

Pandemische Influenzaimpfstoffe

Konzepte – Europäische Musterzulassung – Akzeptanzkriterien

Allgemeine Anmerkungen

Die Herstellung, Prüfung und Zulassung pandemischer Influenzaimpfstoffe unterliegen denselben Zeitzwängen wie die der saisonalen Influenzaimpfstoffe, das heißt, die Zeitspanne zwischen der Identifizierung der relevanten Influenzavirusstämme und dem Eintreffen der ersten epidemischen oder pandemischen Welle, vor der eine betroffene Bevölkerung durch die rechtzeitige Impfung mit geeigneten Impfstoffen geschützt werden soll, ist sehr knapp bemessen. Diese ohnehin schon schwierige Situation wird noch dadurch verschärft, dass insbesondere die Pandemieimpfstoffe zu Beginn einer pandemischen Welle in ausreichenden Quantitäten zur Verfügung stehen müssen, damit besonders gefährdete Bevölkerungsteile im Wesentlichen synchron geimpft werden können. Dennoch ist es erforderlich, Pandemieimpfstoffe unter einer angemessenen wissenschaftlichen und regulatorischen Kontrolle zu halten und hinsichtlich ihrer Qualität und klinischen Eigenschaften genauso sorgfältig zu prüfen wie andere Impfstoffe auch.

Das Prinzip der Musterimpfstoffe

Das einleitend zitierte Dilemma wird durch das Prinzip der Musterzulassungen beziehungsweise der Musterimpfstoffe („mock-ups“) umgangen. Dieses Prinzip ist eng an die Kriterien der Zulassung und Stammanpassung der saisonalen Influenzaimpfstoffe angelehnt. Es berücksichtigt den in wissenschaftlichen und medizinischen Kreisen anerkannten Sach-

verhalt, dass die für einen oder mehrere Influenzavirustypen im Rahmen eines Zulassungsverfahrens akzeptierten Daten zur Herstellung (Qualität), Präklinik und Klinik auf andere neue Influenzavirustypen beziehungsweise Subtypen ohne wesentliche Einschränkungen übertragbar sind.

Für pandemische Influenzaimpfstoffe bedeutet dies, dass Erkenntnisse, die im Rahmen von Zulassungsverfahren mit Influenzavirus-A-Subtypen generiert wurden, von denen man annimmt, dass sie ein mögliches pandemisches Potenzial besitzen, sich jedoch noch nicht zu einem Pandemievirus weiterentwickelt haben, zukünftig auf ein tatsächliches pandemisches Influenzavirus übertragbar sind. Dieser Ansatz erlaubt es, bei der Zulassung nur noch die Herstellung des eigentlichen pandemischen Impfstoffs zu prüfen, so wie dies auch bei den saisonalen Impfstoffen der Fall ist. Eine erneute klinische Prüfung ist unter diesen Voraussetzungen nicht mehr unbedingt notwendig und unter Berücksichtigung der schnellen Ausbreitung eines pandemischen Influenzavirus auch gar nicht möglich.

Die wissenschaftlichen und regulatorischen Grundlagen der Musterzulassungen/Musterimpfstoffe („mock-up vaccines“) wurden 2003 von der „Vaccine Working Party (VWP)“ des CHMP („Committee for Human Medicinal Products“), dem Ausschuss für Humanarzneimittel der europäischen Agentur für Arzneimittel („European Medicines Agency, EMA“) in London erarbeitet [1]. Pandemie-mische Musterimpfstoffe besitzen somit

EU-Zulassungen und repräsentieren deshalb einen breit gefächerten wissenschaftlichen Konsens.

Die ursprünglichen Musterzulassungen für die eingesetzten Pandemieimpfstoffe wurden unter außergewöhnlichen Bedingungen („exceptional conditions“) erteilt. Der Verweis auf eine außergewöhnliche Situation ist notwendig, da der ansonsten für Impfstoffe geforderte Nachweis der Wirksamkeit zum Zeitpunkt der Zulassung nicht ohne jeden Zweifel demonstriert werden konnte. Die Wirksamkeit kann in einer präpandemischen Phase lediglich anhand von Immunogenitätskriterien beschrieben werden (siehe „immunologische Akzeptanzkriterien“). Der eigentliche Wirksamkeitsnachweis kann logischerweise erst dann erbracht werden, wenn diese Impfstoffe mit dem eigentlichen pandemischen Impfantigen gegenüber dem zirkulierenden Pandemievirus geprüft werden können.

Während die ersten klinischen Untersuchungen mit pandemischen Musterimpfstoffen auf Basis der Influenzavirus-A-Subtypen H2N2, H7N7 oder H9N2 durchgeführt wurden [2], denen ein mögliches pandemisches Potenzial zugeschrieben wurde, beruht der Großteil unseres Wissens über Pandemieimpfstoffe mittlerweile auf Impfstoffen, die das HA-Antigen des hoch pathogenen aviären Subtyps H5N1 enthalten. Eine Übersicht über die derzeit zugelassenen H5N1-basierten Musterimpfstoffe gibt **Tab. 1**.

Die Tabelle verdeutlicht, dass sich viele namhafte Hersteller saisonaler Influenzaimpfstoffe mit unterschiedlichen

Impfstoffformulierungen am Konzept der Zulassung von Musterimpfstoffen beteiligt haben. Glaxo Smith Kline (GSK) besitzt als einziger Hersteller sogar zwei Musterzulassungen – für die Impfstoffe Daronrix und Pandemrix. Daronrix spielt aufgrund des für Influenzaimpfstoffe weniger optimalen Adjuvanssystems ALOH (Aluminiumhydroxyd) im Pandemiegeschehen keine Rolle mehr.

Neuzulassungen

In der **Tab. 1** fällt auf, dass nicht alle namhaften Hersteller saisonaler Influenzaimpfstoffe vertreten sind. Dies liegt daran, dass nicht alle zum Zeitpunkt der Umstellung auf die Pandemiephase 6 Zulassungsverfahren für H₅N₁-Musterimpfstoffe eingereicht oder erfolgreich beendet hatten.

Letztere waren gezwungen, für ihre jeweiligen Pandemieimpfstoffe Neuzulassungen einzureichen. Dies liegt insbesondere daran, dass hier nicht auf klinische Erfahrungen mit Musterimpfstoffen zurückgegriffen werden kann. Vielmehr muss man sich ausschließlich auf die Daten zur Wirksamkeit und Verträglichkeit zweier Teildosen des pandemischen H₁N₁-Impfstoffs beziehen, bevor solche Impfstoffe zugelassen werden können. Arepanrix (GSK), gefolgt von Humenza (Sanofi Pasteur) waren die ersten beiden pandemischen H₁N₁-Impfstoffe, die nicht über eine Musterzulassung verfügten, sondern über ein zentrales Neuzulassungsverfahren bewertet und zugelassen wurden.

