

Untersuchungen zum Endotoxingehalt von Tierimpfstoffen

Klaus Cußler, Hannelore Godau und Heike Gyra

Paul-Ehrlich-Institut, Abteilung Veterinärmedizin, D-Langen

Zusammenfassung

Impfstoffe, die aus gramnegativen Bakterien hergestellt werden, enthalten z.T. in erheblichem Umfang Endotoxin. Nach Verabreichung stark endotoxinhaltiger Impfstoffe kann es zu Unverträglichkeitsreaktionen bei Rindern und Schweinen kommen. Aus Gründen der Arzneimittelsicherheit und des Tierschutzes ist daher der Endotoxingehalt zu begrenzen, wobei den tierartbedingten Besonderheiten Rechnung getragen werden muß. Die Bestimmung des Endotoxingehaltes in Veterinärimpfstoffen ist mittels Limulustest, mit Ausnahme ölicher Präparationen, gut durchführbar. Falls Tierversuche zur Unschädlichkeit bindend vorgeschrieben sind, sollten diese erst durchgeführt werden, wenn das Ergebnis des Limulustestes vorliegt.

Summary: Investigations of the endotoxin content of veterinary vaccines. Vaccines composed of gramnegative bacteria contain endotoxin in considerable amounts. This may result in adverse effects after vaccination of sensitive animals. For reasons of safety and animal welfare the endotoxin level of veterinary vaccines should be limited. The limulus amoebocyte lysate test is suitable to check the endotoxin content in most vaccines. Safety tests in animals should only be performed if the results of the limulus test are satisfactory.

Keywords: endotoxin, safety tests, veterinary vaccines

1. Einleitung

Impfstoffe werden aus Mikroorganismen, deren Toxinen oder Stoffwechselprodukten hergestellt. Zur Prophylaxe bakterieller Infektionen werden sehr häufig Impfstoffe aus gramnegativen Bakterien benötigt. Diese Mikroorganismen enthalten in ihrer Zellwand als essentiellen Bestandteil Endotoxin. Aus chemischer Sicht sind Endotoxine Lipopolysaccharide (LPS). Sie bestehen aus einer Polysaccharidkette, die in ihrer Struktur variabel ist, und dem Lipoid A, das bei allen Bakterien sehr gleichartig aufgebaut ist. Der Polysaccharidanteil ist stark immunogen und bewirkt die Bildung spezifischer Antikörper. Der Lipoidanteil dagegen ist für die toxische Wirkung des

LPS verantwortlich und nur sehr schwach immunogen (Rietschel et al., 1993). LPS ist normalerweise fest in der Zellwand integriert und wird erst bei einer Bakterienlyse frei.

Im Gegensatz zu den sezernierten Proteintoxinen der Bakterien, den Exotoxinen, wird Endotoxin weder durch mäßige Hitze noch durch Formalin inaktiviert. Diese bei der Impfstoffherstellung gängigen Verfahren verändern den Endotoxingehalt gramnegativer Bakterienimpfstoffe nicht. Sie können daher größere Mengen an LPS enthalten (Geier et al., 1978; Hussaini und Ready, 1981).

Bezüglich der Endotoxinempfindlichkeit bestehen starke artbedingte Unterschiede (siehe Tabelle 1). Vögel und kaltblütige Wirbeltiere sind

relativ resistent gegen LPS-Wirkungen. Säugetiere reagieren wesentlich empfindlicher (Berczi et al., 1966). Das Rind, das Kaninchen und der Mensch gelten als besonders sensibel. Bei der Festlegung von Endotoxingrenzwerten für Impfstoffe sollte diesen tierartigen Besonderheiten Rechnung getragen werden.

