// Ausflockungen in Adsorbatimpfstoffen //

W. MATHEIS

A. MERKLE

(PEI)

Immer wieder erhält das Paul-Ehrlich-Institut Anfragen von Ärzten zum Thema Ausflockungen in Impfstoffen. Deuten doch Ausflockungen und Trübungen in flüssigen Arzneimitteln normalerweise auf Verkeimung oder andere Qualitätsmängel hin. Bei Adsorbatimpfstoffen handelt es sich jedoch um Suspensionen, deren unlösliche Partikel die wirksamen Bestandteile des Impfstoffs beinhalten. Im Folgenden werden ausgehend von Fallbeispielen einige Merkmale von Adsorbatimpfstoffen sowie Besonderheiten im Umgang mit ihnen vorgestellt.

KEINE HINWEISE AUF QUALITÄTSMÄNGEL

Fallbeispiel 1: Im September 2011 wurde das Paul-Ehrlich-Institut über eine Arzneimittelbeanstandung zu einer Charge eines (adsorbierten) Pneumokokken-Konjugat-Impfstoffs durch eine Kinder- und Jugendarztpraxis informiert. Es waren wiederholt weiße Flocken im Impfstoff beobachtet worden (siehe Abbildung 1 unten). Diese hatten sich auch nach längerem Schütteln (> 10 Minuten) nicht aufgelöst. Bei der deutschen Niederlassung des Zulassungsinhabers waren ebenfalls Meldungen zu Ausflockungen bei der entsprechenden Impfstoffcharge eingegangen.

Die neuerliche Prüfung der Herstellungsunterlagen, der Testergebnisse sowie die erneute Testung von Rückstellmustern beim Hersteller ergaben keinen Hinweis auf Qualitätsmängel. Sämtliche Spezifikationen wurden eingehalten. Auch das Reklamationsmuster konnte homogen aufgeschüttelt werden. Der Inhalt wurde als partikelfrei und das Aussehen der Suspension als produkttypisch eingestuft. Als mögliche Ursache für die schwer resuspendierbaren Agglomerate wurden ungünstige Lagerungsbedingungen (Lagerung bei < 2 °C) vermutet.

Fallbeispiel 2: Vor einiger Zeit sorgte die Beobachtung eines Arztes, dass bei einem adsorbierten Kombinationsimpfstoff (DTaP-IPV + Hib) nach der Mischung der lyophilisierten Komponente (Hib) mit der flüssigen Komponente (DTaP-IPV) das Adsorbat oben aufschwimmt, zunächst für Irritationen bei der Zulassungsbehörde und dem Hersteller des Präparats. Untersuchungen beim Hersteller und dem Paul-Ehrlich-Institut zeigten jedoch, dass dieses Phänomen nach kräftigem Schütteln des Gemischs vor der Applikation nicht erneut auftrat. Diese Beobachtung wird mit dem Einschluss kleiner Luftbläschen im Lyophilisatpellet erklärt: Sie lagern sich an die Adsorbatpartikel an und lassen sie oben aufschwimmen. Dieses Verhalten in Suspensionen wird als Flotation (Aufschwimmen) bezeichnet. Durch intensives Schütteln können die nicht sichtbaren Luftbläschen von den Adsorbatpartikeln getrennt werden, was daran zu erkennen ist, dass sich das Adsorbat danach wie erwartet absetzt (siehe Abbildung 2).

