

Angelika Ströhle, Daniel Germann

Universität Bern, Institut für Medizinische Mikrobiologie

Mumpsimpfstoffe: Virologische Grundlagen

Zusammenfassung

Nur attenuierte Lebendimpfstoffe haben sich bisher für die Prävention der Mumpsvirusinfektion als wirksam erwiesen. Die verschiedenen Impfstämme unterscheiden sich im Grad ihrer Attenuierung, die schwer steuerbar ist. Der Grat zwischen Restvirulenz und Überattenuierung ist schmal. Wenig attenuierte Impfstämme zeigten zwar eine höhere Immunogenität, aber auch häufiger Impfkomplicationen. Heute werden nur noch relativ stark abgeschwächte Impfstämme verwendet, die zwar kaum je zu einer impfassoziierten Erkrankung führen, deren Immunogenität aber geringer sein dürfte als ursprünglich angenommen.

Prävention durch Prophylaxe steht bei der Bekämpfung von Virusinfektionen im Vordergrund, denn nur wenige solcher Infektionen können medikamentös behandelt werden. Nur einmal war bisher eine Impfkampagne mit der Ausrottung der Pocken in diesem Jahrhundert von durchschlagendem Erfolg gekrönt. Viele Versuche, wirkungsvolle Impfstoffe zu entwickeln, waren zwar erfolgreich, andere aber auch immer wieder von Rückschlägen begleitet. Im Moment gilt dies vor allem für die verzweifelte Suche nach einem Impfstoff zum Schutze vor einer HIV-Infektion. Mehr als dreissig Jahre vergingen zwischen der Entdeckung des Mumpsvirus durch Johnson und Goodpasture 1933 und der Zulassung des Mumpsimpfstoffes Jeryl Lynn in den USA

1967^{1,2}. Jeryl Lynn, ein attenuiertes Lebendvirus, ist als Mumpskomponente von Masern-, Mumps-, Rötelnimpfstoffen (MMR) heute noch weltweit im Einsatz³. Zahlreiche Immunisierungsversuche gegen Mumps mit inaktivierten und attenuierten Viren waren dieser Zulassung vorausgegangen³⁻⁵.

Das Mumpsvirus

Zur Familie der *Paramyxoviridae* gehören neben dem Mumpsvirus auch die Parainfluenzaviren, die Morbilliviren mit dem humanpathogenen Masernvirus und die Pneumoviren mit dem humanpathogenen Respiratory Syncytial Virus (RSV). Mumpsviren sind behüllte Viren mit einem Genom aus unsegmentierter, einzelsträngi-

ger RNA negativer Polarität von 15000–16000 Nukleotiden. Die Virionen sind pleomorph, die Grösse der Viruspartikel variiert von 100 bis 600 nm, wobei die kleinen Partikel vor allem in persistierend infizierten Zellkulturen als „defective interfering particles“ (DI-particles) entstehen^{6,7}. Mumpsviren besitzen eine RNA abhängige RNA-Polymerase. Im Gegensatz zu Viren mit einem DNA-Genom (z.B. Herpesviren) enthalten sie kein Reparaturenzym, das Lesefehler erkennen und rückgängig machen kann⁸. So konnten sich zahlreiche Stämme entwickeln, die untereinander im Gen des Fusionsproteins eine Übereinstimmung von 93% bis 95% in den Nukleotidsequenzen aufweisen^{9,10}.

Mit genetischen Methoden erkennt man grosse Stammgruppen: amerikanische Stämme wie Enders und Jeryl Lynn, japanische Stämme wie Urabe und zahlreiche europäische Stämme wie Wildisolate ED4–ED6 und BF aus Grossbritannien oder SW 93.1 und SW 93.2 aus St. Gallen^{11,12}.

Das Virion enthält sechs Strukturproteine¹³, von denen die beiden Oberflächenglykoproteine Hämagglutinin-Neuraminidase (HN) und Fusionsprotein (F) für die Immunität gegen eine Infektion

mit Mumpsvirus die Hauptrolle spielen.