Endotoxine lösen nach der Injektion in Versuchstieren eine Vielzahl unspezifischer pathophysiologischer Reaktionen aus. Hierzu gehören Fieber, Blutdruckabfall, Gerinnungsstörungen und Veränderungen im weißen Blutbild. Besonders nach der Applikation hoher Dosen kommt es zu irreversiblen Schockzuständen. Diese Effekte treten ebenfalls bei schweren gramnegativen Infektionen auf, und es häufen sich Anhaltspunkte dafür, daß die von den Bakterien freigesetzten Endotoxine entscheidend zu diesen Symptomen beitragen. Endotoxine werden deshalb als wichtige Pathogenitätsfaktoren gramnegativer Bakterien angesehen

Tabelle 1: Empfindlichkeit verschiedener Tierarten gegenüber *E. coli*-Endotoxin.

Tierart	Letaldosis (mg/kg)
Rind	0,025
Kaninchen	3,0
Hund	4,0
Schwein	5,0
Meerschweinchen	10,0
Katze	15,0
Ratte	20–60,0
Maus	25–60,0
Huhn	>50,0
Frosch	>100,0
Fisch (Karpfen)	>200,0

(nach Berczi et al., 1966, *Can. J. Microbiol.* 12, 1070–1071)

(Culbertson und Osburn, 1980; Riet-schel et al., 1993).

Die Endotoxinwirkung ist zudem sehr stark dosisabhängig. Während geringe Mengen in Impfstoffen aufgrund ihres immunstimulierenden Effektes durchaus erwünscht sind, führen höhere Endotoxingehalte zu deutlichen Nebenwirkungen bis hin zum tödlichen Endotoxinschock. Der Übergang zwischen erwünschten und schädlichen Wirkungen ist fließend.

In der Literatur sind Hinweise auf derartige Impfkomplicationen dokumentiert (Ross, 1979). Hussaini und Ready (1981) konnten bei einer Impfstoffcharge, die zu Aborten bei Sauen führte, einen sehr hohen Endotoxingehalt nachweisen. Auch tödliche Impfwischenfälle bei Schafen nach der Verabreichung von Pasteurellose-Impfstoffen wurden mit Endotoxin als auslösender Ursache in Zusammenhang gebracht. Untersuchungen zur Festlegung des maximal tolerierbaren Endotoxingehaltes in Veterinärimpfstoffen wurden bisher noch nicht durchgeführt.

Bei einigen Impfstoffen zur Anwendung beim Menschen ist der Endotoxingehalt limitiert und muß durch den Pyrogentest am Kaninchen oder den Limulus-Amoebocyten-Lysat (LAL)-Test überprüft werden. Im Veterinärbereich gibt es seit kurzem die ersten diesbezüglichen Vorschriften. Die Bestimmungen des Europäischen Arzneibuchs werden erst nach der Veröffentlichung des deutschen Textes im Deutschen Arzneibuch in der Bundesrepublik bindend. Die Monographien über *E.coli*-Impfstoffe zur Anwendung beim Schwein und bei Wiederkäuern sind bereits im Europäischen Arzneibuch (European Pharmacopoeia [EP]), jedoch noch nicht im Deutschen Arzneibuch, veröffentlicht (EP, 1994 a+b). Im folgenden wird daher auf die EP Bezug genommen.

Aufgrund von Unverträglichkeitsreaktionen, die nach der Anwendung von *E.coli*-Impfstoffen aufgetreten sind, wurden Rinder- und Schweineimpfstoffe, die aus gramnegativen Bakterien hergestellt werden, syste-

matisch auf ihren Endotoxingehalt hin untersucht

2. Versuchstiere, Material und Methoden

2.1 Impfstoffe

Es wurden alle zugelassenen *E.coli*-Impfstoffe für Schweine und Rinder sowie bakterielle Kombinationsimpfstoffe aus gramnegativen Erregern untersucht. Weiterhin wurden

Impfstoffproben im Rahmen von Zulassungsverfahren und Produkte, die in anderen Ländern zugelassen sind, untersucht. Eine Auflistung der Präparate findet sich in den Tabellen 2 bis 5.

2.2 Limulustest

Der Endotoxingehalt der Impfstoffe wurde mit dem LAL-Test geprüft. Dabei kam die in der EP vorgeschriebene Methodik zur Anwendung.

