

Abschlussbericht

1. Titel der Studie	Nasale Inhalation von Tobramycin mit dem Pari Sinus-Vernebler (Fa. Pari) bei Patienten mit Mukoviszidose und Pseudomonasnachweis im Nasen-Nasennebenhöhlenbereich. - doppelblind placebokontrollierte, randomisierte, bizen trische, prospektive klinische Parallel-Gruppen-Studie mit fakultativer Zusatzbehandlung -
Prüfpräparat:	Gernebcin [®] 1 x /d 80 mg Tobramycin (InfectoPharm Arzneimittel und Consilium GmbH)
Indikation:	Mukoviszidose
Name des Sponsors:	Universitätsklinikum Jena
Kurztitel der klinischen Studie:	tobra-nasal-cf
Phase der Studie:	II
Studienbeginn (First Patient in):	18.11.2008
Studienende (Last Patient out):	25.10.2010
Leiter der Studie:	Dr. med. Jochen Mainz
Verantwortlich für Bericht	Dr. med. Jochen Mainz Telefon: 03641-938425 Fax: 03641-938314
Datum des Studienberichts:	23.11.2011
Dieser Studienbericht wurde nach GCP abgefasst	

2. Synopsis

Studiencode	tobra-nasal-cf pilot
EudraCT-Nummer	2008-000164-17
Titel der Studie	Nasale Inhalation von Tobramycin mit dem Pari Sinus-Vernebler bei Patienten mit Mukoviszidose und Pseudomonasnachweis im Nasen-/Nasennebenhöhlenbereich
Studiendesign	Pilotstudie: doppelblinde placebokontrollierte bizenrische randomisierte Parallel-Gruppen-Studie der Phase II
Geplante Patientenzahl	Pilotstudie: 10 bis 14 (5-7 : 5-7) Patienten mit Mukoviszidose und Pseudomonasnachweis in der Nase / Nasennebenhöhlen
Fallzahlberechnung	Die Pilotstudie liefert Schätzungen für die Verteilung des primären Zielparameters. Diese Schätzungen dienen als Basis der Fallzahlberechnung der Hauptstudie.
Studiendauer	Studienbeginn: 01.08.2008 Geplante Studiengesamtdauer: 14 Monate Studiendauer (klinischer Teil) / Patient: 60 Tage
Fragestellung	1. Eradikation / Keimzahlreduktion <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2. Arzneimittelsicherheit / Verträglichkeit 3. Fallzahlberechnung für eine anschließende Hauptstudie 4. Beeinflussung der HNO-Symptomatik durch nasale Antibiotika-Inhalation
Primäres Zielkriterium	Senkung der <i>P. aeruginosa</i> -Keimzahl-Klassifizierung in nasaler Lavage
Sekundäre Zielkriterien	1. Arzneimittelsicherheit Tobramycin nasal (nur bei Pilotstudie) - Serumspiegel in nicht toxischen Bereich - Schleimhautverträglichkeit 2. Verbesserung des subjektiven Symptomenscores SNOT-20 adapt CF / Patiententagebuch 3. Nachweis von <i>P. aeruginosa</i> im Sputum / Rachenabstrich 4. Genotypisierung von <i>P. aeruginosa</i> 5. Rhinoskopie-Befund (Polypengröße, Schleimhaut, Sekret) 6. Rhinomanometrie (nur bei Pilotstudie) 7. Zytologie, Zytokine in der nasalen Lavage 8. Inzidenz rhinosinusitischer und pulmonaler Exazerbationen
Einschlusskriterien	1. Gesicherte Mukoviszidose (3 positive Schweißtests und / oder genetische Diagnosesicherung) 2. Nachweis von <i>P. aeruginosa</i> in nasaler Lavage (Kultur) bei chronischer <i>P. aeruginosa</i> Besiedlung der Lunge (ab Tag – 28) 3. Es liegt eine vom Patienten und/ oder von den Eltern unterschriebene Einverständniserklärung vor 4. Patientenalter > 7 Jahre 5. Mitarbeitsfähigkeit für die nasale Inhalation mit dem Pari Sinus und die Durchführung nasaler Lavagen muss gegeben werden. 6. bei gebärfähigen Frauen: effektive Methode der Kontrazeption

	während der gesamten Studiendauer (Methoden mit einer Ausfallsrate von unter 1% (z.B. Spirale, Monatsspritzen, kombinierte orale Kontrazeptiva, bestimmte Diaphragmen, sexuelle Abstinenz oder Vasektomie des Partners.)
Ausschlusskriterien	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kritischer Allgemeinzustand: FEV1 < 30%, SaO2 < 93 % ohne O2-Substitution 2. HNO-Operation innerhalb von 3 Monaten vor Studieneinschluss 3. Nasale Blutungszeichen 4. Trommelfellperforation 5. Exazerbation bei Einschluss, die eine neue pseudomonaswirksame systemische Antibiose notwendig macht 6. Fehlende Arbeitsfähigkeit (Nasale Lavage / Inhalation) 7. Kontraindikationen und anamnestisch bekannte klinisch relevante Nebenwirkungen/Wechselwirkungen von Gernebcin® bzw. Tobramycin oder des verwendeten Placebos 8. Patientin ist schwanger oder stillt 9. Der Patient nimmt an einer weiteren Studie innerhalb von 30 Tagen vor Studienbeginn und 30 Tagen nach Studienende teil 10. Systemisch (oral oder intravenös) pseudomonaswirksame Antibiotikatherapie 14 Tage vor Einschluss oder im Verlauf der Studie 11. Wenn bei Tobramycin-Blutspiegelkontrolle 1 Stunde nach der ersten Inhalation Werte von über 2,0 mg/l erreicht werden, ist von der weiteren Studienteilnahme abzusehen 12. Fortgeschrittene Niereninsuffizienz 13. Schwere Schädigung des 8. Hirnnervs 14. Schwindel (mögliche Einschränkungen des N. vestibularis)
Prüfpräparat	Tobramycin (Gernebcin® 1 x 80 mg/d auf 2 ml), Applikation als nasale Inhalation vernebelt mit dem Pari Sinus; Inhalationszeit: 2,5 Minuten in jeden Nasengang. Resultierende Dosierung ca. 1 ml in jeden Nasengang, 1 x /Tag. Bei nasaler Obstruktion vor Inhalation nasale Lavage mit 2 x 125 ml NaCl 0,9% und ggf. Alpha-Sympathomimetika. Dauer der Gabe 28 Tage in Gruppe 1 (PHASE A)
Vergleichstherapie	Nasale Inhalation mit Placebo (Trägerlösung von Gernebcin® ohne Wirkstoff), Applikationsart und -volumen wie Prüfpräparat Dauer der Gabe 28 Tage in Gruppe 2 (PHASE A)
Fakultative Zusatzbehandlung	Nach Abschluss der initialen DBPC-Behandlung über 28 Tage wird beiden Gruppen ein weiterer freiwilliger Therapiezyklus über 28 Tage mit entblindetem Gernebcin® angeboten. (PHASE B)

3. Inhaltsverzeichnis

1.	Titel der Studie	1
2.	Synopsis	2
3.	Inhaltsverzeichnis	4
4.	Abkürzungsverzeichnis	6
6.	Prüfer	8
7.	Einleitung	10
8.	Studienziele	11
8.1	Primäres Ziel.....	11
8.2	Definition der Zielkriterien.....	12
9.	Studie	13
9.1	Studiendesign.....	13
9.2	Diskussion zum Stellenwert der Studie.....	14
9.3	Studienpopulation.....	15
9.3.1	Einschlusskriterien.....	15
9.3.2	Ausschlusskriterien.....	15
9.3.3	Ausschluss einzelner Patienten nach Komplettierung der 28tägigen Therapiephase.....	16
9.4.	Behandlung.....	17
9.4.1	Behandlung in den Studienarmen.....	17
9.4.2	Identifikation des Prüfmedikamentes.....	17
9.4.3	Zuteilung der Patienten.....	17
9.4.4	Wahl der Dosierung in der Studie.....	18
9.4.5	Wahl und Zeitpunkt der Dosierung für jeden einzelnen Patienten.....	19
9.4.6	Verblindung.....	19
9.4.7	Begleittherapie.....	19
9.4.8	Mitarbeit der Patienten (treatment compliance).....	21
9.5	Untersuchungen und Zeitplan der Studie	21
9.5.1	Flowchart.....	21

9.5.2	<i>Untersuchungen und Anwendungen</i>	22
9.6	<i>Qualität der Daten</i>	27
9.7	<i>Statistische Analyse</i>	27
10.	<i>Studienpatienten</i>	27
10.1	<i>Patientenanzahl</i>	27
10.2	<i>Protokollabweichungen</i>	28
10.3	<i>Beurteilung der Wirksamkeit</i>	28
10.3.1	<i>Einfluss von Gernebcin® oder Placebo auf den Sino-Nasal-Outcome-Test (SNOT)</i>	30
10.3.2	<i>Einfluss von Gernebcin® oder Placebo auf die Lungenfunktion</i>	31
11.	<i>Safety</i>	32
12.	<i>Diskussion und Schlussfolgerungen</i>	33
13.	<i>Anhänge</i>	35
14.	<i>Erklärung</i>	35
15.	<i>Literaturverzeichnis</i>	36

4. Abkürzungsverzeichnis

CF	Cystische Fibrose (Mukoviszidose)
CRF	Case Report Form (Datenerhebungsbogen)
cRS	Chronische Rhinosinusitis
DBPC	Double blind placebo controlled
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ESS	endoscopic sinus surgery
FIO ₂	Inspiratorische Sauerstoffkonzentration in %
GCP	Good Clinical Practice (Guideline ICH E6)
ICH	International Conference on Harmonisation
LBP	Lipopolysaccharid-bindendes Protein
LKP	Leiter der Klinischen Prüfung
LTX	Lungentransplantation
LQ	Lebensqualität
MMAD	Mass median aerodynamic diameter
NL	Nasale Lavage
NNH	Nasennebenhöhlen
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
P. a.	Pseudomonas aeruginosa
PC	Placebo-kontrolliert (controlled)
PCR	Polymerase Ketten (chain) Reaktion
oAW	Obere Atemwege
Rö	Röntgen
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
RhM	Rhinomanometrie
SaO ₂	Sauerstoff-Sättigung
SH	Schleimhaut
SNOT20 adapt-CF	sino-nasal-outcome-Test, adaptiert für CF
SNPs	Single nucleotide polymorphism
SUE	Schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis
uAW	Untere Atemwege
UE	Unerwünschtes Ereignis

5. Ethik

- 5.1. Der Prüfplan der Pilotstudie wurde den Ethikkommissionen der Friedrich-Schiller-Universität Jena und der Universität Tübingen vorgelegt und von ihnen genehmigt.
- 5.2. Die Deklaration von Helsinki wurde auf die klinische Prüfung angewandt, ebenso die gute klinische Praxis (GCP) für die klinische Prüfung von Arzneimitteln der Europäischen Gemeinschaft in der aktuellen Version. Es handelte sich um eine wissenschaftliche klinische Studie, das Arzneimittelgesetz (AMG) § 40 fand unter Berücksichtigung von § 42 uneingeschränkte Anwendung.
- 5.3. Die Mukoviszidosepatienten unserer Klinik wurden auf die Ein- und Ausschlusskriterien hin untersucht. Soweit alle Kriterien zutrafen, wurden sie über die Studie informiert und spätestens vor Beginn der Untersuchungen zum Tag 1 in die Studie eingeschlossen.