Mumpsvirus Impfstämme

Inaktivierte Impfstoffe

Mumpsvirus Impfstamm 1946

Die Impfstoffe Nr. 27 bis 29 von Karl Habel enthielten an Hühner-eier adaptiertes Mumpsvirus, welches 25–30mal passagiert und mit 0,1% Formalin oder UV-Bestrahlung inaktiviert worden war⁵. 1946 wurden insgesamt 2825 Männer, durchwegs schwarze Wanderarbeiter aus Barbados, in einen gross-angelegten Feldversuch zu Beginn einer Epidemie mit diesen Impfstoffen einbezogen. Nach Ablauf von sechs Wochen wurde die Inzidenz der Mumpsanfänge bei Geimpften und nichtgeimpften Kontrollgruppen verglichen. Die Inzidenz der Mumpsfälle war bei Geimpften dreimal geringer, die Infektion verlief milder und mit einer geringeren Orchitishäufigkeit als bei der ungeimpften Kontrollgruppe. Zur Erfassung der Serokonversion wurden Hämagglutinations-Inhibition (HI), Serumneutralisation (SN) und die Komplementbindungsreaktion (KBR) eingesetzt. Die Serumneutralisation ergab eine gute Übereinstimmung zwischen Immunität und neutralisierenden Antikörpern.

Mumpsvirus Enders-Stamm

Dieses Virus wurde aus gepoolten Speichelproben von Patienten aus Massachusetts isoliert¹⁴. Der Stamm ist ein an ein Wachstum in Hühner-eiern adaptiertes Mumpsvirus und zeichnet sich durch seine geringe Virulenz im Menschen aus. Das Virus wurde zur Impfstoffherstellung mit 0,1% Formalin inaktiviert und mit 0,5% Phenol und 0,1% Merthiolat konserviert. Zwischen 1961 und 1966 wurden über 200 000 Rekruten der finnischen Armee mit zwei Dosen

geimpft⁴. Es hatte sich gezeigt, dass junge Männer aus dünnbesiedelten Gebieten Finnlands erst beim Militär mit Mumpsvirus in Kontakt kamen und in der Folge häufig neben einer Parotitis eine Orchitis (16,3%) durchmachten. Die Mumpsorchitis wurde zu dieser Zeit aufgrund zweier Studien aus Skandinavien^{15,16} verdächtigt, bei den Betroffenen Unfruchtbarkeit zu verursachen. In der finnischen Untersuchung fiel die Inzidenz der Mumpsfälle bei Geimpften von 31 auf 1,9 pro 1000, ausserdem sank die Häufigkeit der Orchitisfälle von 19% in ungeimpften Kontrollen auf 7,2% bei geimpften Probanden. Es sind insgesamt 1298 Paarsera mittels Komplementbindungsreaktion auf eine Serokonversion untersucht worden. Die Immunogenität der zwischen 1961 und 1966 verwendeten Impfstoffchargen war von Jahr zu Jahr unterschiedlich. Die Serokonversionsrate schwankte zwischen 92% (1961) und 73% (1963). Die Dauer der Immunität nach Impfung mit Enders' Totimpfstoff lag nach späteren Studien von Penttinen et al. bei nur einem Jahr¹⁷.

Mumpsvirus Jeryl Lynn

Es handelt sich ursprünglich um ein Isolat von einer Patientin dieses Namens. Zur Herstellung von Jeryl Lynn Impfstoff wurde ein Wildisolat insgesamt 17mal auf Hühner-eiern und embryonalen Hühnerfibroblasten (CEF) passagiert³. Attenuiertes Jeryl Lynn-Mumpsvirus der 12. Passage „A-level“ war stärker immunogen, aber auch virulenter als das über 17 Passagen attenuierte Jeryl Lynn-Mumpsvirus „B-level“ und verursachte in manchen Probanden noch eine milde Parotitis. In den meisten Studien wurde der Neutralisationstiter zur Bestimmung der Immunogenität herangezogen. Ein Titer von 1:≥2 steht für eine solide Immunität. Wegen geringerer Nebenwirkungen gab man dem Mumpsvirus Jeryl Lynn „B-level“ als Impf-