Ein weiterer neu zugelassener Pandemieimpfstoff ist Celtura, der zellbasierte und in Marburg hergestellte adjuvantierte (MF59) pandemische H₁N₁-Impfstoff der Firma Novartis. Dieser Impfstoff wurde innerhalb der Europäischen Union (EU) ausschließlich in Deutschland zugelassen, er wurde also regulatorisch nicht zentral von der EMA, sondern national, vom deutschen Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel, dem Paul-Ehrlich-Institut (PEI), betreut. Mittlerweile haben auch Chile, Japan und die Schweiz eine nationale Zulassung für Celtura erteilt.

Nicht adjuvantierte Pandemieimpfstoffe, die, abgesehen vom Impfantigen,

Bundesgesundheitsbl 2010 · 53:1242–1249 DOI 10.1007/s00103-010-1161-5
© Springer-Verlag 2010

M. Pfeleiderer

Pandemische Influenzaimpfstoffe. Konzepte – Europäische Musterzulassung – Akzeptanzkriterien

Zusammenfassung

Konzepte zur Herstellung, Prüfung und Zulassung geeigneter Pandemieimpfstoffe wurden bereits ab dem Jahr 2003 entwickelt, sodass weit im Vorfeld einer erwarteten H₅N₁- und der tatsächlichen H₁N₁-Pandemie drei sogenannte Musterimpfstoffe zugelassen waren. Für diese Impfstoffe lagen für das zum Zeitpunkt der Zulassung theoretische Szenario einer Pandemie ausreichende Daten zur Qualität, Wirksamkeit und Verträglichkeit vor. Mit der Identifizierung des neuen H₁N₁-Subtyps im April 2009 war auf dieser Basis die zügige Anpassung der Zulassungen an den eigentlichen Pandemiestamm möglich. Derart zugelassene pandemische H₁N₁-Impfstoffe wa-

ren ab September/Oktober 2009 verfügbar. Impfkonzeppte, die sich nicht auf eine Musterzulassung berufen konnten, benötigten in der Regel etwa doppelt so viel Zeit, um die für eine Zulassung erforderlichen Daten zu generieren. Die in Deutschland und in der EU praktizierten Vorgehensweisen zur Zulassung pandemischer Musterimpfstoffe und zur Anpassung an das Pandemievirus werden im vorliegenden Beitrag detailliert beschrieben.

Schlüsselwörter

Pandemie · Influenzaimpfstoffe · Musterimpfstoffe · Mock-up-Prinzip · Zulassung

Pandemic influenza vaccines. Concepts, European mock-up licenses, and acceptance criteria

Abstract

The concept of identifying appropriate scientific and regulatory principles to ensure rapid availability of pandemic influenza vaccines when needed were already developed starting in the year 2003. These principles allowed licensing of three so-called mock-up vaccines far ahead of any real presenting pandemic event. Those licenses (Marketing Authorizations) were immediately adapted to the novel H₁N₁ strain shortly after its identification in April 2009 ensuring that as early as September 2009 large parts of the German as well as of the EU population had access to licensed products which had undergone sufficient

evaluation before first use in humans. In contrast, for pandemic vaccine concepts without a previously licensed mock-up version it generally took twice as much time to accumulate data supporting the granting of a Marketing Authorization. This article describes in detail the translation of concepts of producing, testing, and licensing of pandemic influenza vaccines into practice under real conditions.

Keywords

Pandemics · Influenza vaccines · Mock-up vaccines · Marketing Authorizations · Pandemic strain adaptation

Tab. 1 Zusammenstellung der in der EU zugelassenen Musterimpfstoffe

Name	Hersteller	Anwendung	Produktbeschreibung
Focetria	Novartis	WHO-Phase 6	7,5 µg H5N1-Oberflächenantigen, adjuvantiert mit MF59.1
Daronrix ^a	Glaxo Smith Kline (GSK)	WHO-Phase 6	3,75 µg H5N1-Ganzvirus, adjuvantiert mit Aluminiumhydroxyd (AlOH)
Pandemrix	Glaxo Smith Kline (GSK)	WHO-Phase 6	3,75 µg H5N1-Spaltantigen, adjuvantiert mit AS03
Celvapan	Baxter	WHO-Phase 6	7,5 µg H5N1-Ganzvirus, nicht adjuvantiert
Emerflu ^b	Sanofi Pasteur	WHO-Phase 6	30 µg H5N1-Spaltantigen, adjuvantiert mit Aluminiumhydroxyd (AlOH)

^aWird nicht hergestellt. ^bZulassungsverfahren noch nicht abgeschlossen. Die öffentlich empfohlenen Dosierungen können abweichen.

Tab. 2 In Deutschland und in der EU zugelassene pandemische H1N1-Influenzaimpfstoffe

Produktname (Zulassungsstatus)	Hersteller/Zulassungsinhaber	Herstellungsstätte	Antigen/Antigenmenge/Impfstoffklasse	Adjuvans
Pandemrix (EU)	GSK, Belgien	Dresden	H1N1/3,75 µg/Dosis/Spaltimpfstoff, eibasiert	AS03
Arepanrix (EU)	GSK, Belgien	Kanada	H1N1/3,75 µg/Dosis/Spaltimpfstoff, Ei	AS03
Focetria (EU)	Novartis, Italien	Siena, Italien	H1N1/7,5 µg/Dosis/Untereinheitenimpfstoff, eibasiert	MF59
Celvapan (EU)	Baxter, Österreich	Bohumil, Tschechische Republik	H1N1/7,5 µg/Dosis/Ganzvirusimpfstoff aus Zellkultur (Vero)	–
Celtura (national)	Novartis, Marburg, Deutschland	Marburg	H1N1/3,75 µg/Dosis/Untereinheitenimpfstoff aus Zellkultur (MDCK)	MF59
Panenza (national)	Sanofi Pasteur, Frankreich	Lyon	H1N1/15 µg/Dosis/Spaltimpfstoff, eibasiert	–
CSL H1N1 Pandemic Influenza Vaccine (national)	CSL Biotherapeutics, Marburg, Deutschland	Australien	H1N1/15 µg/Dosis/Spaltimpfstoff, eibasiert	–
Humenza (EU)	Sanofi Pasteur, Frankreich	Lyon	H1N1/3,75 µg/Dosis/Spaltimpfstoff, eibasiert	AF03