6. Prüfer

Leiter der klinischen Prüfung (LKP) laut § 40 AMG der Studie

Dr. Jochen Mainz
Leiter des Mukoviszidosezentrums des Universitätsklinikums Jena
Kochstraße 2, 07740 Jena
Tel.: 03641 - 938 425
Fax: 03641 - 938 314
Email: Jochen.Mainz@med.uni-jena.de

Sponsor der klinischen Prüfung

Medizinische Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena
Bachstraße 18, 07743 Jena
Tel.: 03641 - 938 425
Fax: 03641 - 938 314
Email: Jochen.Mainz@med.uni-jena.de

Autoren der klinischen Prüfung

1. Dr. Jochen Mainz
Leiter des Mukoviszidosezentrums des Universitätsklinikums Jena,
Kochstraße 2, 07740 Jena
Tel.: 03641 - 938 425
Fax: 03641 - 938 314
Email: Jochen.Mainz@med.uni-jena.de
2. Dr. med. Joachim Riethmüller
Leiter des Studiensekretariates der Universitäts-Kinderklinik Tübingen,
Hoppe-Seyler-Str. 1, 72076 Tübingen
Tel.: 07071 - 298 1391
Fax: 07071 - 29 5804
Email: joachim.riethmueller@med.uni-tuebingen.de
3. Dr. med. Assen Koitschev
HNO-Klinik der Universität Tübingen
Elfriede-Aulhorn-Str. 5, 72076 Tübingen
Tel.: 07071 - 29 88 08 8
Fax: 07071 - 29 33 11
Email: assen.koitschev@med.uni-tuebingen.de
4. Dr. med. Hans-Joachim Mentzel
Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Bachstrasse 18, D- 07740 Jena
Tel.: 03641 - 93 53 58
Fax: 03641 - 93 67 67
Email: hans-joachim.mentzel@med.uni-jena.de

Studienkoordinator

Isabella Schiller
Universitätsklinikum Jena
Zentrum für klinische Studien
Salvador-Allende-Platz 29, 07747 Jena
Tel: 03641 – 93 96 654
Fax: 03641 – 93 99 969
Email: Isabella.Schiller@med.uni-jena.de

Verantwortlicher Biometriker

Dr. Bärbel Wiedemann
TU Dresden, Medizinische Fakultät "Carl Gustav Carus"
Institut für Medizinische Informatik und Biometrie,
Fetscherstraße 74, 01307 Dresden
Tel.: 0351 – 31 77 21 3
Fax: 0351 – 31 77 333 07
E-mail: wiedemann@imib.med.tu-dresden.de

7. Einleitung

Rhinosinuitische Beschwerden sind häufig mit der Grundkrankheit Mukoviszidose (CF) assoziiert. Sie können die Lebensqualität erheblich einschränken und Anlass für wiederholte HNO-Operationen geben. Daneben ist, nicht zuletzt auf Grundlage einer vorausgehenden Querschnittsstudie unseres Studienzentrums, von einem engen Zusammenhang der Keimbesiedlung in den oberen und unteren Atemwegen auszugehen. Problemkeime der oberen Atemwege (oAW) entsprechen genotypisch in hohem Maß Problemkeimen der unteren Atemwege (uAW). Außerdem sehen wir die oAW als häufige Eintrittspforte für Problemkeime wie *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), der schließlich etwa 80% der erwachsenen Mukoviszidosepatienten dauerhaft besiedelt. Dabei ist die chronische Infektion mit *P. aeruginosa* ein prognostisch sehr ungünstiger Faktor für den Langzeitverlauf mit Mukoviszidose. Nur durch sehr konsequente keimreduzierende Therapie kann die chronisch progrediente Destruktion im Rahmen der Pseudomonasbesiedlung gemindert werden. Diese erfolgte bisher im Sinne einer zielorientierten Behandlung nur für die unteren Atemwege. Die Keimbesiedlung der oAW wurde nur als Nebeneffekt einer systemischen Antibiotikatherapie behandelt. Die bei chronischer Pseudomonasbesiedlung der unteren Atemwege weithin als Standard akzeptierte inhalative Antibiotika-Dauertherapie erreicht bei allen Patienten, die standardgemäß über den Mund inhalieren die oAW nicht. Zusätzlich standen bisher keine Inhalationssysteme zur Verfügung, die eine Deposition von Aerosol in den Nasennebenhöhlen ermöglichen, einem speziellen Reservoir für die genannten Problemkeime. Unsere Pilotstudie zur nasalen Inhalation von Gernebcin® über den neuen, speziell zur Deposition von Aerosol in den Nasennebenhöhlen entwickelten Pari Sinus kann diese Lücke schließen. Patienten mit chronischer Pseudomonasbesiedlung und sinonasalen Beschwerden sollen über 28 Tage placebokontrolliert und im doppelblind-placebokontrollierten Parallelgruppen-Design Gernebcin® 1 x /d 80 mg inhalieren. Auch vor dem Hintergrund, den initial mit Placebo behandelten Patienten eine vermutlich wirksame Therapie gegen die Pseudomonasbesiedlung in den oberen Atemwegen zu bieten, können beide Gruppen,

wenn dies vom Patienten gewünscht ist, beginnend mit d30 (dem 2ten Vorstellungstag) über weitere 28 Tage mit Gernebcin® 1 x /d 80 mg inhalieren.

Zielparameter sind neben der Reduktion der *P. aeruginosa* - Keimlast in der NL, die mittels Sino-Nasal-Outcome-Test (SNOT20 adapt-CF) erfassten Beschwerden der oberen Atemwege und deren Auswirkung auf die Lebensqualität. Außerdem soll der rhinoskopische Befund erhoben, eine Rhinomanometrie abgeleitet und eine nasale Lavage zur Bestimmung von Entzündungsmarkern durchgeführt werden. Daneben werden die Tobramycin-Serumspiegel kontrolliert und es werden, obwohl bei Inhalation von Tobramycin keine relevanten Serumspiegel zu erwarten sind, Kreatininspiegel und audiometrische Untersuchungen zur Gewährleistung der Arzneimittelsicherheit durchgeführt.

8. Studienziele

Das mit dem neuen Pari-Sinus in den Nasengängen und der NNH deponierte Tobramycin führt zu einer Minderung der *P. aeruginosa*-Zahl in den oberen Atemwegen und im Einzelfall (bei noch nicht mukoiden Pseudomonaden) sogar zur *P. aeruginosa*-Eradikation. Hiermit wird die chronische Inflammation der oberen Atemwege reduziert. Die Schleimhautschwellung und die Trigger zur Bildung nasaler Polypen werden gemindert, es kommt zu einer Verbesserung der Nasen- und Nasennebenhöhlenbelüftung und zu einer Verbesserung der Rheologie des Atemwegssekrets, welches effektiver mobilisiert werden kann. Eine Verbesserung der Lebensqualität ist zu erwarten.

8.1 Primäres Ziel

Die Pilotstudie liefert Schätzungen für die Verteilung des primären Zielparameters. Diese Schätzungen dienen als Basis der Fallzahlberechnung der Hauptstudie. Eine möglicherweise anschließende Hauptstudie an einem größeren Kollektiv (die Patientenzahl ist aus den Ergebnissen der Pilotstudie zu berechnen) soll klären, ob die

nasale Inhalation von Tobramycin mit dem Pari Sinus-Vernebler eine signifikante Keimreduktion bzw. eine Eradikation von rhino-sinusoidalen Pseudomonaden bei Mukoviszidose ermöglicht.

8.2 Definition der Zielkriterien

Primäres Zielkriterium

Das primäre Zielkriterium der Pilotstudie war die Senkung der *P. aeruginosa*-Keimzahl-Klasse in der nasalen Lavage.

Sekundäre Zielkriterien

Als sekundäre Zielkriterien sollte die Arzneimittelsicherheit über die Schleimhautverträglichkeit und Serumspiegel erfasst werden, die bei topischer Anwendung als nasale Inhalation im nicht toxischen Bereich liegen sollten.

Weiterhin erwarteten wir eine Verbesserung des subjektiven Symptomenscores im SNOT-20 adapt-CF.

Die Assoziation der *P. aeruginosa*-Stämme im Sputum / Rachenabstrich zu Keimen der oberen Atemwege konnte mittels Genotypisierung von *P. aeruginosa*-Paaren in den oAW und uAW erfasst werden.

Ein rhinoskopischer HNO-Befund sollte zur Beurteilung der Polypengröße und der Schleimhautbeschaffenheit erhoben werden; außerdem sollte eine Rhinomanometrie abgeleitet werden.

In der nasalen Lavage konnte neben der genannten Keim-Bestimmung zytologische Untersuchungen und ggf. eine Bestimmung von Zytokinen erfolgen.

Schließlich sollte die Inzidenz rhinosinusitischer und pulmonaler Exazerbationen im Beobachtungszeitraum erfasst werden.