Dies sind nur zwei Beispiele für Auffälligkeiten, die sich aus den besonderen Eigenschaften der Adsorbatimpfstoffe ableiten lassen, jedoch nicht auf einem Qualitätsmangel beruhen. Oft sind es jedoch Unkenntnis im Umgang mit Impfstoffen oder eine nicht adäquate Lagerung, die dann tatsächlich zu Beeinträchtigungen der Qualität von Impfstoffen führen können. Es gibt eine Untersuchung in den USA, die zeigt, dass in 44 Prozent aller Impfpraxen mindestens ein Problem bei der Lagerung dokumentiert wurde.[1] Als wichtigste Risikofaktoren wurden in diesem Zusammenhang eine mangelhafte Temperaturkontrolle sowie die Nutzung von Kühl-/Gefrierkombinationsgeräten mit ungenügender Trennung oder zu kleinem Kühl- oder Gefrierraum ausgemacht. Neben der Beschaffung geeigneter Kühl- und Gefriergeräte und der Temperaturkontrolle während des Betriebs wird der Aufklärung des Personals über den Umgang mit den unterschiedlichen Impfstoffen eine besondere Bedeutung zugesprochen.

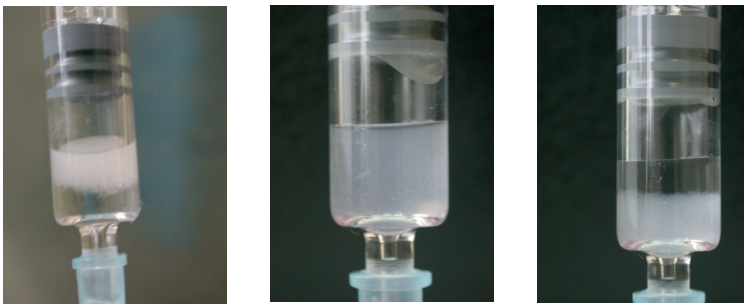
Abbildung 1:
Aussehen von Adsorbatimpfstoffen

Fertigspritze eines Adsorbatimpfstoffs kurz nach Entnahme aus dem Kühlschrank mit dem typischen Sediment (unten) und nach kräftigem Schütteln (oben, 20-mal sehr kräftig geschüttelt; es entsteht eine homogene applikationsfähige Suspension)

Quelle: PEI

ADSORBATIMPSTOFFE KRÄFTIG SCHÜTTELN

Adsorbatimpfstoffe werden durch Mischung von Antigenen mit Aluminiumhydroxid- oder Aluminiumphosphatgelen hergestellt. In den Gelen liegen die Aluminiumverbindungen als feine Partikel suspendiert vor. Die Partikelgrößen liegen in der Regel unter einem Mikrometer beziehungsweise im Bereich zwischen einem und fünf Mikrometern. Antigene werden durch Adsorption an die Aluminiumpartikel gebunden. Diese verstärken als Adjuvans die immunologische Wirkung. Der fertige Adsorbatimpfstoff ist eine Suspension, daher ist eine sichtbare Trübung normal. Die Partikel in der Suspension setzen sich beim Stehenlassen ab. Mit der Zeit bilden sich dann ein klarer Überstand und ein Sediment (siehe Abbildung 2 c). Das ist ein normaler Vorgang, da die Partikel in Suspensionen aus thermodynamischen Gründen bestrebt sind, sich zusammenzulagern. Je nach Formulierung des Impfstoffs kann es darüber hinaus auch zur Bildung von größeren Agglomeraten (größere „Flocken", siehe Abbildung 1, unten) kommen, die sich dann vollständig am Boden einer klaren Flüssigkeit absetzen. Durch Schütteln der Fertigspritzen oder Ampullen sollte vor der Applikation aber wieder eine homogene Suspension erzeugt werden können. Dabei kann in der Tat sehr kräftiges oder auch längeres Schütteln nötig sein. Ist dies nicht möglich, ist der Impfstoff zu verwerfen. Es ist wichtig, eine homogene, von sichtbaren Partikeln freie Suspension vor der Applikation zu erzeugen (siehe Abbildung 2b), damit kein Wirkstoff in der Ampulle oder Fertigspritze verbleibt oder verstärkte Lokalreaktionen erzeugt werden. Um diese weiter zu minimieren, ist eine tief intramuskuläre und handwarme Applikation ratsam.



a **b** **c**

Abbildung 2:
Phänomen der vorübergehenden Flotation (Aufschwimmen):

Drei bis fünf Minuten nach Rekonstitution eines Lyophilisats in einer flüssigen Adsorbatimpfstoff-Komponente schwimmt das Adsorbat oben auf (Abbildung 2 a). Nach kräftigem Schütteln entsteht eine homogene applikationsfähige Suspension (Abbildung 2 b). Das Adsorbat setzt sich nach einiger Zeit wieder normal am Boden der Flüssigkeit ab (Abbildung 2 c, etwa eine Stunde nach kräftigem Schütteln).