Die angegebenen Antigenmengen entsprechen der Erwachsenenendosierung. Die Kinderdosierungen können abweichen und entsprechen der halben Erwachsenenendosis. Es gilt die in den aktuellen Fach- und Gebrauchsinformationen wiedergegebene altersspezifische Dosierung in Verbindung mit den jeweiligen nationalen oder regionalen öffentlichen Empfehlung zur optimalen Anwendung, also zur Anzahl der notwendigen Teildosen eines bestimmten Pandemieimpfstoffs.

den saisonalen Influenzaimpfstoffen gleichen, sind wissenschaftlich und regulatorisch wesentlich einfacher zu erfassen als die adjuvantierten Impfstoffe. Ähnlich der jährlichen Anpassung der saisonalen Influenzaimpfstoffe an die aktuell zirkulierenden Influenzaviren kann auch die bestehende Zulassung an den neuen A/H1N1-Subtyp angepasst werden. Eine solche Vorgehensweise erfordert weit weniger klinische Daten als der zuvor beschriebene Prozess der Neuzulassung adjuvantierter Pandemieimpfstoffe, da man sich auf die klinischen Erfahrungen mit den saisonalen Influenzaimpfstoffen berufen kann. Die Bewertung und Zulas-

sung solcher Konzepte werden im Allgemeinen nicht von der EMA, sondern von den Mitgliedsstaaten selbst geregelt. Panenza (Sanofi Pasteur) ist ein Beispiel für einen nicht adjuvantierten pandemischen H1N1-Impfstoff, der über ein sogenanntes dezentrales Zulassungsverfahren nur in einigen Mitgliedsstaaten national zugelassen wurde (Deutschland, Frankreich, Italien, Spanien). Ein ähnlicher Impfstoff der australischen Firma CSL ist innerhalb der EU nur in Deutschland zugelassen und für die Anwendung an Schwangeren vorgesehen.

Unter Berücksichtigung dieser Gegebenheiten komplettieren und präzisieren

sich die Angaben der **Tab. 1** derzeit, wie in **Tab. 2** dargestellt.

Immunologische Akzeptanzkriterien für Influenzaimpfstoffe

Pandemische Influenzaimpfstoffe unterliegen den gleichen Anforderungen bezüglich der Qualität und der präklinischen sowie klinischen Untersuchungen wie die saisonalen Influenzaimpfstoffe. Zusätzlich zur Eignung des Herstellungsverfahrens und der Herstellungstätte müssen insbesondere die klinischen Eigenschaften über geeignete Studien nachgewiesen werden. Für etablierte inaktivierte Influenzaimpfstoffe, das heißt für solche, die auf Bruteiern oder Gewebekultur hergestellt werden und je 15 µg HA-Antigen der drei relevanten Influenzaviren enthalten, sind keine klassischen Wirksamkeitsstudien vorgeschrieben. Vielmehr wird für derartige Influenzaimpfstoffe ein immunologisches Surrogat akzeptiert. So wird beispielsweise ein Hämagglutinationsinhibitions- (HAI-)Titer von $\geq 1:40$ als Surrogatparameter für protektive Immunität akzeptiert. Als alternative Testverfahren sind ein Immundiffusionstest, der „Single-Radial-Hämolyse“- (SRH-)Test sowie zunehmend auch Virusneutralisationstests anerkannt [3]. Die Akzeptanzkriterien für den HAI-Test sind in **Tab. 3** zusammengefasst.

Diese für die saisonalen Influenzaimpfstoffe entwickelten Vorgaben berücksichtigen, dass bei den meisten Personen, die älter als etwa acht bis zehn Jahre sind, bereits eine durch den mehr oder weniger regelmäßigen Kontakt mit den zirkulierenden Influenzaviren oder durch frühere Impfungen bedingte Grundimmunität unterschiedlichen Ausmaßes vorliegt. Somit ist es möglich, die Immunogenität saisonaler Influenzaimpfstoffe in einer bezüglich ihrer individuellen Basisimmunität höchst heterogenen Bevölkerung hinreichend gut zu beschreiben.

Neue saisonale Influenzaimpfstoffe, also solche, die mit neuen Verfahren hergestellt werden (zum Beispiel gentechnisch), über alternative Routen verabreicht werden (zum Beispiel nasal) oder auf anderen Wirkprinzipien beruhen (zum Beispiel lebend attenuiert) können nur über

den Nachweis der Wirksamkeit in kontrollierten Studien zugelassen werden, da bei solchen Konzepten die Eignung der in **Tab. 1** beschriebenen Akzeptanzkriterien nicht belegt ist [4].

Immunologische Eigenschaften von Influenzaimpfstoffen

Die meisten der in Deutschland beziehungsweise in der EU zugelassenen und angewendeten saisonalen Influenzaimpfstoffe sind Spalt- oder Untereinheitenimpfstoffe. Die dazu im Vergleich reaktiveren Ganzvirusimpfstoffe spielen im Rahmen der saisonalen Anwendung fast keine Rolle mehr. Eine Liste der zugelassenen beziehungsweise aktualisierten Impfstoffe findet sich auf der Homepage des Paul-Ehrlich-Instituts (PEI) [5].

Die bessere Verträglichkeit von Spaltantigen- und Untereinheitenimpfstoffen hat jedoch ihren Preis. Mit zunehmender Aufreinigung des HA-Impfantigens nimmt dessen Immunogenität ab. Dies bedeutet, dass in der Reihenfolge: Ganzvirusimpfstoff > Spaltimpfstoff > Untereinheitenimpfstoff zunehmend geringere Antikörpertiter erzielt werden. Grund für die Reduzierung der immunogenen Eigenschaften ist, dass insbesondere in Ganzvirusimpfstoffen andere Influenzavirusproteine einen adjuvantierenden Effekt auf das HA-Antigen ausüben, der mit zunehmender Aufreinigung immer mehr nachlässt. Diese Tendenz hat im Rahmen der regelmäßigen saisonalen Impfung vermutlich keine klinischen Konsequenzen, denn eine ausreichend hohe Grundimmunität benötigt nur einen geringen Stimulus, um vervollständigt zu werden.