Tabelle 2: Kontroll-Impfstoffe

Impfstoff	Zusammensetzung
K 1	Suspensionsflüssigkeit
K 2	<i>E. coli</i> - Antiserum
K 3	Katzenleukämie-Impfstoff, produziert in <i>E. coli</i>
K 4	Parvovirose-Impfstoff für Schweine

Tabelle 3: *E. coli*-Impfstoffe für Rinder

Impfstoff	Zusammensetzung		
	Inaktivierte Bakterien	Fimbrienantigen	Andere Antigene
R 1	+	—	—
R 2	+	—	—
R 3*	—	+	—
R 4	—	+	—
R 5	—	+	Rota-, Corona-Virus
R 6	—	+	Rota-, Corona-, Parvo-Virus
R 7	+	+	Rota-, Corona-Virus

Tabelle 4: *E. coli*-Impfstoffe für Schweine

Impfstoff-Nr.	Zusammensetzung			
	Inaktivierte Bakterien	Fimbrienantigene	LT-Toxoid	andere Antigene
S 1	+	—	—	
S 2	—	+	—	
S 3	—	+	—	
S 4	—	+	—	
S 5	—	+	+	<i>Cl. perfringens</i> -Toxoid
S 6	+	—	—	
S 7	—	+	—	<i>Cl. perfringens</i> -Toxoid
S 8*	(+)	+	(+)	
S 9	+	+	+	<i>E. rhusiopathiae</i> , inaktiviert
S 10	+	+	+	
S 11	+	+	+	
S 12	+	—	—	

* Lebendimpfstoffe

Tabelle 5: Antigene (inaktiviert) der geprüften bakteriellen Mischimpfstoffe

Impfstoff	Zusammensetzung
M 1	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Pasteurella hämolytica</i>
M 2	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Bordetella bronchiseptica</i>
M 3	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Bordetella pertussis</i>
M 4	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
M 5	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> <i>Pasteurella multocida</i>

2.3 Tierversuche

Die Prüfung auf Unschädlichkeit an der Zieltierart sowie die Prüfung auf anomale Toxizität wurden entsprechend den EP-Vorschriften durchgeführt.

2.4 Unverträglichkeitsreaktionen am Rind

Diese Berichte gingen im Rahmen von Nebenwirkungsmeldungen nach der Verabreichung von Tierimpfstoffen im Paul-Ehrlich-Institut ein.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Prüfungen zur Unschädlichkeit im Tierversuch

Die Unschädlichkeit von Veterinär-impfstoffen wird üblicherweise im Tierversuch geprüft. Von den in der Tabelle 6 aufgeführten Testsystemen werden bisher nur die Prüfung auf anomale Toxizität und/oder die Prüfung auf Unschädlichkeit in doppelter Dosierung an der Zieltierart routinemäßig durchgeführt.

Der Pyrogentest am Kaninchen, der im Bereich der Humanmedizin umfänglich eingesetzt wird, ist für die Prüfung von Veterinärimpfstoffen ungeeignet, da diese in der Regel einen, für die intravenöse Prüfung im Kaninchen zu hohen Endotoxingehalt aufweisen. Auch die Prüfung am embryonierten Hühnerei ist wegen

der hohen Empfindlichkeit nicht praktikabel.

Für die Prüfung auf anomale Toxizität werden Mäuse und Meerschweinchen geimpft. Beide Tierarten sind gegen Endotoxine nur mäßig empfindlich (siehe Tabelle 1). Impfstoffe, die für eine besonders sensible Tierart wie z.B. das Rind vorgesehen sind, könnten die Prüfung auf anomale Toxizität bestehen und dennoch für die Impfspezies Rind schädlich sein. Bei Schweineimpfstoffen dagegen können Krankheitserscheinungen bei Mäusen und Meerschweinchen bereits auftreten, wenn der Impfstoff beim Schwein selbst noch keine sichtbaren Beeinträchtigungen hervorruft (eigene Beobachtungen). Die Prüfung auf anomale Toxizität ist daher zur Abschätzung schädlicher Endotoxingehalte in Impfstoffen ungeeignet.