Quelle: PEI

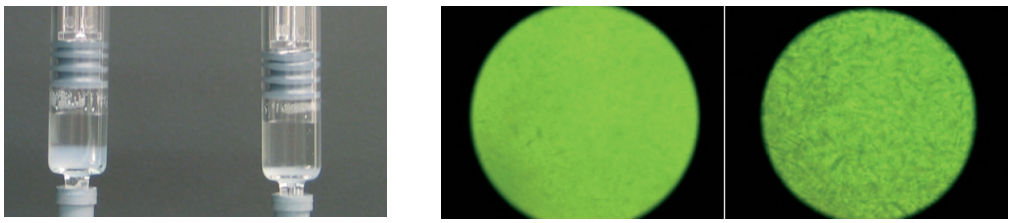
EINFRIEREN ZERSTÖRT ADSORBIERTEN IMPFSTOFF

Adsorbatimpfstoffe sollen bei 2–8 °C gelagert werden. Besonders sensibel reagieren diese Präparate jedoch auf zu kalte Lagerung. Das Einfrieren (auch kurzzeitig) zerstört die physikochemische Struktur der Adsorbate. Es bilden sich größere Partikel, die bei einer Applikation zu erheblich verstärkten Lokalreaktionen und außerdem zur Verringerung der Wirksamkeit führen.[2] Einmal eingefrorene Adsorbatimpfstoffe dürfen deshalb nicht mehr appliziert werden und sind zu verwerfen.
Frostschäden können beispielsweise bei entsprechenden Außentemperaturen im Winter auftreten, wenn die Impfstoffe nicht unter kontrollierten Bedingungen gelagert und transportiert werden. Vor einigen Jahren musste eine größere Menge Impfstoff, der für Deutschland bestimmt war, aufgrund versehentlicher Zwischenlagerung bei zu tiefen Temperaturen im unkontrollierten Frachtbereich des Flughafens vernichtet werden. Die Auswertung verschiedener Studien zur Einhaltung der Kühlkette vom Hersteller bis zum Arzt ergab, dass es sich um ein weltweites Problem handelt.[3]

Auch der Kühlschrank stellt ein potenzielles Risiko für Frostschäden dar. Je nach Konstruktion des Kühlschranks, der Beladung und der Stelle im Kühlschrank, wo die Präparate gelagert werden, können unterschiedliche Temperaturen bis hin zu unter 0 °C herrschen. Neben der regelmäßigen Temperaturkontrolle empfiehlt es sich, am besten bereits bei Inbetriebnahme des Kühlschranks die Temperatur an verschiedenen Stellen bei voller Beladung und im leeren Zustand zu messen, um ungeeignete Stellen für die Lagerung von Impfstoffen zu erkennen. Vorsicht ist bei der Lagerung zu nahe an der Kühlschlange (i.d.R. an der Rückwand) oder den Türfächern geboten.