Wie sich bei umfangreichen Studien zu pandemischen H₅N₁-Kandidatimpfstoffen aber herausgestellt hat, wird es zunehmend schwieriger, naive, also zuvor gegenüber einem neuen Antigen noch nie exponierte Immunsysteme, mit immer höher gereinigten Impfantigenen effektiv zu stimulieren. Zumindest kann dies nicht über die Verabreichung einer einzigen Teildosis erreicht werden. Eine vergleichsweise geringere Immunogenität von Impfantigenen kann entweder durch die Gabe mehrerer Teildosen kompensiert werden oder durch die Verwendung ge-

Tab. 3 Immunologische Akzeptanzkriterien für saisonale Influenzaimpfstoffe am Beispiel des Hämagglutinationsinhibitions- (HAI)-Tests

	Altersgruppe	
	18 bis 60 Jahre	Über 60 Jahre
Serokonversionsfaktor ^a	≥2,5	≥2,0
Serokonversionsrate ^b	≥40%	≥30%
Seroprotektionsrate ^c	≥70%	≥60%

^aMittlerer Anstieg der HAI-Antikörpertiter. ^bAnteil der Personen mit einem HAI-Titer <1:40 vor der Impfung und ≥1:40 nach der Impfung, beziehungsweise mit einem HAI-Titer von ≥1:40 vor der Impfung und einem mindestens vierfachen Titeranstieg nach der Impfung. ^cAnteil der Personen mit einem HAI-Titer von ≥1:40 nach der Impfung.

eigneter Adjuvanssysteme, die die Immunogenität gereinigter Influenzavirusantigene signifikant verbessern.

In der Tat kann dies am Beispiel des seit vielen Jahren zugelassenen saisonalen Impfstoffs Fluad (Novartis Vaccines and Diagnostics, Siena, Italien), der ein auf Squalenöl basiertes Öl-in-Wasser-Adjuvanssystem enthält, eindrucksvoll bestätigt werden. Fluad ist somit ein adjuvantierter Untereinheitenimpfstoff, der im Vergleich zu seinem nicht adjuvantierten Gegenstück eine bestehende geringe Restimmunität wesentlich effektiver auffrischen kann.

Je ausgeprägter aber eine vorhandene Restimmunität beim Impfling ist, umso weniger Vorteile haben adjuvantierte im Vergleich zu nicht-adjuvantierten saisonalen Influenzaimpfstoffen.

Diese Prinzipien waren für eine effiziente Pandemieplanung von fundamentaler Bedeutung. Insbesondere galt es, den folgenden Grundsatz anzuwenden: Je weniger Antigen pro Dosis benötigt wird beziehungsweise je weniger Teildosen zum Erreichen einer protektiven Immunität benötigt werden, umso besser können die vorhandenen Herstellungsressourcen genutzt werden und umso mehr steht für die zu impfenden Bevölkerungsgruppen dringend benötigter Impfstoff zu Beginn und während einer Pandemie zur Verfügung.

Die Anwendung pandemischer Influenzaimpfstoffe im Rahmen der Zulassung war grundsätzlich an die Phase 6 der WHO-Definition pandemischer Phasen und deren offizieller Verlautbarung durch die WHO gebunden. Die Möglichkeit zur weiteren Anwendung der noch vorhandenen pandemischen Influenzaimpfstoffe auch außerhalb der WHO-Pandemiephase 6 ist mittlerweile gegeben.

Herstellung

Die Herstellung pandemischer Musterimpfstoffe beziehungsweise des tatsächlichen Pandemieimpfstoffs unterscheidet sich bis zur Endformulierung nicht von der Herstellung der saisonalen Influenzaimpfstoffe. Es gilt an dieser Stelle, erneut hervorzuheben, dass die bisher erteilten Musterzulassungen vor allem Hersteller betreffen, die auch Zulassungen für saisonale Impfstoffe in Deutschland oder in der EU besitzen. Diese stellen saisonale Influenzaimpfstoffe in einer konsistenten Qualität und, darüber definiert, mit immer gleichbleibenden klinischen Eigenschaften her.

Lediglich im allerletzten Prozessschritt, das heißt in der Mischung des HA-Antigens mit den anderen Impfstoffkomponenten, unterscheidet sich die Herstellung der pandemischen von der der saisonalen Influenzaimpfstoffe. Die Unterschiede ergeben sich aus dem niedrigeren Antigengehalt sowie dem Zusatz der bereits mehrfach erwähnten Adjuvanssysteme, die in den meisten saisonalen Influenzaimpfstoffen nicht enthalten sind.

Präklinische Anforderungen

Anders als bei den saisonalen Influenzaimpfstoffen kann die Effizienz und Effektivität H₅N₁-basierter Musterimpfstoffe oder anderer pandemischer Kandidatimpfstoffe nicht in kontrollierten klinischen Studien erfasst werden, da zum Beispiel das dem Impfantigen entsprechende aviäre Influenzavirus des Subtyps H₅N₁ nicht in der menschlichen Population zirkuliert. Solche Studien sind nur im Rahmen der breiten Anwendung eines Impfstoffes gegen ein tatsächlich zirkulierendes pandemisches Influenzavirus wie

Tab. 4 Seroprotektionsraten nach ein- oder zweimaliger Impfung mit unterschiedlichen zugelassenen H5N1-Musterimpfstoffen

Impfstoff	% Seroprotektionsraten (SPR)	
	Tag 18 bis 21 nach der 1. Impfung	Tag 18 bis 21 nach der 2. Impfung
Celvapan (BAXTER) H5N1-Ganzvirusimpfstoff, 7,5 µg HA-Antigen, nicht adjuvantiert	55,5 ^c –57,9 ^{a,d}	65,4 ^c –67,7 ^{a,d}
Focetria (Novartis) H5N1-Untereinheitenimpfstoff, 7,5 µg HA-Antigen, mit MF 59 adjuvantiert	41 ^{b,c}	86 ^{b,c}
Pandemrix (GSK) H5N1-Spaltimpfstoff, 3,75 µg HA-Antigen, mit AS03 adjuvantiert	44,5 ^{a,c}	94,3 ^{a,c}

^aHämagglutinations-Inhibitions- (HI-)Test. ^bSingle-Radial-Hämolyse- (SRH-)Test. ^cErwachsene (18–60 Jahre). ^dÄltere (>60 Jahre).

Tab. 5 Zusammensetzung verschiedener Öl-in-Wasser-basierter Adjuvanssysteme pro Impfdosis und Funktion der Komponenten

Funktion der Adjuvanskomponenten	MF59 Novartis	AS03 GSK	AF03 Sanofi Pasteur
Ölphase	Squalen (9,75 mg)	Squalen (10,68 mg) α-Tocopherol (11,68 mg)	Squalen (12,5 mg)
Lipophiler Oberflächenfaktor	Sorbitol-Triooleat (1,175 mg)	–	Sorbitanoleat (1,85 mg))
Hydrophiler Oberflächenfaktor	Polysorbat 80 (1,175 mg)	Polysorbat 80 (4,85 mg)	Polyoxyäthylen Ceto-stearyläther (2,38 mg)
Wasserphase	Citratpuffer	PBS	PBS/Mannitol
Herstellungsverfahren	Mikrofluidisierung	Mikrofluidisierung	Temperaturgesteuerte Phaseninversion

dem derzeitigen H₁N₁v-Virus möglich. Die Erfassung der Wirksamkeit pandemischer Musterimpfstoffe ist a priori ausschließlich über die Bestimmung der serologischen Parameter möglich.