Inaktivierte Impfstoffe werden auch der Prüfung im Doppeldosistest an der Zieltierart unterzogen. Der Test erfolgt in der Regel an zwei Tieren. Die eigentlich recht hohe allgemeine Aussagekraft der Prüfung an der Zieltierart wird in Bezug auf den Endotoxingehalt durch die geringe Tierzahl sehr stark eingeschränkt. Dies beruht auf der stark unterschiedlichen individuellen Endotoxinempfindlichkeit, auch bei Tieren der gleichen Art und desselben Stammes. Neben genetischen Faktoren, die vor allem bei Mäusen ausführlich erforscht wurden, können zahlreiche andere Faktoren, beispielsweise Medikamentengabe, Tumorerkrankungen oder latente Infektionen, zu einer erheblichen Steige-

rung der Empfindlichkeit gegenüber Endotoxinen führen (siehe Tabelle 7). Landwirtschaftliche Nutztiere, die unter den strengen Vorschriften einer Versuchstierhaltung einer Prüfung auf Unschädlichkeit unterzogen werden, befinden sich üblicherweise in einem sehr guten Gesundheitszustand. Es ist daher zu erwarten, daß Faktoren, die eine gesteigerte Endotoxinempfindlichkeit bewirken, ausgeschlossen sind. Eine im Praxiseinsatz befindliche, unter den üblichen Bedingungen der landwirtschaftlichen Betriebe eingesetzte Impfstoffcharge könnte also zu Nebenwirkungen führen, obwohl die vorgeschriebene Prüfung mit zweifacher Dosierung an der gleichen Tierart im kontrollierten Versuch unauffällig war.

3.2 Prüfung von Veterinär-impfstoffen im LAL-Test

Außer in Tierversuchen kann der Endotoxingehalt von vielen Arzneimitteln *in vitro* mit dem LAL-Test bestimmt werden. Die Durchführung des LAL-Tests ist in der EP beschrieben. Die Testmethode ist hoch sensitiv und gut reproduzierbar. Sie hat den Pyrogentest am Kaninchen schon in vielen Bereichen ersetzen können. Durch den Vergleich mit einem Standardpräparat kann eine Quantifizierung der Endotoxingehalte in Internationalen Einheiten (I. E.) vorgenommen werden.

Während die Tierversuche den Nachteil haben, daß sie den Endotoxingehalt nur in einer durch die Spezies bedingte Toleranzbreite vorgegebenen Spanne erfassen, kann

Tabelle 6: Testsysteme zum Endotoxinnachweis

<i>in vivo</i>	Pyrogentest am Kaninchen
	anomale Toxizität an Mäusen und Meerschweinchen
	Prüfung am Zieltier (Doppeldosistest)
	Prüfung am embryonierten Hühnerei
<i>in vitro</i>	LAL-Test
	Nachweis der Zytokine TNF, IL-1, IL-6 *

* Methodik wird noch nicht als Routinetest eingesetzt.

Tabelle 7: Induktion der Endotoxinüberempfindlichkeit bei Versuchstieren

Behandlung	Sensibilisierungsfaktor
Infektionen	
– Salmonellen	100–1.000
– <i>E. coli</i>	
– <i>Coxiella burnetti</i>	
– BCG	
Parasiten	
– Malaria	100
Wachsende Tumoren	200–10.000
Hepatotoxische Substanzen	
– D-Galaktosamin	100.000
Andere Substanzen	
– Bleiacetat	1.000
– Aktinomycin-D	10.000
– Tetrachlorkohlenstoff	1.000
– Hyperthermie	1.000
Kortisonmangel	
– Adrenalektomie	1.000
– Hypophysektomie	1.000

(nach Freudenberg et al., 1993)

Tabelle 8: Endotoxin-bedingte Nebenwirkungen nach der Applikation des Impfstoffes R1