MIT EINFACHEN TESTS FROSTSCHÄDEN ERKENNEN

Im einfachsten, aber eher seltenen Fall ist das Präparat noch gefroren, wenn es dem Kühlschrank entnommen wird, sodass der Frostschaden direkt erkennbar ist. Gibt es darüber hinaus den Verdacht, dass ein Adsorbatimpfstoff bei zu tiefer Temperatur gelagert worden ist, können zwei einfache Tests durchgeführt werden, die auf eine Schädigung der Präparate hinweisen. Voraussetzung bei beiden Tests ist, dass eine korrekt gelagerte Vergleichsprobe des Impfstoffs (idealerweise von derselben Charge) vom gleichen Hersteller verfügbar ist. Möglicherweise kann die örtliche Apotheke bei der Beschaffung behilflich sein.



a b

Abbildung 3:
Schütteltest zur Erkennung von Frostschäden

Etwa 30 Minuten nach dem Aufschütteln ist das Sediment der über Nacht bei –2°C bis –5°C gelagerten Spritze eines Adsorbatimpfstoffs (Abbildung 3a, rechts) deutlich kompakter im Vergleich zu der bei 2 – 8°C (empfohlene Temperatur) gelagerten Spritze des gleichen Impfstoffs (Abbildung 3a, links). Die Sedimentation erfolgt im falsch gelagerten Impfstoff wesentlich schneller und ist ein deutlicher Hinweis auf den Frostschaden. Der Frostschaden ist auch mikroskopisch nachweisbar (Abbildung 3b links: normale Lagerung; Abbildung 3b rechts: nach Frostschaden)

Quelle: PEI

Bei dem sogenannten Schütteltest[4] wird die Sedimentation einer korrekt gelagerten Probe mit der Sedimentation der verdächtigen Probe nach kräftigem Schütteln verglichen. Dabei setzen sich die nach dem Einfrieren größeren Teilchen deutlich schneller und üblicherweise kompakter ab (siehe Abbildung 3 a). Es handelt sich hierbei um eine zerstörungsfreie Prüfung. Zumindest die Vergleichsprobe kann noch verimpft werden.

Die gröbere Körnung der Partikel eines eingefrorenen Adsorbatimpfstoffs im Vergleich zur bei 2–8 °C gelagerten Probe ist auch im Lichtmikroskop gut erkennbar (siehe Abbildung 3 b). Der Nachteil dieses Tests ist, dass die Proben anschließend nicht mehr nutzbar sind. Er ist eher als Bestätigung des Schütteltests zu sehen, insbesondere, wenn es um die Entscheidung geht, größere Mengen Impfstoff mit Auffälligkeiten zu vernichten.

FACH- UND GEBRAUCHSINFORMATION BEACHTEN

Generell werden in der Fach- und Gebrauchsinformation impfstoffspezifische Hinweise und Erläuterungen gegeben. In der Fachinformation sind diese Hinweise in folgenden Kapiteln zu finden: Das Aussehen wird in Kapitel 3 beschrieben. Informationen zur Haltbarkeit und, falls notwendig, der Haltbarkeit im Gebrauch befinden sich in Kapitel 6.3. Dort wird beispielsweise auch auf die Stabilität

Tabelle: Anforderungen an Transport und Lagerung von Impfstoffen* (modifiziert nach Quast et al.[2])

Impfstoff	Lagerung (°C)	Transport (Kühlkettenpflicht)	Folgen fehlerhafter Temperatur
Lebendimpfstoffe (z. B. MMR-, Varizellen-, Gelbfieber-, Typhus-Lebendimpfstoff)	2–8	ja	zu warm: mangelnde Wirksamkeit
nicht adsorbierte Totimpfstoffe (z. B. einige Influenza-, Tollwut-, Meningokokken- und Pneumokokken-Polysaccharid-Impfstoffe, Typhus-Polysaccharid-Impfstoffe)	2–8	nein	zu warm: möglicherweise eingeschränkte Wirksamkeit
Adsorbatimpfstoffe (z. B. DTaP-Kombinationsimpfstoffe, FSME-, Meningokokken- und Pneumokokken-Konjugatimpfstoffe)	2–8	nein	zu warm: möglicherweise schlechtere Wirksamkeit zu kalt: schlechtere Verträglichkeit und eingeschränkte Wirksamkeit durch die irreversible Bildung größerer Partikel