9. Studie

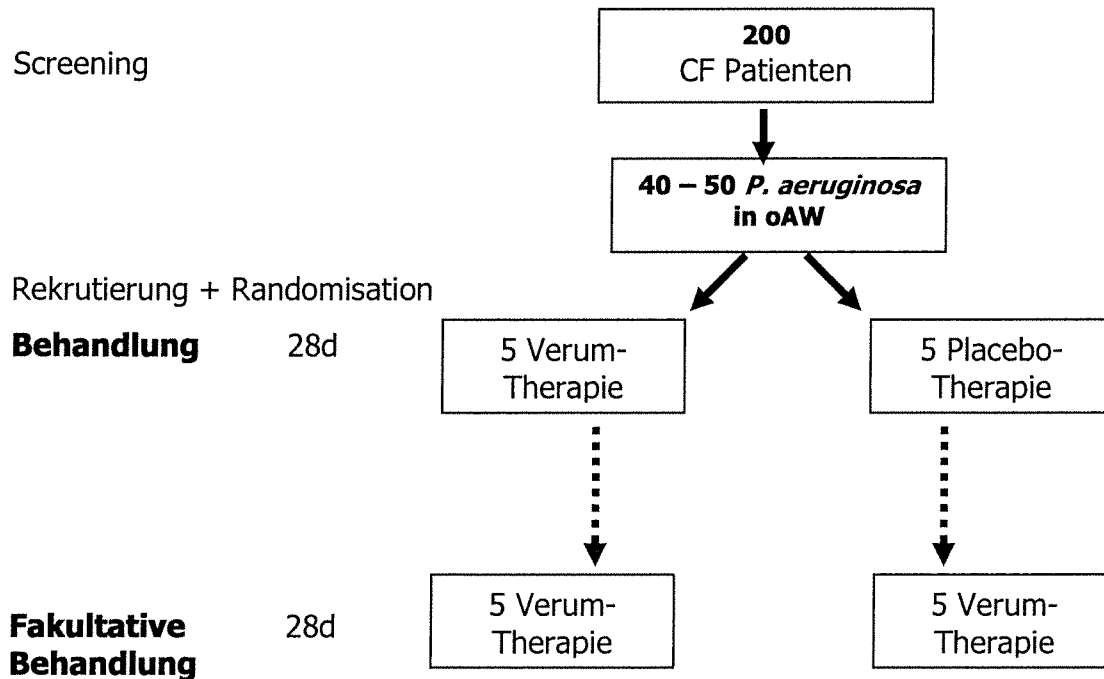
9.1 Studiendesign

Es handelte sich um eine doppelblind placebokontrollierte randomisierte bizen trische prospektive Parallel-Gruppen-Studie mit fakultativer Zusatzbehandlung bei Patienten mit Mukoviszidose und Nachweis von *P. aeruginosa* in den oberen Atemwegen und chronischer *P. aeruginosa* -Besiedlung der unteren Atemwege. Gruppe 1 inhalierte über 28 Tage Gernebcin® 1 x 80 mg über den Pari Sinus. Gruppe 2 inhalierte 28 Tage ein Placebo (Trägerlösung von Gernebcin® ohne Wirkstoff). Nach Ende des ersten Zyklus wurde sowohl für Gruppe 1 wie für Gruppe 2 eine 28tägige fakultative Behandlung mit Gernebcin® angeboten, entsprechend dem Verum-Therapiezyklus, so dass alle mit Nachweis von *P. aeruginosa* in den oberen Atemwegen in die Studie aufgenommenen Patienten eine Verum-Behandlung erhalten konnten.

Schaubild des Studienablaufes

Zeitachse	Vor Studienbeginn	Tag 0	Tage 1-28	Tage 30-58
	P. aeruginosa – Nachweis in NL + Asservierung (max. – 28Tage)	t 1 d0	Therapie	Therapie
			t 2 d30	t 3 d60
			50 : 50 PC	
			Verum	Verum*
			Placebo ②	Verum* ②
t 1, t 2, t 3		Anamnese, LQ-Bogen, klinische Untersuchung, LUFU, Nasale Lavage, (s.o.), Rhinomanometrie, Rhinoskopie, Blutentnahme und Audiometrie		
t 1 minus 1d t 2 minus 1d t 3 minus 1d		Nasale Lavage zuhause (Mikrobiologie) (Material an t1, t2 und t3 zum Zentrumsbesuch mitzubringen)		

*fakultativ, damit jeder Patient mit *P.aeruginosa* in den oberen Atemwegen die Chance einer *P.aeruginosa*-gerichteten sinonasalen Inhalation erhalten konnte.



9.2 Diskussion zum Stellenwert der Studie

Etwa 80% der erwachsenen Mukoviszidosepatienten sind dauerhaft pulmonal mit *P. aeruginosa* besiedelt. Dabei ist die chronische Infektion mit *P. aeruginosa* ein prognostisch sehr ungünstiger Faktor für den Langzeitverlauf mit Mukoviszidose. Nur durch sehr konsequente keimreduzierende Therapie kann die chronisch progrediente Destruktion im Rahmen der Pseudomonasbesiedlung gemindert werden. Diese erfolgte bisher im Sinne einer zielorientierten Behandlung nur für die unteren Atemwege. Die Keimbesiedlung der oAW wurde nur als Nebeneffekt einer systemischen Antibiotikatherapie behandelt. Die bei chronischer Pseudomonasbesiedlung der unteren Atemwege weithin als Standard akzeptierte inhalative Antibiotika-Dauertherapie erreicht bei allen Patienten, die standardgemäß über den Mund inhalieren die oAW nicht. Zusätzlich standen bisher keine Inhalationssysteme zur Verfügung, die eine Deposition von Aerosol in den Nasennebenhöhlen ermöglichen, einem speziellen Reservoir für die genannten Problemkeime. Unsere Pilotstudie zur nasalen Inhalation von Gernebcin® über den neuen, speziell zur Deposition von Aerosol in den Nasennebenhöhlen entwickelten Pari Sinus konnte diese Lücke schließen.

9.3 Studienpopulation

9.3.1 Einschlusskriterien

1. Es liegt eine mit 3 positiven Schweißtests und / oder genetischer Untersuchung gesicherte Mukoviszidose vor.
2. Es erfolgte der Nachweis von *P. aeruginosa* in der nasalen Lavage (Kultur) bei chronischer Besiedlung der unteren Atemwege mit *P.aeruginosa* (ab d-28).
3. Es liegt eine vom Patienten und/ oder von den Eltern unterschriebene Einverständniserklärung vor.
4. Die Patienten müssen älter als 7 Jahre sein.
5. Mitarbeitsfähigkeit für die nasale Inhalation mit dem Pari Sinus und die Durchführung nasaler Lavagen muss gegeben sein.
6. Es werden nur gebärfähige Frauen in die Studie eingeschlossen, die eine effektive Methode der Kontrazeption während der gesamten Studiendauer anwenden (Methoden mit einer Ausfallsrate von unter 1 % wie die Spirale, Monatsspritzen, kombinierte orale Kontrazeptiva, bestimmte Diaphragmen, sexuelle Abstinenz oder Vasektomie des Partners).

9.3.2 Ausschlusskriterien

1. Es liegt ein kritischer Allgemeinzustand vor mit einem FEV1 von < 30% und / oder einer SaO₂ von < 93 % ohne O₂ Substitution.
2. Innerhalb von 3 Monaten vor Studieneinschluss erfolgte eine HNO-Operation.
3. Es liegen nasale Blutungszeichen vor.
4. Es liegt eine Trommelfellperforation vor.
5. Exazerbation bei Einschluss, die eine neue systemische Antibiose notwendig macht.
6. Die Mitarbeitsfähigkeit für die Gewinnung einer nasalen Lavage und die nasale Inhalation ist nicht gegeben.

7. Kontraindikationen und anamnestisch bekannte klinisch relevante Nebenwirkungen/Wechselwirkungen von Gernebcin[®] bzw. Tobramycin und dem Placebo.
8. Patientin ist schwanger oder stillt.
9. Teilnahme an einer weiteren Studie innerhalb von 30 Tagen vor und nach der Studie.
10. Systemisch (oral oder intravenös) pseudomonaswirksame Antibiotikatherapie 14 Tage vor Einschluss oder im Verlauf der Studie. (Zu beachten ist, dass eine über den Mund applizierte Inhalationstherapie mit Tobramycin kein Ausschlussgrund ist, sie muss jedoch zumindest 4 Wochen vor Studienbeginn als Dauertherapie begonnen worden sein und die maximale bronchial inhalierte Tobramycindosis/Tag darf 320 mg nicht überschreiten (s. Kap. 6.6 Zulässige/nicht zulässige Begleitmedikation). Eine dauerhafte Inhalationstherapie mit Colistin über den Mund soll die Tagesdosis nicht 2 x 1 Mio. IE Colistin überschreiten (maximal sind 6 Mio IE als tägliche Gesamt-Inhalationsdosis bei CF zugelassen.)
11. Wenn bei Tobramycin-Blutspiegelkontrolle 1 Stunde nach der ersten Inhalation Werte von über 2,0 mg/l erreicht werden, ist von der weiteren Studienteilnahme abzusehen.
12. Fortgeschrittene Niereninsuffizienz.
13. Schwere Schädigung des 8. Hirnnervs.
14. Schwindel (möglicher Schaden des N. vestibularis)

9.3.3 Ausschluss einzelner Patienten nach Komplettierung der 28tägigen Therapiephase

Im Rahmen der doppelblind – placebokontrolliert - bizenitrisch - randomisierten Pilotstudie wurden 9 Patienten rekrutiert. 2 Patienten haben nach der ersten Behandlungsphase die Studie beendet. Beide Patienten erhielten eine geplante systemische Antibiose.

9.4. Behandlung

9.4.1 Behandlung in den Studienarmen

Gruppe 1 inhalierte über 28 Tage Gernebcin® 1 x 80 mg über den Pari Sinus.