stamm den Vorzug. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass Jeryl Lynn aus zwei, nach zahlreichen Passagen stabilen Stämmen besteht¹⁸. Jeryl Lynn wurde in mehreren Feldversuchen mit den unterschiedlichsten Methoden auf seine Immunogenität und die Persistenz der induzierten Antikörper getestet. Dabei kamen Neutralisations-, Hämagglutinations-Inhibitions-, ELISA- und Hämolyse in Gel-Tests zu Anwendung^{3,19}. Untersucht wurden verschiedene Gruppen von Klein- und Schulkindern in Österreich, Skandinavien und den USA^{3,19–23}. Nach Impfung mit dem attenuierten Lebendimpfstoff Jeryl Lynn schwankte die gemessene Serokonversionsrate zwischen 75% und 97%^{21,22,24,25}. Ein Grund für diese Unterschiede liegt sicher auch in den unterschiedlichen Methoden der Antikörperbestimmung.

Dieser Impfstoff wird seit 1967 in den USA mit Erfolg eingesetzt. Die Inzidenz der Mumpserkrankungen sank dort von 76 Fällen pro 100 000 Personen im Jahr 1968 auf 1,5 Fälle pro 100 000 im Jahr 1985. Über impfassozierte Meningitiden nach Impfung mit Jeryl Lynn liegen widersprüchliche Aussagen vor^{26–29}.

Beobachtete man nach Impfung mit diesem Stamm eine Meningitis und konnte tatsächlich ein Mumpsvirus aus dem Liquor isoliert werden, ist die Identifizierung des Isolates unterblieben. Da trotz vorhergegangener Mumpsimpfung eine Wildvirusinfektion in diesen Fällen retrospektiv nicht ausgeschlossen werden kann³⁰, fehlt der Nachweis der aetiologischen Rolle des Jeryl Lynn-Virus. Von den Herstellern selbst wird das Risiko einer Meningitis nach Impfung mit Jeryl Lynn mit einem Fall auf 1;8 Millionen verimpfte Dosen angegeben²⁹. Jeryl Lynn „B-level“ ist heute noch in Verwendung. Trotzdem steigt seit 1987 die Inzidenz der Mumpsfälle in den USA wieder an^{24,31}. Die Ursachen

für diese Zunahme sind noch weitgehend ungeklärt.

Mumpsvirus Urabe AM9

Dieser Virusstamm ist einer von sechs Klonen eines japanischen Isolates. Urabe AM9 wurde an einigen hundert japanischen Kindern und in Vergleichsstudien mit Jeryl Lynn erprobt. Die Antikörperantwort wurde mit Serumneutralisation und ELISA gemessen^{21,22,32}. Man evaluierte im Falle von Urabe AM9 mehrere Klone des Urabestammes, die entweder auf Zellkulturen oder in Hühnereiern in unterschiedlichen Passagezahlen abgeschwächt worden waren. Dabei zeigte sich, dass nach einer Impfung mit Viren, welche auf Zellkulturen attenuiert worden waren, die Serokonversionsrate nach der 16. Passage bei 72,7 % und nach der 20. Passage bei 66,7 % lag, selbst wenn die Virusdosis 10^5 TCID₅₀ überstieg. Die Antikörperbestimmungen wurden mit einem funktionellen Neutralisationstest durchgeführt³². In Hühnereiern attenuiert, lag die Immunogenität des Klons Urabe AM9 nach der 10. und 15. Passage bei 100 %, nach der 20. Passage noch bei 91 %. Für die Herstellung des Impfstoffes wurde schliesslich ein Virus nach höchstens 20 Passagen in Hühnereiern verwendet. Urabe AM9 wurde auch Vergleichsstudien mit Jeryl Lynn unterzogen^{21,22}. Dabei schnitt Urabe AM9 immer etwas besser ab als Jeryl Lynn. In der Studie von Christenson et al. lag die Serokonversionsrate in Kindern, gemessen mit Serumneutralisation, für Urabe AM9 bei 94 %, diejenige von Jeryl Lynn bei 91 %²². Popow-Kraupp et al. fanden mit einem ELISA eine Antikörperantwort bei 96,9 % für Urabe AM9 und 90 % für Jeryl Lynn²¹. Allerdings lag auch die Nebenwirkungsrate der Impfung wie Schwellungen der Parotis bei mit Urabe geimpften Kindern bei 2 % gegenüber 1,6 % bei Kindern, die Jeryl Lynn erhal-