Betriebe	Tiere	Anzahl der geimpften Tiere	Anzahl der Reagenten	Klinische Symptome
Hof 1	Kühe	50	9	Aborte
Hof 2	Färsen	65	2	Todesfälle
			2	Schocksymptome
			3	Aborte
Hof 3	Färsen	70	1	Todesfall
			36	Schocksymptome
			3	Aborte

der LAL-Test selbst geringste Konzentrationen messen. Der LAL-Test wurde daher auch zur Bestimmung des Endotoxingehaltes von Veterinärimpfstoffen empfohlen (Hussaini und Ready, 1981).

Nachdem die Charge eines *E. coli*-Impfstoffs in Rinderbeständen zu erheblichen Nebenwirkungen (siehe Tabelle 8) geführt hatte, obwohl die Prüfung beim Hersteller an zwei Kälbern unauffällig verlief, wurden die in Deutschland zugelassenen Impfstoffe im LAL-Test überprüft. Aus der Abbildung 1 ist zu ersehen, daß diese mit einem Pfeil markierte Charge einen gegenüber den anderen Produkten besonders hohen Endotoxingehalt aufwies. Von Impfstoffchargen desselben, wie auch anderer Hersteller mit hohem Endotoxingehalt sind bisher keine derartigen Nebenwirkungen bekannt geworden. Die Tatsache, daß die auffällige Impfstoffcharge, von den gleichen Tierärzten in anderen Betrieben im gleichen Zeitraum verimpft, zu keinen Reaktionen geführt hat, läßt darauf schließen, daß bestandsspezifische Faktoren die Endotoxinempfindlichkeit der Tiere zumindest beeinflussen haben. Daraus ergibt sich, daß zur Minimierung derartiger Zwischenfälle eine deutliche Sicherheitsspanne zu dem von gesunden, unter optimalen Bedingungen gehaltenen Tieren vertragenen Endotoxingehalt gefordert werden muß. Die Monographie über *E. coli*-Impfstoffe zur Anwendung am Rind gibt einen maximal zulässigen Endotoxingehalt von $2,5 \times 10^5$ I.E. vor (EP, 1994b).

Neben den oben genannten wurden *E. coli*-Impfstoffe zur Anwendung am Schwein und weitere bakterielle Kombinationsimpfstoffe, die gramnegative Bakterien enthalten, untersucht. In der Abbildung 2 sind die Ergebnisse aufgeführt. Es fällt auf, daß die Endotoxingehalte im Vergleich zu Rinderimpfstoffen deutlich höher liegen. Zahlreiche Produkte enthalten mehr als 1×10^6 I.E. je Impfdosis.

Bei einer Impfstoffcharge mit $1,8 \times 10^6$ I.E./Dosis wurden im Tierversuch beim Doppeldosistest am