Gruppe 2 inhalierte 28 Tage ein Placebo (Trägerlösung von Gernebcin® ohne Wirkstoff). Eine Inhalationszeit ohne Pausen von 2,5 Minuten pro Seite entsprach einer gesamten Inhalationszeit von 5 Minuten. Nach Ende des ersten Zyklus wurde sowohl für Gruppe 1 wie für Gruppe 2 eine 28tägige fakultative Behandlung mit Gernebcin® angeboten, entsprechend dem Verum-Therapiezyklus, so dass alle mit Nachweis von *P. aeruginosa* in den oberen Atemwegen in die Studie aufgenommenen Patienten eine Verum-Behandlung erhalten konnten.

9.4.2 Identifikation des Prüfmedikamentes

Jedes Kit enthielt die 1 x 30 Behälter für einen Patienten. Die Zuordnung gelang über die Patienten-Nummer und die Behandlungsphase A bzw. B. Die Füllmenge der einzelnen Präparatbehälter betrug 2 ml. Die einzelnen Prüfampullen wurden über die Etikettierung (Patientennummer, Chargennummer) eindeutig zugeordnet. Die abgefüllten Behälter waren nach Herstellung ungeöffnet mindestens 48 Monate haltbar und mikrobiologisch unbedenklich. Für die fakultative Zusatzbehandlung stellte die Firma InfectoPharm eine ausreichende Menge unverblindeter Gernebcin®-Ampullen zur Inhalation zur Verfügung. Die etikettierten Verum oder Placebo-Ampullen wurden von IP blockweise und verblindet an die Prüfzentren in Tübingen oder Jena versandt.

9.4.3 Zuteilung der Patienten

Das Verhältnis Placebo zu Verum betrug 1:1. Die Randomisationslisten wurden durch das Institut für Medizinische Informatik und Biometrie der TU Dresden erstellt (Fr. Dr. Wiedemann) und an Infectopharm weitergeleitet. Die Randomisation und Konfektionierung der Prüfmedikation gemäß diesen Listen erfolgt über die Firma Infectopharm.

9.4.4 Wahl der Dosierung in der Studie

Die inhalative Gabe von Gernebcin® 80 mg mit einem Aerosol-Vernebler ist laut Fachinformation angezeigt bei Mukoviszidose-assoziierte *Pseudomonas*-Besiedlung mit chronischer Infektion der Lunge. Die inhalative Anwendung bietet die Möglichkeit einer gut verträglichen langfristigen Dauertherapie zur Suppression und Eradikation des bei Mukoviszidose-Patienten atemwegspathologischen Keims *Pseudomonas aeruginosa*.

Bereits 1974 wurde die erste Studie publiziert (Hoff¹), bei der inhalatives Tobramycin (Gernebcin®) zum Einsatz kam. Eine Vielzahl weitere Studien, insbesondere zur Dauerinhalationstherapie bei Mukoviszidosepatienten wurden seit den 80er Jahren durchgeführt (Tümmler und v. der Hardt 1987², Gappa 1988³, Steinkamp 1989⁴ und 1991⁵, Nikolaizik 1996⁶, Wiesemann 1998⁷, Hüls 1999⁸, Ratjen 2001⁹, Griesse 2002¹⁰, Nikolaizik 2005¹¹, Brand 2006¹²). Seit dieser Zeit gehört der Einsatz von inhalativem Gernebcin® in deutschen Mukoviszidose-Zentren zum Therapiestandard. Auf Grund der bestehenden Studienlage sowie der jahrelangen und breiten Therapieerfahrung, insbesondere bei Patienten mit Mukoviszidose, ist Gernebcin® 80 mg heute die am häufigsten verwendete Tobramycinlösung zur antipseudomonalen Inhalationstherapie in Deutschland. Wirksamkeit und Sicherheit der inhalativen Anwendung sind daher ausgezeichnet belegt.

Um einschließlich der Studienmedikation eine Behandlung mit Tobramycin über die – für die Therapie der unteren Atemwege bei CF zugelassene Gesamtdosis von 600 mg/Tag (TOBI™ 2 x 300 mg/d, Fa. Novartis) zu verhindern, wurde folgender Rahmen festgelegt: Die maximale bronchial inhalierte Tobramycindosis/Tag durfte 320 mg (2 x 160 mg/d) nicht überschritten werden. Mit der Studienmedikation von 80 mg/d wurden somit insgesamt maximal 400 mg/Tag inhaliert.

9.4.5 Wahl und Zeitpunkt der Dosierung für jeden einzelnen Patienten

Wie bei der bronchialen Inhalation bestand keine verbindlicher Zeitpunkt der Inhalation des Präparates. Die teilnehmenden Patienten sollten ihre sinonasalen Inhalationen während des Therapiezeitraumes zur gleichen Tageszeit durchführen.

9.4.6 Verblindung

Die Herstellung und der Versand der etikettierten Studienmedikation (gem. §5 der GCP-Verordnung) an die beteiligten Studienzentren erfolgte durch die Firma InfectoPharm. Es wurden pro Patient 30 Behälter für 28 Tage Behandlungsmöglichkeit geliefert (2 Ampullen als Reserve). Die Lagerung in den einzelnen Zentren und der Versand zu den einzelnen Zentren konnten bei Raumtemperatur erfolgen.

Die nicht gebrauchte Prüfmedikation wurde an InfectoPharm zurückgegeben. Die Rückgabe wurde auf einem Rückgabeprotokoll dokumentiert.

Die Füllmenge der einzelnen Präparatbehälter betrug 2 ml. Die einzelnen Prüffläschchen wurden über die Etikettierung (Kit-Nummer und Patientennummer) eindeutig zugeordnet.

Die abgefüllten Behälter waren nach Herstellung ungeöffnet mindestens 48 Monate haltbar und mikrobiologisch unbedenklich.

Für die fakultative Zusatzbehandlung stellte die Firma InfectoPharm eine ausreichende Menge unverblindeter Gernebcin®-Ampullen zur Inhalation zur Verfügung.

Die etikettierten Verum oder Placebo-Ampullen wurden von IP blockweise und verblindet an die Prüfzentren in Tübingen oder Jena versandt.

Die Umverpackung, Verblindung, Beschriftung und Lagerung der Medikation erfolgte nach §5 der GCP-Verordnung.

9.4.7 Begleittherapie

Alle für den Patienten medizinisch indizierten dauerhaft geführten Begleitmedikationen waren im Sinne der Studie zulässig und mussten im Abschnitt „Begleitmedikation“ aufgeführt werden. Wichtig war, dass die Patienten im Studienzeitraum die Begleit-

Dauermedikation konstant beibehielten. Das bedeutete, dass die eingeschlossenen Patienten keine on – off – Phasen der inhalativen Antibiotika-Inhalation erhalten sollen, wie teils mit 28 Tagen TOBI (Tobramycin 2 x 300 mg) verbreitet, alternierend mit 28 Tagen ohne inhalative Antibiose. Außerdem musste die pseudomonaswirksame Antibiotika-Inhalation über den Mund zumindest seit 28 Tagen vor Einschluss in die Studie als Dauertherapie erfolgen. Das gleiche Vorgehen betraf eine Dauerbehandlung mit Zithromax, das hier nicht als pseudomonaswirksames Antibiotikum gewertet wurde. Bei der Auswahl der Begleitmedikation sollte auf die Fach-Information Gernebcin® („besondere Warn-Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Anwendungen“ und „Wechselwirkungen“) geachtet werden. Ebenso war beim Einschluss des Patienten in die Studie die wegen einer pulmonalen Exazerbation oder sonstigen bakteriellen Infektion neu angesetzte systemische Antibiotikatherapie Grund zum Ausschluss aus der Studienpopulation.

Es wurde ausdrücklich betont, dass diese Einschränkung nicht zum Vorenthalten wichtiger Therapiemaßnahmen führen durfte.

Der Gebrauch von nasalen Alpha-Sympathomimetika wurde vom Patienten täglich im Patiententagebuch notiert. Die diagnostische nasale Lavage und die Rhinomanometrie mussten immer ohne vorherige Alpha-Sympathomimetika-Therapie erfolgen.

Um einschließlich der Studienmedikation eine Behandlung mit Tobramycin über die Therapie der unteren Atemwege bei CF zugelassene Gesamtdosis von 600 mg/ Tag (TOBI™ 2 x 300 mg/d, Fa. Novartis) zu verhindern wurde folgender Rahmen festgelegt: Die maximale bronchial inhalierte Tobramycindosis/Tag durfte 320 mg nicht überschreiten (s.o.). Mit der Studienmedikation von 80 mg/d wurden somit insgesamt maximal 400 mg/Tag inhaliert. Wenn statt Tobramycin eine dauerhafte pseudomonaswirksame Inhalationstherapie mit Colistin über den Mund erfolgte, sollte die Tagesdosis 2 x 1 Mio IE Colistin nicht überschritten werden (maximal sind 6 Mio IE als tägliche Inhalationsdosis bei CF zugelassen).

9.4.8 Mitarbeit der Patienten (treatment compliance)

Die regelmäßige Einnahme der Studienmedikation wurde im Patiententagebuch geprüft und die leeren sowie vollen Medikamentenampullen wurden zurückgenommen, um die Einnahme zu objektivieren. „Medication event monitoring“ erfolgte nach GCP und ICH, AEs wurden erfasst.