ten hatten. Die Häufigkeit einer Impfvirus assoziierten Mumpsmeningitis wurde mit vier auf 100000 applizierter Dosen angegeben und nur nach Urabe AM9 beobachtet. Nach neueren Berichten über ein wesentlich höheres Meningitisrisiko (eine auf 11000 Dosen) nach Impfung mit Urabe AM9 wurden Impfstoffe, die diesen Stamm enthielten, in vielen Ländern inklusive der Schweiz von den Herstellern vom Markt genommen^{33,34}.

Mumpsvirus Rubini

Rubini ist ein Wildvirusisolat aus einem Patienten dieses Namens. Der Stamm wurde zuerst in diploiden humanen Zellkulturen (WI-38), dann in Hühnereiern und zuletzt auf humanen Fibroblasten (MRC-5) insgesamt 32mal passagiert, bevor er als Saatvirus zur Impfstoffproduktion auf MRC-5 Zellen eingesetzt wurde³⁴. Der Impfstoff wurde zuerst an 13 seronegativen Männern und dann in getrennten Studien³⁵⁻³⁷ an insgesamt 146 Kleinkindern im Alter zwischen 5 und 24 Monaten kombiniert mit dem Masern-Impfstamm EZ19 und dem Röteln-Impfstamm RA 27/3 getestet. In der Studie von Glück et al. wiesen 54 von 57 (95 %) vor der Impfung seronegativen Kindern sechs bis acht Wochen nach Impfung neutralisierende Antikörper gegen Mumpsvirus auf³⁷. In zwei Untersuchungen von Li Volti et al. fanden sich Serokonversionen nach Impfung mit Rubini bei 38/40 (95 %) und bei 70/75 (93 %) der Kinder^{35,36} gemessen mit indirekter Immunfluoreszenz (IIF). Funktionelle Tests zur Abklärung neutralisierender Antikörper gegen Mumpsvirus wurden von Li Volti et al. nicht durchgeführt. Die gemessenen mittleren Antikörpertiter lagen bei den unterschiedlichen Versuchsgruppen zwischen 1:22 und 1:37, sie persistierten mindestens drei Jahre^{35,36}.

Mumpsvirus Leningrad-3

Dieser Stamm wurde in den ehemaligen Ostblockstaaten als Impfvirus eingesetzt, nachdem er auf embryonalen Wachtelfibroblasten (QEF) attenuiert worden war⁷. Leningrad-3 wurde in Tierversuchen (Meerschweinchen) auf seine Immunogenität und auf molekularbiologische Veränderungen während der Attenuierung geprüft⁷. Dabei kamen Hämagglutinations-Inhibition und Neutralisationstests ebenso zur Anwendung wie die Radioimmunoprecipitation (RIPA) zur genaueren Untersuchung der Virusproteine. Das Virus Leningrad-3 zeigte nach der 38. Passage auf Zellkulturen nur noch eine überattenuierte Virusvariante, bei der das Fusionsprotein fehlte, das Polymerase-assoziierte Protein (P) nur reduziert exprimiert wurde, sowie zahlreiche „DI-particles“, bei denen das Fusionsprotein ebenfalls nicht nachzuweisen war. Es stellte sich heraus, dass das Fusionsprotein mit steigender Passagezahl immer weniger stark exprimiert wurde und schliesslich nach 38 Passagen mit Radioimmunoprecipitation nicht mehr nachweisbar war. Wurden die Meerschweinchen mit dem Virus nach 38 Passagen inokuliert, lagen die Titer der neutralisierenden Antikörper mindestens fünf log₂-Stufen niedriger als bei Verwendung eines Virus nach sieben Passagen und unterschieden sich nicht mehr von denjenigen nach Impfung mit inaktiviertem Virus. Zwei andere Laborstämme (Sophie-40 und Berlin-1), die zu Vergleichszwecken herangezogen worden waren, zeigten schon in den weit niedrigeren Passagen 23 bzw. 14 dieselben Ergebnisse⁷. Interpretiert wurden diese Resultate von den Autoren als Zeichen von Überattenuierung. Dies bedeutet, dass Mumpsviren für die Impfstoffproduktion nur in begrenzter Passagezahl verwendbar sind. Die Abklärung der molekularen und genetischen Verände-

rungen während der Attenuierung des Mumpsvirus ist im Gange^{7,38,39}.

