den Eltern vorbereitet werden. Das Auslösen der Dosis erfolgt durch die Eltern unmittelbar bevor das Kind mit der Inhalation beginnt. In Stufe 2 wurden nur Kinder über 2 Jahre aufgenommen, da davon ausgegangen wurde, dass Kinder unter 2 Jahren nicht in der Lage sind erfolgreich ohne Inhalierhilfe zu inhalieren.

Stufe 3, Respimat® mit Inhalierhilfe:

Der Inhalator plus Inhalierhilfe (Spacer mit Gesichtsmaske) wird von den Eltern vorbereitet. Die Dosis wird von den Eltern ausgelöst unmittelbar bevor das Kind mit der Inhalation beginnt. Die Eltern sollen das Kind für 5 Atemzüge inhalieren lassen.

War die Inhalation in der gemäß Alter vorgesehenen Handhabungsstufe nicht machbar, wurde die nächst höhere Handhabungsstufe erprobt. Auf der erfolgreichen Handhabungsstufe wurden die Atemflussprofile aufgenommen und die Zufriedenheit erfragt (näheres dazu in Kapitel 4.2.6).

In Abbildung 17 ist der Studienablauf in einem Flussdiagramm dargestellt.

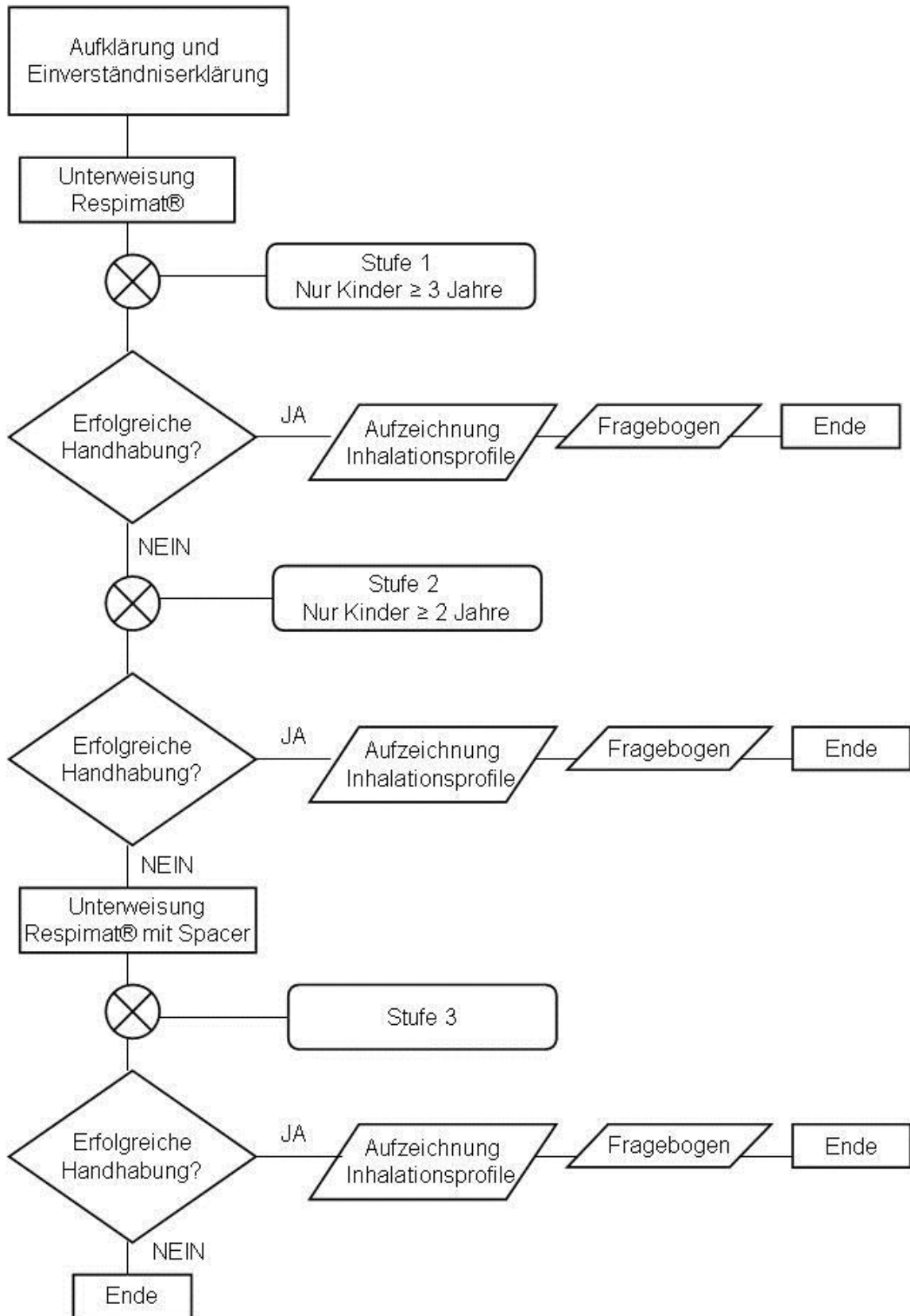


Abbildung 17: Darstellung des Studienablaufs im Flussdiagramm

4.2.2 Patientenunterweisung

Die Schulung von Eltern und Kindern erfolgte standardisiert. Hierzu wurde ein Schulungsvideo der Firma Boehringer Ingelheim gezeigt. Dabei wurden immer nur die für die entsprechende Stufe relevanten Teile gezeigt. Anschließend wurden Eltern und Kind mit Hilfe eines Placebo-Respimats® und gegebenenfalls einer Inhalierhilfe die korrekte Handhabung insgesamt dreimal erklärt und demonstriert. Dabei konnte eine Handhabungsanweisung, erstellt von der Firma Boehringer, zu Hilfe genommen werden (Anhang 3 und 4). Als Inhalierhilfe wurde das AeroChamber Plus® verwendet und je nach Größe bzw. Alter des Kindes wurde zwischen 2 verschiedenen AeroChambers mit unterschiedlich großen Gesichtsmasken das geeignete ausgewählt.

4.2.3 Bewertung der Handhabung

Den Eltern wurde ein Placebo-Respimat® ausgehändigt. Sie wurden gebeten die Handhabung wie demonstriert zusammen mit ihrem Kind durchzuführen. Dabei konnten sie sich an der ausgeteilten Handhabungsanweisung orientieren. In jeder Stufe hatten Eltern und Kind 3 Versuche, die Handhabung korrekt durchzuführen. Begonnen wurde mit Stufe 1 bei Kindern ≥ 3 Jahren, mit Stufe 2 bei Kindern ≥ 2 Jahren (aber < 3). Bei Kindern unter 2 Jahren wurde direkt Stufe 3 gewählt.

Bei nicht erfolgreicher Handhabung, definiert als das Scheitern bei einem wichtigen Handhabungsschritt, wurde die Inhalation mit der nächst höheren Handhabungsstufe geprobt. Bei Übergang in Stufe 3 erfolgte nachträglich die Schulung zur Anwendung des Respimats® zusammen mit dem AeroChamber Plus® als Inhalierhilfe wie oben beschrieben.

Die Handhabung wurde genau beobachtet und jeder Handhabungsschritt beurteilt. Ausgewählte Handhabungsschritte wurden mit korrekt (ja) oder nicht korrekt durchgeführt (nein) bewertet. Diese waren in den einzelnen Handhabungsschritten die folgenden:

Stufe 1:

1. Den Respimat® Inhalator mit geschlossener Schutzkappe senkrecht halten. Das durchsichtige Gehäuseunterteil in Pfeilrichtung drehen bis es einrastet (eine halbe Umdrehung). Die Schutzkappe bis zum Anschlag öffnen (Eltern oder Kind).
2. Ausatmen (Kind).
3. Ende des Mundstücks mit den Lippen umschließen, ohne dass die Luftschlitze verdeckt sind (Kind).
4. Den Auslöser bei Beginn eines Atemzug drücken (Kind).
5. Einatmen (Kind).
6. Luft anhalten.

Als essentiell richtig durchzuführende Handhabungsschritte zählten die Schritte 3, 4 und 5. Bei nicht korrekter Durchführung oder fehlender Durchführung einer der Schritte galt der Versuch als nicht erfolgreich.

Stufe 2:

1. Den Respimat® Inhalator mit geschlossener Schutzkappe senkrecht halten. Das durchsichtige Gehäuseunterteil in Pfeilrichtung drehen bis es einrastet (eine halbe Umdrehung). Die Schutzkappe bis zum Anschlag öffnen (Eltern oder Kind).
2. Ausatmen (Kind).
3. Ende des Mundstücks mit den Lippen umschließen, ohne dass die Luftschlitze verdeckt sind (Kind, Eltern geben den Respimat® dem Kind in den Mund).
4. Den Auslöser bei Beginn eines Atemzuges drücken (Eltern).
5. Einatmen (Kind).
6. Luft anhalten.

Als essentiell richtig durchzuführende Handhabungsschritte zählten die Schritte 3, 4 und 5. Bei nicht korrekter Durchführung oder fehlender Durchführung einer der Schritte galt der Versuch als nicht erfolgreich.

Stufe 3:

1. Den Respimat® Inhalator mit geschlossener Schutzkappe senkrecht halten. Das durchsichtige Gehäuseunterteil in Pfeilrichtung drehen bis es einrastet (eine halbe Umdrehung). Die Schutzkappe bis zum Anschlag öffnen (Eltern)
2. Den Spacer nehmen, auf Fremdkörper achten.
3. Das Mundstück des Respimat® Inhalator in den rückseitigen Teil des Spacers schieben (Eltern).
4. Die Maske auf das Gesicht des Kindes drücken (Eltern).
5. Den Auslöser drücken, wenn das Kind mit langsamer gleichmäßiger Atmung beginnt (Eltern).
6. Nach dem Auslösen die Maske für mindestens 5 Atemzüge auf dem Gesicht des Kindes belassen.

Als essentiell richtig durchzuführende Handhabungsschritte zählten die Schritte 4,5 und 6. Bei nicht korrekter Durchführung oder fehlender Durchführung einer der Schritte galt der Versuch als nicht erfolgreich.

Die Dokumentation erfolgte elektronisch mittels RITA Software.

Stammdatenerfassung Test der Inhaler-Technik Patientenbefragung

Patientennummer: 122 verweigert Step: 1 2 3

Bitte beurteilen Sie die korrekte Durchführung jedes Anwendungsschritts mit Ja oder Nein. Die Eltern oder das Kind sollten 3 Versuche haben, um die richtige Anwendung zu demonstrieren. Arzt oder Eltern können motivieren, die Schritte richtig durchzuführen.

Anwendungsschritt	Versuch 1 ja	Versuch 1 nein	Versuch 2 ja	Versuch 2 nein
Den RESPIMAT Inhalator mit geschlossener Schutzkappe senkrecht halten. Das durchsichtige Gehäuseunterteil in Pfeilrichtung drehen bis es einrastet (eine halbe Umdrehung). Die Schutzkappe bis zum Anschlag öffnen (Eltern oder Kind).	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Ausetmen (Kind)	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Ende des Mundstücks mit den Lippen umschließen, ohne dass die Luftschlitz verdeckt sind (Kind; Eltern geben den Respimat Inhalator dem Kind in den Mund)	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>
Den Auslöser bei Beginn eines Atemzuges des Kindes drücken. (Eltern)	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>
Einatmen (Kind)	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>
Luft anhalten	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>

Step	Versuch	Anwendungsschritt	verweigert	bestanden	Kommentar

Abbildung 18: Screenshot aus RITA Software zur Bewertung der Handhabung

4.2.4 Aufnahme der Inhalationsprofile

Bei erfolgreicher Handhabung des Respimats® unter den Bedingungen einer der 3 definierten Handhabungsstufen wurden anschließend je nach Kooperation des Kindes zwischen 1 und 4 Inhalationsprofile pro Kind aufgenommen. Dabei wurden die Inhalationsbedingungen der als erfolgreich gewerteten Handhabungsstufe beibehalten.

Die Aufnahme des Inhalationsprofils erfolgte mittels eines modifizierten MasterScope-PC. Die Modifikationen ermöglichten, alle für die Untersuchung wichtigen Parameter gleichzeitig aufzeichnen zu können. Das System umfasste einen Pneumotachograph-Adapter, einen Shutter (Verschlussventil), den Pneumotachograph, ein Netzteil und einen Laptop (siehe Abbildung 19 bzw.21). Placebo-Respimate® wurden in ein Testgehäuse eingebaut. Zuvor musste das durchsichtige Gehäuseunterteil entfernt werden und der Placebo-Respimat® aktiviert werden (siehe Abbildung 20). Die Auslösung erfolgte durch Betätigen des Auslöseknopfes am Placebo-Respimat®, welcher durch eine Aussparung am

Testgehäuse wie gewohnt betätigt werden konnte. Der Aufbau bei Verwendung eines AeroChambers Plus® unterschied sich, da kein Placebo-Respimat® verwendet wurde, sondern das AeroChamber Plus® mit Hilfe eines Adapters direkt an den Pneumotachograph-Adapter angeschlossen wurde. Die Auslösung erfolgte hier über einen Schalter am Pneumotachograph-Adapter (siehe Abbildung 22). Für jeden Patient wurde ein neuer Placebo-Respimat® verwendet und ein gereinigtes Mundstück. Jeder Patient erhielt, sofern notwendig, ein neues AeroChamber Plus®. Zu Beginn jedes Messtages wurde das Volumen des Pneumotachographen mit Hilfe einer 3 L Eichpumpe geeicht. Die Umgebungstemperatur und die Luftfeuchtigkeit wurden kontrolliert und gegebenenfalls in der Software geändert.

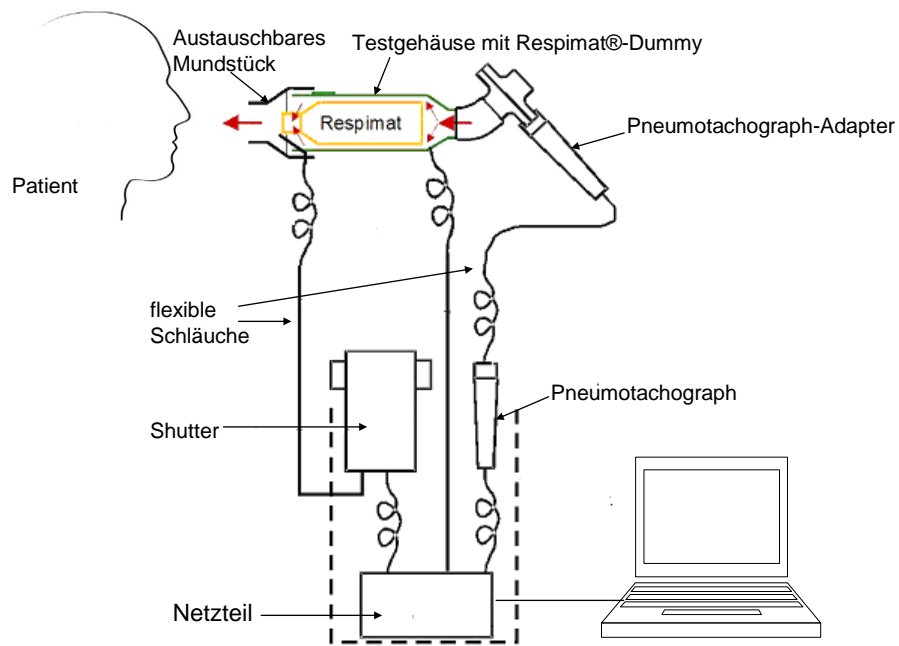


Abbildung 19: Schematischer Versuchsaufbau für Messungen mit Respimat®, die gestrichelte Linie umschließt die Elemente, welche eine statische Einheit bildeten.



Abbildung 20: Einbau des Placebo-Respimat® in das Testgehäuse.

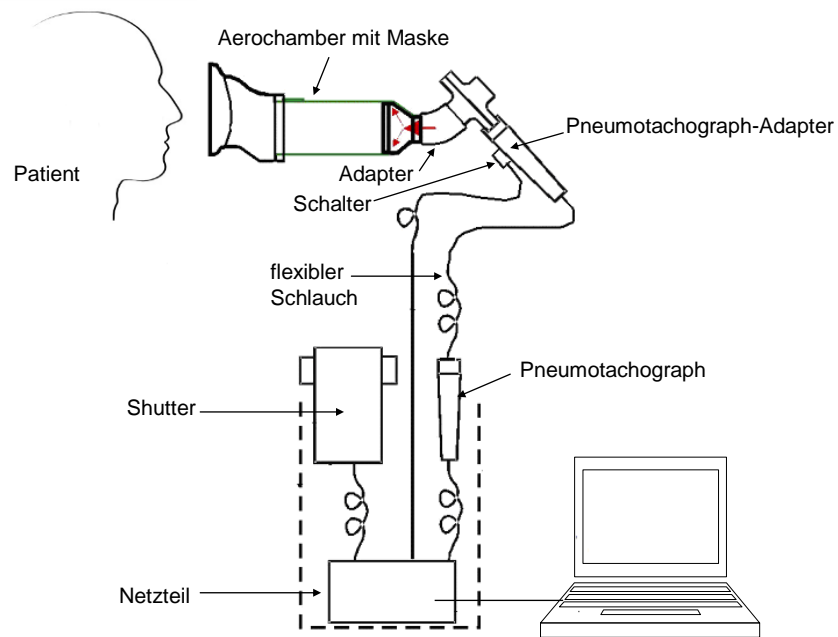


Abbildung 21: Schematischer Versuchsaufbau für Messungen mit AeroChamber Plus®, die gestrichelte Linie umschließt die Elemente, welche eine statische Einheit bildeten.



Abbildung 22: Versuchsaufbau mit AeroChamber Plus®.

4.2.5 Datenauswertung

Die Inhalationsprofile wurden mittels JLAB Software aufgezeichnet.

Die so erhaltenen Daten wurden mit einem Boehringer-internen Programm namens ipp.exe analysiert. Die verschiedenen Versuchsanordnungen (mit Respimat® oder mit AeroChamber Plus®) ergaben unterschiedliche Inhalationsprofile. Zur Beschreibung der Inhalationsprofile wurden verschiedene Parameter benötigt. In Abbildung 23 und in Abbildung 24 ist an je einem beispielhaften Inhalationsprofil dargestellt, welche zur Beschreibung des Inhalationsprofils relevanten Parameter ermittelt wurden.

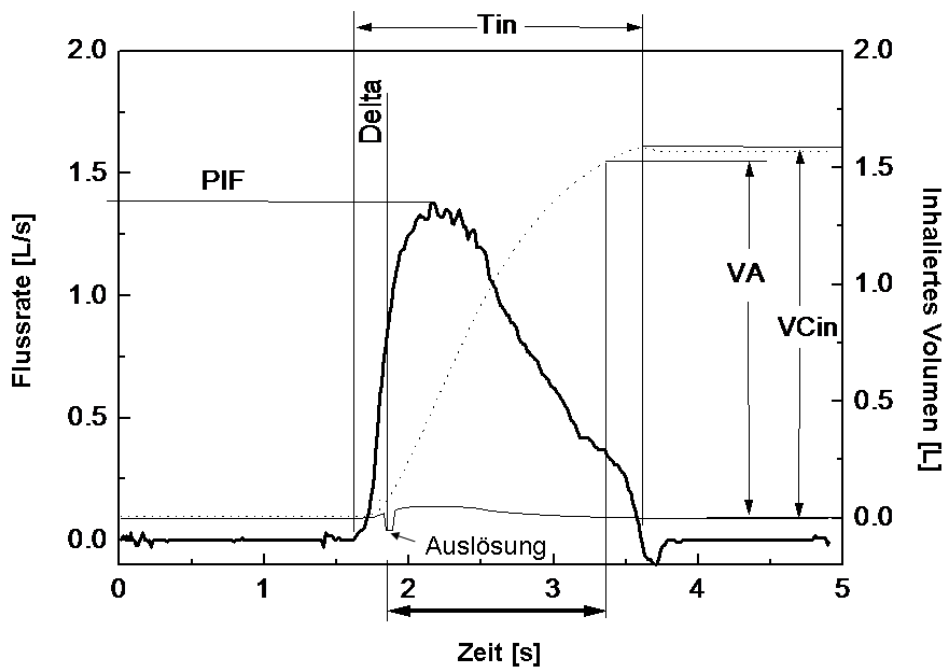


Abbildung 23: Schematische Darstellung der ermittelten Parameter anhand der Inhalationsprofile durch Inhalation mit dem Respimat® ohne Inhalierhilfe (Handhabungsstufen 1 und 2)

Delta ist die Zeit zwischen dem Auslösen und Beginn der Einatmung. In diesem Beispiel ist Delta positiv, d.h. es wurde vor dem Auslösen mit dem Einatmen begonnen. Tin ist die gesamte Dauer der Inhalation (entspricht hier der Dauer eines Atemzugs). VCin ist das gesamte inhalierte Volumen, PIF ist der Peak Inspiratory Flow, also der höchste erreichte Atemfluss. VA ist das inhalierte Volumen innerhalb von 1,5 Sekunden nach dem Auslösen.