9.5 Untersuchungen und Zeitplan der Studie

9.5.1 Flowchart

Zeitpunkte	Screening (max. -28d) vor Studien- beginn	t 1 Tag 1**	t 2 Tag 30 (+2)	t 3 Tag 60 (+4)
Maßnahmen				
Screening	■			
Einschlusskriterien	■			
Ausschlusskriterien	■			
Demographische Daten	■			
Anamnesebogen	■			
OP-Anamnese	■			
Lebensqualitätsbogen (SNOT20 adapt CF)		■	■	■
Beobachtungsbeginn		■		
Untersuchungen				
Nasale Lavage	■	■ d -1 zuhause ■ d1 im Zentrum	■ d29 zuhause ■ d30 im Zentrum	■ d59 zuhause ■ d60 im Zentrum
Mikrobiologie (Kultur)				
Asservieren für Zytokinbestimmung				
Rhinoskopie + Fotodokumentation		■	■	■
Rhinomanometrie		■	■	■
Audiometrie		■	■	■
Tobramycin-Serum-Spiegel		■	■	■
1 h nach nasaler Inhalation				(bei Zusatzbeh.)
Kreatinin-Serum		■	■	■
Studienmedikation		PHASE A d1 - d28	fakult. PHASE B d30 - d 58	
Gruppe ①	①	Tobramycin	Tobramycin	
Gruppe ②	②	Placebo	Tobramycin	
Dokumentation zusätzlicher Therapie		■	■	■

Alpha-Sympathomimetika-Bedarf		■	■	■
Sonstige Medikation		■	■	■
Unerwünschte Ereignisse		■	■	■
Schwere unerw. Ereignisse				
Studienende				■
Vollständigkeitserklärung				■

- Für alle:** **Tag t-1** zusätzliche nasale Lavage zuhause* (Mitbringen NL Material an Tag 1)
(1 Tag vor **t1**)
t1 nasale Inhalation mit Gernebcin® oder Placebo
(Rhinomanometrie vorher + nachher)
- ① **Gruppe 1:** Tage 1-28: nasale Inhalation mit Gernebcin® über 28d
Tag 29: zusätzliche nasale Lavage zuhause*
t2 (Tag 30 +2): Vorstellungstermin im Zentrum (Mitbringen NL-Material vom 29.
Tag Tag 30-58: fakultative nasale Inhalation mit Gernebcin® über 28d
Tag 59: zusätzliche nasale Lavage zuhause*
t3 (Tag 60 +4): Vorstellungstermin im Zentrum (Mitbringen NL-Materials vom 59.
Tag)
- ② **Gruppe 2:** Tage 1-28: nasale Inhalation mit Placebo über 28d
Tag 29: zusätzliche nasale Lavage zuhause*
t2 (Tag 30 +2): Vorstellungstermin im Zentrum (Mitbringen NL-Material vom 29.
Tag)
Tage 30-58: fakultative nasale Inhalation mit Gernebcin® über 28d
Tag 59: zusätzliche nasale Lavage zuhause*
t3 (Tag 60 +4): Vorstellungstermin im Zentrum (Mitbringen NL-Materials vom 59.
Tag)

9.5.2 Untersuchungen und Anwendungen

PARI-Sinus

Für die Therapie mit dem PARI SINUS gab es einige Einschränkungen, auf die in der Bedienungsanleitung des Gerätes hingewiesen wurde:

- Patienten, die auf die Therapie mit Unverträglichkeit oder Ablehnung reagieren, sollten die Therapie nicht durchführen
- Nach OP-Eingriffen und bei Mittelohrentzündungen ist vor Therapiebeginn ein Nutzen-Risiko-Abwägung für vibrierende Aerosole durch den Arzt erforderlich
- Die Therapie darf nicht bei verstopfter Nase durchgeführt werden. Vor Therapiebeginn sollte die Nase durchgängig gemacht werden (Nasendusche, abschwellende Mittel).

Eine formale altersbedingte Einschränkung der Anwendung gab es nicht. Die Anwendung war dort nicht möglich, wo der Patient aufgrund kognitiver, motorischer und/oder medizinischer Disposition nicht in der Lage ist, das Gaumensegel zu schließen, die Luft für den notwendigen Zeitraum (Intervalle von 6-10 Sekunden) anzuhalten und/oder die Inhalationstherapie über den notwendigen Zeitraum durchzuführen.

Des Weiteren waren die Hinweise in der Bedienungsanleitung zur sicheren Anwendung des Gerätes und zur hygienischen Wiederaufbereitung des Verneblers zu beachten.

Nasensekretgewinnung

Nasale Lavage (NL) mit 10 ml angewärmter (handwarm) NaCl 0,9%-Lösung in jeden Nasengang. Die Applikation erfolgte direkt nacheinander, das Gaumensegel wurde hierbei verschlossen, so dass die Lavageflüssigkeit nach ca. 10 Sekunden durch die vorderen Nasenöffnungen in einen sterilen Behälter (z.B. Nierenschale) entleert werden konnte und hier gepoolt wurde. Die Kontamination der NL mit Speichel oder Sputum aus dem Mund- und Bronchialbereich wurde verhindert.

Die Lavage wird vermutlich nur bei einem Rücklauf von $\geq 30\%$ der instillierten Flüssigkeitsmenge aussagekräftige Untersuchungen ermöglichen. Daher wurde die Recovery (prozentualer Rücklauf) im CRF notiert.

Mindestens 2 (-4) ml der Lavageflüssigkeit sollten, ohne vorherige Behandlung bei Raumtemperatur, ins Prüf-Labor verschickt und innerhalb von 24 Stunden differentialzytologisch untersucht werden. Die Probe wird im Hinblick auf *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* auch einer quantitativen Untersuchung zugeführt wird. Das bedeutet, dass 0,01 ml der Lavageflüssigkeit auf die verschiedenen Medien ausplattiert wurden. Nach entsprechender Inkubation erfolgte die Ermittlung der Keimzahlen je ml von *P. aeruginosa* und *S. aureus* durch Zählung der koloniebildenden Einheiten dieser beiden Spezies und Multiplikation mit dem Faktor 100. Die Angabe der Keimzahlen je ml erfolgte in folgenden Bereichen:

- < 10² CFU / ml
- 10³ CFU / ml
- 10⁴ CFU / ml
- > 10⁵ CFU / ml

Das übrige im Zentrum verbleibende Material wurde in mindestens 6 Aliquots mit $\geq 0,5$ ml Nasensekret in Eppendorf-Röhrchen umgefüllt. Diese nicht für die Zytologie bestimmten Proben wurden innerhalb von 30 Minuten (± 5 Minuten) bei $< \text{minus } 70^{\circ}\text{C}$ eingefroren und werden bis zur weiteren Untersuchung bzw. zur Verschickung auf Trockeneis bei diesen Temperaturen gelagert. Sie sollten zur DNA-Quantifizierung und Qualifizierung sowie zur Zytokin- und Zytologie-Bestimmung asserviert werden. Am Tag -1, 29 und 59 sollten Patienten der Gruppen zu Hause zusätzlich nasale Lavagen vornehmen und zur mikrobiologischen Untersuchung zum Vorstellungstermin am Tag 1, Tag 30 (+2) und Tag 60 (+4) mitbringen. Das zuhause gewonnene Nasensekret sollte bei Raumtemperatur gelagert werden.

Sputumgewinnung

Die Gewinnung des Sputums erfolgte entsprechend den allgemeinen CF-Standards an den t 1 bis t3. Bei fehlender oder unzureichender Sputumproduktion wurde als Methode 2. Wahl ein tiefer Rachenabstrich (gemäß den allgemeinen Standards) gewonnen.

Blutentnahme / Audiometrie

Blutentnahmen erfolgten zur Bestimmung des Tobramycin-Blutspiegels und des Kreatinins im Serum am ersten Tag und am Ende der Behandlungszyklen zu den Terminen t1 und t2. Am Tag 60 (t3) nur, wenn der Patient die fakultative Zusatzbehandlung wünschte. Hierzu wird, entsprechend den allgemeinen Standards, 1 Li-Hep.-Gel-Monovette Blut entnommen.

An den Terminen t1, t2 und t3 erfolgten audiometrische Untersuchungen nach aktuellem diagnostischen Standard.

Rhinoskopiebefund (Polypengröße / Schleimhaut / Sekret)

Der klinische Befund der inneren Nase wurde mittels flexibler oder starrer Endoskopie nach Abschwellung der Nasenschleimhaut durch einmalige Applikation von abschwellenden Nasentropfen, ggf. mit Lokalanästhetikum vermischt, erfasst. Die Beurteilung setzt die Identifikation der anatomischen Landmarken der mittleren und der

unteren Nasenmuscheln voraus. Der mittlere Nasengang stellt den Raum zwischen Nasenseptum und mittlerer Nasenmuschel bis zum Ansatz der unteren Muschel dar. Der untere Nasengang ist der Raum zwischen Körper der unteren Nasenmuschel und Nasenseptum bis zum Nasenboden. Für die seitengetrennte Beurteilung des Vorhandenseins und der Ausprägung einer möglichen Polyposis nasi wurde folgendes Staging definiert:

- Stadium 0 – keine polypöse Schleimhaut um die mittlere Nasenmuschel vorhanden.
- Stadium 1 – polypöse Schleimhaut auf den mittleren Nasengang begrenzt.
- Stadium 2 – polypöse Schleimhaut in den unteren Nasengang vor gewachsen.
- Stadium 3 – komplette Obturation der Nase durch Polypen.

Rhinomanometrie

Um die Durchgängigkeit der nasalen Atemwege sowohl objektiv als auch quantitativ zu erfassen, sollte bei jedem Patienten ohne Septumperforation oder Septumflattern eine aktive anteriore Rhinomanometrie (AAR) durchgeführt werden. Dabei wurde der Differenzdruck Δp (Pascal) zwischen Naseneingang und Choane sowie der Flow (Fluss in ml/s, Volumenstrom, der in einer Sekunde durch den Querschnitt der Nase fließt) gemessen. Die Messung sollte am sitzenden Patienten nach Adaptierung an das Raumklima (nach 10 bis 15 Minuten) stattfinden. Nach Überprüfung auf luftdichten Verschluss der nicht zu messenden Nasenseite durch die Druckmesssonde und korrekten und festen Sitz der Gesichtsmaske wurden je Nasenseite fünf Mittelwertkurven (je Kurve etwa fünf gleichmäßige, ruhige Atemzüge) registriert, die möglichst deckungsgleich sein sollten. Ausreißer oder fehlerhafte Kurven (offener Mund, undichte Maske) wurden anschließend eliminiert und die verbleibenden Werte wiederum gemittelt. Erhoben wurden, bei einem Referenzdruck von 150 Pascal, entsprechend gültiger Bedienungsanleitung der jeweiligen Geräte vor Abschwellung der Schleimhaut mittels Alphamimetika, folgende Werte:

- inspiratorischer Flow seitengetrennt (in ml/s)
- inspiratorischer Widerstand seitengetrennt (in Pa/ml/s)
- inspiratorischer Gesamtflow (in ml/s)
- Seitenquotient (Flow der besseren durch Flow der schlechteren Nasenseite).