Diskussion

Immunogenität des Impfstoffes

Mit Impfungen gegen Infektionskrankheiten können mehrere Ziele verfolgt werden. Diese reichen vom Schutz des geimpften Individuums vor einer Erkrankung oder einer Infektion über den Schutz einer definierten Population bis zur Ausrottung des betreffenden Agens.

Für den individuellen Schutz wird dabei die Induktion einer langdauernden protektiven Immunantwort angestrebt. Gemessen werden bei Untersuchungen der Immunogenität eines Impfstoffes in der Regel die Serumantikörper, während die induzierte zelluläre Immunantwort kaum je untersucht wird. Bei viralen Infektionen zeigt sich meist eine gute Korrelation zwischen neutralisierenden Antikörpern im Serum und einer Protektion. Während einer Virusinfektion werden gegen Epitope aller Virusproteine Antikörper gebildet. Neutralisierend und protektiv wirken dabei meist Antikörper gegen Antigene, die auf der Oberfläche der Viruspartikel vorkommen. Beim Mumpsvirus sind dies die zwei Glykoproteine Hämagglutinin-Neuraminidase (HN) und das Fusionsprotein (F). Ein Titer neutralisierender Antikörper im Serum von mindestens 1:2 korreliert nach Hilleman mit einer protektiven Immunität; er räumt allerdings ein, dass schon ein Titer von 1:1 auf eine Resistenz gegen eine Mumpsvirusinfektion hinweisen könnte⁴⁰. Vor allem Antikörper gegen Hämagglutinin-Neuraminidase sind in der Lage, das Virus zu neutralisieren, während Antikörper gegen das Fusionsprotein eine Ausbreitung von Virionen in Zellkulturen verhindern können⁴¹⁻⁴³. Neutralisierende Anti-

körper sind stammspezifisch und eignen sich dazu, Virusstämme voneinander zu unterscheiden. Studien zeigten grosse Unterschiede in der Fähigkeit monoklonaler Antikörper, Hämagglutinin-Neuraminidase verschiedener Mumpsvirusstämme zu erkennen. Das Problem der Nichterkennung bestimmter Antigene durch vorbestehende Antikörper ist vor allem bei Influenzaviren bekannt, welche aufgrund ihres segmentierten Genoms in der Lage sind, die genetische Information ihrer Oberflächenproteine Hämagglutinin (H) und Neuraminidase (N) unter verschiedenen Stämmen auszutauschen und so das Immunsystem mit immer neuen Antigenvarianten zu konfrontieren und zu unterlaufen. Mumpsvirus hat zwar kein segmentiertes Genom, ist aber als RNA-Virus sehr mutationsfreudig, was dazu führt, dass von Stamm zu Stamm Unterschiede in allen Proteinsequenzen gefunden werden. Es ist denkbar, dass bei grösseren Unterschieden zwischen Impfvirus und Wildvirusvarianten in bestimmten Epitopen die durch Impfung induzierten Antikörper nicht mehr in der Lage sein könnten, ein Wildvirus zu neutralisieren. Für die Beurteilung eines Impfstoffes gegen Mumpsvirusinfektionen wäre also der Nachweis neutralisierender Antikörper nicht nur gegen das Impfvirus, sondern auch gegen Wildvirus von Bedeutung. Dabei muss eingeräumt werden, dass bisher kein Standard mit einer definierten Grenzwertkonzentration existiert.