* Die in der Fachinformation genannten Lagerbedingungen sind einzuhalten.

nach Rekonstitution eingegangen, wenn der Impfstoff vor der Applikation erst aus einem Lyophilisat hergestellt werden muss. Die Lagerbedingungen werden in Kapitel 6.4 behandelt. Hinweise zur Beseitigung und zur Handhabung des entsprechenden Impfstoffs werden in Kapitel 6.6 gegeben. Dort finden sich die Informationen zur Vorgehensweise beim Herstellen der Suspension beziehungsweise Instruktionen zum Mischen von Komponenten. Es wird beispielsweise auf die Kontrolle von Fremdpartikeln aufmerksam gemacht und es werden mögliche physikalische Veränderungen sowie notwendige Maßnahmen erläutert.

LAGERUNG UND TRANSPORT VERSCHIEDENER IMPFSTOFFE

Je nach Art des Impfstoffs können sich die Lagerungs- und Transportbedingungen unterscheiden (siehe Tabelle, Seite 13). Die Einhaltung dieser Bedingungen ist die Voraussetzung dafür, dass die Impfstoffe neben der Wirksamkeit auch eine gute Verträglichkeit aufweisen. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass die Impfstoffe nicht mit Kühlschranktemperatur, sondern handwarm angewendet werden sollten.

Lebendimpfstoffe sollten in der Regel jedoch sehr zeitnah nach Entnahme aus dem Kühlschrank appliziert werden, da die Erregermenge – und damit die Wirksamkeit – bei erhöhter Temperatur drastisch abfallen kann. Dagegen sind bei Totimpfstoffen auch nach einer Aufbewahrung über mehrere Stunden bei Temperaturen um 15 °C keine Auswirkungen auf die Wirksamkeit oder Verträglichkeit zu erwarten.[5] Abweichende Hinweise und Erläuterungen in der Fachinformation sind unbedingt zu beachten.

HINWEISE ZU ADSORBATIMPFSTOFFEN

- Aussehen: trübe Suspension, deren Partikel sich auch (insbesondere nach längerer Lagerung) als flockiges Sediment am Boden eines klaren Überstandes abgesetzt haben können. Nach dem Schütteln sollte in jedem Fall eine homogene Trübung entstehen.
- Handhabung: nicht einfrieren, bei Verdacht auf zu kühle Lagerung Impfstoff verwerfen.
- Applikation: als homogene Suspension, vor Applikation kräftig schütteln, handwarm verabreichen, tief intramuskulär injizieren.
- Spezielle Hinweise der Fach- und Gebrauchsinformation beachten. Dort werden Informationen zum Aussehen, der Lagerung, Handhabung und der Stabilität im Gebrauch gegeben.
- Bei Lagerung im Kühlschrank Temperaturverteilung im Kühlschrank beachten und Temperatur überwachen (cave: Einfrieren!).

Weitere allgemeine Hinweise zur Verabreichung von Impfstoffen sind in den Impfempfehlungen der STIKO enthalten, die auf der Homepage des Robert Koch-Instituts abgerufen werden können und einmal jährlich im Epidemiologischen Bulletin des Robert Koch-Instituts veröffentlicht werden.

REFERENZEN

1. Bell KN et al.: Risk factors for improper vaccine storage and handling in private provider offices. Pediatrics. 2001;107(6):E100

2. Quast U, Thilo W, Fescharek R: Impfreaktionen. Hippokrates Verlag, Stuttgart 1997

3. Matthias DM et al.: Freezing temperatures in the vaccine cold chain: A systematic literature review. Vaccine 25. 2007;3980-3986

4. Kartoglu U et al.: Validation of the shake test for detecting freeze damage to adsorbed vaccines. Bull World Health Organ. 2010;88(8):624-631

5. Quast U, Ley-Köllstadt S., Arndt U: Schwierige Impffragen. 2. Aufl. Verlag im Kilian, Marburg 2008