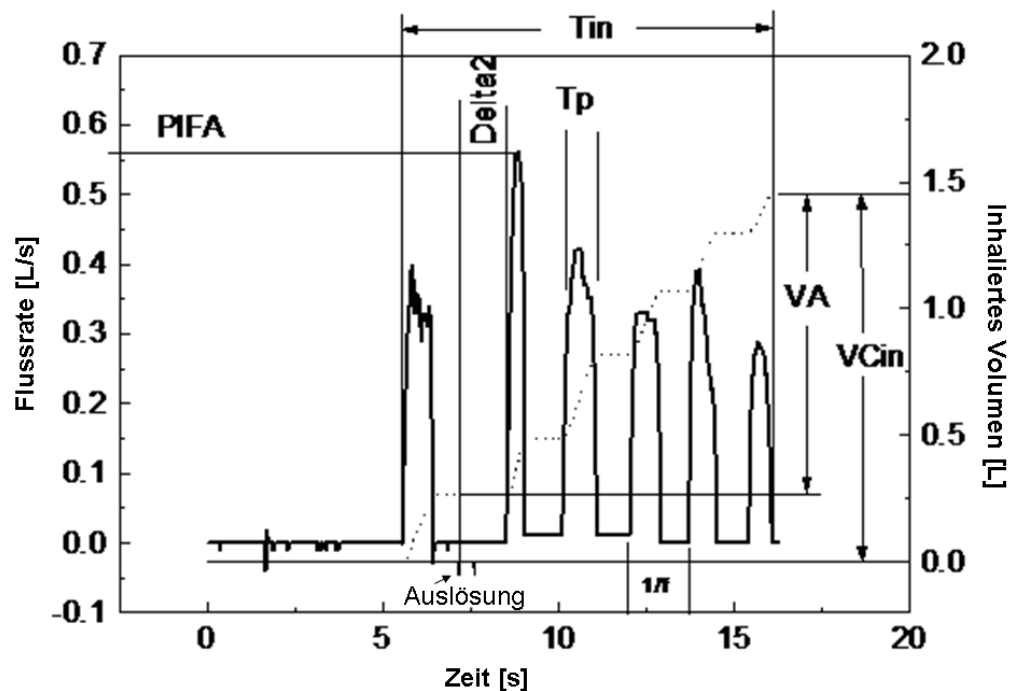


Abbildung 24: Schematische Darstellung der ermittelten Parameter der Inhalationsprofile durch Inhalation mit AeroChamber Plus® (Handhabungsstufe 3).

In Abbildung 24 sind multiple Inhalationszyklen zu sehen, wie sie erforderlich sind bei der Inhalation mit Hilfe des AeroChambers Plus®. Delta2 stellt die Zeitspanne zwischen dem Auslösen und dem Beginn der nachfolgenden Atmung dar. Negative Werte bedeuten, das Auslösen erfolgte vor Beginn der Atmung. Die Anzahl an Atemzügen innerhalb von 10 Sekunden nach dem Auslösen oder bis zum Ende der Aufzeichnung wurde ermittelt (Count). Tpulss (Tp) ist die durchschnittliche Inhalationsdauer eines Atemzugs. VCin ist das kumulative inhalede Volumen aller Atemzyklen. VA ist das inhalede Volumen innerhalb von 10 Sekunden nach dem Auslösen. f ist die Frequenz der Atemzyklen, berechnet aus: $1/f$ mittlere Zeit zwischen repetitiven Atemzyklen. PIFA ist der maximale inspiratorische Fluss innerhalb von 10 s nach dem Auslösen.

Alle erhaltenen Daten wurden in Excel-Dateien gespeichert und ausgewertet.

4.2.6 Zufriedenheit der Anwender

Nach Aufnahme der Inhalationsprofile wurden die Eltern und je nach Alter auch die Kinder bezüglich ihrer Zufriedenheit mit der Handhabung des Respimats® mit oder ohne Inhalierhilfe befragt. In Abbildung 25 sind die gestellten Fragen und die Antwortmöglichkeiten dargestellt. Bei den Fragen 5 und 6 handelte es sich um Freitextfragen. Die Befragung erfolgte in Form eines strukturierten Interviews. Die Antworten wurden im elektronischen CRF dokumentiert. Zur Auswertung wurden die Antworten auf die Fragen 1-4 in 3 Gruppen zusammengefasst, in Zufriedenheit signalisierende Antworten (eher zufrieden, zufrieden, sehr zufrieden), in neutrale Antworten (weiß nicht) und in Unzufriedenheit signalisierende Antworten (eher unzufrieden, unzufrieden, sehr unzufrieden).

Erfassung der Zufriedenheit mit dem Respimat Inhalator

Patientennummer: _____

Wie zufrieden sind Sie und Ihr Kind							
1. damit, dass der Respimat Inhalator zuverlässig funktioniert?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<i>Sehr unzu- frieden</i>	<i>unzu- frieden</i>	<i>eher unzu- frieden</i>	<i>weiss nicht</i>	<i>eher zu- frieden</i>	<i>zu- frieden</i>	<i>Sehr zu- frieden</i>
2. Mit der Gebrauchsanweisung?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<i>Sehr unzu- frieden</i>	<i>unzu- frieden</i>	<i>eher unzu- frieden</i>	<i>weiss nicht</i>	<i>eher zu- frieden</i>	<i>zu- frieden</i>	<i>Sehr zu- frieden</i>
3. Mit der Benutzung vom Respimat Inhalator (mit oder ohne Spacer)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<i>Sehr unzu- frieden</i>	<i>unzu- frieden</i>	<i>eher unzu- frieden</i>	<i>weiss nicht</i>	<i>eher zu- frieden</i>	<i>zu- frieden</i>	<i>Sehr zu- frieden</i>
4. Mit der Leichtigkeit, mit der der Respimat Inhalator (mit oder ohne Spacer) während der Benutzung gehalten werden kann?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<i>Sehr unzu- frieden</i>	<i>unzu- frieden</i>	<i>eher unzu- frieden</i>	<i>weiss nicht</i>	<i>eher zu- frieden</i>	<i>zu- frieden</i>	<i>Sehr zu- frieden</i>

Kommentare:

5a) Was gefällt Ihnen (Eltern) an dem Gerät gut? _____

5b) Was gefällt Dir (Kind ab 4 Jahre) an dem Gerät gut? _____

6a) Was gefällt Ihnen (Eltern) an dem Gerät weniger gut? _____

6b) Was gefällt Dir (Kind, ab 4 Jahre) an dem Gerät weniger gut? _____

7) Meinen Sie, Sie und Ihr Kind werden damit zurechtkommen?

Ja__ Nein__ Warum nicht? _____

8) Im Vergleich zum/n jetzigen Gerät(en) meinen Sie, Sie und Ihr Kind werden damit

- a) Besser
- b) Gleich gut
- c) Schlechter

mit diesem Gerät auskommen, als mit dem jetzigen?

Warum? _____

Abbildung 25: Fragen zur Erfassung der Zufriedenheit mit dem Respimat®

4.2.7 Statistische Auswertung

In der vorliegenden Studie sollten keine statistischen Hypothesen überprüft werden. Die durchgeführte Statistik ist rein deskriptiv.

Die demographischen Daten der Patienten, sowie die Daten zur Handhabungsbewertung und der Zufriedenheitsbewertung wurden in separaten Excel- Dateien gespeichert und statistisch mit SAS Version 8.2 ausgewertet. Die Auswertung der Daten der Inhalationsprofile erfolgte in Excel. Es wurden Mediane, Minima und Maxima und, wenn angebracht, Mittelwerte berechnet.

4.3 Ergebnisse

4.3.1 Studienprotokoll

Es wurden insgesamt in beiden Studienzentren 103 Kinder (in Frankfurt 52, in Mainz 51) im Alter zwischen 0 und 4 Jahren im Zeitraum von November 2008 bis Juni 2009 in die Studie eingeschlossen. Wie viele Eltern insgesamt zur Teilnahme an der Studie angefragt wurden, wurde nicht dokumentiert. Nach subjektiver Beurteilung war die Bereitschaft zur Teilnahme aber insgesamt sehr hoch. Die geplante Rekrutierungsphase von 6 Monaten wurde um 2 Monate überschritten.

Im Studienzentrum Mainz wurden neben Patienten aus der Pneumologie- und Allergologie-Ambulanz auch Patienten der Stationen B2 (Aufnahmestation und Tagesklinik) und B4 (Allgemeinpädiatrie) der Kinderklinik aufgenommen.

4.3.1.1 Patientenkollektiv

Die demographischen Daten der eingeschlossenen Patienten, Geschlecht, Alter, Größe und Gewicht sind in Tabelle 7 dargestellt. Bei der Betrachtung des Gesamtkollektivs fällt auf, dass mehr männliche Kinder als weibliche Kinder an der Studie teilnahmen. Die Gruppe der 2-<3-Jährigen stellt mit 20 Kindern die kleinste Gruppe dar.

Die Alters- und Geschlechtsverteilung zwischen den beiden Studienzentren ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Alters- und Geschlechtsverteilung zwischen den beiden Studienzentren

Altersgruppe [Jahre]		0-<2	2-<3	3-<4	4-<5	Männlich	Weiblich
Mainz	[n]	20	11	11	9	37	14
Frankfurt	[n]	5	9	19	19	28	24

Tabelle 7: Demographische Daten der Studienpopulation

Altersgruppe	0-<2	2-<3	3-<4	4-<5
Anzahl [n]	25	20	30	28
Geschlecht				
m	18	11	17	19
w	7	9	13	9
Alter [Jahre]				
Mittelwert	1,11	2,48	3,52	4,46
Min	0,22	2,01	3,01	4,04
Max	1,99	2,95	3,93	4,98
Größe [cm]				
Mittelwert	76,84	92,45	101,59	109,67
Min	55	82	91	97
Max	90	100	120	127
Gewicht [kg]				
Mittelwert	9,72	13,31	15,59	18,6
Min	4,5	9,5	12,7	13
Max	14	17	22,5	25

4.3.2 Bewertung der Handhabung

Von den 103 Kindern, die in die Studie eingeschlossen wurden, nahmen 99 an der Handhabungsprüfung teil. Drei Kinder der Altersgruppe 0-<2 Jahre und ein Kind der Altersgruppe 4-<5 Jahre verweigerten die Teilnahme. Dies äußerte sich in starkem Weinen und Abwehren des Inhalationsgerätes bzw. der Gesichtsmaske des AeroChambers. Insgesamt konnte nur ein Kind in keiner der 3 Stufen die Inhalation erfolgreich durchführen. Von 27 Kindern der Altersklasse 4-<5, die zunächst (aufgrund des Alters) der Handhabungsstufe 1 zugeordnet waren, konnten 44% (n=12) nicht erfolgreich mit dem Respimat® inhalieren. Dreiunddreißig Prozent (n=4) dieser Kinder konnten auch mit der Unterstützung gemäß Handhabungsstufe 2 nicht erfolgreich mit dem Respimat® inhalieren. Bei Hinzunahme der Inhalierhilfe entsprechend Handhabungsstufe 3 konnten 100% dieser Kinder eine erfolgreiche Inhalation durchführen. Von 30 Kindern der Altersklasse 3-<4 die zunächst der Handhabungsstufe 1 zugeordnet waren, konnten 70% (n=21) nicht erfolgreich mit dem Respimat® alleine inhalieren. Davon konnten 86% (n=18) auch in Handhabungsstufe 2 nicht erfolgreich inhalieren, dafür dann aber alle erfolgreich in Handhabungsstufe 3. In der Altersklasse 2-<3, die zunächst der Handhabungsstufe 2

zugeordnet war, konnte keines der 20 Kinder erfolgreich in dieser Stufe inhalieren. Alle diese Kinder inhalierten erfolgreich nach Wechsel in die Handhabungsstufe 3. In der Altersklasse 0-<2 starteten alle Kinder in Handhabungsstufe 3 (n=22), davon konnte nur ein Kind (5%) keine erfolgreiche Inhalation durchführen.

In Tabelle 8 ist die Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreicher Handhabungsmanöver pro Altersgruppe zusammengefasst.

Tabelle 9 zeigt die prozentuale Häufigkeit nicht-korrekter Handhabungsschritte in Abhängigkeit von der Altersgruppe und der Handhabungsstufe.

Tabelle 8: Anzahl erfolgreicher (+) und nicht erfolgreicher (-) Handhabungsmanöver pro Handhabungsstufe und Altersgruppe.

		Handhabungsstufe					
		1		2		3	
	Gesamtanzahl	+	-	+	-	+	-
Altersgruppe	[n]	[n]	[n]	[n]	[n]	[n]	[n]
0-<2	22					21	1
2-<3	20			0	20	20	0
3-<4	30	9	21	3	18	18	0
4-<5	27	15	12	8	4	4	0

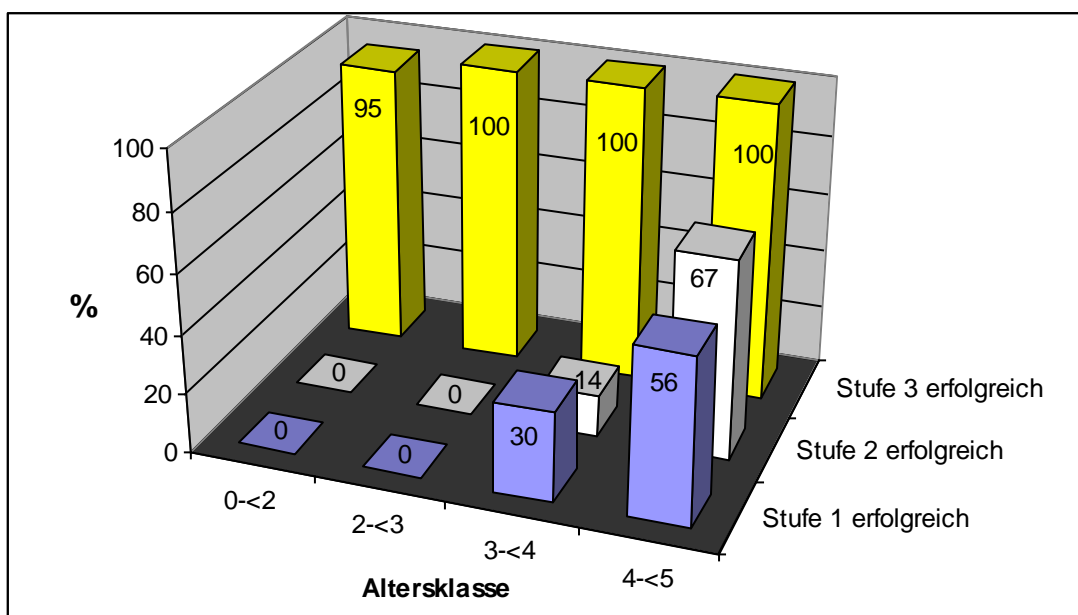


Abbildung 26: Graphische Darstellung der Bestehensquoten (%) je Handhabungsstufe in Abhängigkeit vom Alter

Tabelle 9: Prozentuale Häufigkeit nicht-korrektcr Handhabungsschritte in Abhängigkeit von der Altersgruppe und der Handhabungsstufe.

Stufe	Handhabungsschritt	0-<2	2-<3	3-<4	4-<5
1	3			62%	17%
	4			29%	75%
	5			9%	8%
2	3		55%	53%	
	4		10%	12%	
	5		35%	35%	100%
3	6	100%			

Handhabungsschritt 3 = Ende des Mundstücks mit den Lippen umschließen, ohne dass die Luftschlitze verdeckt sind, 4 = Den Auslöser bei Beginn eines Atemzug drücken, 5 = Einatmen, 6 = Nach dem Auslösen die Maske für mindestens 5 Atemzüge auf dem Gesicht des Kindes belassen.

Bei den 4-<5-Jährigen war das Drücken des Auslösers bei Beginn der Einatmung (Handhabungsschritt 4) das häufigste Problem in Handhabungsstufe 1, wohingegen in Handhabungsstufe 2 der fehlende Beginn der Einatmung nach dem Auslösen das größte Problem darstellte (Handhabungsschritt 5). In der Altersgruppe 3-<4 nahmen 62% der Kinder in Handhabungsstufe 1 den Respimat® nicht richtig in den Mund (Handhabungsschritt 3). Dasselbe Problem war das häufigste dieser Altersgruppe in Handhabungsstufe 2. Ebenso zeigte sich dieser Handhabungsschritt in der Altersgruppe der 2-<3-Jährigen als Hauptproblem.

In Handhabungsstufe 3 konnte nur in einem Fall die Handhabung nicht erfolgreich abgeschlossen werden, was auf Probleme beim letzten Handhabungsschritt, dem Einatmen für mindestens 5 Atemzüge, zurückzuführen war.

4.3.3 Inhalationsprofile

Insgesamt wurden 210 Inhalationsprofile aufgezeichnet. Folgende Kriterien mussten kumulativ erfüllt sein, damit eine Inhalation als „erfolgreich“ gewertet wurde:

Stufe 1 und 2:

- $VA > 0,15 \text{ L}$
- $\Delta t > - 0,5 \text{ s}$

Stufe 3:

- $VA > 0,15 \text{ L}$
- $\Delta t_2 > - 10 \text{ s}$

- Count > 0

Alle Inhalationsprofile sind in Anhang 5 und 6 dokumentiert.

In den Handhabungsstufen 1 und 2 erfüllten 31 Inhalationsprofile, entsprechend 41% aller aufgezeichneten Profile die Kriterien für ein erfolgreiches Inhalationsmanöver.

In diesen Handhabungsstufen konnte von 62% der Kinder ein erfolgreiches Inhalationsprofil aufgezeichnet werden. Zwanzig Prozent der Inhalationsprofile wurden als nicht erfolgreich gewertet, weil das eingeatmete Volumen zu gering ($VA < 150$ ml) war, 8% der Inhalationsprofile wurden wegen einer zu großen Zeitspanne zwischen Auslösen und Beginn der Einatmung ($\Delta t < -0,5$ s) als nicht erfolgreich gewertet. Bei 4% der Inhalationsprofile waren beide Kriterien nicht erfüllt. Die restlichen Profile konnten nicht ausgewertet werden, weil die Kinder in das Gerät exhalierten (5%), nicht ausgelöst wurde (13%) oder aufgrund technischer Fehler das Inhalationsprofil nicht richtig aufgezeichnet werden konnte (9%).

Insgesamt erfüllten 96 Inhalationsprofile (74%) in Handhabungsstufe 3 die Kriterien für eine erfolgreiche Inhalation. Von 85% der Kinder konnte ein erfolgreiches Inhalationsprofil aufgezeichnet werden. Acht Prozent der Inhalationsprofile wurden als nicht erfolgreich gewertet, weil $VA < 150$ ml war, bei 17% konnte kein Atemzug detektiert werden und bei einem Profil (0,8%) war $\Delta t_2 < -10$ s und $VA < 150$ ml.

Die Anzahl der aufgenommenen Inhalationsprofile pro Kind betrug zwischen 1 und 4. Im Durchschnitt wurden von jedem Kind 2 Profile aufgenommen. Zur Auswertung kam von jedem Kind das beste Profil. Die Tabelle 10 zeigt die Mediane, sowie Minima und Maxima der ermittelten Inhalationsparameter in Stufe 1 und 2 für die Altersklassen 3-<4 Jahre und 4-<5 Jahre. Von einem Kind der Altersklasse 2-<3 konnte ein Inhalationsprofil aufgezeichnet werden (Werte hier nicht dargestellt).