Erfassung der Inzidenz rhinosinusitischer und pulmonaler Exazerbationen

Der Inzidenz rhinosinusitischer und pulmonaler Exazerbationen wurde mittels Erhebung der Zwischenanamnese im Rahmen der Ambulanzvorstellungen erhoben.

Weitere Daten

Alle weiteren während der Studie erhobenen Daten wurden nur im Rahmen der medizinisch indizierten Untersuchungen erhoben.

Hierzu zählten sofern durchgeführt:

Anamnestische Daten, Vitalparameter, Laborwerte, Daten zur Therapie und Daten zur aktuellen Röntgen-, Bronchoskopie- und Erregerdiagnostik. Sämtliche im Rahmen der üblichen Therapie erforderlichen Maßnahmen durften durch die Studie nicht behindert werden.

Unerwünschte Ereignisse und schwerwiegende unerwünschte Ereignisse

Unerwünschte Ereignisse (UE) und schwerwiegende unerwünschte Ereignisse (SUE) wurden im Datenerfassungsbogen dokumentiert.

Für alle unerwünschten Ereignisse beurteilte der Prüfarzt den Schweregrad, die Intensität und den Zusammenhang mit der Prüfmedikation, dokumentierte den Beginn und das Ende sowie die getroffenen Gegenmaßnahmen und den Verlauf.

Die Prüfarzte meldeten alle SAEs (SUEs) und Schwangerschaften auf dem dafür vorgesehenen SAE Meldebogen innerhalb von 24 h an die Abteilung für Pharmacovigilance der InfectoPharm Arzneimittel und Consilium GmbH. InfectoPharm übernahm die Dokumentations- und Mitteilungspflichten gemäß § 13 Abs. 2 bis 4 GCP-V. InfectoPharm unterrichtete in Erfüllung dieser Aufgabe jeden bekannt gewordenen Verdachtsfall einer unerwarteten schwerwiegenden Nebenwirkung (SUSAR) innerhalb von 15 Tagen (bei tödlichen oder lebensbedrohlichen Nebenwirkungen innerhalb von 7 Tagen) die zuständigen Ethik-Kommissionen, die zuständige Bundesoberbehörde sowie die an der klinischen Prüfung beteiligten Haupt-Prüfer. IP stellte dem LKP auf Anforderung eine Liste aller während der Prüfung aufgetretenen und bei InfectoPharm

eingegangenen Verdachtsfälle schwerwiegender Nebenwirkungen zur Verfügung, um diesem die Erstellung des Annual Safety Reports zu ermöglichen.

9.6 Qualität der Daten

- Datenüberprüfung durch einen zweiten Mitarbeiter
- Orientierung an geltenden Manuals / Standards
- automatische Plausibilitätsprüfung bei der Dateneingabe
- regelmäßiges Monitoring durch einen klinischen Monitor

9.7 Statistische Analyse

Die Daten der Pilotstudie wurden explorativ mit Hilfe des SPSS-Programms Version 18 ausgewertet. Unterschiede in den mittleren Differenzen des SNOT und Lungenfunktion zwischen den beiden Therapiegruppen wurde mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Test bestimmt.

Unterschiede in der Änderung in der *Pseudomonas*-Keimzahl wurde mit dem exakten Test nach Fisher bestimmt. Das Signifikanzniveau wurde auf ein Alpha von 0,05 festgelegt.

10. Studienpatienten

10.1 Patientenanzahl

Im Rahmen der doppelblind placebokontrollierten, randomisierten Parallel-Gruppen-Studie mit fakultativer Zusatzbehandlung wurden 9 Patienten rekrutiert. Die Patienten (6 m/ 3 w) waren zwischen 10,6 und 38,7 Jahren alt (Mittelwert 22,3 Jahre, SD 7,6). 2 Patienten brachen die Studie nach der zweiten Visite aufgrund von geplanten systemischen Antibiotika-Therapien ab.

Gemäß den Bedingungen zum Studieneinschluss wiesen alle Patienten eine chronische Besiedlung der Lunge mit *P. aeruginosa* auf.

10.2 Protokollabweichungen

Durch den Ausfall von 2 randomisierten Patienten, die in der ersten Behandlungsphase Placebo erhalten hätten, verschob sich die Verteilung Verum : Placebo in dieser Phase auf 6 : 3 Patienten. Ursprünglich war der Einschluss von 8 statt 7 Patienten im Zentrum Jena geplant.

2 Patienten brachen die Studie nach der zweiten Visite nach Abschluss der ersten studienentscheidenden Therapiephase aufgrund von geplanten systemischen Antibiotika-Therapien ab.

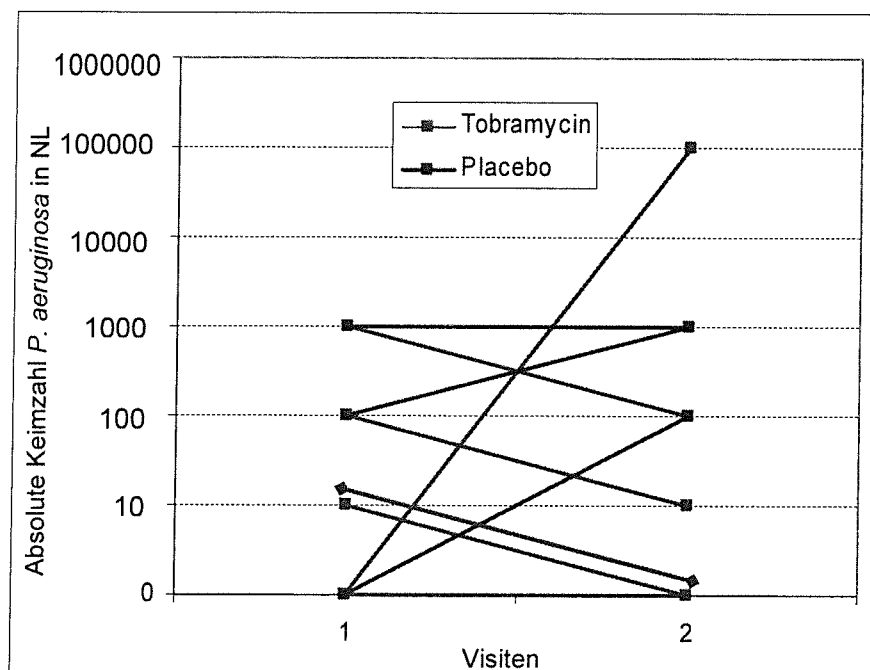
Die Untersuchung der Zytokine der aus der Studie gewonnenen Nasalen Lavagen, die geplant durch das Labor des Universitätsklinikum Tübingen durchgeführt wurde, musste aufgrund von personeller Ressourcenknappheit im Labor ab 30.03.2010 eingestellt werden.

10.3 Beurteilung der Wirksamkeit

Primärer Zielparameter zur Beurteilung der Therapie-Effektivität war die Bestimmung der Effekte einer 28tägigen Gernebcin®- oder Placeboinhalation über den Pari Sinus auf die *Pseudomonas*-Keimzahl in der nasalen Lavage, 2-3 Tage nach Ende der sinonasalen Therapie.

28 Tage Therapie V1 - V2	V1: <i>P.aeruginosa</i> Zahl in NL	V2: <i>P.aeruginosa</i> Zahl in NL
Tobramycin	10*	0
Tobramycin	1000	100
Tobramycin	0	0
Tobramycin	10*	0
Tobramycin	100	10*
Tobramycin	0	100000
Placebo	100	1000
Placebo	1000	1000
Placebo	0	100

Tabelle 1: Veränderung der absoluten Keimzahl von *Pseudomonas aeruginosa* aller Patienten vor und nach der ersten Behandlungsphase



Grafik 1: Veränderung der absoluten Keimzahl von *Pseudomonas aeruginosa* aller Patienten vor und nach der ersten Behandlungsphase

Die Tabelle 1 und die Grafik 1 zur Placebo- bzw. Verum-Behandlung der 9 eingeschlossenen Patienten zeigen, dass die Inhalation mit Tobramycin bei 4/6 (66,6%) Patienten eine Abnahme der *Pseudomonas*-Keimzahl in der nasalen Lavage bewirkte, während die Keimzahl bei 1 Patient unverändert blieb und bei 1 Patienten anstieg. Eine Placebo Inhalation bewirke dagegen bei keinem Patienten eine Abnahme 0/3 (0%), während auch hier 1 Patient keine Veränderungen zeigten und bei 2 Patienten einen Anstieg der Keimzahl. Eine statistische Signifikanz dieser Unterschiede wurde bei der kleinen Population der Pilotstudie nicht erreicht ($p > 0,05$).

10.3.1 Einfluss von Gernebcin® oder Placebo auf den Sino-Nasal-Outcome-Test (SNOT)

Im Vergleich zu Placebo hat die sinonasale Inhalation von Gernebcin® einen signifikant positiven Effekt auf die allgemeine HNO-bezogene Lebensqualität in gesamt-SNOT-20 GAV ($p = 0,036$).

Die Subtraktion der SNOT-20 GAV-Ergebnisse des 2. Vorstellungstermins nach 28tägiger Inhalation mit Verum ($n = 6$) oder Placebo ($n = 3$) von den Ergebnissen bei Erstvorstellung vor Therapiebeginn zeigte Mittelwerte unter Placebo von -2,3 Punkten, während sie unter Tobramycin + 4,4 Punkte betrugen. Die Differenz zwischen Verum und Placebo erreicht bei 9 eingeschlossenen Patienten mit 6,7 Punkten einen klinisch relevanten Rahmen, der bei Änderungen in der SNOT-20 GAV Punktzahl von 5 Punkten gesehen wird.