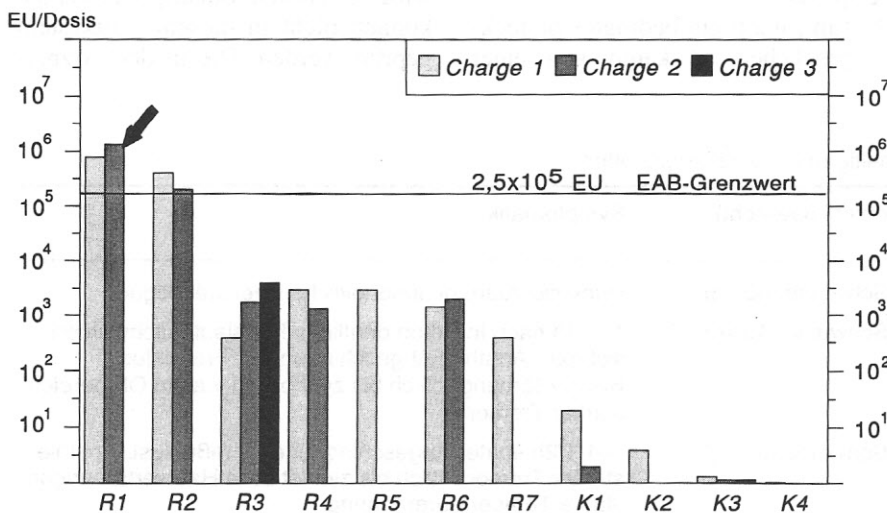
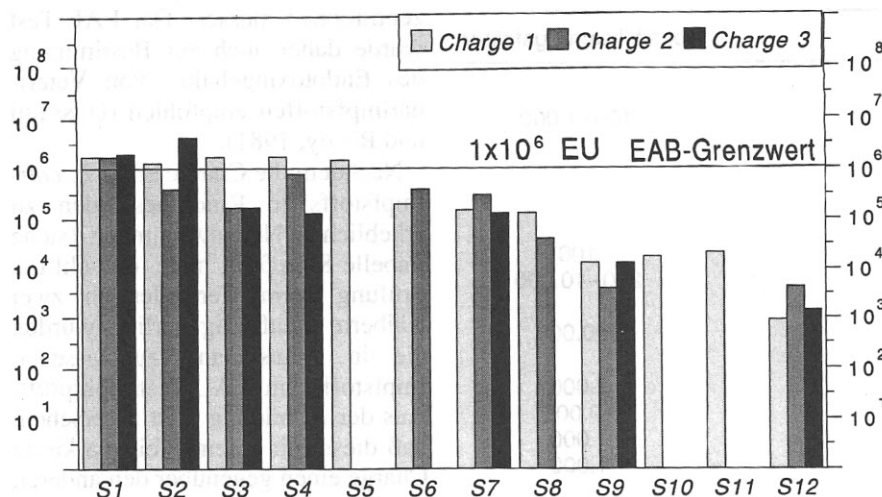


Abbildung 1: Endotoxingehalt in *E. coli*-Impfstoffen für das Rind
Von den Impfstoffen R1 bis R7 wurden bis zu drei Produktionschargen im LAL-Test auf den Endotoxingehalt untersucht. Die mit einem Pfeil markierte Charge hat zu den in Tabelle 8 aufgezeigten Nebenwirkungen geführt. Die mit K1 bis K4 bezeichneten Präparate wurden zur Kontrolle mitgeführt. Erläuterungen zu den einzelnen Impfstoffen sind den Tabellen 2 und 3 zu entnehmen.

EU/Dosis

Abbildung 2: Endotoxingehalt in *E. coli*-Impfstoffen für das Schwein

Von den Impfstoffen S1 bis S12 wurden bis zu drei Produktionschargen im LAL-Test auf den Endotoxingehalt untersucht. Der Impfstoff S5 hat zu den in Tabelle 9 aufgeführten Nebenwirkungen geführt. Erläuterungen zu den einzelnen Impfstoffen sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

Schwein deutliche endotoxinbedingte Nebenwirkungen festgestellt (siehe Tabelle 9). Auch bei einem Mischimpfstoff mit $1,2 \times 10^6$ I.E./Dosis kam es zu gravierenden Unverträglichkeitsreaktionen am Schwein (Tabelle 9, Abbildung 3). In der gerade verabschiedeten Monographie über *E. coli*-Impfstoffe zur Anwendung am Schwein wird ein Maximalgehalt von 1×10^6 I.E. gefordert (EP, 1994a).

Bisher hatten alle Impfstoffe, die in Tierversuchen Auffälligkeiten

zeigten, einen über den Vorgaben der Arzneibuchmonographien liegenden Endotoxingehalt. Der Umkehrschluß ist nach den vorliegenden Erfahrungen allerdings nicht zulässig. Einige Impfstoffe, die mehr als die zulässigen Einheiten pro Impfdosis aufweisen, bewirken offenbar keine Impfreaktionen. Die Gründe sind sicher vielfältig. Folgende Punkte dürften eine wesentliche Rolle spielen:

1. Ein Endotoxin-bedingtes Schockgeschehen ist kaum von einer

allergisch induzierten Schockreaktion zu unterscheiden. Im Gegensatz zu allergischen Geschehnissen, die stets erst bei wiederholter Applikation des Allergens auftreten, finden Endotoxinbedingte Reaktionen bereits nach erstmaliger Applikation statt.