Tabelle 10: Inhalationsprofilparameter der Stufen 1 und 2 (bestes individuelles Profil).

	Altersgruppe [Jahre]							
	3-<4				4-<5			
	N	Min	Max	Median	N	Min	Max	Median
Delta [s]	5	-0,32	0,15	-0,10	15	-0,45	0,79	-0,28
PIF [L/s]	5	0,60	1,23	0,80	15	0,54	2,14	1,11
Tin [s]	5	0,94	1,68	1,30	15	0,81	2,37	1,07
VA [L]	5	0,39	0,73	0,51	15	0,26	1,02	0,55
VCin [L]	5	0,44	0,75	0,58	15	0,32	1,15	0,72

Delta ist in beiden Altersgruppen im Median minimal unter Null. Das bedeutet, der Respimat® wurde fast zeitgleich mit Beginn des Einatmens ausgelöst. Betrachtet man Delta getrennt nach Stufe 1 und 2 unabhängig vom Alter, beträgt der Median für Stufe 1 -0,283 s (Min -0,417 s; Max 0,6 s) und für Stufe 2 -0,14 s (Min -0,452 s; Max 0,79 s).

Der Median der Inhalationsdauer (Tin) war in beiden Gruppen kleiner als 1,5 s und damit kürzer als die Sprühdauer des Respimats®. Das inhalierte Volumen (VA) innerhalb von 1,5 s nach dem Auslösen war in beiden Altersklassen im Median größer als 0,5 L, wobei hier vor allem in der Gruppe der 4-<5-Jährigen große interindividuelle Schwankungen auffielen. Der PIF lag im Median unter 1L/s bei den 3-Jährigen und knapp über 1L/s bei den 4-Jährigen. Allerdings traten auch hier bei der Gruppe der 4-<5-Jährigen große interindividuelle Unterschiede auf (Faktor 4 zwischen Min und Max).

Tabelle 11 zeigt die Mediane, sowie Minima und Maxima der ermittelten Inhalationsparameter in Stufe 3 in allen Altersklassen

Tabelle 11: Inhalationsprofilparameter der Stufe 3 (bestes individuelles Profil).

Altersgruppe [Jahre]		Delta2 [s]	Count	VA [L]	PIFA [L/s]
0-<2 N=14	Min	-7,618	2	0,188	0,15
	Max	-0,124	7	0,776	1,03
	Median	-2,792	5	0,327	0,355
2-<3 N=19	Min	-6,446	1	0,182	0,2
	Max	-0,146	10	1,774	0,2
	Median	-0,796	5	0,646	0,43
3-<4 N=20	Min	-4,130	2	0,187	0,14
	Max	-0,096	7	2,362	0,88
	Median	-1,143	5	1,145	0,485
4-<5 N=5	Min	-4,397	3	0,432	0,19
	Max	-0,371	8	2,415	0,85
	Median	-0,513	4	0,94	0,69

Aus den Werten von Delta2 lässt sich entnehmen, dass es teilweise mehrere Sekunden nach dem Auslösen dauerte, bis die Kinder mit einer regelmäßigen Atmung begannen. Dies war bei den jüngeren Kindern stärker ausgeprägt als bei den älteren. Im Median lag die Anzahl der Atemzüge bei den geforderten 5 (nur 4 bei den Kindern im Alter von 4-<5). Das inhalierte Volumen innerhalb von 10 Sekunden nach dem Auslösen stieg, wie zu erwarten, mit dem Alter an. Lediglich in der

höchsten Altersgruppe nahm das Volumen im Median wieder ab. Der PIF blieb bei allen Altersklassen ≤ 1 L/s. Abbildung 27 zeigt die Abhängigkeit von Größe, PIF und VA vom Alter der Kinder.

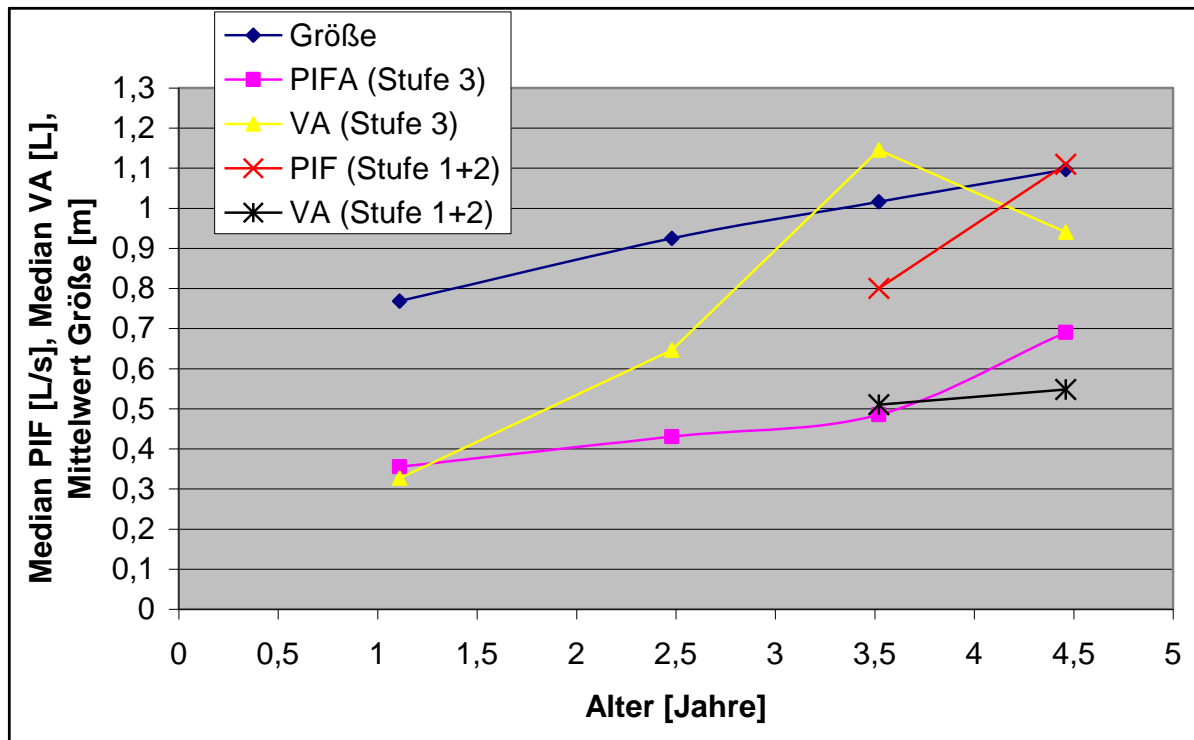


Abbildung 27: Korrelationen von PIF, VA und Größe vom Alter (Mittelwert).

4.3.4 Zufriedenheit der Anwender

Die Fragen 1 bis 4 zielten mit der Formulierung „Wie zufrieden sind Sie und ihr Kind...“ auf die Bewertung der Zufriedenheit von Eltern und Kind ab. Es stellte sich jedoch während der Befragung sehr schnell heraus, dass auch die älteren Kinder nicht in der Lage dazu waren, die Fragen zu beantworten. Die Ergebnisse der Zufriedenheitserhebung geben daher nur die Zufriedenheit der Eltern wieder.

Abbildung 28 zeigt die prozentuale Häufigkeit der Zufriedenheit signalisierenden Antworten auf die Fragen 1-4.

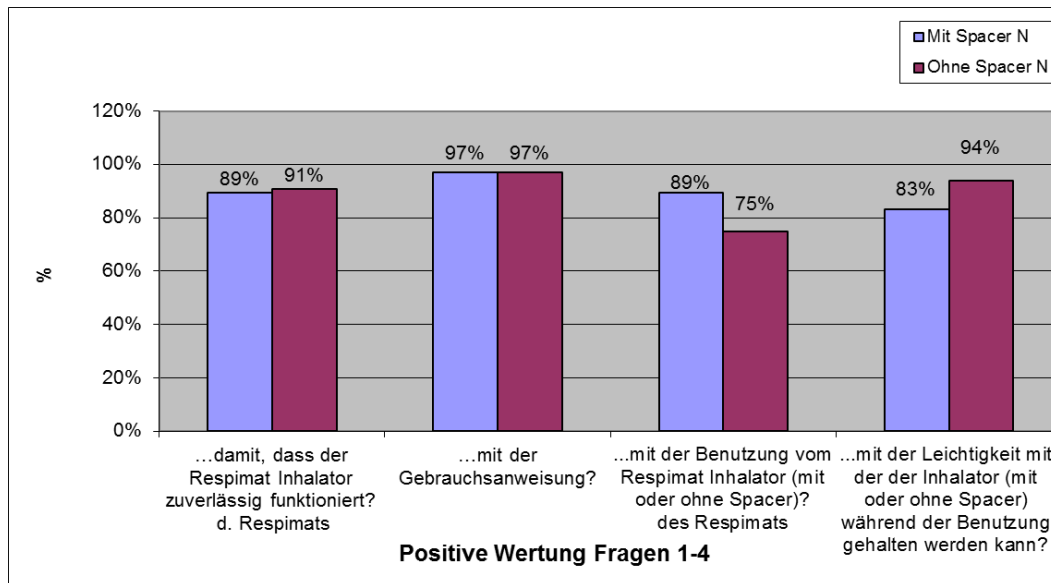


Abbildung 28: Prozentuale Häufigkeit der Zufriedenheit signalisierenden Antworten auf die Fragen 1-4. „Wie zufrieden sind Sie und ihr Kind ...“

Unzufriedenheit signalisierende Aussagen zum Respimat® beinhalteten unter anderem, dass die Koordination zwischen dem Auslösen und dem Einatmen zu schwierig war für kleine Kinder auch bei Verwendung eines Spacers und die Zeit zur Inhalation recht kurz im Vergleich mit einem Vernebler.

Die Zufriedenheit mit der Handhabung im Vergleich zu den bisher genutzten Geräten ist in den Abbildungen 29 und 30 dargestellt.

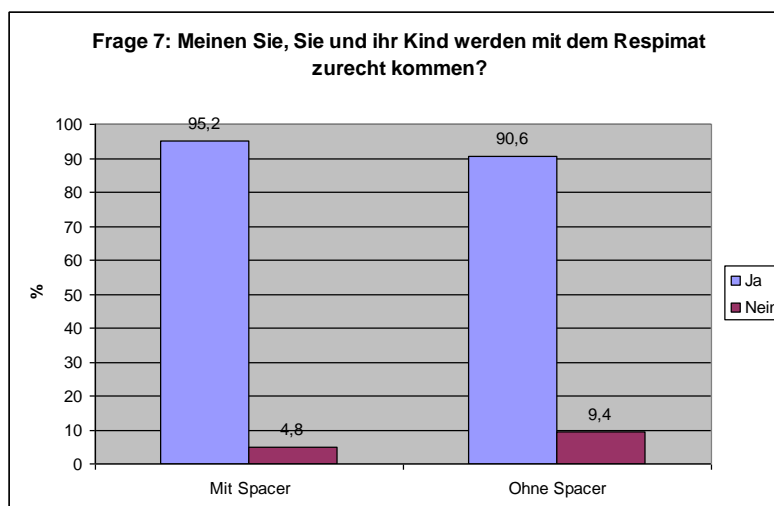


Abbildung 29: Prozentuale Häufigkeit der Antworten auf die Frage 7.

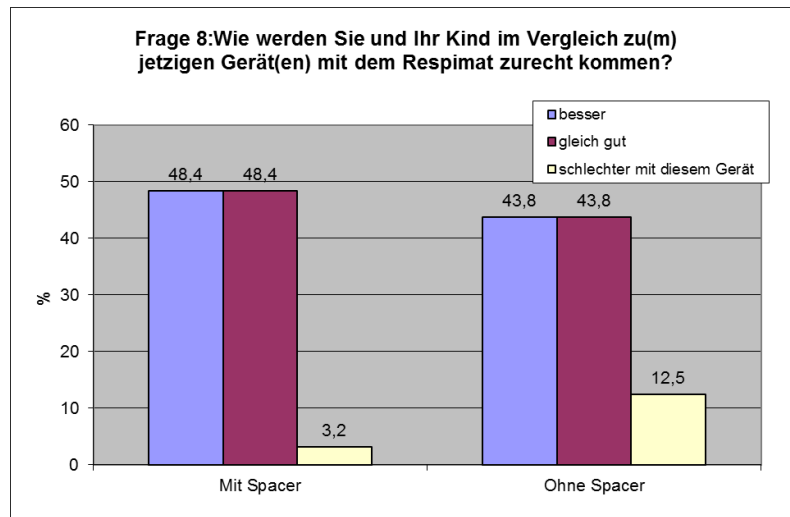


Abbildung 30: Prozentuale Häufigkeit der Antworten auf die Frage 8.

Bei der Inhalation mit Spacer (Stufe 3) gaben 2 Teilnehmer an, dass sie und ihr Kind mit dem alten Gerät besser zurechtkommen. Beide Teilnehmer verwendeten üblicherweise einen Feuchtvernebler. In Stufe 1 und 2 gaben 4 Teilnehmer an, mit dem bisher benutzten Inhalationssystem besser klar zukommen. Dabei verwendete ein Kind einen Vernebler, 2 Kinder einen pMDI mit Spacer und Gesichtsmaske und ein Kind einen pMDI ohne Spacer. Alle Kinder gehörten der Altersstufe 4-<5 an.

Bei den Fragen 5 und 6 handelte es sich um die Freitextfragen „Was gefällt Ihnen am Gerät gut?“ und „Was gefällt Ihnen weniger gut?“. Die Antworten wurden sinngemäß zusammengefasst und die Häufigkeit der Nennung bestimmt. Mehrfachnennungen waren möglich (siehe Abbildungen 31 und 32).

Die Teilfragen b) der Fragen 5 und 6, bei denen die 4-jährigen Kinder befragt werden sollten, was ihnen an dem Gerät gut und was ihnen weniger gut gefällt, wurden nicht ausgewertet, da die Kinder zu klein waren um auf die Fragen zu antworten.

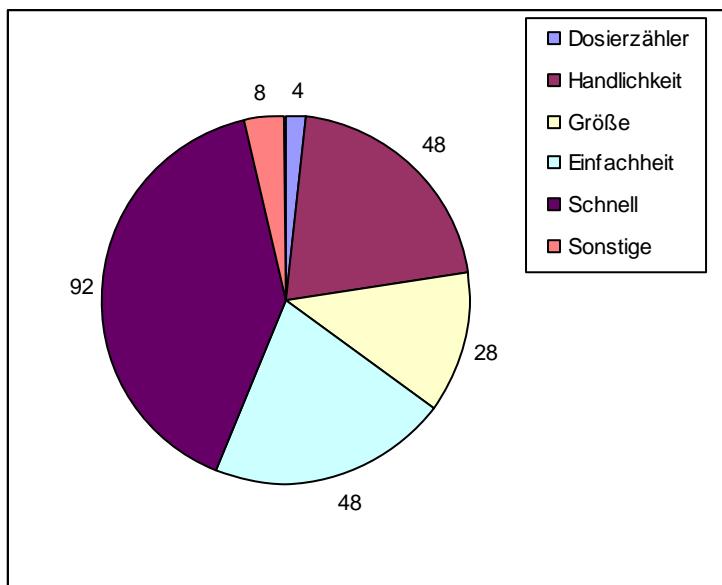


Abbildung 31: Frage 5 „Was gefällt Ihnen an dem Gerät gut“, Häufigkeit der genannten Antworten (sinngemäß zusammengefasst).

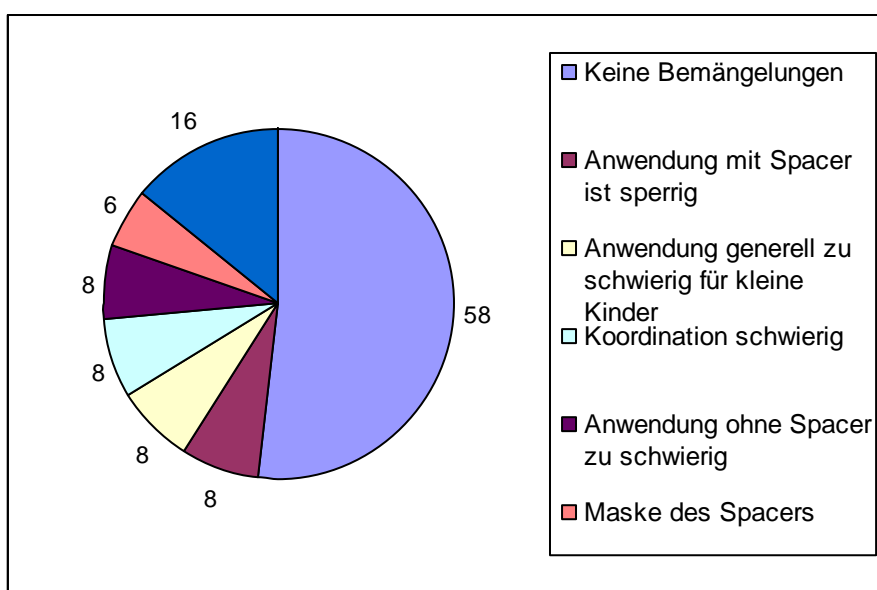


Abbildung 32: Frage 6 „Was gefällt Ihnen am Gerät weniger gut?“, Häufigkeit der genannten Antworten (sinngemäß zusammengefasst).

4.4 Diskussion

4.4.1 Studienprotokoll

Da die Studie nicht dazu dienen sollte, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit zu untersuchen, handelte es sich weder um eine klinische Prüfung nach §4 Absatz 23 AMG noch nach §19ff. MPG. Bei der Studie handelte es sich um eine offene, prospektive, nicht-invasive Handhabungsstudie. Da im Rahmen dieser Studie keine statistischen Hypothesen getestet wurden, wurde keine Fallzahlberechnung durchgeführt. Eine Gesamtanzahl von 80 Patienten, entsprechend 20 Patienten pro Altersgruppe, wurde als ausreichend erachtet, um verlässliche Informationen zu erhalten. Mit 103 eingeschlossenen Patienten wurde die geforderte Patientenzahl erfüllt und übertroffen.

4.4.1.1 Patientenkollektiv

Die Anzahl eingeschlossener Patienten verteilte sich gleichmäßig auf die beiden Studienzentren Mainz (51 Patienten) und Frankfurt (52 Patienten). Die Verteilung der Kinder in den Altersgruppen war unterschiedlich zwischen den beiden Zentren. Die Unterschiede waren am größten in den Altersgruppen 0-<2 Jahre und 4-<5 Jahre. Die jüngeren Kinder wurden überwiegend in Mainz eingeschlossen, wohingegen die älteren überwiegend in Frankfurt eingeschlossen wurden. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass in Mainz neben Patienten aus der Ambulanz auch von zwei Stationen der Kinderklinik Patienten eingeschlossen wurden, auf denen überwiegend sehr junge Kinder behandelt wurden. Insgesamt war es möglich, in jeder Altersgruppe die geforderten 20 Kinder einzuschließen.

Da nicht dokumentiert wurde, wie viele Patienten zur Teilnahme befragt wurden, konnte die Bereitschaft zur Teilnahme an der Studie nicht objektiv bestimmt werden. Nach subjektiver Einschätzung war die Bereitschaft zur Teilnahme sehr hoch. Als häufigste Gründe für die Ablehnung der Teilnahme gaben die Eltern an, keine Zeit mehr zu haben oder das Kind nach der vorhergegangenen Untersuchung keiner zusätzlichen Belastung mehr aussetzen zu wollen.

4.4.2 Bewertung der Handhabung

Durch die Bewertung der Handhabung sollte eine Aussage über die Anwendbarkeit des Respimats® als Applikationsform für die inhalative Therapie bei Kindern unter 5 Jahren getroffen werden. Durch die Bewertung einzelner, vorgegebener Handhabungsschritte ließ sich objektiv beurteilen, ob die Handhabung korrekt durchgeführt wurde und somit ein erfolgreiches Inhalationsmanöver möglich ist. Die Methode ist dazu geeignet, eine Aussage darüber zu treffen, ob die Handhabung des Respimats® bei kleinen Kindern möglich ist, bzw. welcher Umfang der Unterstützung hierzu notwendig ist.