Umso wichtiger ist unter solchen Voraussetzungen die sorgfältige präklinische Untersuchung von Musterimpfstoffen, insbesondere hinsichtlich ihrer Schutzzeigenschaften. Glücklicherweise gibt es für die Prüfung von Influenzaimpfstoffen ein relevantes Tiermodell, das Frettchen, mit dem die Wirksamkeit von Influenzaimpfstoffen – über die reine Bestimmung serologischer Parameter hinaus – untersucht werden kann. Frettchen entwickeln nach einer Infektion mit Influenzaviren ähnliche Symptome wie der Mensch. Die Infektion mit dem hoch pathogenen aviären Influenzavirus-A-Subtyp H₅N₁ führt wie beim Menschen zu schwersten Krankheitsverläufen und zum Tod.

Somit lassen sich mit diesem Tiermodell verlässliche Daten zur möglichen Schutzwirkung H₅N₁-basierter Musterimpfstoffe generieren. Insgesamt ergibt sich aus der präklinischen Untersuchung

der in **Tab. 1** aufgelisteten Musterimpfstoffe folgender Sachverhalt:

- Geimpfte Frettchen überleben eine ansonsten tödlich wirkende H₅N₁-Belastungsdosis.
- Seren von im Rahmen klinischer Studien mit H₅N₁-Impfstoffen geimpften Personen, die auf Frettchen transferiert wurden, schützen diese vor einer ansonsten tödlichen H₅N₁-Belastungsdosis.
- Seren geimpfter Frettchen kreuzreagieren mit H₅N₁-Virusvarianten (zum Beispiel A/Indonesien), deren HA-Antigen nicht im Impfstoff (A/Vietnam) enthalten ist.
- Geimpfte Frettchen überleben eine tödliche Belastungsdosis mit H₅N₁-Virusvarianten (zum Beispiel A/Indonesien), deren HA-Antigen nicht im Impfstoff (A/Vietnam) enthalten ist.
- Frettchen, die eine Dosis eines H₅N₁-Impfstoffs (A/Vietnam) erhalten haben, reagieren anamnestisch, wenn ihnen eine zweite Dosis eines Impfstoffs verabreicht wird, der

das HA-Antigen einer Variante (zum Beispiel A/Indonesien) des ursprünglichen H₅N₁-Impfstamms enthält.

Auch wenn diese Resultate nicht vor-schnell und gänzlich auf den Menschen übertragen werden sollten, so geben die präklinischen Erkenntnisse doch genügend Hinweise darauf, dass die einzelnen H₅N₁-basierten Musterimpfstoffe effiziente Impfkonzeppte repräsentieren.

Klinische Anforderungen

Die klinischen Minimalanforderungen an pandemische Influenzaimpfstoffe entsprechen denen für die saisonalen Influenzaimpfstoffe, das heißt, sie müssen beispielsweise allen in **Tab. 3** genannten Akzeptanzkriterien genügen. Allerdings sind die Impfziele bei einer saisonalen und pandemischen Impfung unterschiedlich. Während bei der saisonalen Impfung die Auffrischung beziehungsweise Anpassung einer bestehenden Grundimmunität beabsichtigt ist, geht es bei der Pandemieimpfung in erster Linie um die Grundimmunisierung bisher nicht exponierter und somit immunologisch naiver Personengruppen. Somit sind insbesondere die Seroprotektionsraten ein wichtiges Kriterium, die, wie oben schon ausgeführt, Antikörpertiter repräsentieren, von denen angenommen wird, dass sie mit einer Schutzwirkung korrelieren.

Über diese klinischen Minimalanforderungen hinaus wird von geeigneten pandemischen Musterimpfstoffen verlangt, dass zum Erreichen solcher Seroprotektionsraten nicht mehr als zwei Teildosen notwendig sind. Impfkonzeppte, bei denen mehr als zwei Teildosen für eine effektive Grundimmunisierung benötigt werden, lassen sich nicht in die Logistik pandemischer Impfkampagnen integrieren.

Wünschenswert ist zudem, dass nach der zweiten Impfung Seroprotektionsraten erzielt werden, die die Minimalanforderung – 70% bei Erwachsenen von 18 bis 60 Jahren beziehungsweise 60% für Personen, die älter als 60 Jahre sind – signifikant übertreffen.

Tab. 4 vergleicht die bisher zu den Seroprotektionsraten veröffentlichten Daten, die mit drei zugelassenen H₅N₁-ba-

sierten Musterimpfstoffen erzielt werden. Sie sind repräsentativ für andere Impfstoffe, die der gleichen Impfstoffklasse angehören (Ganzvirus-, Spalt- oder Untereinheitenimpfstoff) [6].

Nicht aufgeführt sind die Seroprotektionsraten, die mit nicht adjuvantierten beziehungsweise mit Aluminiumhydroxyd (AIOH)-adjuvantierten H₅N₁-Spalt- oder Untereinheitenimpfstoffen erzielt werden. Klinische Studien haben gezeigt, dass derartige H₅N₁-Impfstoffe bei Weitem nicht den Minimalanforderungen entsprechen, also zu wenig immunogen sind.

Die in **Tab. 4** zusammengestellten Daten bestätigen einen schon früher erwähnten Sachverhalt, nämlich die direkte Korrelation zwischen der Antigenpräparation und den immunogenen Eigenschaften des HA-Antigens. Unadjuvantierte H₅N₁-Ganzvirusimpfstoffe sind erheblich immunogener als die entsprechenden H₅N₁-Spalt- oder Untereinheitenimpfstoffe. Diese geringe Immunogenität kann jedoch über den Zusatz geeigneter Adjuvanssysteme (zum Beispiel MF59, ASO₃ oder AF₀₃) kompensiert werden. Derart formulierte H₅N₁-HA-Antigene übertreffen dann in ihrer Immunogenität die entsprechenden Ganzvirusimpfstoffe. Bemerkenswert ist auch, dass die Unterschiede in der Immunogenität zwischen Spalt- und Untereinheitenimpfstoffen trotz des Zusatzes der leistungsstarken Adjuvanssysteme MF59 beziehungsweise ASO₃ bestehen bleiben.