2. Die Meldefreudigkeit für unerwünschte Arzneimittelwirkungen ist leider nur gering. Für den Bereich der Humanmedizin geht man davon aus, daß nur lediglich 6% der Fälle gemeldet werden. In der Veterinärmedizin dürfte die Dunkelziffer vergleichbar sein (Gray, 1994).

3. Bei der Impfung von landwirtschaftlichen Nutztieren wird häufig nicht mit der erforderlichen Sorgfalt vorgegangen. Insbesondere nach Massensimpfungen beim Schwein ist es an der Tagesordnung, daß die streßanfälligen Tiere teilweise Kreislaufbeschwerden zeigen. Endotoxinbedingte Wirkungen dürften hierdurch verschleiert werden.

Die Prüfungsergebnisse der Kontrollprodukte zeigen, daß der LAL-Test von Zusatzstoffen, die üblicherweise den Impfstoffen zugesetzt werden, nicht merklich beeinflusst wird. Lediglich ölhaltige Präparate können nicht in diesem Testsystem geprüft werden. Die in den Arznei-

Tabelle 9: Nebenwirkungen bei endotoxinhaltigen Schweineimpfstoffen

Endotoxingehalt pro Dosis	applizierte Dosis	Tierzahl (Gewicht)	Symptomatik
$1,8 \times 10^6$ IE	einfach	3 Schweine (40 kg)	keine sichtbare gesundheitliche Beeinträchtigung
$3,6 \times 10^6$ IE	doppelt	3 Schweine (40 kg)	1/2–1h nach Injektion deutliche Kreislaufbeschwerden sichtbar, Apathie, Abgeschlagenheit, Freßunlust, Hautverfärbung rötlich bis zyanotisch v.a. im Ohrbereich, starker Tremor
$1,2 \times 10^6$ IE	einfach	2 Schweine (30 kg)	1–1 1/2h später Abgeschlagenheit, Freßunlust, Apathie, starker Tremor, rötlich bis zyanotische Hautverfärbungen, starke Temperaturerhöhung
$2,4 \times 10^6$ IE	doppelt	2 Schweine (30 kg)	1–1 1/2h später Abgeschlagenheit und Apathie, Fressen wurde eingestellt; Tiere verkrochen sich im Stroh; Schweine erbrachen das am Morgen aufgenommene Futter; starker Tremor, rötlich bis zyanotische Hautverfärbungen, Temperaturerhöhung bis zu $2,5^\circ\text{C}$

EU/Dosis

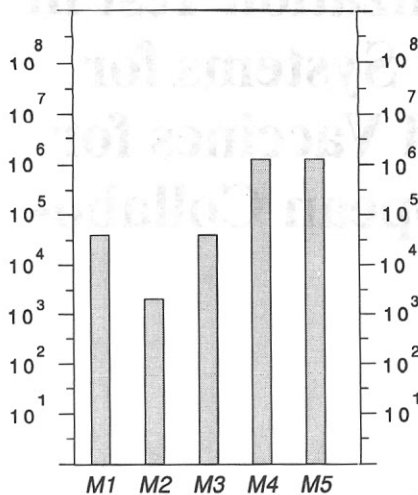


Abbildung 3: Endotoxingehalt in bakteriellen Mischimpfstoffen
Von den Impfstoffen M1 bis M5 wurde jeweils eine Charge im LAL-Test auf den Endotoxingehalt untersucht. Der Impfstoff M5 hat zu den in Tabelle 9 aufgeführten Nebenwirkungen geführt. Erläuterungen zu den einzelnen Impfstoffen sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