Die Bewertung der Handhabung ergab, dass der Respimat® in Kombination mit dem AeroChamber Plus® als Inhalierhilfe unabhängig vom Alter für alle Kinder handhabbar und geeignet ist. Über 50% der 4-<5-Jährigen schafften es, den Respimat® komplett alleine erfolgreich handzuhaben. Durch weiteres Training ließe sich die Erfolgsquote sehr wahrscheinlich weiter erhöhen. Das Wissen über die hohe Bedeutung ausführlicher Patienten- und Elternschulung und gezieltem Training ist mittlerweile allgegenwärtig und Bestandteil der GINA-Leitlinien (GINA = Global Initiative for Asthma) (110). Weiterhin ist zu erwähnen, dass das Wiederholen der Schulung die Anzahl korrekter Inhalationsmanöver weiter signifikant verbessern kann, unabhängig davon, welches Inhalationsgerät verwendet wird (111).

In der Altersgruppe der 3-<4 Jährigen konnten nur 30% in der Handhabungsstufe 1 und nur 14% in Handhabungsstufe 2 erfolgreich inhalieren. Aufgrund der geringen Erfolgsquote ist es fraglich, ob sich selbst mit intensivem Training die Quote stark verbessern ließe. Die Anwendung des Respimats® in Kombination mit einem Spacer ist demnach bei Kindern unter 4 Jahren sehr zu empfehlen. Die Anwendung eines Spacers erhöht den Anteil erfolgreicher Inhalationsmanöver. Hagmolen of ten Have et al. (112) bewerteten die Inhalationsmanöver von 530 Kindern mit Asthma im Alter von 7-17 Jahren. Hier zeigte sich, dass nur 21% der Inhalationsmanöver mit pMDIs korrekt durchgeführt wurden, wohingegen bei Anwendung von pMDIs + Spacer 77% der Inhalationsmanöver als korrekt gewertet wurden. Mit etwa 50% der auftretenden Fehler stellt die mangelnde Koordination zwischen dem Auslösen und dem Beginn der Einatmung ein Hauptproblem bei der Anwendung der pMDIs ohne Spacer dar (112;113). In der vorliegenden Studie war dies mit 75% das Hauptproblem der 4-<5-Jährigen. Bei den 3-<4-Jährigen und bei den 2-<3-Jährigen stellte sich als häufigstes

Problem heraus, den Respimat® in den Mund zu nehmen ohne die Luftschlitze dabei zu verschließen. Das korrekte Umschließen des Mundstücks mit den Lippen wurde in anderen Studien, die die Inhalationstechnik von Kindern bewerteten nicht oder nicht als häufiges Problem berichtet (111-114). In der Studie von Hagmolen of ten Have et al. (112) führten 96% der Kinder im Alter zwischen 7 und 17 Jahren diesen Schritt korrekt durch. Hier liegt ein Vorteil beim herkömmlichen pMDI. Das Mundstück eines pMDI besitzt im Vergleich zum Respimat® keine Luftschlitze, durch deren Verschluss die Funktion beeinträchtigt werden könnte. Durch die Luftschlitze am Mundstück des Respimats® wird das korrekte Umschließen des Mundstücks schwieriger im Vergleich zum pMDI. Eine Möglichkeit dieses Problem zu vermeiden wäre das Anbringen einer „Erhebung“ vor den Luftschlitzen, um ein Verrutschen des Mundstücks und somit ein Verschluss der Luftschlitze zu verhindern.

Eine weitere Möglichkeit, dieses Problem zu beheben, ist die Verwendung eines Spacers mit Gesichtsmaske oder, wenn die orale Inhalation forciert werden soll, durch Verwendung eines Spacers mit Mundstück. Wenn es die altersbedingten mentalen und motorischen Fähigkeiten des Kindes zulassen, ist die Inhalation durch den Mund mittels eines Mundstücks immer zu bevorzugen. Kinder können ab einem Alter von ca. 3 Jahren von einer Gesichtsmaske auf ein Mundstück wechseln (70;115). Die Bewertung der Handhabung des Respimats® mit einer Inhalierhilfe mit Mundstück sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Gerade bei sehr jungen Kindern wird die Inhalationstherapie maßgeblich von den Eltern beeinflusst. In der Handhabungsbewertung der Stufe 3 wurden alle aktiven Schritte von den Eltern durchgeführt. Vom Kind wurde nur die Akzeptanz der Gesichtsmaske „gefordert“. Die Studie zeigte, dass 100% der Eltern nach entsprechenden Instruktionen in der Lage waren, mit ihrem Kind den Inhalationsvorgang korrekt durchzuführen. Die Einfachheit der Anwendung eines pMDI mit Spacer zeigten Hendriks et al. (116) bei 182 Kindern zwischen 0 und 3 Jahren bzw. deren Eltern. Nach entsprechenden Instruktionen konnten 89% der Eltern das Inhalationsarzneimittel mit dem Babyhaler® korrekt verabreichen. Allerdings wurde hier nicht dokumentiert, ob das notwendige Schütteln des pMDIs vor der Inhalation praktiziert wurde. Studien bei älteren Kindern zeigten, dass dieser Schritt bei Verwendung eines pMDIs + Spacer den häufigsten Fehler darstellte (111;112;114;117). Dieser Schritt ist nicht notwendig bei der Vorbereitung des

Respimats®. Ein weiterer häufiger Fehler ist die versehentliche oder beabsichtigte Abgabe mehrerer Sprühstöße hintereinander in den Spacer (117). Die versehentliche Abgabe mehrerer Sprühstöße hintereinander ist durch die Funktionsweise des Respimats® ausgeschlossen.

Auch bei der Anwendung des Respimats® in Kombination mit einer Inhalierhilfe sind Vorteile in der Handhabung im Vergleich zu pMDI + Spacer gegeben. Durch das Wegfallen der Notwendigkeit des Schüttelns, wie es bei pMDIs der Fall ist und das nicht mögliche versehentliche Abgeben mehrerer Sprühstöße hintereinander, fallen zwei häufige Fehlerquellen weg und machen das Inhalationsmanöver einfacher und sicherer.

Eine separate, unabhängige Auswertung der Daten des Studienzentrums Mainz (118) zeigte, dass die Ergebnisse der Handhabungsbewertung der des Gesamtkollektivs entsprechen und zu den gleichen Schlussfolgerungen führen.

4.4.3 Inhalationsprofile

In der für das jeweilige Kind als passend gefundenen Handhabungsstufe wurden Inhalationsprofile aufgezeichnet. Diese dienen ergänzend zu der Handhabungsbewertung der Beurteilung der Nutzbarkeit des Respimats® bei Kindern unter 5 Jahren. Anhand der aus den Inhalationsprofilen ermittelten Parameter wurde die Qualität der erfolgten Inhalationen beurteilt. Die je nach Handhabungsstufe über die Qualität bzw. den Erfolg der Inhalation entscheidenden Parameter waren das inhalierte Volumen (VA), der inspiratorische Spitzenfluss (PIF), die Dauer der Inhalation nach Auslösen der Dosis (Tin) und die Zeitverzögerung zwischen dem Auslösen und dem Beginn der Einatmung (Delta). Diese Parameter stehen in direktem Zusammenhang mit der theoretisch inhalierbaren Arzneistoffmenge und der Lungendeposition und somit mit dem theoretischen Erfolg der Inhalation.

Ein Inhalationsmanöver in den Handhabungsstufen 1 und 2 wurde als erfolgreich gewertet, wenn $VA > 150 \text{ ml}$ und $\Delta > -0,5 \text{ s}$ betrug. Diese Bedingungen wurden als Mindestvoraussetzung für eine erfolgreiche Inhalation festgelegt.

In den Handhabungsstufen 1 und 2 lag die häufigste Ursache nicht-erfolgreicher Inhalation bei einem zu geringen inhalierten Volumen, welches in diesen Stufen dem

Volumen eines Atemzuges entsprach. Da das Atemzugvolumen klinisch normalerweise für den Lungenfunktionstest nicht verwendet wird beziehungsweise aufgrund mangelnder Kooperation kleiner Kinder Lungenfunktionstests schwierig durchzuführen sind (119), existieren hierfür keine Referenzwerte(120). Atemzugvolumina variieren in Abhängigkeit von Alter, Gewicht, Körpergröße und Geschlecht, sowie körperlicher Aktivität. Wildhaber et al. (120) geben Atemzugvolumina von 0,19 L für Kinder von 2 Jahren und 0,23 L für Kinder von 4 Jahren an. Nach Canadian Standard (121) können Kinder im Alter von 4 Jahren ein Volumen von 0,155 L mit einem Atemzug inhalieren. Die für den Erfolg einer Inhalation geforderten 150 ml erscheinen daher als ein realistisches Atemzugvolumen für Kinder im Alter zwischen 2 und 4 Jahren.

Kamin et al. (122) und Stanko et al. (58) forderten für ein optimales Inhalationsmanöver mit pMDIs bzw. mit dem Respimat® ein Mindestvolumen von 500 ml. Der Median von VCin lag bei den 3-Jährigen Kindern in dieser Studie bei 576 ml und bei den Kindern zwischen 4 und <5 Jahren mit 718 ml erwartungsgemäß höher. Es ist also anzunehmen, dass alle Kinder über ihr normales Atemzugvolumen hinaus inhalierten, d.h. dass sie bewusst tief einatmeten. Auch der Median von VA, also dem inhalierten Volumen innerhalb von 1,5 s, lag bei den Kindern zwischen 3 und <4 Jahren bei 514 ml und bei den Kindern zwischen 4 und <5 Jahren bei 548 ml und demnach in dem geforderten Bereich. Allerdings ist die Spanne der inhalierten Volumina gerade bei den 4-Jährigen recht groß (255 ml – 1022 ml). Über die Bedeutung des inhalierten Volumens und dementsprechend auch der Exhalation vor der Inhalation ist man sich nicht einig, da es viele Studien mit kontroversen Ergebnissen gibt (123). Wie groß das inhalierte Volumen sein muss und welchen Einfluss es auf die Lungendeposition hat, muss für kleine Kinder im Alter von 0 – 4 Jahren in weiteren Studien untersucht werden. Dies könnte in-vitro mittels Lungendepositionsstudien oder in-vivo mittels radioaktiv-markierten Aerosolen erfolgen. Der Zusammenhang zwischen inspiratorischem Fluss und Lungendeposition ist für alle Inhalationsgeräte bekannt. Für pMDIs ebenso wie für den Respimat® wird eine langsame Inhalation mit einem Fluss < 1 L/s empfohlen (124). Der Median des PIF lag bei den 3 – <4-Jährigen bei 0,8 L/s und bei den 4 – <5-Jährigen bei 1,1 L/s. Allerdings waren die interindividuellen Schwankungen sehr groß. Fasst man beide Altersgruppen zusammen, inhalierten 47% der Kinder mit

einem PIF > 1L/s. Diese Ergebnisse zeigen, dass Kinder in diesem Alter durchaus schnell inhalieren können. Stanko et al. (58) konnte bei Kindern zwischen 4 und 12 Jahren zeigen, dass durch den Einbau eines höheren Widerstandes in den Respimat® der mittlere inspiratorische Fluss abnahm und damit die estimierte Intrathorakaldosis erhöht werden konnte.

Bei der Betrachtung der Korrelation zwischen Alter und inhaliertem Volumen sowie Atemflussgeschwindigkeit zeigte sich erwartungsgemäß, der normalen physiologischen Entwicklung der Kinder entsprechend, eine Zunahme dieser Parameter mit dem Alter. Lediglich in Handhabungsstufe 3 war der Wert (Median) für das inhalierte Volumen bei den 4-<5-Jährigen kleiner als bei den 3-<4-Jährigen.

Die optimale Inhalationsdauer (T_{in}) für den Respimat® liegt bei $\geq 1,5$ s nach dem Auslösen um die über die gesamte Sprühdauer generierte Aerosolwolke komplett zu inhalieren. Der Median von T_{in} lag bei 1,3 s (3 – <4-Jährige) und 1,1 s (4 – <5-Jährige). Das bedeutet, die Inhalationsdauer war zu kurz und im Mittel werden 13% bzw. 27% der gebildeten Aerosolwolke nicht inhaliert.

Überraschenderweise zeigte sich, dass die Koordination zwischen dem Auslösen und dem Beginn der Einatmung sowohl bei den Kindern in Stufe 1, die alleine inhalierten (Delta (Median) = -0,28), als auch bei den Kindern in Stufe 2 die mit Hilfe der Eltern inhalierten (Delta (Median) = -0,14), kein wesentliches Problem darstellte. Das Auslösen durch die Eltern funktionierte demnach gut und bietet eine gute Alternative, wenn die Kinder alleine Probleme mit der Hand-Mund-Koordination haben.

In Handhabungsstufe 3 lag der Anteil der auswertbaren Profile mit 74% wesentlich höher als in den Handhabungsstufen 1 und 2. Ein Inhalationsmanöver wurde als erfolgreich gewertet wenn $VA > 150$ ml, $\Delta_2 > -10$ s und mindestens 1 Atemzug getätigt wurde. Das geforderte Volumen von 150 ml wurde gewählt, damit mindestens das Volumen des AeroChambers Plus® von 135 ml einmal eingeatmet würde. Um das AeroChamber Plus® komplett zu leeren, ist (wegen der Schlitzes zwischen Maske und Spacer) aber ein größeres Inhalationsvolumen notwendig (125). Schultz et al. (126) zeigten in einer *in-vitro* Studie, dass 2 Atemzüge mit 393 ± 247 ml ausreichen und weitere Atemzüge die inhalierte Dosis nicht erhöhen. Es wurde hier nicht untersucht, ob ein geringeres Atemzugvolumen oder nur ein Atemzug auch ausreichend sind. Aufgrund ihres geringen Atemzugvolumens

inhalieren die Kinder der Altersgruppe 0-<2 im Median ein geringeres Volumen (327 ml). In einer *in-vitro* Studie mit einem Dosieraerosol und verschiedenen Inhalierhilfen wurde gezeigt, dass beim AeroChamber 3 Atemzüge ausreichen, um die maximal inhalierbare Arzneistoffmenge zu erreichen und zusätzliche Atemzüge (5 wurden untersucht) die Arzneistoffmenge nicht oder nur geringfügig erhöhen(127). Zur Simulation eines Atemzugs eines Kleinkindes von 1-2 Jahren wurde hier ein Atemzugvolumen von 120 ml verwendet und für ein Kind von 4-5 Jahren ein Atemzugvolumen von 180 ml.

Es ist wünschenswert, dass das geforderte Volumen möglichst schnell nach dem Auslösen inhaliert wird. Die maximal akzeptable Zeitspanne wurde in dieser Studie mit 10 s festgesetzt. Je länger sich das Aerosol in einem Spacer befindet, umso mehr scheidet sich auf der Oberfläche ab und ist nicht mehr für die Inhalation verfügbar. Nach 10 Sekunden steht im AeroChamber Plus® nur noch etwa die Hälfte des Aerosols zur Inhalation zur Verfügung (125). Dies kann erheblich die Effektivität der Inhalation beeinflussen, da es teilweise mehrere Sekunden dauerte bis die Kinder mit der Inhalation begannen. Durch eine antistatische Behandlung des AeroChambers Plus® kann der Effekt einer zeitverzögerten Inhalation auf ein Minimum reduziert werden (78-80). Das Abscheiden von Aerosol auf der Oberfläche des Spacers wurde bisher nur mit pMDIs untersucht. Die langsame Aerosolwolke des Respimats® und die hohe Anzahl kleiner Partikel könnten einen positiven Effekt auf das Bestehen der Aerosolwolke im Spacer haben, was zu einer geringeren Abscheidung auf der Oberfläche führen kann. Dieser theoretische Vorteil des Respimats® in Kombination mit Spacern muss in weiteren Studien untersucht werden.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Inhalationsprofile annehmen lassen, dass Kinder mit 4 Jahren alleine oder mit Hilfe der Eltern den Respimat® ohne einen Spacer verwenden können. Die Kinder müssen ausgiebig geschult werden, wobei der Fokus auf einer langsamen (< 1L/s) und tiefen (>500 ml) Inhalation liegen sollte. Somit könnten Kinder im Alter von 4 Jahren von den Vorteilen des Respimats® gegenüber eines pMDIs profitieren. Diese sind die lange Sprühdauer, die niedrige Aerosolgeschwindigkeit und der hohe Anteil kleiner Partikel, welche zu einer hohen Lungendeposition und zu einer Verringerung der eingesetzten Arzneistoffmenge beitragen.

Zwar zeigten sich keine Unterschiede in der Qualität der Inhalationsprofile zwischen den 3-<4-Jährigen und den 4-<5-Jährigen, die geringe Erfolgsquote bei der Handhabung des Respimats® lässt jedoch darauf schließen, dass die 3-<4-jährigen Kinder aufgrund ihrer kognitiven und motorischen Fähigkeiten noch nicht mit dem Respimat® ohne Spacer inhalieren können. Die Ergebnisse der Handhabungsbewertung sowie die aufgezeichneten Inhalationsprofile lassen annehmen, dass die Inhalation mit dem Respimat® in Kombination mit AeroChamber Plus® für alle 4 Altersgruppen geeignet ist. Auch wenn der Respimat® in Kombination mit einer Inhalierhilfe verwendet wird, bleiben Vorteile gegenüber der Verwendung eines pMDIs mit Inhalierhilfe bestehen.

Die Auswertung der Inhalationsprofile des Mainzer Kollektivs (118) ergab vergleichbare Ergebnisse, die zu den gleichen Schlussfolgerungen führen. Ein zentrumsbedingter Bias kann also ausgeschlossen werden.

Letztendlich lassen sich durch die Bewertung der Handhabung und Evaluierung der Inhalationsprofile nur Schätzungen zum Erfolg der Inhalation anstellen. Die tatsächliche Lungendeposition, die mit dem Respimat® mit oder ohne AeroChamber Plus® erreicht werden kann, muss in weiteren *in-vitro* und *in-vivo* Studien untersucht werden. Die aufgezeichneten Inhalationsprofile sollen für Lungendepositionsstudien mit Hilfe eines anatomischen Rachenmodells verwendet werden.

4.4.4 Zufriedenheit der Anwender

Das effektivste Inhalationsgerät ist jenes, welches regelmäßig und richtig angewandt wird (85). Die Präferenzen des Patienten und die Fähigkeit, mit dem Inhalationsgerät ein korrektes Inhalationsmanöver durchzuführen, werden in den Leitlinien der British Thoracic Society als ein wichtiger Aspekt für eine erfolgreiche Asthma-Therapie genannt (86).

Die Akzeptanz des Inhalationsgerätes durch die Patienten und deren Eltern, sowie eine einfache Handhabung tragen zur Compliance und somit zum Therapieerfolg bei. In der vorliegenden Studie wurde die Zufriedenheit der Eltern mit dem Respimat® als Inhalationsgerät (mit oder ohne Inhalierhilfe) mit Hilfe eines Fragenkatalogs ermittelt. Geplant war, neben der Zufriedenheit der Eltern, auch die der Kinder zu erfassen. Es

stellte sich jedoch heraus, dass selbst die älteren Kinder die an der Studie teilnahmen noch nicht in der Lage waren die Fragen zu verstehen und zu beantworten.