Nur bei einem sehr kleinen Teil der Probanden, die weltweit an H₅N₁-Impfstudien teilnahmen, wurden signifikante Basisimmunitätstiters für den Subtyp H₅N₁ festgestellt. Dies war auch nicht zu erwarten, denn Influenza-A-Viren des Subtyps H₅N₁ können nur Vögel, nicht jedoch den Menschen über natürliche Infektketten infizieren. Impfungen gegen H₅N₁ erfordern deshalb eine Grundimmunisierung. Die Auffrischung einer vorbestehenden Grundimmunität ist nicht möglich. Dies bestätigt sich durch die Beobachtung, dass eine einzige Dosis (**Tab. 4**, mittlere Spalte) der beschriebenen H₅N₁-Musterimpfstoffe nicht ausreicht, um die erforderlichen Seroprotektionsraten zu erreichen (**Tab. 3**).

An dieser Stelle soll allerdings auch darauf hingewiesen werden, dass die ge-

Tab. 6 Seroprotektionsraten (Erwachsene) vor der Impfung und nach der ersten Dosis eines unadjuvantierten H1N1v-Impfstoffs

Impfstoff	% Seroprotektionsraten (SPR)	
	H1N1v-Basistiter (vor der Impfung)	Tag 21 nach der 1. Impfung
H1N1v (CSL, Australien) H1N1v-Spaltimpfstoff, 15 µg HA-Antigen, nicht adjuvantiert	33 ^b –34 ^{a,c}	94 ^c –100 ^{a,b}
H1N1v (CSL, Australien) H1N1v-Spaltimpfstoff, 30 µg HA-Antigen, nicht adjuvantiert	21 ^c –39 ^{a,b}	88 ^c –98 ^{a,b}

^aHämagglutinations-Inhibitions- (HI-)Test. ^bErwachsene (18 bis 49 Jahre). ^cErwachsene (50–64 Jahre).

Tab. 7 Seroprotektionsraten (Kinder) vor der Impfung und nach der ersten Dosis eines unadjuvantierten H1N1v-Impfstoffs

Impfstoff	% Seroprotektionsraten (SPR)	
	H1N1v-Basistiter (vor der Impfung)	Tag 21 nach der 1. Impfung
H1N1v (CSL, Australien) H1N1v-Spaltimpfstoff, 7,5 µg HA-Antigen, nicht adjuvantiert	5,9 ^b –8,7 ^{a,c}	86 ^c –88 ^{a,b}
H1N1v (CSL, Australien) H1N1v-Spaltimpfstoff, 15 µg HA-Antigen, nicht adjuvantiert	7,9 ^b –9,8 ^{a,c}	88 ^b –91 ^{a,c}

^aHämagglutinations-Inhibitions- (HI-)Test. ^bKinder (6 Monate bis <3 Jahre). ^cKinder (3 bis <9 Jahre).

zeigten Unterschiede in der Immunogenität der einzelnen H₅N₁-Musterimpfstoffe, zumindest teilweise, auch auf Unterschiede und Schwankungen in den von den Herstellern verwendeten Testsystemen zurückzuführen sind. Alle Hersteller von H₅N₁-Musterimpfstoffen mussten deshalb die erzielten HI- oder SRH-Testergebnisse in sogenannte Mikroneutralisationstests, in denen die Titer funktionaler, das heißt virusneutralisierender Antikörper bestimmt werden können, bestätigen.

Der für die Versorgung Deutschlands vorgesehenen Pandemieimpfstoff Pandemrix von GSK sowie die Pandemieimpfstoffe Focetria von Novartis und Humenza von Sanofi Pasteur stellen die derzeitigen Goldstandards dar. Pandemieimpfstoffe, die immunologisch naive Immunsysteme noch effektiver stimulieren können, sind weltweit nicht verfügbar.

Adjuvanssysteme

Im Zuge der Entwicklung der H₅N₁-Musterimpfstoffe hat sich sehr bald und deutlich gezeigt, dass das ansonsten vielfach bewährte Adjuvans Aluminiumhydroxyd (AIOH) zur Verbesserung der Immunogenität des H₅N₁-HA-Antigens in immunologisch naiven Immunsystemen nur unzureichend oder gar nicht geeignet ist. AIOH bewirkt bei H₅N₁-Spalt- oder Untereinheitenantigenen eine marginale Er-

höhung der Immunogenität, bei H₅N₁-Ganzvirusimpfstoffen ist im Vergleich zum unadjuvantierten Impfstoff kein Effekt mehr feststellbar. In einem Fall verschlechterte der Zusatz von AIOH sogar die immunogenen Eigenschaften.

Allerdings muss auch betont werden, dass das Konzept der Antigeneinsparung durch die Verwendung von AIOH zur Auffrischung einer vorbestehenden Grundimmunität entwickelt wurde [7, 8]. In „geprägten“ Immunsystemen, also bei bestehender Grundimmunität gegenüber Influenzavirusantigenen, kann ein reduzierter Antigengehalt durch den Zusatz von AIOH kompensiert werden. Auf „ungeprägte“ Immunsysteme lässt sich dieser Ansatz jedoch nicht übertragen.

Somit fokussierte sich die Weiterentwicklung der H₅N₁-Musterimpfstoffe auf die Verwendung neuer Adjuvanssysteme, insbesondere auf Öl-in-Wasser-basierte Adjuvansien. Für ein solches Adjuvanssystem (MF59 von Novartis), das in einem zugelassenen saisonalen Influenzaimpfstoff verwendet wurde (Fluad, Novartis, Siena, Italien), gab es bereits eine Reihe von Hinweisen darauf, dass es auch dann effektiv ist, wenn keine oder eine nur unzureichende Grundimmunität vorliegt.