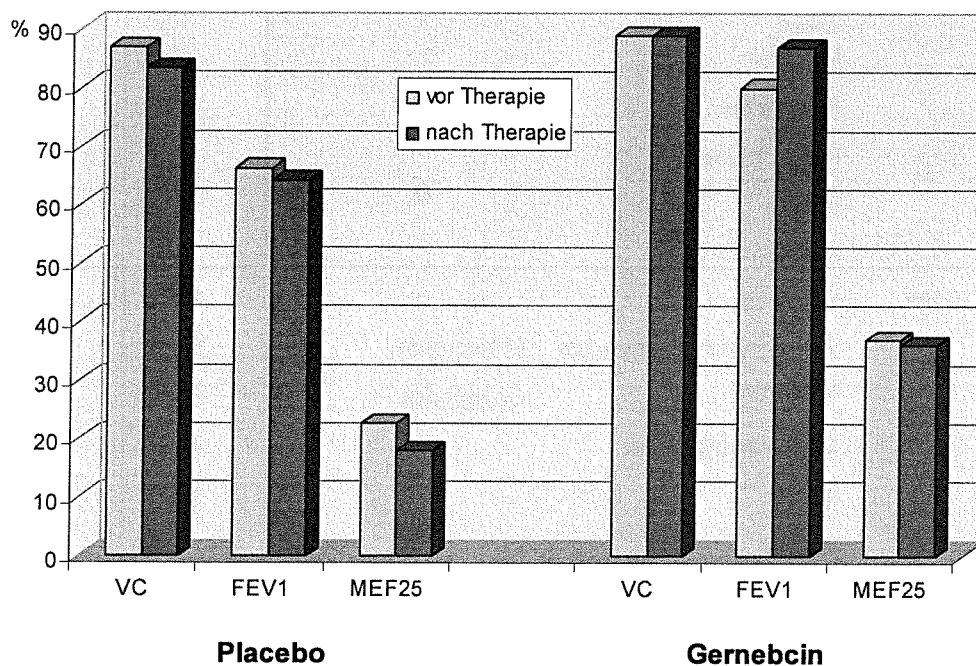
Deskriptive Statistik				Statistik	Standardfehler
dgs12	Placebo	Mittelwert		-2,3333	4,33333
		95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	-20,9782	
			Obergrenze	16,3115	
		5% getrimmtes Mittel		.	
		Median		2,0000	
		Varianz		56,333	
		Standardabweichung		7,50555	

	Minimum		-11,00	
	Maximum		2,00	
	Spannweite		13,00	
	Interquartilbereich			
	Schiefe		-1,732	1,225
	Kurtosis			
Tobra	Mittelwert		4,4000	0,40000
	95% Konfidenzintervall des	Untergrenze	3,2894	
	Mittelwerts	Obergrenze	5,5106	
	5% getrimmtes Mittel		4,4444	
	Median		5,0000	
	Varianz		,800	
	Standardabweichung		0,89443	
	Minimum		3,00	
	Maximum		5,00	
	Spannweite		2,00	
	Interquartilbereich		1,50	
	Schiefe		-1,258	0,913
	Kurtosis		0,313	2,000

Tabelle 2: Unterschiede der Gernebcin® oder Placebobehandlung auf den SNOT-20 GAV Gesamtscore

10.3.2 Einfluss von Gernebcin® oder Placebo auf die Lungenfunktion

Die spirometrischen Lungenfunktionsparameter VC, FEV1 und FEF 25 wiesen über für alle 3 mit Placebo behandelten Patienten eine Verschlechterung auf, während ein nichtsignifikanter Anstieg von FEV1 unter Verum zu verzeichnen ist (+6,9%) und ein minimaler Abfall von MEF25 (-0,85 %) (n=6) (nicht statistisch signifikant).



Grafik 2: Entwicklung der Lungenfunktionsparameter vom Anfang zum Ende der Behandlungszyklen mit Verum und Placebo.

Die Änderungen zeigten bei den 3 Placebo bzw. 6 Gernebcin®-behandelten Patienten keine signifikanten Änderungen. Als Nebentefunde fielen höhere Mediane der Ausgangs-Lungenfunktion der mit Verum behandelten Patienten auf.

11. Safety

Die dokumentierten UEs und SUEs sind im Anhang einzusehen.

Wegen der potentiell nephro- und ototoxischen Nebenwirkungen von Aminoglykosiden erfolgten nach der 28tägigen Therapiephase die Bestimmung der Tobramycin- und Kreatininspiegel im Serum und Hörtests. Relevante renale Vorerkrankungen mit signifikant erhöhtem Kreatinin waren ein primärer Ausschlussgrund aus der Studie. Im Rahmen der Studie kam es bei keinem der untersuchten Patienten zum signifikanten Anstieg der Kreatininspiegel im Serum. Daher besteht kein Anhalt für eine renale

Schädigung durch sinonasale Inhalation des in hohen systemischen Dosen nephrotoxischen Gernebcins. Ursache dieser guten renalen Verträglichkeit liegt in der fehlenden Ausprägung relevanter Tobramycinspiegel im Serum durch die sinonasale Inhalation von 1 x 80 mg Gernebcin®. Die Spiegel überschritten bei allen untersuchten Patienten nicht die Konzentration im Serum von 0,5 mg/l.

Zur Feststellung möglicher ototoxischer Nebenwirkungen wurden Hörtests vor und nach den Therapieperioden durchgeführt. Eine Patientin wies nach Verumtherapie einen Hörschaden auf, der gemäß der Beurteilung der untersuchenden HNO-Spezialisten nach Muster der Höreinschränkung auf ein typisches Schalltrauma schließen lies. Sie hatte am Vortrag ein Rockkonzert besucht und sich in kurzem Abstand zu einer Lautsprecherbox aufgehalten. Wir hatten die Patientin wiederholt zur Verlaufskontrolle des Hörtests geladen. Sie nahm die Termine nicht wahr, gab aber eine Besserungstendenz an. Wegen fehlender Verlaufskontrollen konnten wir vor diesem Hintergrund das gemeldete SAE nicht abschließen.

12. Diskussion und Schlussfolgerungen

Bei der chronisch fortschreitenden lebensbegrenzenden Stoffwechselerkrankung Mukoviszidose sind die oberen Atemwege regelhaft beteiligt. Während diese Manifestation im Vorfeld als Bagatellproblematik gewertet, wurde zeigen die Ergebnisse unserer Vor-Studien und Berichte aus dem weltweit führenden CF-Zentrum Kopenhagen, dass die chronische Rhinosinusitis wesentlich zur Progredienz und Schwere der Grunderkrankung beitragen kann. Dabei wurden die Clearancegestörten oberen Atemwege als eine wesentliche Eintrittspforte und als ein Reservoir für den Problemkeim *Pseudomonas aeruginosa* identifiziert, der wesentliche Ursache für die pulmonale Destruktion und das frühzeitige Versterben bei CF ist.

Die sinonasale Inhalation von Gernebcin® in die oberen Atemwege scheint nach den Ergebnissen der vorliegenden Pilotstudie eine Minderung der *P. aeruginosa*-Keimzahl in

der nasalen Lavage bei Patienten mit einer pulmonalen Dauerbesiedlung mit dem Problemkeim zu ermöglichen. Bei der untersuchten Kohorte von 9 Patienten der Pilotstudie erreichten diese Unterschiede jedoch noch keine statistische Signifikanz.

Überraschend ist, dass schon in diesem kleinen Kollektiv signifikante Unterschiede für den sekundären Prüfparameter der HNO-bezogenen Lebensqualität im weithin anerkannten SNOT 20 GAV Gesamt-Score mit einem p von 0,036 erzielt wurde, der mit über 5 Punkten als klinisch signifikant zu werden ist.

Die Verträglichkeit der topischen sinonasalen Inhalationstherapie von Gernebcin® in die OAW ist als sehr gut zu beurteilen. Die bei einer Patientin neu aufgetretenen Höreinschränkungen mit typischem Muster eines Schalltraumas wurde auf den Besuch des Hardrockkonzert (lange vor Lautsprecherboxen gestanden) am Vortag der Untersuchung zurückgeführt.

Insgesamt sind wir überrascht, schon bei einem relativ kleinen Kollektiv von nur 9 Patienten in der placebokontrollierten prospektiven Studie die aufgeführten positiven Trends zur Keimbesiedlung und die signifikant positiven Ergebnisse zur Lebensqualität zu erzielen. Das Prinzip der sinonasalen Inhalation von Antibiotika bei Mukoviszidosepatienten mit Pseudomonasbesiedlung der oberen Atemwege kann somit zur weiteren Verbesserung der Lebenserwartung und Lebensqualität von Mukoviszidosepatienten beitragen.

Die Effektivität der neuen Therapie kann abschließend nach einer konsekutiven Hauptstudie beurteilt werden mit Einschluss eines größeren Patientenkollektives.

13. Anhänge

- 13.1 Protokoll
- 13.2 Case report form und Patienten-/Elterninformation
- 13.3 Liste der verantwortlichen Ärzte inkl. kurzer Lebenslauf
- 13.4 Liste der Unerwarteten Ereignisse
- 13.5 Protokoll über Schwangerschaftstest

14. Erklärung

Ich bestätige, dass dieser Bericht den Verlauf und die Resultate der klinischen Prüfung nach bestem Wissen beschreibt.

23.11.11

Datum



Leiter der klinischen Prüfung
Sponsor

13. Anhänge

- 13.1 Protokoll
- 13.2 Case report form und Patienten-/Elterninformation
- 13.3 Liste der verantwortlichen Ärzte inkl. kurzer Lebenslauf
- 13.4 Liste der Unerwarteten Ereignisse
- 13.5 Protokoll über Schwangerschaftstest

14. Erklärung

Ich bestätige, dass dieser Bericht den Verlauf und die Resultate der klinischen Prüfung nach bestem Wissen beschreibt.