Die Zufriedenheit der Eltern mit der Handhabung des Respimats® mit und ohne Spacer ist insgesamt sehr hoch. Neunzig Prozent (ohne Spacer) und 95% (mit Spacer) denken, dass sie auch zu Hause mit dem Gerät zurechtkommen werden. Die Eltern schätzen vor allem die Schnelligkeit, die Größe und die Einfachheit der Benutzung. Dies kann sich positiv auf die Compliance der Eltern auswirken, welche maßgeblich die Compliance der Inhalationstherapie von Kindern bestimmt. Befragungen von asthmatischen Kindern im Alter von 0-12 Jahren (durchschnittliches Alter war 5 Jahre) beziehungsweise deren Eltern ergaben, dass bei 87% die Eltern entschieden, wie und wann das Inhalationsgerät angewendet wird (117). Gibson et al. (128) zeigten, dass die Compliance der Eltern von asthmatischen Kindern (Alter: 15 Monate bis 5 Jahre), die eine prophylaktische Inhalationstherapie mittels pMDI + Spacer erhielten, sehr variabel und insgesamt sehr gering war. Ähnliche Ergebnisse zeigten die Studien von Coutts et al. (129) und Milgrom et al. (130), welche die Compliance von asthmatischen Kindern im Alter zwischen 9 und 16 Jahren bzw. 8 und 12 Jahren untersuchten. Unabhängig davon, ob die Verabreichung des Medikaments durch die Eltern oder die Kinder selbst erfolgte, wurden nur an ca. 50% der Tage die richtige Dosis zur richtigen Zeit verabreicht, beziehungsweise nur ca. 50% der verschriebenen Dosis verabreicht. Bisher liegen keine Studien vor, in denen die Compliance in Abhängigkeit von der Art des Inhalationsgerätes untersucht wurde. Interessant wäre vor allem der Vergleich der Compliance zwischen pMDI und Vernebler und pMDI und Respimat®.

5 ZUSAMMENFASSUNG

5.1 Physikalisch-chemische Kompatibilität ausgewählter Mischinhalationslösungen/-suspensionen zur simultanen Feuchtinhalation

5.1.1 Physikalisch-chemische Kompatibilität und Charakterisierung der aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationslösungen aus Dornase alfa und Tobramycin

Die Kompatibilität von Dornase alfa (Pulmozyme®) und den Tobramycin-haltigen Inhalationslösungen Gernebcin® und TOBI® wurden bereits von Schwabe et al. untersucht (131). Mischungen mit Gernebcin® stellten sich aufgrund des enthaltenen Natriummetabisulfits als nicht kompatibel heraus. Die Kompatibilität der Mischung mit TOBI® konnte durch die hohe Variabilität der verwendeten Methode zur Enzymaktivitätsmessung von Dornase alfa nicht abschließend beurteilt werden. Mit Bramitob® kam eine neue Tobramycin-haltige Inhalationslösung auf den deutschen Markt. Die Kompatibilität von Pulmozyme® mit Bramitob®, sowie ergänzend zu Schwabe et al. mit TOBI®, wurde im Rahmen dieser Arbeit untersucht. Die Inhalationslösungen wurden in üblichen Dosierungen gemischt und über einen Zeitraum von 24 Stunden untersucht. Die chemische Stabilität von Dornase alfa wurde mittels SE-HPLC, UV-Spektroskopie, SDS-PAGE und T-SCX untersucht. Die chemische Stabilität von Tobramycin wurde mittels Fluoreszenzpolarisations-Immunoassay untersucht. Zusätzlich wurden pH-Werte und Osmolaritäten gemessen. Die Mischungen wurden mit dem PARI eFlow® rapid vernebelt und die Eigenschaften des Aerosols durch Kaskadenimpaktionsanalyse mit dem NGI untersucht. Es konnte nachgewiesen werden, dass die untersuchten Mischungen über einen Zeitraum von 24 Stunden physikalisch und chemisch stabil sind. Durch die simultane Verneblung der Arzneimittel als Mischung wurden die aerodynamischen Eigenschaften (MMAD, GSD, FPF) im Vergleich zur Verneblung der Einzelkomponenten nicht verändert. Aus pharmazeutisch-technologischer Sicht ist das Mischen und die simultane Verneblung von Pulmozyme® und Bramitob® oder TOBI® möglich.

5.1.2 Physikalisch-chemische Kompatibilität von Mischinhalationslösungen aus Tobramycin und Colistin

Tobramycin und Colistin werden häufig zur inhalativen Therapie bei *P. aeruginosa* Infektionen verwendet. Colistin wird in der Form des Prodrugs Colistimethat Natrium (CMS) verwendet. Herrmann et al. (39) konnten eine überlegene Wirksamkeit der Kombination CMS und Tobramycin auf *P. aeruginosa* im Biofilm-Modell und im Tiermodell im Vergleich zu den Einzelsubstanzen nachweisen. In einer klinischen Pilot-Studie inhalierten 8 erwachsene CF-Patienten 28 Tage lang konsekutiv je zweimal täglich CMS und Tobramycin. Die Reduktion von koloniebildenden Einheiten im Sputum war stärker als in der Literatur für die Einzelsubstanzen beschrieben. Dieses Inhalationsschema bedeutet einen großen Zeitaufwand, so dass die simultane Inhalation von Interesse ist. Es war daher angezeigt, die *in-vitro* Kompatibilität von CMS (Colistin CF) mit verschiedenen Tobramycin-Inhalationslösungen (Bramitob®, TOBI®, Gernebcin®) zu untersuchen.

Die Inhalationslösungen wurden in üblichen Dosierungen gemischt und über einen Zeitraum von 24 Stunden untersucht. Direkt nach dem Mischen und nach 24 Stunden wurde die antibiotische Wirksamkeit von CMS/Colistin und Tobramycin mittels mikrobiologischer Wertbestimmung untersucht. Hierzu wurden 2 verschiedene Bakterienstämme mit entgegengesetzter Resistenzlage bezüglich Colistin und Tobramycin verwendet. Zur Bestimmung der Wirksamkeit von CMS/Colistin wurde der Bakterienstamm *Pseudoxanthomonas mexicana* ATCC 700993 verwendet, welcher sensibel gegenüber Colistin und resistent gegenüber Tobramycin ist. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ist sensibel gegenüber Tobramycin und resistent gegenüber Colistin und war deshalb geeignet zur Bestimmung der Wirksamkeit von Tobramycin. Die Bestimmung der Wirksamkeit erfolgte entsprechend der im Europäischen Arzneibuch beschriebenen Methode „Mikrobiologische Wertbestimmung von Antibiotika“ (132). Das Prinzip der Methode war die Agardiffusion. Die Wirksamkeit von CMS/Colistin und Tobramycin in den Mischungen wurde mit der Wirksamkeit von CMS- bzw. Tobramycin-Standardlösungen verglichen. Auch nach 24 Stunden zeigte sich bei beiden Antibiotika keine Abnahme der Wirksamkeit. PH-Werte und Osmolaritäten wurden zusätzlich gemessen und blieben über den gesamten Untersuchungszeitraum unverändert.

5.1.3 Physikalisch-chemische Kompatibilität von Mischinhalationssuspensionen aus Budesonid und Colistin oder Budesonid und hypertoner Natriumchloridlösung

Die simultane Inhalation durch das Mischen von Inhalationslösungen und – suspensionen im Vernebler bietet CF-Patienten die Möglichkeit den enormen Zeitaufwand ihrer Inhalationstherapie zu verkürzen und somit die Compliance und die Lebensqualität zu verbessern. Die Kompatibilität bzw. Inkompatibilität verschiedener Mischungen wurden bereits in einer leicht verständlichen Tabelle zusammengefasst welche Bestandteil eines Patienteninformationsblattes ist.

Um die Informationen in der Tabelle weiter zu vervollständigen, wurden in der vorliegenden Arbeit die physikalischen und chemischen *in-vitro* Kompatibilitäten von Mischungen aus Budesonid-Inhalationssuspension (Pulmicort®) mit Colistimethat-Natrium(CMS)-Inhalationslösung (Colistin CF) und Budesonid-Inhalationssuspension (Pulmicort®) mit 5,85%-iger Natriumchloridlösung untersucht.

Es wurden übliche Dosierungen der Arzneimittel gemischt und über einen Zeitraum von 24 Stunden untersucht.

Die chemische Stabilität von Budesonid wurde mittels einer validierten HPLC-Methode untersucht. Die Untersuchung der Stabilität von CMS erfolgte durch mikrobiologische Wertbestimmung entsprechend der im Europäischen Arzneibuch beschriebenen Methode „Mikrobiologische Wertbestimmung von Antibiotika“ (132). Es wurde der dort für die Bestimmung von CMS beschriebene Bakterienstamm *Escherichia coli* ATCC 10536 verwendet. Das Prinzip der Methode war die Agardiffusion. Dabei wurde die antibiotische Wirksamkeit der Mischung mit der Wirksamkeit von CMS-Standards verglichen. Zusätzlich wurden pH-Werte und Osmolaritäten gemessen.

Über den Untersuchungszeitraum war für die Budesonid-Konzentration in keiner der Mischungen eine Abnahme zu verzeichnen. Es zeigte sich kein Einfluss auf die antibiotische Wirksamkeit von CMS/Colistin durch das Mischen mit Pulmicort®. In keiner der untersuchten Mischungen trat eine signifikante Änderung der Osmolarität auf. In der Mischung Pulmicort® mit Colistin CF stieg der pH-Wert nach 24 Stunden Lagerung deutlich an. Zusätzliche Untersuchungen zeigten, dass die in Pulmicort® enthaltenen Hilfsstoffe Polysorbat 80, sowie Natriumcitrat und Citronensäure keinen Einfluss auf den pH-Wert haben und die pH-Wert-Erhöhung auf den Hilfsstoff Natriumedetat zurückzuführen ist. Trotz des pH-Anstiegs wurde das Mischen von

Pulmicort® mit Colistin CF als möglich gewertet, die Mischung soll aber unmittelbar nach der Zubereitung inhaliert werden. Der Einfluss der pH-Wert Änderung durch die Hilfsstoffe auf das Vernehlungsverhalten der Mischung muss in weiteren Untersuchungen gezeigt werden. Die Mischung Pulmicort® mit 5,85%-iger Natriumchlorid-Lösung erwies sich über den gesamten Untersuchungszeitraum als physikalisch-chemisch kompatibel.

Die Ergebnisse der Kompatibilitätsuntersuchungen ausgewählter Inhalationslösungen und -suspensionen dieser Arbeit wurden in die Tabelle des Patienteninformationsblattes eingefügt. Anhang 8 zeigt die aktualisierte Version der Tabelle. Das Patienteninformationsblatt dient Patienten und medizinischem Fachpersonal als Anleitung und Hilfestellung für die simultane Feuchtinhalation. Zusammen mit entsprechenden Schulungen kann dadurch ein wesentlicher Beitrag zur Arzneimittel- und Therapiesicherheit bei CF-Patienten geleistet werden.

5.2 Bewertung der Anwendbarkeit des Respimat® Soft Mist™ Inhalers bei Kindern unter 5 Jahren

Die Auswahl des richtigen Inhalationsgerätes gestaltet sich insbesondere bei Kleinkindern als schwierig. Mit dem ausgewählten Inhalationsgerät soll der Anteil der Lungendeposition möglichst hoch und die Deposition des Arzneimittels in Mund und Rachen möglichst gering sein. Ist der Anteil des Arzneimittels, der die Lunge erreicht hoch, können die zu applizierende Arzneistoffmenge und somit unerwünschte extrapulmonale Wirkungen reduziert werden. Zur Anwendung von Inhalationsgeräten bei Kindern müssen zahlreiche Besonderheiten berücksichtigt werden. Die kleinen, engen Atemwege der Kinder fordern einen wesentlich kleineren MMAD des generierten Aerosols, um eine ausreichende Lungendeposition zu erzielen. Neben der Qualität des Aerosols spielen die Fähigkeiten von Eltern und Kind sowie die Akzeptanz des Inhalationsgerätes eine entscheidende Rolle. Der Respimat® stellt mit seiner langen Sprühdauer und den kleinen Aerosolpartikeln eine vielversprechende Möglichkeit zur Anwendung bei Kindern dar. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob Kinder unter 5 Jahren den Respimat® handhaben können und welchen Grad von Hilfestellung sie dabei benötigen. Entsprechend ihrer Altersklasse wurden die teilnehmenden Kleinkinder und Eltern in einer ausgewählten Handhabungsart geschult. Dann wurde die Handhabung bewertet und die Kinder einer von 3 Handhabungsstufenzugeordnet, je nachdem, ob sie mit dem Respimat® erfolgreich alleine inhalierten (Handhabungsstufe 1), die Eltern beim Auslösen unterstützten (Handhabungsstufe 2) oder der Respimat® zusammen mit dem AeroChamber Plus® als Inhalierhilfe (Handhabungsstufe 3) verwendet wurde. In der für das jeweilige Kind geeigneten Handhabungsstufe wurden Inhalationsprofile aufgezeichnet und bewertet. Hierzu wurden das inhalierte Volumen (VA) innerhalb von 1,5 s (Stufen 1 und 2) bzw. 10 s (Stufe 3) und die Zeitspanne (Delta) zwischen dem Auslösen der Dosis und dem Beginn der Inhalation als Kriterien für den Erfolg der Inhalation herangezogen.

Die Handhabungsuntersuchungen zeigten, dass der Respimat® für Kinder bis zum vollendeten 3. Lebensjahr nur in Kombination mit einer Inhalierhilfe wie dem AeroChamber Plus® zur Inhalation geeignet ist. Kinder im Alter von 4 Jahren sind mit entsprechender Schulung in der Lage mit dem Respimat® ohne Inhalierhilfe zu inhalieren. Die aufgezeichneten Inhalationsprofile bestätigten, dass die Kinder mit

der zuvor festgelegten personellen und technischen Hilfestellung erfolgreiche Inhalationsmanöver durchführen konnten. Dabei lagen die Mediane für das inhalierte Volumen in den Handhabungsstufen 1 und 2 bei 0,51 L (3-<4 Jahre) bzw. 0,55 L (4-<5 Jahre). Die Zeitverzögerung Delta zwischen Auslösen der Dosis und Start der Inhalation lag im Median mit -0,10 s (3-<4 Jahre) und -0,28 s (4-<5 Jahre) nahe bei Null. In der Handhabungsstufe 3 lagen die Mediane für das mit durchschnittlich 5 Atemzügen inhalierte Volumen VA bei 0,33 L (0-<2 Jahre), 0,65 L (2-<3 Jahre), 1,15 L (3-<4 Jahre) und 0,94 L (4-<5 Jahre). Die Werte für Delta lagen hier im Median bei -2,79 s (0-<2 Jahre), -0,80 s (2-<3 Jahre), -1,14 s (3-<4 Jahre) und -0,51 s (4-<5 Jahre).

Allerdings kann anhand der Inhalationsprofile der Erfolg der Inhalation nur abgeschätzt werden. Die aufgezeichneten Inhalationsprofile können als Grundlage für weitere *in-vitro* Untersuchungen zur Lungendeposition anhand geeigneter Lungenmodelle dienen.

Die Zufriedenheit der Eltern mit der Anwendung des Respimats® mit und ohne Inhalierhilfe war sehr hoch. Da die Eltern bei der inhalativen Therapie kleiner Kinder eine sehr große Rolle spielen, ist es naheliegend, dass deren Zufriedenheit die Compliance und somit den Therapieerfolg maßgeblich beeinflussen kann.

Die Ergebnisse der objektiven Beobachtung der Handhabung, der aufgenommenen Atemflussprofile und die Zufriedenheit der Eltern mit dem Inhalationsprozedere lassen den Respimat® als geeignetes Inhalationsgerät für Kleinkinder unter 5 Jahren einstufen.

Basierend auf den in dieser Studie aufgezeichneten Inhalationsprofilen sollte diese Einschätzung mit weiteren Untersuchungen zur Lungendeposition belegt werden. Die bisherigen Untersuchungsergebnisse lassen eine hohe Deposition in der Lunge erwarten. Der Respimat® stellt somit eine vielversprechende Alternative zu Verneblern und Dosieraerosolen zur inhalativen Therapie bei Kleinkindern dar.

6 LITERATURVERZEICHNIS

Die Literaturquellen der Publikationen sind an dieser Stelle nicht aufgelistet (siehe dazu jeweilige Publikation).

- (1) Le Brun PP, de Boer AH, Heijerman HG, et al. A review of the technical aspects of drug nebulization. *Pharm World Sci* 2000;22(3):75-81.
- (2) Loffert DT, Ikle D, Nelson HS. A comparison of commercial jet nebulizers. *Chest* 1994;106(6):1788-92.
- (3) Michel O, Haidl P, Bauer C.-P. Aerosoltherapie mit PARI Inhalationsgeräten 2010Aavailable at <http://www.pari.de/presseportal/infomaterial.html>
- (4) Boe J, Dennis JH, O'Driscoll BR, et al. European Respiratory Society Guidelines on the use of nebulizers. *Eur Respir J* 2001;18(1):228-42.
- (5) Mercer TT. Production of therapeutic aerosols; principles and techniques. *Chest* 1981;80(6 Suppl):813-8.
- (6) Vecellio L. The mesh nebuliser: a recent technical innovation for aerosol delivery. *Breathe* 2006;2(3):253-60.
- (7) Vecellio NL, Grimbert D, Bordenave J, et al. Residual gravimetric method to measure nebulizer output. *J Aerosol Med* 2004;17(1):63-71.
- (8) Hess D, Fisher D, Williams P, et al. Medication nebulizer performance. Effects of diluent volume, nebulizer flow, and nebulizer brand. *Chest* 1996;110(2):498-505.
- (9) Urbanetz NA. Physikalische Einflüsse steuern die pulmonale Deposition. *Pharmazeutische Zeitung* 2006;(40).
- (10) McCalion ONM, Taylor KMG, Thomas M, et al. Ultrasonic Nebulisation of Fluids with Different Viscosities and Surface Tension. *Journal of Aerosol Medicine* 1995;8(3):281-4.
- (11) Finlay WH, Lange CF, King M, et al. Lung delivery of aerosolized dextran. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(1):91-7.
- (12) Newman SP, Pellow P.G.D., Clark SW. Dropletsizes from medical atomisers for drug solutions with different viscosities and surface tension. *Atomization and Spray Technology* 1987;3:1-11.
- (13) McCalion ONM, Taylor KMG, Thomas M, et al. Nebulization of Fluids of Different Physicochemical Properties with Air-Jet and Ultrasonic Nebulizers. *Pharmaceutical Research* 1995;12(11):1682-8.
- (14) Ghazanfari T, Elhissi AM, Ding Z, et al. The influence of fluid physicochemical properties on vibrating-mesh nebulization. *Int J Pharm* 2007;339(1-2):103-11.

- (15) Bauer K, Frömming K-H, Führer C. Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 2006.
- (16) O'Sullivan BP, Freedman SD. Cystic fibrosis. *Lancet* 2009;373(9678):1891-904.
- (17) Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA, et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176(10):957-69.
- (18) Doring G, Conway SP, Heijerman HG, et al. Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. *Eur Respir J* 2000;16(4):749-67.
- (19) Henry RL, Mellis CM, Petrovic L. Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* is a marker of poor survival in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1992;12(3):158-61.
- (20) Nixon GM, Armstrong DS, Carzino R, et al. Clinical outcome after early *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *J Pediatr* 2001;138(5):699-704.
- (21) Brandl M, Gu L. Degradation of tobramycin in aqueous solution. *Drug Development And Industrial Pharmacy* 1992;18(13):1423-36.
- (22) Fille M, Hausdorfer J, Miksits K. Aminoglykoside. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 14 ed. Springer-Verlag; 2005. p. 834-6.
- (23) Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Schäfer-Korting M. *Arzneimittelwirkungen*. 8 ed. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 2001.
- (24) Ryan G, Mukhopadhyay S, Singh M. Nebulised anti-pseudomonal antibiotics for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(3):CD001021.
- (25) Hodson ME, Gallagher CG, Govan JR. A randomised clinical trial of nebulised tobramycin or colistin in cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2002;20(3):658-64.
- (26) Ramagopal M, Lands LC. Inhaled tobramycin and bronchial hyperactivity in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2000;29(5):366-70.
- (27) Alothman GA, Alsaadi MM, Ho BL, et al. Evaluation of bronchial constriction in children with cystic fibrosis after inhaling two different preparations of tobramycin. *Chest* 2002;122(3):930-4.
- (28) Clarot I, Storme-Paris I, Chaminade P, et al. Simultaneous quantitation of tobramycin and colistin sulphate by HPLC with evaporative light scattering detection. *J Pharm Biomed Anal* 2009;50(1):64-7.
- (29) Barnett M, Bushby SRM, Wilkinson S. Sodium Sulphomethyl Derivates Of Polymyxins. *British Journal of Pharmacology* 1964;23(3):552-74.