Wie in den vorhergehenden Abschnitten bereits ausführlich beschrieben wurde, ergeben sich aus solchen Formulierungen hervorragende Pandemieimpfstoffe, die trotz eines niedrigeren HA-An-

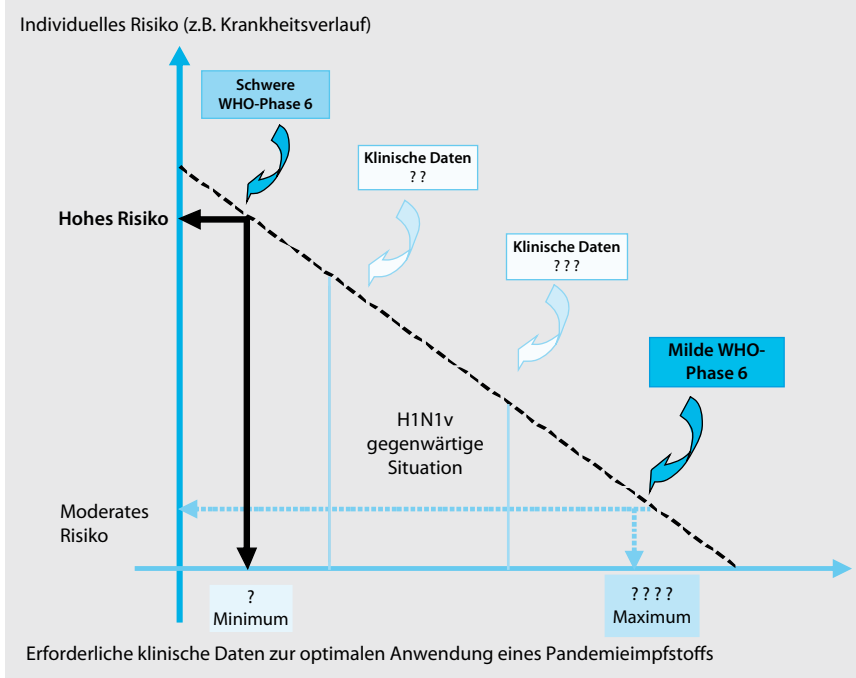


Abb. 1 ▲ Dynamische Nutzen-Risiko-Analyse zur optimalen Anwendung pandemischer H1N1v-Impfstoffe

tigengehalts sehr hohe Seroprotektionsraten (85–95%) nach nur zwei Teildosen bewirken.

Die Zusammensetzungen der von GSK (ASo₃), Novartis (MF59) und Sanofi Pasteur (AFo₃) verwendeten „neuen“ Adjuvanssysteme sind in **Tab. 5** einander gegenübergestellt. Grundsätzlich handelt es bei den Adjuvanskomponenten MF59, ASo₃ und AFo₃ um biologische Substanzen, die auch in anderen Arzneimitteln, in Kosmetika und in Lebensmitteln Verwendung finden. Eine ausführliche Risikoanalyse der Öl-in-Wasser-basierten Adjuvanssysteme, insbesondere mit Blick auf ihre Anwendung in der Schwangerschaft, findet sich auf der Homepage des Paul Ehrlich-Instituts [9].

Andere Inhaltsstoffe

Außer in ihrer Antigenzusammensetzung und im Einzelfall in der Verwendung eines Adjuvanssystems unterscheiden sich die Inhaltsstoffe der Pandemieimpfstoffe nicht von denen saisonaler Influenzaimpfstoffe.

Soweit Pandemieimpfstoffe nicht in Einzelspritzen, sondern in Mehrdosenbehältnissen abgefüllt werden, folgen einige Hersteller der WHO-Empfehlung und verwenden Thiomersal als Konser-

vierungsmittel. Obwohl Thiomersal aufgrund von Sicherheitsbedenken aus nahezu allen in Deutschland verfügbaren Impfstoffen entfernt wurde, ist seine Verwendung in Mehrdosenbehältnissen vertretbar: Die Risiken durch das Einbringen mikrobiologischer Kontaminationen während der Einzeldosenentnahmen überwiegen nämlich die vermuteten oder tatsächlichen Risiken, die mit der Verabreichung quecksilberhaltiger Substanzen verbunden sind.

Der für Deutschland zur Verfügung stehende Pandemieimpfstoff Pandemrix von GSK enthält 5 µg Thiomersal pro Erwachsenendosis (0,5 ml). Der für Schwangere vorgesehene Pandemieimpfstoff von CSL wird für Deutschland in Einzelspritzen bereitgestellt und enthält demzufolge kein Thiomersal.

Anpassung der Musterimpfstoffe an den pandemischen H1N1-Subtyp

Die Anpassungen der H₅N₁-Musterzulassungen für Celvapan, Focetria und Pandemrix an den pandemischen H₁N₁v-Influenzavirusstamm wurden Ende September/Anfang Oktober 2009 infolge der positiven Empfehlung des CHMP auch formal von der EU-Kommission genehmigt [10].

Inhaltlicher Schwerpunkt dieser Änderungsverfahren war der Nachweis, dass die Herstellung und somit Qualität der H₁N₁v-Impfstoffe der ursprünglichen Zulassung für die H₅N₁-Musterimpfstoffe entspricht. Die Bewertung der dazu notwendigen Daten erfolgte in einem sogenannten rollierenden Verfahren, das heißt, einzelne Datensätze wurden von den zuständigen Behörden geprüft, sobald diese von den Herstellern eingereicht wurden. Dieses Verfahren ist an den Pandemiefall angepasst und bedeutet eine enorme Zeitersparnis, da sich die Vervollständigung der Genehmigungsunterlagen im Laufe des Verfahrens ergibt, das heißt, es muss nicht erst abgewartet werden, bis ein Hersteller die für ein „normales“ Zulassungsverfahren geforderten Daten und Unterlagen zusammengestellt und zur Prüfung eingereicht hat.

Zusätzlich zu diesen Daten gibt es mittlerweile auch eine Vielzahl veröffentlichter Ergebnisse aus Immunogenitätsstudien mit den tatsächlichen H₁N₁v-Pandemieimpfstoffen in allen Alterskategorien. Diese Resultate sind einigermaßen überraschend, denn sie unterscheiden sich doch erheblich von den klinischen Erkenntnissen, die mit den H₅N₁-Impfstoffen gewonnen wurden. Sie können wie folgt zusammengefasst werden:

- Es besteht scheinbar eine breite Grundimmunität gegenüber H₁N₁-Antigenen.
- Eine einmalige Impfung mit antigenreduzierten und adjuvantierten beziehungsweise nicht antigenreduzierten und unadjuvantierten H₁N₁v-Impfstoffen induziert in nahezu allen Alterskategorien Seroprotektionsraten in einer Größenordnung von 80 bis 90%, die mit den H₅N₁-Musterimpfstoffen nur mit zwei Teildosen erreicht werden konnten.
- Der immunogenitätssteigernde Effekt der Öl-in-Wasser-basierten Adjuvanssysteme ist bei den pandemischen H₁N₁-Impfstoffen bei Weitem nicht so ausgeprägt wie bei den H₅N₁-Musterimpfstoffen.

Tab. 6 fasst diese Sachverhalte für einen nicht adjuvantierten H₁N₁v-Impfstoff des australischen Herstellers (CSL) zusammen [11]. Dieser Impfstoff ist auch

in Deutschland zugelassen, um der STI-KO-Empfehlung für einen nicht adjuvantierten (und Thiomersal-freien) Pandemieimpfstoff für Schwangere entsprechen zu können.