Datum

Leiter der klinischen Prüfung
Sponsor

15. Literaturverzeichnis

1. Bergoin et al. Cell and cytokine profile in nasal secretions in cystic fibrosis *Journal of Cystic Fibrosis*, Volume 1, Issue 3, September 2002, Pages 110-115
2. Bradley, D. T. and S. E. Kountakis (2005). "Correlation between computed tomography scores and symptomatic improvement after endoscopic sinus surgery." *Laryngoscope* 115(3): 466-9
3. Davidson, T. M., C. Murphy, et al. (1995). "Management of chronic sinusitis in cystic fibrosis." *Laryngoscope* 105(4 Pt 1): 354-8
4. Eggesbo, H. B., S. Sovik, et al. (2002). "CT characterization of inflammatory paranasal sinus disease in cystic fibrosis." *Acta Radiol* 43(1): 21-8.
5. Eggesbo, H. B., S. Sovik, et al. (2003). "Proposal of a CT scoring system of the paranasal sinuses in diagnosing cystic fibrosis." *Eur Radiol* 13(6): 1451-60.
6. Gysin, C., G. A. Alothman, et al. (2000). "Sinonasal disease in cystic fibrosis: clinical characteristics, diagnosis, and management." *Pediatr Pulmonol* 30(6): 481-9
7. King M, Dasgupta B, Tomkiewicz RP, Brown NE. Rheology of cystic fibrosis sputum after in vitro treatment with hypertonic saline alone and in combination with recombinant human desoxyribonuclease 1. *Am J Crit Care Med*. 1997; 156 (1):173-7
8. Piccirillo JF: Psychometric and clinimetric validity of the 20-Item Sino-Nasal Outcome Test (SNOT-20). *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002, 126:41-47.
9. Ramsey, B. and M. A. Richardson (1992). "Impact of sinusitis in cystic fibrosis." *J Allergy Clin Immunol* 90(3 Pt 2): 547-52.
10. Rowe-Jones, J. M. and I. S. Mackay (1996). "Endoscopic sinus surgery in the treatment of cystic fibrosis with nasal polyposis." *Laryngoscope* 106(12 Pt 1): 1540-4
11. Stern, M. and Wiedemann, B. Qualitätssicherung Mukoviszidose - Überblick über den Gesundheitszustand der Patienten 2002. 2003. Hannover, Wissenschaftlicher Beirat Qualitätssicherung Mukoviszidose.
12. Watelet, J. B., P. Gevaert, et al. (2004). "Collection of nasal secretions for immunological analysis." *Eur Arch Otorhinolaryngol* 261(5): 242-6.
13. Woodworth, B. A., K. Joseph, et al. (2004). "Alterations in eotaxin, monocyte chemoattractant protein-4, interleukin-5, and interleukin-13 after systemic steroid treatment for nasal polyps." *Otolaryngol Head Neck Surg* 131(5): 585-9.
14. Yamada, T., S. Fujieda, et al. (2000). "Macrolide treatment decreased the size of nasal polyps and IL-8 levels in nasal lavage." *Am J Rhinol* 14(3): 143-8.
15. Davidson, T. M., C. Murphy, et al. (1995). Management of chronic sinusitis in cystic fibrosis. *Laryngoscope* 105(4 Pt 1): 354-8.
16. Krogh Johansen HP, T; Hansen, SK; Skov, M; Aanas, K; Molin, S; Hoiby N. The paranasal sinuses are focus for colonization and chronic biofilm lung infection in cystic fibrosis patients. *Pediatric Pulmonology* 2008;43(S31 Poster Session Abstract 406):202-462.
17. Moller W, Schuschnig U, Khadem Saba G, Meyer G, Junge-Hulsing B, Keller M, Haussinger K. Pulsating aerosols for drug delivery to the sinuses in healthy volunteers. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2010;142(3):382-388.
18. Moller W, Schuschnig U, Meyer G, Mentzel H, Keller M. Ventilation and drug delivery to the paranasal sinuses: studies in a nasal cast using pulsating airflow. *Rhinology* 2008;46(3):213-220.
19. Mainz JG, SI, Ritschel C, Menzel H-J, Riethmüller J, Koitschev A, Schneider G, Beck JF. Sinonasal inhalation of dornase alfa in CF: a double-blind placebo-controlled cross-over pilot trial. *Auris Nasus Larynx*. 2011;38(2):220-7
20. Mainz JG, Hentschel J, Schien C, Cramer N, Pfister W, Beck JF, Tümmler B. *P.aeruginosa* persists in the upper airways after lung transplantation. *Journal of Cystic Fibrosis* 2011. doi:10.1016/j.jcf.2011.10.009 (in Druck)
21. Mainz JG, Michl R, Pfister W, Beck JF. Cystic Fibrosis Upper Airways Primary Colonization with *Pseudomonas aeruginosa*: Eradicated by Sinonasal Antibiotic Inhalation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Nov 1;184(9):1089-90. No abstract available. PMID:22045752 PubMed - in process]
22. Mainz JG. Rhinosinusitische Beteiligung und inhalative Therapie (Kapitel 5.7). Update Mukoviszidose. Band 3: Physiotherapie, Inhalation, Mukolyse. Hrsg. TO. Hirche und TOF. Wagner Thieme 2010, S 75-80. ISBN 978-3-13-160401-9

- 23 Hoff G, Schioz P, Paulsen J. Tobramycin treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Scand J Infect Dis* 1974, 6: 333-337.
- 24 Tümmler B, von der Hardt H. Computer-assisted documentation of the clinical course of cystic fibrosis patients. *Infections* 1987, 15 (5): 371-375.
- 25 Gappa M, Steinkamp G, Tümmler B, von der Hardt. Long-term tobramycin aerosol therapy of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis. *Scand J Gastroenterol* 1988, 23, Suppl. 143: 74-76.
- 26 Steinkamp G, Tümmler B, Gappa M, Albus A, Potel J, Döring G, von der Hardt H. Long-term tobramycin aerosol therapy in cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 1989, 6: 91-98
- 27 Steinkamp G. Antibiotikainhalation bei zystische Fibrose. *Monatschr Kinderheilkd* 1991, 139: 73-80.
- 28 Nikolaizik WH, Jenni-Galovic V, Schöni MH. Bronchial constriction after nebulized tobramycin preparations and saline in patients with cystic fibrosis. *Eur J Peadiatr* 1996, 155: 608-611.
- 29 Wiesemann HG, Steinkamp G, Ratjen F, Bauerfeind A, Pryzklenk B, Döring G, von der Hardt H. Placebo-controlled, double-blind, randomized study of aerosolized tobramycin for early treatment of *Pseudomonas aeruginosa* colonisation in cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 1988, 25: 88-92.
- 30 Hüls G, Beyer CH, Bittner-Dersch P, Sommer E, Lindemann H. Pilot study on toleration of inhalation with a new high concentrated tobramycin solution using an improved nebulizer. 23rd European Cystic fibrosis conference Den Haag 1999, Posterpräsentation.
- 31 Ratjen F, Döring G, Nikolaizik WH. Effect of inhaled tobramycin on early *Pseudomonas aeruginosa* colonisation in patients with cystic fibrosis. *Lancet* 2001, 358: 983-984.
- 32 Griesse G, Müller I, Reinhardt D. Eradication of initial *Pseudomonas aeruginosa* colonisation in patients with cystic fibrosis. *Eur J Med Res* 2002, 7: 79-80.
- 33 Nikolaizik WH, Vietzke D, Ratjen F. Comparison of tobramycin 80 mg (iv-preparation) and 300 mg solution inhaled twice daily for chronic *P. aeruginosa* infection. *Journal of Cystic Fibrosis* 2005, 4: 34-58.
- 34 Brand P, Häußermann S, Müllinger B, Fischer A, Wachall B, Stegemann J. Einsparungen an Medikamentenkosten und Theapiekosten bei der hochdosierten Tobramycininhalation. 28. Jahrestagung der Gesellschaft für Pädiatrische Pneumologie, Frankfurt a.M. 2006, Posterpräsentation

Anhang 13.3: Liste der verantwortlichen Ärzte (Tobra-nasal-cf Pilot)

Name	Initialen	Funktion	Aktiv bis
Jochen Mainz	JM	LKP/Prüfarzt	Studienende
Christian Dopfer	CD	Prüfarzt	Studienende
Sabine Dornaus	SD	Prüfärztin	19.08.2009
Petra Schellhorn-Neise	PS	Prüfärztin	Studienende

Anhang 13.4: Übersicht der unerwünschten (UE) und schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse (SUE)

UE-Zentrum	UE-PatID	UE-Nr.	UE-Datum	Art des UEs	UE-Beginn Datum	UE-Ende Datum	SUE	Schweregrad	UE-Beziehung zur Studie	UE-Maßnahmen	UE-Outcome	UE-Begleitmedikation
1	01	1	19.01.2009	Gastritis	14.01.2009	19.01.2009	nein	mild	nein	medikamentös	Vollständige Erholung	ja
1	01	2	19.01.2009	Rhinitis	09.01.2009	25.02.2009	nein	mild	nein	medikamentös	Vollständige Erholung	ja
1	02	1	26.05.2009	Kopfschmerzen	03.05.2009	03.05.2009	nein	mild	unklar	keine	Vollständige Erholung	nein
1	02	2	26.05.2009	etwas Blut im Sputum	03.05.2009	03.05.2009	nein	mild	unklar	keine	Vollständige Erholung	nein
1	03	1	31.08.2009	Höreinbruch	30.08.2009	n.v.	ja	moderat	unklar	keine	AE dauert an	nein
1	04	1	19.01.2010	gelegentlich blutiges Nasensekret	28.11.2009	17.12.2009	nein	mild	unklar	keine	Vollständige Erholung	nein
1	04	2	20.01.2010	blutiges Nasensekret	22.12.2009	19.01.2010	nein	mild	unklar	keine	Vollständige Erholung	nein
1	05	1	09.02.2010	vermehrter Husten, Sekret	07.01.2010	09.02.2010	nein	mild	nein	keine	Vollständige Erholung	nein
2	09	1	25.08.2009	Kopfschmerzen, Übelkeit	05.08.2009	05.08.2009	nein	moderat	nein	medikamentös	Vollständige Erholung	ja
2	09	2	26.08.2009	stationäre Aufnahme zur geplanten iv-Therapie	30.07.2009	25.08.2009	ja	mild	nein	Studienabbruch	Vollständige Erholung	nein
2	10	1	02.09.2009	stationäre Aufnahme zur geplanten iv-Therapie	31.07.2009	30.08.2009	ja	mild	nein	Studienabbruch	Vollständige Erholung	nein

Anhang 13.5: Protokoll über Schwangerschaftstest

Pat ID	Studieneinschluss	SST	Ergebnis	Verantwortlicher Arzt
01_03	01.07.2009	01.07.2009	Negativ	Dr. Jochen Mainz
01_04	17.11.2009	17.11.2009	Negativ	Dr. Jochen Mainz
02_09	30.07.2009	30.07.2009	Negativ	Dr. Joachim Riethmüller