- (30) Li J, Nation RL, Turnidge JD, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2006;6(9):589-601.
- (31) Wallace SJ, Li J, Rayner CR, et al. Stability of colistin methanesulfonate in pharmaceutical products and solutions for administration to patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(9):3047-51.
- (32) Bergen PJ, Li J, Rayner CR, et al. Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(6):1953-8.
- (33) Li J, Turnidge J, Milne R, et al. In vitro pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(3):781-5.
- (34) Stock I. Die "Renaissance" der Polymyxine. *Arzneimitteltherapie* 2011;29(3):71-80.
- (35) Colistin CF. Fachinformation 2010.
- (36) Campbell PW, Saiman L. Use of aerosolized antibiotics in patients with cystic fibrosis. *Chest* 1999;116(3):775-88.
- (37) Le Brun PP, de Boer AH, Mannes GP, et al. Dry powder inhalation of antibiotics in cystic fibrosis therapy: part 2. Inhalation of a novel colistin dry powder formulation: a feasibility study in healthy volunteers and patients. *Eur J Pharm Biopharm* 2002;54(1):25-32.
- (38) Theimann N. Resistenzentwicklung von *P. aeruginosa* 1997-2006. Poster presentation, Dtsch Mukoviszidose Tagung, Würzburg 2008.
- (39) Herrmann G, Yang L, Wu H, et al. Colistin-tobramycin combinations are superior to monotherapy concerning the killing of biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis* 2010;202(10):1585-92.
- (40) King M, Dasgupta B, Tomkiewicz RP, et al. Rheology of cystic fibrosis sputum after in vitro treatment with hypertonic saline alone and in combination with recombinant human deoxyribonuclease I. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(1):173-7.
- (41) Shire SJ. Stability characterization and formulation development of recombinant human deoxyribonuclease I [Pulmozyme, (dornase alpha)]. *Pharm Biotechnol* 1996;9:393-426.:393-426.
- (42) Jones AP, Wallis C. Dornase alfa for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;(3):CD001127.
- (43) Eng PA, Morton J, Douglass JA, et al. Short-term efficacy of ultrasonically nebulized hypertonic saline in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1996;21(2):77-83.

- (44) Elkins MR, Robinson M, Rose BR, et al. A controlled trial of long-term inhaled hypertonic saline in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2006;19;354(3):229-40.
- (45) Suri R, Grieve R, Normand C, et al. Effects of hypertonic saline, alternate day and daily rhDNase on healthcare use, costs and outcomes in children with cystic fibrosis. *Thorax* 2002;57(10):841-6.
- (46) Wark P, McDonald VM. Nebulised hypertonic saline for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;(2):CD001506.
- (47) Bisgaard H, Pedersen SS, Nielsen KG, et al. Controlled trial of inhaled budesonide in patients with cystic fibrosis and chronic bronchopulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(4 Pt 1):1190-6.
- (48) Rao S, Grigg J. New insights into pulmonary inflammation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 2006;91(9):786-8.
- (49) Balfour-Lynn IM, Welch K. Inhaled corticosteroids for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;(1):CD001915.
- (50) Konstan MW, VanDevanter DR, Rasouliyan L, et al. Trends in the use of routine therapies in cystic fibrosis: 1995-2005. *Pediatr Pulmonol* 2010;45(12):1167-72.
- (51) Vorlesung Pharmakologie und Toxikologie: Glukokortikoide. <http://www.uniklinik-duesseldorf.de> 2012 [Accessed 3-2-2012];
- (52) Fachinformation Pulmicort. www.fachinfo.de 2011 [Accessed 3-2-2012];
- (53) Rosenfeld M, Emerson J, Astley S, et al. Home nebulizer use among patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 1998;132(1):125-31.
- (54) Kamin W, Schwabe A, Kramer I. Inhalation solutions: which one are allowed to be mixed? Physico-chemical compatibility of drug solutions in nebulizers. *J Cyst Fibros* 2006;5(4):205-13.
- (55) Kamin W, Schwabe A, Kramer I. Physicochemical compatibility of fluticasone-17- propionate nebulizer suspension with ipratropium and albuterol nebulizer solutions. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2007;2(4):599-607.
- (56) Kramer I, Schwabe A, Lichtinghagen R, et al. Physicochemical compatibility of mixtures of dornase alfa and tobramycin containing nebulizer solutions. *Pediatr Pulmonol* 2009;44(2):134-41.
- (57) Kramer I, Schwabe A, Lichtinghagen R, et al. Physicochemical compatibility of nebulizable drug mixtures containing dornase alfa and ipratropium and/or albuterol. *Pharmazie* 2007;62(10):760-6.

- (58) Stanko C. Optimierung der Inhalationstherapie bei Kindern und Mukoviszidose-Patienten. Bewertung der Anwendbarkeit und Modifikation des Respimats® bei Kindern anhand von Atemflussprofilen. Physikalisch-chemische Kompatibilität und Charakterisierung der aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationslösungen/-suspensionen zur simultanen Feuchtinhalationstherapie. 2010.
- (59) Melani AS. Effects on aerosol performance of mixing of either budesonide or beclomethasone dipropionate with albuterol and ipratropium bromide. *Respir Care* 2011;56(3):319-26.
- (60) Berlinski A, Waldrep JC. Nebulized drug admixtures: effect on aerosol characteristics and albuterol output. *J Aerosol Med* 2006;19(4):484-90.
- (61) Akapo S, Gupta J, Martinez E, et al. Compatibility and aerosol characteristics of formoterol fumarate mixed with other nebulizing solutions. *Ann Pharmacother* 2008;42(10):1416-24.
- (62) Festen JE. Improving the Efficiency of Inhalation Therapy in Young Children 2006.
- (63) Everard ML, Hardy JG, Milner AD. Comparison of nebulised aerosol deposition in the lungs of healthy adults following oral and nasal inhalation. *Thorax* 1993;48(10):1045-6.
- (64) Chua HL, Collis GG, Newbury AM, et al. The influence of age on aerosol deposition in children with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1994;7(12):2185-91.
- (65) Janssens HM, van der Wiel EC, Verbraak AF, et al. Aerosol therapy and the fighting toddler: is administration during sleep an alternative? *J Aerosol Med* 2003;16(4):395-400.
- (66) Schuepp KG, Straub D, Moller A, et al. Deposition of aerosols in infants and children. *J Aerosol Med* 2004;17(2):153-6.
- (67) Wildhaber JH. Nebuliser Therapy in Children
http://www.touchbriefings.com/pdf/28/gh031_p_WILDHA~1 PDF 2003 [Accessed 22-2-2012];
- (68) Janssens HM, de Jongste JC, Hop WC, et al. Extra-fine particles improve lung delivery of inhaled steroids in infants: a study in an upper airway model. *Chest* 2003;123(6):2083-8.
- (69) Devadason SG. Recent advances in aerosol therapy for children with asthma. *J Aerosol Med* 2006;19(1):61-6.
- (70) Brand PL. Drug delivery in pediatric patients with asthma: Spacer devices vs nebulizers for β_2 agonists. *American Journal of Drug Delivery* 2003;1(1):61-70.

- (71) Janssens HM, Krijgsman A, Verbraak TF, et al. Determining factors of aerosol deposition for four pMDI-spacer combinations in an infant upper airway model. *J Aerosol Med* 2004;17(1):51-61.
- (72) Everard ML, Clark AR, Milner AD. Drug delivery from holding chambers with attached facemask. *Arch Dis Child* 1992;67(5):580-5.
- (73) Hayden JT, Smith N, Woolf DA, et al. A randomised crossover trial of facemask efficacy. *Arch Dis Child* 2004;89(1):72-3.
- (74) Smaldone GC, Berg E, Nikander K. Variation in pediatric aerosol delivery: importance of facemask. *J Aerosol Med* 2005;18(3):354-63.
- (75) Amirav I, Newhouse MT. Aerosol therapy with valved holding chambers in young children: importance of the facemask seal. *Pediatrics* 2001;108(2):389-94.
- (76) Erzinger S, Schuepp KG, Brooks-Wildhaber J, et al. Facemasks and aerosol delivery in vivo. *J Aerosol Med* 2007;20 Suppl 1:S78-83; discussion S83-4.:S78-S83.
- (77) Esposito-Festen JE, Ates B, van Vliet FJ, et al. Effect of a facemask leak on aerosol delivery from a pMDI-spacer system. *J Aerosol Med* 2004;17(1):1-6.
- (78) Wildhaber JH, Devadason SG, Eber E, et al. Effect of electrostatic charge, flow, delay and multiple actuations on the in vitro delivery of salbutamol from different small volume spacers for infants. *Thorax* 1996;51(10):985-8.
- (79) Barry PW, O'Callaghan C. A comparative analysis of the particle size output of beclomethasone dipropionate, salmeterol xinafoate and fluticasone propionate metered dose inhalers used with the Babyhaler, Volumatic and Aerochamber spacer devices. *Br J Clin Pharmacol* 1999;47(4):357-60.
- (80) Clark DJ, Lipworth BJ. Effect of multiple actuations, delayed inhalation and antistatic treatment on the lung bioavailability of salbutamol via a spacer device. *Thorax* 1996;51(10):981-4.
- (81) O'Callaghan C, Cant M, Robertson C. Delivery of beclomethasone dipropionate from a spacer device: what dose is available for inhalation? *Thorax* 1994;49(10):961-4.
- (82) O'Callaghan C, Lynch J, Cant M, et al. Improvement in sodium cromoglycate delivery from a spacer device by use of an antistatic lining, immediate inhalation, and avoiding multiple actuations of drug. *Thorax* 1993;48(6):603-6.
- (83) Barry PW, O'Callaghan C. The effect of delay, multiple actuations and spacer static charge on the in vitro delivery of budesonide from the Nebuhaler. *Br J Clin Pharmacol* 1995;40(1):76-8.
- (84) Straub DA, Wildhaber JH. Inhalationstherapie im Kindesalter: Mystik oder Evidenz? *Paediatrica* 2002;13(4):14-6.

- (85) O'Callaghan C, Barry PW. How to choose delivery devices for asthma. *Arch Dis Child* 2000;82(3):185-7.
- (86) British Guideline on the Management of Asthma, A national clinical guideline. <http://www.sign.ac.uk/pdf/sign101.pdf> 2012 [Accessed 19-4-2012]; (Mai 2008)
- (87) Wildhaber JH, Dore ND, Wilson JM, et al. Inhalation therapy in asthma: nebulizer or pressurized metered-dose inhaler with holding chamber? In vivo comparison of lung deposition in children. *J Pediatr* 1999;135(1):28-33.
- (88) Fok TF, Monkman S, Dolovich M, et al. Efficiency of aerosol medication delivery from a metered dose inhaler versus jet nebulizer in infants with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol* 1996;21(5):301-9.
- (89) Wildhaber JH, Janssens HM, Pierart F, et al. High-percentage lung delivery in children from detergent-treated spacers. *Pediatr Pulmonol* 2000;29(5):389-93.
- (90) Amirav I, Balanov I, Gorenberg M, et al. Beta-agonist aerosol distribution in respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants. *J Nucl Med* 2002;43(4):487-91.
- (91) Schuepp KG, Devadason SG, Roller C, et al. Aerosol delivery of nebulised budesonide in young children with asthma. *Respir Med* 2009;103(11):1738-45.
- (92) Tal A, Golan H, Grauer N, et al. Deposition pattern of radiolabeled salbutamol inhaled from a metered-dose inhaler by means of a spacer with mask in young children with airway obstruction. *J Pediatr* 1996;128(4):479-84.
- (93) Giraud V, Roche N. Misuse of corticosteroid metered-dose inhaler is associated with decreased asthma stability. *Eur Respir J* 2002;19(2):246-51.
- (94) Dalby R, Spallek M, Voshaar T. A review of the development of Respimat Soft Mist Inhaler. *Int J Pharm* 2004;283(1-2):1-9.
- (95) Zierenberg B. Optimizing the in vitro performance of Respimat. *J Aerosol Med* 1999;12 Suppl 1:S19-24.:S19-S24.
- (96) Newman SP, Brown J, Steed KP, et al. Lung deposition of fenoterol and flunisolide delivered using a novel device for inhaled medicines: comparison of RESPIMAT with conventional metered-dose inhalers with and without spacer devices. *Chest* 1998;113(4):957-63.
- (97) Goldberg J, Freund E, Beckers B, et al. Improved delivery of fenoterol plus ipratropium bromide using Respimat compared with a conventional metered dose inhaler. *Eur Respir J* 2001;17(2):225-32.
- (98) Kilfeather SA, Ponitz HH, Beck E, et al. Improved delivery of ipratropium bromide/fenoterol from Respimat Soft Mist Inhaler in patients with COPD. *Respir Med* 2004;98(5):387-97.

- (99) Kunkel G, Magnussen H, Bergmann K, et al. Respimat (a new soft mist inhaler) delivering fenoterol plus ipratropium bromide provides equivalent bronchodilation at half the cumulative dose compared with a conventional metered dose inhaler in asthmatic patients. *Respiration* 2000;67(3):306-14.
- (100) Vincken W, Bantje T, Middle MV, et al. Long-Term Efficacy and Safety of Ipratropium Bromide plus Fenoterol via Respimat((R)) Soft Misttrade mark Inhaler (SMI) versus a Pressurised Metered-Dose Inhaler in Asthma. *Clin Drug Investig* 2004;24(1):17-28.
- (101) von BA, Jeena PM, Soemantri PA, et al. Efficacy and safety of ipratropium bromide plus fenoterol inhaled via Respimat Soft Mist Inhaler vs. a conventional metered dose inhaler plus spacer in children with asthma. *Pediatr Pulmonol* 2004;37(3):264-72.
- (102) Sikora C. Einfluss von Rezepturverbesserungen auf die Zytotoxizität von Nasalia 2004.
- (103) Fischer H. Citratpuffer in Clobetasolpropionat-Creme. *Pharmazeutische Zeitung* 2000;(12).
- (104) Schöffling U. *Arzneiformenlehre*. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; 2003.
- (105) Beipackzettel Livocab™ Augentropfensuspension. http://www.apotheke-online-internet.de/content/packungsbeilage-beipackzettel/p_0202471.pdf 2005 [Accessed 22-3-2012];
- (106) Egerer H. Monographie Natriumedetat, Kommentar zur Ph.Eur. 5.0. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart; 2005.
- (107) Hofner A. Monographie Colistimethat-Natrium; Kommentar zur Ph.Eur. 5.7. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart; 2007.
- (108) Högger P. Monographie Budesonid; Kommentar zur Ph.Eur. 6.6. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart; 2010.
- (109) Sonali R, Bajaj N, Bajaj A. Development of a validated specific HPLC method for budesonide and characterization of its alkali degradation product. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy* 2007;53(3):113-22.
- (110) Brand PL. Key issues in inhalation therapy in children. *Current Medical Research And Opinion* 2012;21(Suppl 4):27-32.
- (111) Kamps AW, Brand PL, Roorda RJ. Determinants of correct inhalation technique in children attending a hospital-based asthma clinic. *Acta Paediatr* 2002;91(2):159-63.
- (112) Hagmolen of ten Have, van de Berg NJ, Bindels PJ, et al. Assessment of inhalation technique in children in general practice: increased risk of incorrect performance with new device. *J Asthma* 2008;45(1):67-71.

- (113) Pedersen S, Frost L, Arnfred T. Errors in inhalation technique and efficiency in inhaler use in asthmatic children. *Allergy* 1986;41(2):118-24.
- (114) Kamps AW, van EB, Roorda RJ, et al. Poor inhalation technique, even after inhalation instructions, in children with asthma. *Pediatr Pulmonol* 2000;29(1):39-42.
- (115) Everard ML. Inhaler devices in infants and children: challenges and solutions. *J Aerosol Med* 2004;17(2):186-95.
- (116) Hendriks HJ, Overberg PC, Brackel HJ, et al. Handling of a spacer (Babyhaler) for inhalation therapy in 0- to 3-year-old children. *J Asthma* 1998;35(3):297-304.
- (117) Uijen JH, van Uijthoven YJ, van der Wouden JC, et al. Adequate use of asthma inhalation medication in children: more involvement of the parents seems useful. *BMC Res Notes* 2009;2:129.:129.
- (118) Pia Schulze Schwienhorst. Ist der Respimat® zur inhalativen Therapie der bronchialen Obstruktion im Kleinkindesalter nutzbar? 2012.
- (119) Boehmer AL, Merkus PJ. Asthma therapy for children under 5 years of age. *Curr Opin Pulm Med* 2006;12(1):34-41.
- (120) Wildhaber JH, Kamin W. Inhalationstherapie im Kindes- und Jugendalter. 1 ed. 2008. p. 17.
- (121) Dolovich MB, Mitchell JP. Canadian Standards Association standard CAN/CSA/Z264.1-02:2002: a new voluntary standard for spacers and holding chambers used with pressurized metered-dose inhalers. *Can Respir J* 2004;11(7):489-95.
- (122) Kamin W, Kreplin A. [Teaching the inhalation manoeuvre to asthmatic children by means of visual feedback]. *Pneumologie* 2007;61(3):150-6.
- (123) Self TH, Pinner NA, Sowell RS, et al. Does it really matter what volume to exhale before using asthma inhalation devices? *J Asthma* 2009;46(3):212-6.
- (124) Dolovich MA. Influence of inspiratory flow rate, particle size, and airway caliber on aerosolized drug delivery to the lung. *Respir Care* 2000;45(6):597-608.
- (125) Berg E, Madsen J, Bisgaard H. In vitro performance of three combinations of spacers and pressurized metered dose inhalers for treatment in children. *Eur Respir J* 1998;12(2):472-6.
- (126) Schultz A, Le Souef TJ, Venter A, et al. Aerosol inhalation from spacers and valved holding chambers requires few tidal breaths for children. *Pediatrics* 2010;126(6):e1493-e1498.

- (127) Kamin W, Ehlich H. In Vitro Comparison of Output and Particle Size Distribution of Budesonide from Metered-Dose Inhaler with Three Spacer Devices during Pediatric Tidal Breathing. *Treat Respir Med* 2006;5(6):503-8.
- (128) Gibson NA, Ferguson AE, Aitchison TC, et al. Compliance with inhaled asthma medication in preschool children. *Thorax* 1995;50(12):1274-9.
- (129) Coutts JA, Gibson NA, Paton JY. Measuring compliance with inhaled medication in asthma. *Arch Dis Child* 1992;67(3):332-3.
- (130) Milgrom H, Bender B, Ackerson L, et al. Noncompliance and treatment failure in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98(6 Pt 1):1051-7.
- (131) Kramer I, Schwabe A, Lichtinghagen R, et al. Physicochemical compatibility of mixtures of dornase alfa and tobramycin containing nebulizer solutions. *Pediatr Pulmonol* 2009;44(2):134-41.
- (132) Mikrobiologische Wertbestimmung von Antibiotika. *Europäisches Arzneibuch*. 7 ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; 2011. p. 5229-34.

7 Anhang

Anhang 1: Elterninformation.....	167
Anhang 2: Einverständniserklärung.....	170
Anhang 3: Handhabungsanleitung für Respimat® (ohne Spacer).....	172
Anhang 4: Handhabungsanleitung für Respimat® plus Spacer	175
Anhang 5: Daten aller Inhalationsprofile der Handhabungsstufen 1 und 2.....	178
Anhang 6: Daten aller Inhalationsprofile der Handhabungsstufe 3.....	180
Anhang 7A: Patienteninformationsblatt Vorderseite.....	183
Anhang 7B: Patienteninformationsblatt Innenseite.....	184
Anhang 8: Übersichtstabelle zur In-/Kompatibilität ausgewählter Inhalationslösungen und Inhalationssuspensionen	185

Anhang 1: Elterninformation

Multizentrische Studie zur „Anwendung des Respimat® Inhalators bei Kindern unter fünf Jahren“

Elterninformation

Mainz und Frankfurt im Juli 2008

Liebe Erziehungsberechtigte,

Lungenfachärzte aus Mainz und Frankfurt führen gemeinsam eine wissenschaftliche Studie mit dem Titel „Anwendung des Respimat® Inhalators bei Kindern unter fünf Jahren“ durch. Sie und Ihr Kind haben die Gelegenheit, daran teilzunehmen und einen neuen Inhalator, den Respimat®, kennen zu lernen sowie seine Handhabung zu testen. Das Gerät wurde von der Firma Boehringer Ingelheim entwickelt und bereits erfolgreich zur Inhalationstherapie bei Schulkindern und Jugendlichen eingesetzt. Mit dieser Studie soll jetzt überprüft werden, ob sich das Gerät auch für jüngere Kinder eignet, das heißt inwieweit zum Beispiel Kindergartenkinder damit selbständig inhalieren können bzw. welche Art der Hilfestellung von Eltern und Fachpersonal ggf. notwendig ist. Dabei werden weder ein Medikament noch ein Plazebo verabreicht, so dass kein Risiko für Nebenwirkungen besteht. Allgemeine Hygienestandards werden selbstverständlich berücksichtigt, indem jeder Teilnehmer ein neues Gerät erhält und wieder verwendete Teile entsprechend desinfiziert werden. Die Infektionsgefahr im Rahmen der Studie ist dadurch extrem gering.