Angesichts dieser Daten mag man auch zu dem Schluss gelangen, dass das HA-Antigen des neuen H₁N₁-Subtyps eine im Vergleich zum H₅N₁-HA-Antigen höhere „natürliche“ Immunogenität aufweist. Nur so lässt sich derzeit auch die ausgeprägte Immunantwort von Kindern, die noch keine Grundimmunität aufgebaut haben können, erklären (■ Tab. 7). Die Basis-HI-Titer bei Kindern von sechs Monaten bis neun Jahren sind deutlich geringer als in den Erwachsenengruppen (■ Tab. 6). Dennoch reicht auch hier eine einmalige Impfung mit einem unadjuvantierten Pandemieimpfstoff aus, um Seroprotektionsraten im Bereich von 90% zu bewirken – ein Phänomen, das mit saisonalen Influenzaimpfstoffen noch nie beobachtet wurde. Wie genau diese Daten interpretiert werden müssen, das heißt, ob die serologischen Daten mit einem Immunschutz korrelieren, kann endgültig erst mit der Verfügbarkeit altersspezifischer Wirksamkeitsdaten abgeklärt werden.

Die in den ■ Tab. 6 und ■ Tab. 7 zusammengestellten Daten sind repräsentativ für alle pandemischen H₁N₁-Impfstoffe, das heißt, sie sind unabhängig vom Hersteller, von der Dosierung und der Formulierungsart (adjuvantiert oder nicht adjuvantiert).

Nutzen-Risiko-Analyse als Endpunkt der einzelnen Zulassungsverfahren

Alle Planungen zur Entwicklung, Herstellung und Anwendung von Pandemieimpfstoffen haben sich am schlimmsten anzunehmenden Fall orientiert, also an einer pandemischen Situation, die mit der spanischen Grippe ab dem Jahr 1918 zu vergleichen ist. Die Resultate dieser Bemühungen wurden in den vorangegangenen Absätzen ausführlich beschrieben. Letztendlich standen und stehen nunmehr Pandemieimpfstoffe aller Art zur Verfügung, deren richtige und konsequente Anwendung die Kontrolle einer aggressiven Pandemie erlaubt.

Die Anwendung der H₁N₁-Impfstoffe musste jedoch aus vielerlei Gründen dem tatsächlichen, also dem derzeit viel milderen pandemischen Szenario angepasst werden. Insbesondere wurde abweichend vom Konzept der Musterimpfstoffzulassungen gesteigerter Wert darauf gelegt, die H₁N₁-spezifischen klinischen Studienergebnisse abzuwarten, bevor mit weitläufigen Impfprogrammen begonnen wurde.

■ **Abb. 1** soll die komplexen Überlegungen, die der optimalen Anwendung von Pandemieimpfstoffen unter sich laufend verändernden realen Voraussetzungen zugrunde liegen, verdeutlichen. Der bisher erlebte Pandemieverlauf ist für die individuellen Alters- und Risikogruppierungen zwischen den beiden Extremen „milde WHO-Phase 6“ und „schwere WHO-Phase 6“ einzuordnen. Abhängig vom Risiko, das eine Infektion mit dem H₁N₁-Virus für die genannten Personengruppen darstellt, muss sich die Impfstoffanwendung aus dem Umfang der verfügbaren klinischen Daten begründen. Sind die gesundheitlichen Folgen einer Infektion gering bis mäßig, erfordert die Anwendung eines Pandemieimpfstoffs ausreichende klinische Daten. Bedeutet eine Infektion ein erhebliches Gesundheitsrisiko, kann die Anwendung auch auf Basis weniger oder sogar fehlender Altersbeziehungsweise Risikogruppen-spezifischer klinischer Daten begründet werden. In jedem Fall überwiegt dann der Nutzen der Impfung die bekannten und unbekanntes Impfrisiken.

Auf Basis einer solchen dynamischen Nutzen-Risiko-Analyse ergibt sich für jede Personengruppe zu jedem beliebigen Zeitpunkt der fortlaufenden Pandemie eine Anleitung zur optimalen Anwendung der verfügbaren H₁N₁-Impfstoffe.

Korrespondenzadresse

Dr. M. Pfeleiderer
Fachgebietsleiter Virusimpfstoffe,
Paul-Ehrlich-Institut,
Bundesinstitut für Impfstoffe und
biomedizinische Arzneimittel
Paul-Ehrlich-Str. 51–59, 63225 Langen
pflmi@pei.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Dossier Structure and Content for Pandemic Influenza Vaccine Marketing Authorisation Application, CPMP/4717/03: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003869.pdf Submission of Marketing Authorisation Applications for Pandemic Influenza Vaccines through the Centralised Procedure, EMEA/CPMP/4986/03: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003815.pdf
2. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/epar_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&murl=menus/medicines/medicines.jsp&jsenabled=true
3. Harmonisation of Requirements for Influenza Vaccines; CPMP/BWP/214/96: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004632.pdf
4. Pfeleiderer M (2009) Influenza; Prävention, Diagnostik, Therapie und öffentliche Gesundheit. In: Haas W (Hrsg) Kapitel 6 Influenzaimpfstoffe. S 111–136
5. http://www.pei.de/cln_109/nn_158122/DE/infos/fachkreise/impf-fach/influenza-saisonal/influenza-saisonal-node.html?__nnn=true
6. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000982/human_med_000690.jsp&murl=menus/medicines/medicines.jsp&mid=WC0b01ac058001d124 http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000710/human_med_000796.jsp&murl=menus/medicines/medicines.jsp&mid=WC0b01ac058001d124 http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000832/human_med_000965.jsp&murl=menus/medicines/medicines.jsp&mid=WC0b01ac058001d124
7. Hehme N, Engelmann H, Kuenzel W et al (2004) Immunogenicity of a monovalent, aluminium adjuvanted influenza whole virus vaccine for pandemic use. *Virus Res* 103(1–2):163–171
8. Hehme N, Engelmann H, Künzel W et al (2002) Pandemic preparedness: lessons learnt from H2N2 and H9N2 candidate vaccines. *Med Microbiol Immunol* 191(3–4):203–208
9. http://www.pei.de/cln_116/nn_1509734/DE/infos/fachkreise/impf-fach/schweineinfluenza/pandimpf/schweineinfluenza-impfstoffe-schwangerschaft.html
10. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/home/Home_Page.jsp&murl=&mid=
11. Greenberg ME et al (2009) Response after one dose of a monovalent influenza A (H1N1). Vaccine – preliminary report. *N Engl J Med* 361. Dieser Artikel (10.1056/NEJMMoa0907413) wurde am 10. September 2009 online publiziert unter NEJM.org