buchmonographien hierfür vorgesehene Vorgehensweise, das Produkt vor der Adjuvanzugabe zu prüfen, erscheint uns wenig zweckmäßig. Erste Untersuchungen an derartigen Inprozeß-Proben haben gezeigt, daß hier teilweise extreme Endotoxin-konzentrationen vorliegen. Die Prüfung des Endproduktes in der anormalen Toxizität und auch am Ziel-tier hat aber, zumindest in unseren Prüfungen, nicht zu Nebenwirkungen geführt. Die Ursache hierfür dürfte darin liegen, daß das Endotoxin in derartigen Produkten aufgrund der enormen Depotwirkung von Öl-adjuvantien nur in minimalen Mengen über einen sehr langen Zeitraum freigesetzt wird.

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, daß der Endotoxingehalt auch bei Veterinärimpfstoffen kontrolliert und begrenzt werden muß. In den Monographien zu *E.coli*-Impfstoffen für Rinder und Schweine wurden diesbezügliche Anforderungen erstmals festgeschrieben. Es ist zu erwarten, daß ähnliche Grenzwerte für

andere Impfstoffe aus gramnegativen Bakterien festgelegt werden (N. N., 1994). Der LAL-Test ist zur Untersuchung wäßriger Impfstoffproben sehr gut geeignet. Das Testergebnis wird nach den bisherigen Untersuchungen durch wäßrige Adjuvantien und Konservierungsmittel nicht wesentlich beeinflusst. Tierversuche, auch an der Zieltierart, sind zur Beurteilung des Endotoxingehaltes nur wenig aussagekräftig. Daher sollten Untersuchungen zum Endotoxingehalt von Impfstoffen, wo immer möglich, mit dem LAL-Test durchgeführt werden. Tierversuche zur Unschädlichkeitsprüfung sollten sich erst später anschließen.

Literatur

- Berczi, I., Bertók, L., Bereznai, T. (1966). Comparative studies on the toxicity of *Escherichia coli* lipopolysaccharide endotoxin in various animal species. *Can. J. Microbiol.* 12, 1070–1071.
- Culbertson, Jr. R., Osburn, B. I. (1980). The biologic effects of bacterial endotoxin: A short review. *Vet. Sci. Comm.* 4, 3–14.
- European Pharmacopoeia, Second Edition, Part II, Eighteenth fascicule (1994a). Monograph 962: Neonatal piglet colibacillosis inactivated vaccine. *Sainte-Ruffine: Maisonneuve.*
- European Pharmacopoeia, Second Edition, Part II, Eighteenth fascicule (1994b). Monograph 961: Neonatal ruminant colibacillosis inactivated vaccine. *Sainte-Ruffine: Maisonneuve.*
- Geier, M. R., Stanbro, H., Merrill, C. R. (1978). Endotoxin in commercial vaccines. *Appl. Environ. Microbiol.* 36, 445–449.
- Gray, A. K. (1994). Suspected adverse reaction surveillance scheme 1992: Summary of results. *Vet. Rec.* 135, 77–81.
- Hussaini, S. N., Ready, R. A. (1981). Studies on *Escherichia coli* vaccines: estimation of endotoxins in veterinary vaccines. *Vet. Res. Comm.* 5, 171–175.
- N. N. (1994). Inactivated *Actinobacillus pleuropneumoniae* Vaccine (Porcine). *Pharmeuropa* 6, 91–93.

- Rietschel, E. Th., Brade, L., Schade, F. U., Seydel, U., Zähringer, U., Mamat, U., Schmidt, G., Ulmer, A.-J., Loppnow, H., Flad, H.-D., di Padova, F., Schreier, M. H., Brade, H. (1993). Bakterielle Endotoxine: Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und biologischer Wirkung. *Immun. Infekt.* 21, 26–35.
- Ross, I. C. (1979). Vaccine link with sow abortions. *Vet. Rec.* 104, 83.

Korrespondenzadresse

Klaus Cußler
Paul-Ehrlich-Institut
Bundesamt für Sera und Impfstoffe
Abteilung Veterinärmedizin
D-63207 Langen