Wie wir aus vielen Studien wissen, ist gerade die falsche Handhabung von Inhalationsgeräten ein Grund für mangelnden Behandlungserfolg. Im Rahmen dieser Studie erhalten Sie und Ihr Kind eine kostenfreie kinder-pneumologische Beratung zur bestmöglichen Therapie Ihrer Erkrankung sowie eine kostenlose Schulung am Respimat®. Sie erlernen den korrekten Umgang mit dem Respimat® und können ihn dann erfolgreich zur Therapie einsetzen. Während der Studie inhalieren die Kinder

nur Luft. Der Respimat® enthält kein Medikament oder Plazebo, er ist sozusagen leer und völlig gefahrlos zu benutzen; es können sich vor allem auch keine verschluckbaren Kleinteile vom Gerät lösen. Jedes Kind wird während der Handhabung vom Fachpersonal genau beobachtet und es werden bei korrekter Inhalationstechnik verschiedene Parameter registriert (zum Beispiel Einatemungsfluss, Inhalationsvolumen). Sie geben den Fachleuten am Ende der Studie Aufschluss darüber, ob das Inhalationsmanöver, so wie es Ihr Kind durchgeführt hat, im Rahmen einer Therapie erfolgreich wäre. Außerdem helfen die gewonnenen Daten dabei, die richtige Medikamentendosis für eine spätere Behandlung von Kleinkindern zu finden.

Voraussetzung zur Teilnahme

Kinder bis zum vollendeten 4. Lebensjahr, die unter dauerhaftem Husten, Asthma oder anderen Atemwegserkrankungen leiden und eine inhalative Behandlung benötigen.

Zeitaufwand

Der Zeitaufwand für die Teilnahme an der Studie ist gering; es reicht ein einziger Besuch von Ihnen in der Klinik. Die Tests werden dann inklusive Aufklärung und Fragebogen etwa ein bis zwei Stunden dauern. Gegen einen entsprechenden Nachweis erhalten Sie auch eine Aufwandsentschädigung und eine Fahrtkostenerstattung.

Ablauf der Studie

Nach einem ausführlichen Aufklärungsgespräch und nachdem Sie die Einwilligungserklärung unterschrieben haben, wird Ihr Kind umfassend fachärztlich untersucht. Seine persönlichen Daten werden registriert und anonym gespeichert. Dann beginnt die eigentliche Testphase mit der Erklärung und Demonstration des Respimat® Inhalators durch das Fachpersonal. Anschließend erhält Ihr Kind einen neuen Respimat® und beginnt mit den Inhalationsversuchen. Dabei wird bei Kindern bis zum 2. Lebensjahr eine Vorsatzkammer, die AeroChamber® Plus von der Firma Trudell, mit Maske eingesetzt und Sie als Erziehungsberechtigte müssen assistieren. Dies kann auch bei älteren Kindern der Fall sein, falls sie den Respimat® nicht allein bedienen können. Wenn Ihr Kind nach Einschätzung der Studienärzte ein Inhalationsmanöver korrekt durchgeführt hat, ob mit oder ohne Maske bzw. Ihrer

Hilfe, erfolgen die Messungen (maximal zwei Durchläufe) der Inhalationsparameter durch das Fachpersonal.

Insgesamt werden Kinder bis zum 2. Lebensjahr maximal drei, Kinder zwischen 2 und 3 Jahren maximal sechs und Kinder zwischen 3 und 5 Jahren maximal neun Inhalationsversuche durchführen. Falls keiner dieser Versuche korrekt war, werden auch keine Messdaten erhoben. Nach Beendigung der Tests werden Sie gebeten, zusammen mit Ihrem Kind einen einseitigen Fragebogen auszufüllen. Darin sollen Sie darüber Auskunft geben, wie Ihnen der Respimat® gefallen hat und wie zufrieden Sie mit seiner Handhabung waren.

Anhang 2: Einverständniserklärung

Multizentrische Studie zur „Anwendung des Respimat® Inhalators bei Kindern unter fünf Jahren“

Einverständniserklärung (Informed Consent) der Eltern/Erziehungsberechtigten

Hiermit willige ich ein, dass mein Kind an der Handhabungsstudie mit dem Respimat® Inhalator teilnimmt.

Ich bin als Erziehungsberechtigter in einem persönlichen Gespräch ausführlich und verständlich über Wesen, Bedeutung, Risiken und Tragweite der Studie aufgeklärt worden. Ich hatte darüber hinaus die Gelegenheit zu einem Beratungsgespräch. Alle meine Fragen wurden zufriedenstellend beantwortet. Ich habe den Text der Studienaufklärung/Elterninformation gelesen und verstanden. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden.

Mir ist bekannt, dass ich jederzeit und ohne Angabe von Gründen meine Einwilligung zur Teilnahme an der Studie zurückziehen kann (mündlich oder schriftlich), ohne dass mir bzw. meinem Kind daraus Nachteile entstehen.

Ein Exemplar der Elterninformation habe ich erhalten, gelesen und verstanden. Ein Exemplar der unterschriebenen Einverständniserklärung verbleibt im Prüfzentrum.

Ort, Datum

Name
(Druckbuchstaben)

Unterschrift
(Erziehungsberechtigter1)

Ort, Datum

Name
(Druckbuchstaben)

Unterschrift
(Erziehungsberechtigter 2)

Kind
(Druckbuchstaben)

Ich habe das Aufklärungsgespräch geführt und die Einwilligung des Patienten eingeholt.

Ort, Datum

Name

Unterschrift
(Druckbuchstaben)

Anhang 3: Handhabungsanleitung für Respimat® (ohne Spacer)

Respimat® Inhalator

Anwendung des RESPIMAT Inhalators

Diese Anleitung erklärt die Anwendung und des RESPIMAT Inhalators. **Bitte lesen Sie diese Anleitung aufmerksam durch.**

Der RESPIMAT Inhalator gibt das Medikament langsam und sanft frei, sodass es leicht eingeatmet werden kann.

Der RESPIMAT Inhalator ermöglicht Ihrem Kind das Medikament zu inhalieren, wenn es in einer Kartusche enthalten ist. Die volle Kartusche gibt 60 Hübe ab. In der Schachtel befindet sich der RESPIMAT Inhalator ohne die RESPIMAT Patrone. In dieser Studie wird die Inhalation ohne Patrone durchgeführt, d.h. Ihr Kind inhaliert nur Luft.


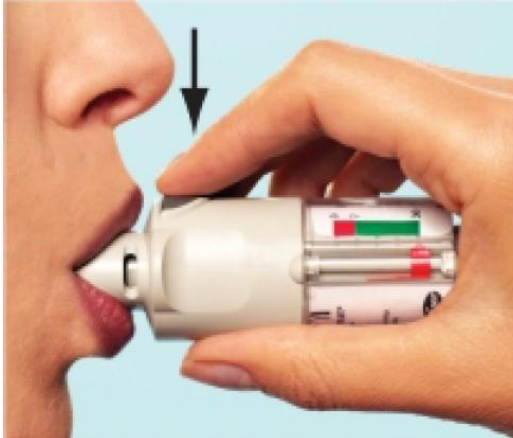


RESPIMAT Inhalator und die RESPIMATPatrone

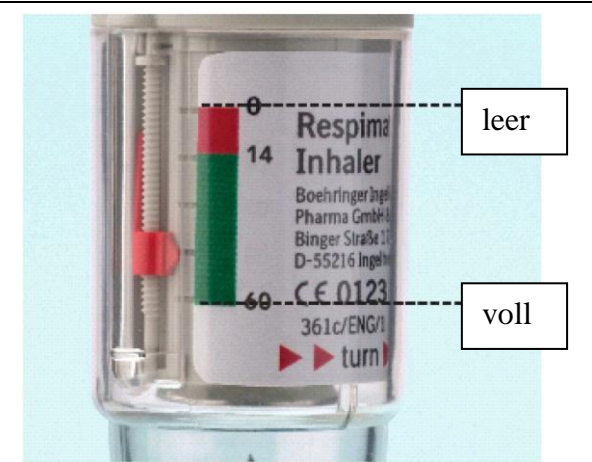
Bitte beachten Sie, dass für diese Studie keine Patrone bereitgestellt wird.

Das Einsetzen der Patrone und die Vorbereitung vor der ersten Anwendung ist bei dieser Handling Studie nicht erforderlich.

Anwendung des Respimat® Inhalators

 <p>I</p>	<p>I Halten Sie den Respimat Inhalator mit geschlossener Schutzkappe aufrecht (verhindert versehentliches Auslösen). Das durchsichtige Gehäuseunterteil in Pfeilrichtung drehen bis es einrastet (eine halbe Umdrehung).</p>
 <p>II</p>	<p>II Die Schutzkappe (A) bis zum Anschlag öffnen. Langsam und tief ausatmen, dann das Ende des Mundstücks mit den Lippen umschließen, ohne dass die Luftschlitze (C) verdeckt sind.</p> <p>Den Respimat Inhalator (waagrecht) in Richtung Rachen halten.</p> <p>Langsam und tief durch den Mund einatmen, gleichzeitig den Auslöser (D) drücken und weiter so lange wie möglich langsam einatmen. Den Atem möglichst 10 Sekunden lang anhalten oder solange, dass es nicht unangenehm wird.</p> <p>Die Schutzkappe bis zum nächsten Gebrauch des RESPIMATInhalators schließen.</p>

Wann benötigen Sie einen neuen Respimat® Inhalator?

	<p>Der Respimat® Inhalator enthält 60 Hübe. Der Dosisindikator zeigt, wie viele Hübe ungefähr noch entnommen werden können. Wenn die Gesamtzahl von 60 Hüben erreicht ist, ist der Respimat® Inhalator leer und sperrt automatisch. Ab diesem Zeitpunkt kann das durchsichtige Gehäuseteil nicht mehr gedreht werden.</p>
---	---

Was ist, wenn...

Was ist, wenn...	Grund	Abhilfe
sich das Gehäuseteil nur schwer bzw. nicht drehen lässt.	4. Der RESPIMAT Inhalator ist bereits vorbereitet und gebrauchsfertig. 5. Der RESPIMAT Inhalator ist nach 60 Hüben (30 therapeutische Dosen) gesperrt.	a) Der RESPIMAT Inhalator ist gebrauchsfertig. b) Einen neuen RESPIMAT Inhalator vorbereiten und benutzen.
sich der Auslöser nicht drücken lässt.	Das durchsichtige Gehäuseteil wurde nicht gedreht.	Das durchsichtige Gehäuseteil drehen bis es einrastet . (halbe Drehung)
das durchsichtige Gehäuseteil nach dem Drehen wieder zurück springt.	Das durchsichtige Gehäuseteil wurde nicht weit genug gedreht.	Den RESPIMAT Inhalator durch Drehen des durchsichtigen Gehäuseteils bis zum Einrasten (halbe Drehung) gebrauchsfertig machen.
sich das durchsichtige Gehäuseteil über den Einrastpunkt hinaus drehen lässt.	Entweder wurde der Auslöser gedrückt oder das durchsichtige Gehäuseteil zu weit gedreht.	Bei geschlossener grüner Schutzkappe das durchsichtige Gehäuseteil bis zum Einrasten drehen (halbe Drehung).

Pflege des Respimat Inhalators

Reinigen Sie das Mundstück einschließlich des inneren Metall-Teiles im Mundstück mit einem trockenen Tuch mindestens einmal die Woche.

Eine geringfügige Verfärbung im Mundstück beeinflusst die Funktionsfähigkeit des RESPIMAT Inhalators nicht.

Falls erforderlich, reinigen Sie auch die Außenfläche des RESPIMAT Inhalators mit einem trockenen Tuch.

Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG
D - 55216 Ingelheim
Germany

Anhang 4: Handhabungsanleitung für Respimat® plus Spacer

RESPIMAT INHALATOR- BOEHRINGER INGELHEIM + SPACER

Anwendung des RESPIMAT Inhalators mit Spacer

Diese Anleitung erklärt die Anwendung und die Pflege des RESPIMAT Inhalators mit Spacer. **Bitte lesen Sie diese Anleitung aufmerksam durch.**

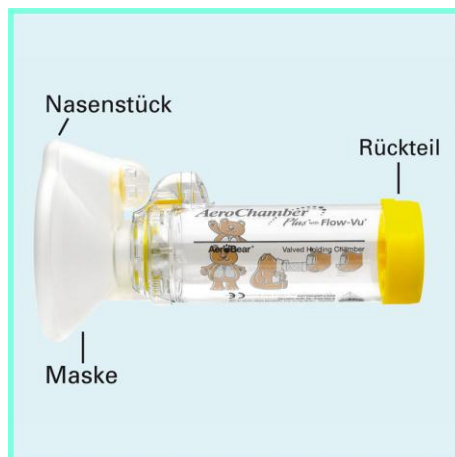
Der RESPIMAT Inhalator gibt das Medikament langsam und sanft frei, sodass es leicht eingeatmet werden kann.

Der RESPIMAT Inhalator mit Spacer ermöglicht Ihrem Kind das Medikament, das in einer Kartusche enthalten ist, einzuatmen. Die volle Kartusche gibt 60 Hübe ab (30 Tagesdosen). **Wenden Sie den Inhalator EINMAL TÄGLICH an**, möglichst immer zur gleichen Tageszeit. **Bei jeder Anwendung werden ZWEI HÜBE direkt nacheinander inhaliert.** Das Medikament reicht für 30 Tage, wenn Sie es gemäß den Anweisungen anwenden.

In der Schachtel befindet sich der RESPIMAT Inhalator. In dieser Studie wird die Inhalation ohne Kartusche durchgeführt, d.h. Ihr Kind inhaliert nur Luft.







RESPIMAT Inhalator und die RESPIMAT Patrone




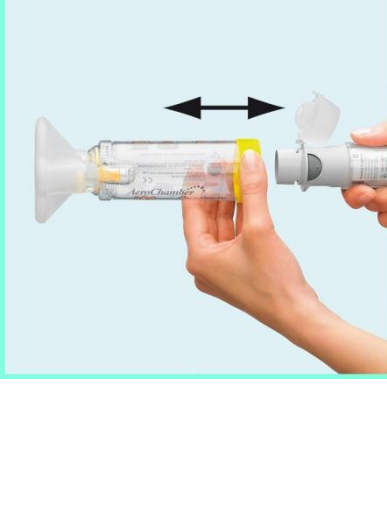


Spacer

Bedienungsanleitung des RESPIMATInhalators + Spacer

Sie brauchen den Inhalator NUR 1x AM TAG anwenden.
Bei jeder Anwendung werden 2 HÜBE inhaliert.

	<p>I Halten Sie den Respimat Inhalator mit geschlossener Schutzkappe aufrecht (verhindert versehentliches Auslösen). Das durchsichtige Gehäuseunterteil in Pfeilrichtung drehen bis es einrastet (eine halbe Umdrehung).</p>
	<p>II Die Schutzkappe (A) bis zum Anschlag öffnen.</p>
	<p>III Nehmen Sie jetzt den Aerochamber Plus. Auf Fremdkörpern achten.</p>
	<p>IV Das Mundstück des Respimat Inhalator in das Rückteil des Spacers schieben.</p>

	<p>V</p> <p>Achten Sie darauf, dass das Nasenstück des Spacers und der Auslöser des Respimat Inhalators auf einer Linie und nach oben zeigen.</p> <p>Die Maske auf das Gesicht des Kindes drücken und achten Sie darauf, dass die Maske gut mit dem Gesicht des Kindes abschließt.</p>
	<p>VI</p> <p>Den Auslöser (D) drücken, wenn das Kind mit langsamer und gleichmäßiger Atmung beginnt.</p>
	<p>VII</p> <p>Halten Sie danach die Maske für 5 Atemzüge möglichst so, dass sie mit dem Gesicht des Kindes gut abschließt.</p> <p>Achten Sie darauf nichts in die Auge zu sprühen.</p>
	<p>XI</p> <p>Dann den Respimat Inhalator und den Spacer auseinander ziehen und die Schutz-Kappe des Respimat Inhalators schließen. Wiederholen Sie nun alle Schritte (I-VIII) noch einmal für einen zweiten Hub, um sicherzustellen, dass Ihr Kind die volle Tagesdosis erhält.</p> <p>Nach der zweiten Inhalation die Schutz-Kappe bis zum nächsten Gebrauch schließen.</p>

Anhang 5: Daten aller Inhalationsprofile der Handhabungsstufen 1 und 2

Patient Nr.	Delta [s]	PIF [L/s]	VCin [L]	Tin [s]	VA [L]	Bewertung
1	0,6	1,79	0,966	1,253	0,694	Ja
1	0,568	1,7	0,926	0,92	0,387	Ja
3	0	0	0	0	0	Nein
3	0	0	0	0	0	Nein
3	0	0	0	0	0	Nein
11	-0,452	0,64	0,583	1,074	0,548	Ja
15	-0,417	1,624	0,324	0,979	0,318	Ja
15	0	0	0	0	0	Nein
15	0	0	0	0	0	Nein
18	0,76	0,53	0,255	0,914	-0,5	Nein
34	0,44	1,47	0,895	0,898	0,562	Ja
34	0,726	1,27	0,824	1,043	0,312	Ja
43	-0,317	0,71	0,718	1,75	0,465	Ja
43	1,08	0,76	0,131	1,04	0,143	Nein
44	0,538	0,61	0,424	1,041	0,272	Ja
44	0,642	0,65	0,481	1,235	0,329	Ja
44	-1,248	0,6	0,526	1,095	0,127	Nein
46	0	0	0	0	0	Nein
49	0,369	1,362	0,674	0,847	0,358	Ja
49	0,871	1,558	0,721	1,409	0,063	Nein
49	1,348	0,76	0,651	1,778	0,042	Nein
50	0,473	0,33	0,382	1,42	0,258	Ja
50	-0,14	0,78	0,45	1,44	0,443	Ja
50	0,308	1,9	0,96	1,136	0,903	Ja
50	-3,42	0,39	0,378	1,51	-0,297	Nein
51	0,79	0,54	0,762	2,373	0,383	Ja
51	-0,781	0,88	0,746	0,945	0,537	Nein
102	0	0	0	0	0	Nein
102	0	0	0	0	0	Nein
103	0	0	0	0	0	Nein
103	0	0	0	0	0	Nein
104	0	0	0	0	0	Nein
104	0	0	0	0	0	Nein
105	2,153	0,29	0,315	2,31	-0,274	Nein
105	1,267	0,4	0,366	1,3	-0,157	Nein
106	0,165	2,546	0,496	0,533	-0,205	Nein
107	0	0	0	0	0	Nein
107	1,713	0,456	0,578	2,101	-0,4	Nein
108	-0,173	0,61	0,36	0,941	0,255	Ja
108	0	0	0	0	0	Nein
109	0,432	0,88	0,506	0,756	-0,265	Nein
109	0	0	0	0	0	Nein
110	-1,023	1	0,566	0,871	0,379	Nein
110	0	0,85	0,394	0	-0,323	Nein

Patient Nr.	Delta [s]	PIF [L/s]	VCin [L]	Tin [s]	VA [L]	Bewertung
121	0,011	1,398	0,572	0,887	0,5	Ja
121	0,426	0,77	0,579	0,921	0,316	Ja
123	-0,362	0,72	1,11	2,065	0,682	Ja
123	-0,663	0,78	0,867	1,527	0,492	Nein
124	-0,299	0,78	0,773	1,76	0,625	Ja
124	0,762	0,62	0,606	1,912	0,376	Ja
127	-0,283	1,11	0,608	1,257	0,603	Ja
127	0,21	0,26	0,137	1,51	0,134	Nein
130	1,338	0,35	0,435	1,711	-0,279	Nein
130	1,066	0,48	0,521	2,918	0,108	Nein
131	-0,346	2,14	1,153	0,809	1,022	Ja
131	-0,373	1,35	0,284	0,268	0,135	Nein
132	-2,054	1,1	0,631	1,306	0	Nein
132	-0,674	1,33	0,514	0,502	0,537	Nein
133	-0,77	0,59	0,408	0,885	0,35	Nein
133	-0,61	0,572	0,3	0,68	0,299	Nein
134	0,29	0,658	0,456	1,94	0,409	Ja
134	1,005	0,296	0,264	1,505	0,113	Nein
136	-0,373	1,242	0,757	1,29	0,717	Ja
136	0,11	0,97	0,576	1,677	0,514	Ja
138	-0,409	1,51	0,734	0,837	0,717	Ja
138	-0,45	1,46	0,241	0,777	0,235	Ja
139	0,145	1,23	0,753	1,188	0,729	Ja
139	0,084	1,416	0,75	0,806	0,637	Ja
139	0	0	0	0	0	Nein
140	-0,315	0,6	0,437	1,295	0,388	Ja
140	0,835	0,47	0,241	0,965	-0,114	Nein
144	-0,105	0,8	0,608	0,935	0,538	Ja
144	0,07	0,84	0,412	0,663	0,071	Nein
144	0,42	0,68	0,312	0,64	-0,478	Nein
147	-0,707	0,74	0,637	1,637	0,393	Nein
147	-1,23	0,53	0,474	1,27	0,024	Nein

Anhang 6: Daten aller Inhalationsprofile der Handhabungsstufe 3

Patient Nr.	Delta2 [s]	Count	VA [L]	Vin [L]	PIFA [L/s]	Bewertung
2	-1,657641	2	0,373	0,356	0,54	Ja
5	-0,839477	7	0,319	0,319	0,22	Ja
5	-0,144182	7	0,331	0,33	0,15	Ja
7	-0,784033	1	0,182	0,18	0,45	Nein
8	-18,144546	0	0	0,052	0,01	Nein
8	-2,123806	4	0,124	0,128	0,24	Nein
8	-0,123738	7	0,319	0,317	0,37	Ja
9	-0,453343	6	1,03	1,027	0,44	Ja
9	-0,652026	6	1,462	1,459	0,88	Ja
10	-0,064547	0	0,012	0,012	0,1	Nein
10	-0,351464	5	0,371	0,364	0,2	Ja
10	-1,334503	7	0,352	0,351	0,15	Ja
11	-0,055288	0	0,023	0,023	0,08	Nein
11	-0,273182	5	0,892	0,891	0,36	Ja
12	-4,053873	2	0,132	0,124	0,3	Nein
12	-4,872503	2	0,194	0,192	0,49	Ja
14	-2,913575	4	0,403	0,4	0,31	Ja
14	-1,269641	6	0,776	0,776	0,54	Ja
16	-0,402073	3	0,556	0,554	0,32	Ja
16	-2,755843	2	0,2	0,2	0,22	Ja
16	-2,930231	4	0,233	0,233	0,19	Ja
17	-5,463997	0	0,001	0	0,04	Nein
17	-0,064915	0	0	0	0,04	Nein
18	-0,834864	4	1,105	1,094	0,56	Ja
18	-0,292999	6	1,54	1,536	0,67	Ja
20	-1,519868	3	0,147	0,147	0,15	Nein
20	-1,603723	4	0,566	0,566	0,64	Ja
21	-3,726275	3	0,853	0,849	0,6	Ja
21	-2,988486	4	1,35	1,305	0,82	Ja
22	-0,758572	6	0,535	0,534	0,28	Ja
22	-0,597331	7	0,558	0,556	0,41	Ja
23	-1,926617	5	1,048	1,048	0,39	Ja
23	-0,096125	6	1,181	1,181	0,48	Ja
24	-1,388316	4	0,646	0,629	0,35	Ja
24	-0,829861	3	0,488	0,486	0,43	Ja
25	-1,922803	0	0,001	0,001	0,1	Nein
26	-6,608209	2	0,175	0,173	0,18	Ja
26	-1,225091	4	0,49	0,486	0,24	Ja
27	-0,05566	0	0	0	0,03	Nein
27	-2,719829	2	0,187	0,18	0,46	Ja
28	-3,297795	6	0,964	0,929	0,49	Ja
28	-1,544791	4	1,121	1,111	0,52	Ja
31	-0,124792	0	-0,006	-0,011	0,09	Nein
31	/	0	0	0	0	Nein
35	-7,392593	2	0,188	0,188	0,4	Ja
35	-5,651434	2	0,163	0,162	0,38	Ja
36	-0,05534	0	0,068	0,068	0,08	Nein
36	-6,445833	1	0,3	0,216	0,99	Ja
37	-1,097648	5	0,618	0,614	0,3	Ja
37	-0,501733	8	0,776	0,77	0,34	Ja

Patient Nr.	Delta2 [s]	Count	VA [L]	Vin [L]	PIFA [L/s]	Bewertung
38	-2,991443	1	0,11	0,109	0,44	Nein
38	-1,536833	7	0,616	0,615	0,46	Ja
39	-0,646909	3	0,61	0,605	0,46	Ja
39	-0,353145	6	1,347	1,342	0,55	Ja
40	-12,900347	2	0,046	0,045	0,14	Nein
40	-2,485593	5	0,555	0,552	0,33	Ja
41	-4,232946	3	0,3	0,297	0,26	Ja
41	-0,105514	6	0,364	0,364	0,33	Ja
42	-6,681062	2	0,033	0,033	0,18	Nein
42	-0,06458	4	0,084	0,083	0,33	Nein
45	-17,693392	0	0	0	0,01	Nein
45	-0,655841	6	0,488	0,488	0,2	Ja
46	/	0	0	0	0,01	Nein
46	-3,198024	3	0,322	0,312	0,34	Ja
47	-1,32774	6	0,764	0,762	0,37	Ja
47	-3,180156	2	0,852	0,839	0,43	Ja
48	-6,412	3	0,393	0,388	0,39	Ja
48	-3,264926	5	0,474	0,428	0,32	Ja
52	/	0	0	0	0	Nein
52	-9,025632	1	0,15	0,149	0,85	Ja
52	-2,736297	2	0,369	0,366	1,03	Ja
53	-11,653528	0	0	0,001	0,02	Nein
53	-1,140343	3	0,224	0,221	0,14	Ja
54	-1,112085	4	1,506	1,498	0,57	Ja
54	-1,839783	6	1,435	2,362	0,52	Ja
55	-2,017966	3	0,067	0,067	0,14	Nein
55	-4,014723	4	0,134	0,132	0,2	Ja
103	-1,937285	1	-0,381	-0,048	0,28	Nein
103	-4,716056	0	-0,214	0,217	0,35	Nein
111	-4,129543	4	1,188	1,178	0,47	Ja
111	-1,621715	4	0,746	0,736	0,31	Ja
112	-0,319965	5	0,444	0,432	0,47	Ja
112	-0,147637	7	0,619	0,615	0,49	Ja
113	-3,169054	4	0,452	0,448	0,3	Ja
113	-1,471148	5	0,497	0,495	0,32	Ja
114	-1,019778	4	0,88	0,877	0,54	Ja
114	-0,14644	5	0,997	0,997	0,47	Ja
115	-1,679114	1	0,03	0,031	0,09	Nein
115	-2,006841	2	0,125	0,121	0,17	Nein
116	-0,657254	3	0,409	0,407	0,19	Ja
116	-0,512892	3	0,432	0,429	0,19	Ja
117	-1,189148	7	0,271	0,271	0,15	Ja
117	-0,196406	6	0,204	0,201	0,12	Ja
118	-3,045912	5	0,361	0,34	0,27	Ja
118	-1,529352	4	0,171	0,222	0,26	Ja
119	-2,308403	4	1,2	1,166	0,43	Ja
119	-1,436713	5	1,179	1,175	0,56	Ja
120	-0,05589	0	0	0	0	Nein
120	-3,387686	4	0,33	0,321	0,3	Ja
121	-0,593126	5	2,415	2,409	0,78	Ja

Patient Nr.	Delta2 [s]	Count	VA [L]	Vin [L]	PIFA [L/s]	Bewertung
122	-0,055162	0	0	0	0,01	Nein
122	/	0	0	0	0	Nein
125	-0,855247	3	0,415	0,396	0,38	Ja
125	-4,397411	3	0,94	0,928	0,85	Ja
126	-0,796185	5	0,63	0,626	0,3	Ja
126	-1,029887	4	0,496	0,493	0,34	Ja
128	-3,421472	3	0,14	0,135	0,61	Nein
128	-2,848389	4	0,255	0,253	0,25	Ja
129	-0,064253	0	0	0	0,05	Nein
129	-7,618346	5	0,261	0,254	0,43	Ja
134	-4,954165	4	0,14	0,176	0,13	Nein
134	-0,929245	10	0,805	0,858	0,4	Ja
137	-2,866971	5	1,462	1,507	0,59	Ja
137	-1,233999	7	0,828	0,828	0,71	Ja
141	-1,528059	6	2,12	2,404	0,61	Ja
141	-1,146373	6	2,362	2,661	0,85	Ja
142	-2,83676	3	0,22	0,22	0,12	Ja
142	-0,243726	4	0,565	0,56	0,23	Ja
143	-4,060385	3	0,79	0,752	0,38	Ja
143	-1,54197	6	1,41	1,481	0,51	Ja
145	-1,089586	4	0,548	0,542	0,34	Ja
145	-1,025024	5	1,169	1,165	0,41	Ja
146	-0,057085	0	0	0	0	Nein
146	-0,055082	0	0	0	0,03	Nein
148	-0,968624	3	1,312	1,305	0,69	Ja
148	-0,370857	8	2,327	2,319	0,69	Ja
149	-0,394839	0	0,022	0,022	0,08	Nein
149	-0,484999	4	0,826	0,799	0,49	Ja
150	-0,472831	7	1,774	1,769	0,7	Ja
150	-0,127435	5	1,713	1,711	0,91	Ja
151	-0,333022	5	1,579	1,574	0,58	Ja
151	-0,088134	5	0,94	0,936	0,53	Ja
152	-2,43275	3	0,373	0,369	0,25	Ja
152	-0,787648	5	0,447	0,442	0,21	Ja

Anhang 7A: Patienteninformationsblatt Vorderseite

Lieber Patient, liebe Patientin,

Ihre Feuchtinhalation erfordert von Ihnen viel Zeit und Disziplin. Eine Möglichkeit den Zeitbedarf der Feuchtinhalationstherapie zu verringern, ist das Mischen von Inhalationsarzneimitteln im Verneblergefäß. Allerdings, darf das Mischen nur erfolgen, wenn die Arzneimittel miteinander verträglich sind.

Informationen zur Mischbarkeit von Inhalationslösungen und -suspensionen finden Sie in der Übersichtstabelle auf der Innenseite dieses Informationsblatts.

Mischen Sie nur Arzneimittel für die die Mischbarkeit nachgewiesen ist.

Mischbar

Mischbarkeit der Arzneimittel ist nachgewiesen

Nicht mischen

Mischbarkeit der Arzneimittel wurde nicht untersucht

Nicht mischen

Arzneimittel sind nicht mischbar.

Stand: November 2009

Wenn Sie Fragen zu diesem Thema haben, stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung

Prof. Dr. rer. nat. Irene Krämer
kraemer@apotheke.klinik.uni-mainz.de

Anja Klemmer, Apothekerin
klemmer@apotheke.klinik.uni-mainz.de

Dr. Astrid Schwabe, Apothekerin

Christine Stanko, Apothekerin

Apotheke der Universitätsmedizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Langenbeckstraße 1, 55101 Mainz

Privatdozent Dr. med. Wolfgang Kamin
wkamin@evkhamm.de
Werler Straße 130, 59063 Hamm

Referenzen:

Kamin W et al. Inhalation solutions: which one are allowed to be mixed? Physico-chemical compatibility of drug solutions in nebulizers. J Cyst Fibros 2006; 5:205-13.

Kamin W et al. Physicochemical compatibility of fluticasone-17-propionate nebulizer suspension with ipratropium and albuterol nebulizer solutions Int J Chron Obstruct Pulmon Dis 2007; 2:599-607.

Krämer I et al. Physicochemical compatibility of nebulizable drug mixtures containing dornase alfa and ipratropium and/or albuterol. Pharmazie 2007; 62:760-6.

Stanko C et al. Physico-chemical compatibility of nebulizable drug mixtures containing colistimethate, albuterol, fluticasone and ipratropium. In preparation.



Patienteninformation

■ Mischbarkeit von Arzneimitteln für die Feuchtinhalationstherapie



UNIVERSITÄTSmedizin.

MAINZ

Anhang 7B: Patienteninformationsblatt Innenseite

Mischbarkeit ausgewählter Inhalationslösungen/-suspensionen

Wählen sie in der obersten Zeile Ihr Arzneimittel und in der linken Spalte Ihr zweites Arzneimittel.

Das Feld in dem sich die Spalte und Zeile kreuzen, gibt Ihnen die gewünschte Information zur Mischbarkeit nach dem Ampelschema.

	Dornase alfa	Tobramycin	Colistimethat	Ipratropium	Salbutamol	Budesonid	Fluticason-17-propionat	DNCG
	Pulmozyme®	Tobi®, Gernebcin®	Colistin CF®	Atrovent®, Atrovent® Fertiginhalat	Sultanol®, Sultanol® Fertiginhalat	Pulmicort®	Flutide®	Intal®
Dornase alfa		Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Mischbar	Nicht mischen	Nicht mischen
Tobramycin	Nicht mischen		Nicht mischen	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Nicht mischen
Colistimethat	Nicht mischen	Nicht mischen		Mischbar**	Mischbar**	Nicht mischen	Mischbar**	Nicht mischen
Ipratropium	Nicht mischen	Mischbar	Mischbar**		Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar**
Salbutamol	Nicht mischen	Mischbar	Mischbar**	Mischbar		Mischbar	Mischbar	Mischbar**
Budesonid	Mischbar	Mischbar	Nicht mischen	Mischbar	Mischbar		*	Mischbar
Fluticason-17-propionat	Nicht mischen	Mischbar	Mischbar**	Mischbar	Mischbar	*		Nicht mischen
DNCG	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Mischbar**	Mischbar**	Mischbar	Nicht mischen	

*Mischung aus klinischer Sicht nicht sinnvoll **Mischbarkeit gilt nur für die Fertiginhalate

Für folgende 3er und 4er Mischungen ist die Mischbarkeit nachgewiesen:

- Ipratropium (Atrovent®) + Salbutamol (Sultanol®) + Tobramycin (TOBI® oder GERNEBCIN®)
- Ipratropium + Fenoterol (Berodual®) + Budesonid (Pulmicort®)
- Ipratropium (Atrovent®) + Salbutamol (z.B. Sultanol®) + Fluticason-17-propionat (Flutide®)
- Ipratropium (Atrovent® nur als Fertiginhalat) + Albuterol (Sultanol® nur als Fertiginhalat) + DNCG (z.B. Intal®)
- Ipratropium (Atrovent® nur als Fertiginhalat) + Albuterol (Sultanol® nur als Fertiginhalat) + Fluticason-17-propionat (Flutide®) + Colistimethat (Colistin CF®)

Mischen Sie die Arzneimittel erst kurz vor der Inhalation und vernichten Sie eventuell verbleibende Reste.

Anhang 8: Übersichtstabelle zur In-/Kompatibilität ausgewählter Inhalationslösungen und Inhalationssuspensionen

	Dornase alfa	Tobramycin	Tobramycin	Colistimethate	Ipratropium	Salbutamol	Budesonid	Fluticasone-17-propionat	DNCG	Hypertone NaCl-Lösung
	Pulmozyme®	Bramitob® TOBI®,	Gernebcin®	Colistin CF®	Atrovent®, Atrovent® Fertiginhalat	Sultanol®, Sultanol® Fertiginhalat	Pulmicort®	Flutide®	Intal®	5,85%-ige NaCl-Lösung
Dornase alfa		Mischbar#	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Mischbar	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen
Tobramycin Bramitob®, TOBI®	Mischbar#			Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Nicht mischen	Nicht mischen
Tobramycin Gernebcin®	Nicht mischen			Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Nicht mischen	Nicht mischen
Colistimethate	Nicht mischen	Mischbar	Mischbar		Mischbar**	Mischbar**	Mischbar	Mischbar	Nicht mischen	Mischbar
Ipratropium	Nicht mischen	Mischbar	Mischbar	Mischbar**		Mischbar#	Mischbar	Mischbar#	Mischbar**	Nicht mischen
Salbutamol	Nicht mischen	Mischbar	Mischbar	Mischbar**	Mischbar#		Mischbar	Mischbar#	Mischbar**	Nicht mischen
Budesonid	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar		*	Mischbar	Mischbar
Fluticasone-17-propionat	Nicht mischen	Mischbar	Mischbar	Mischbar	Mischbar#	Mischbar#	*		Nicht mischen	Nicht mischen
DNCG	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Mischbar**	Mischbar**	Mischbar	Nicht mischen		Nicht mischen
Hypertone NaCl-Lösung	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Nicht mischen	Mischbar	Nicht mischen	Nicht mischen	
*Mischung aus klinischer Sicht nicht sinnvoll **Mischbarkeit gilt nur für Fertiginhalate										
# aerodynamische Eigenschaften wurden untersucht und wurden durch das Mischen nicht beeinflusst										

Publikationen

Krämer, I., Klemmer, A., Betasympathomimetika und andere Arzneimittel zur Feuchtinhalation, Pharmazie in unserer Zeit, 2011 (40), 403 – 409

Klemmer, A., Krämer, I., Kamin, W., Physicochemical compatibility and stability of nebulizable drug pulmonary pharmacology and therapeutics admixtures containing dornase alfa and tobramycin. Eingereicht bei Pulmonary Pharmacology and Therapeutics am 07.02.2012

Klemmer, A., Krämer, I., Kamin, W., Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing colistimethate and tobramycin. Eingereicht bei Respiratory Care am 28.03.2012

Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing budesonide and colistimethate or hypertonic saline. Eingereicht bei International Journal of Pharmaceutical Compounding am 09.04.2012

Posterbeiträge

Klemmer, A., Kamin, W., Stanko, C, Krämer, I. (2009) Compatibility of inhalation solution admixtures- development of a patient information leaflet.
44th ASHP Midyear Clinical Meeting, Las Vegas, 06.–10.12.2009

Klemmer, A., Kamin, W., Krämer, I. Mischbarkeit von Inhalationslösungen zur Feuchtinhalation- Entwicklung einer Informationsbroschüre für Patienten.
35.Wissenschaftlicher KongressADKA e.V., Freiburg, 29.04–02.05.2010

Klemmer, A., Krämer, I., Physicochemical compatibility of nebulizable drug admixtures containing colistimethate and budesonide.
40th ESCP Symposium on Clinical Pharmacy, Dublin, 19.-21.10.2011

Klemmer, A., Kamin, W., Krämer, I., Physikalisch-chemische Kompatibilität und aerodynamische Eigenschaften von Mischinhalaten aus Pulmozyme® und Bramitob® bei simultaner Feuchtinhalation.
14. Deutsche Mukoviszidose-Tagung, Würzburg, 18.–19.11.2011

Kamin, W., Bannemer-Schult, K., Klemmer, A., Schulze Schwienhorst, P., Wachtel, H., Zielen, S., Children below 5 years of age can handle Respimat® SoftMist™ Inhaler.
International Conference of the American Thoracic Society, New Orleans,
14.–19.05.2010

Kamin, W., Klemmer, A, Schulze Schwienhorst, P., Bannemer-Schult, K., Zielen, S., Wachtel, H., Flow profile data indicate that Respimat® with spacer is suitable for inhalation therapy of pre-school children.
18th International Congress of the International Society for Aerosols in Medicine,
Rotterdam, 18.-22.06.2011