Virulenz, Attenuierung, Inaktivierung

Virulenz bezeichnet den Grad der Pathogenität eines Virusstammes. Eine Erkrankung ist bei Virusinfektionen Folge einer Kombination von virusinduzierten und durch die Immunantwort vermittelten Prozessen. Lebendimpfstämme müssten durch geeignete

Verfahren in ihrer Virulenz so abgeschwächt (attenuiert) werden, dass bei Geimpften keine Krankheit ausgelöst wird. In der Praxis geschieht dies beim Mumpsvirus und den meisten Viren durch multiple Passagen in Hühnereiern oder auf Zellkulturen. Die Virulenz eines Virus ist stammspezifisch. Virulente Mumpsviren rufen, ins Gehirn empfänglicher Versuchstiere (Syrische Hamster, Cynomolgus-Affen) injiziert, Nekrosen hervor^{37,44}. Beim Menschen verursachen sie neben einer Parotitis auch Meningitiden, Orchitiden und Pankreatitiden. Etwa 30% der Mumpsfälle verlaufen asymptomatisch. Ob dies auf weniger virulenten Virusstämmen oder einer unterschiedlichen Empfänglichkeit des Wirts beruht, ist bisher ungeklärt. Im Moment kann nur darüber spekuliert werden, ob sich Wildstämme am Ende einer Epidemie abschwächen und ihre Virulenz durch Rekombination wieder restaurieren können. Wildstämme, die aus Patienten isoliert wurden, erwiesen sich als virulenter als attenuierte Impfstämme.

Attenuierung ist schwer steuerbar. Der Grat zwischen Restvirulenz^{33,45} und Überattenuierung ist schmal^{7,32,46}. Alle Hersteller attenuierter Mumpsvirusimpfstoffe haben sich des Verfahrens der Passagen in Hühnereiern, auf embryonalen Hühnerfibroblasten (CEF) oder Wachtelfibroblasten (QEF) bedient. Allein der in der Schweiz entwickelte Rubini-Impfstamm wird in den letzten Passagen auf der menschlichen Fibroblastenlinie MRC-5 gezüchtet³⁷. Durch die erwähnte Mutationsfreudigkeit des Mumpsvirus setzen sich nach und nach jene Viren durch, welche, in vitro nicht vom Immunsystem unter Druck gesetzt, in Eiern und auf Zellkulturen am besten wachsen. Der Grad der Attenuierung bzw. Virulenz ist direkt abhängig von der Anzahl der Passagen^{3,32,46}, denen ein Wild-

isolat unterworfen wird. Mit zunehmender Attenuierung durch steigende Passagezahlen sinkt neben der Virulenz auch die Immunogenität des betreffenden Mumpsvirus⁷. Im Gegensatz zu inaktivierten Viren sind abgeschwächte durchaus noch in der Lage, sich im Körper der Geimpften zu vermehren, allerdings ohne dabei Krankheitssymptome hervorzurufen. Attenuierte Mumpsviren werden im Gegensatz zu Polioimpfviren vom Impfling nicht ausgeschieden. Bei einer durch Impfung aus abgeschwächten Viren induzierten Immunantwort sind die Titer neutralisierender Antikörper in der Regel niedriger als nach natürlicher Infektion, aber höher als nach Impfung mit einem inaktivierten Impfstoff^{19,20}. Jeryl Lynn ist neben Rubini in vielen Ländern der einzige noch erhältliche Mumpsimpfstamm aus attenuierten Viren. Seine Immunogenität ist möglicherweise nicht so hoch wie ursprünglich angenommen. Derzeit schätzt man sie auf nur noch 75 %²⁴ im Gegensatz zu früher gemessenen 97 %³. Bis 1992 war auch der in Japan entwickelte Urabe AM9 Impfstamm erhältlich. Er zeichnete sich durch eine geringere Attenuierung und eine dadurch bedingte bessere Immunogenität aus³². Dabei wurde allerdings eine höhere Restvirulenz in Kauf genommen, so dass der Impfstoff nach Berichten über eine erhöhte Häufigkeit von Meningitiden nach Impfung vom Markt zurückgezogen wurde, sofern ein anderer Mumpsimpfstoff verfügbar war^{33,45}. Attenuiert man Mumpsviren über mehr als 30 Zellkulturpassagen, so exprimieren sie nur noch wenig Fusionsprotein und Polymerase-assoziiertes Protein und verlieren ihre Potenz, in Versuchstieren neutralisierende Antikörper zu induzieren^{7,46}. Derart überattenuierte Viren sind nur noch schwer oder überhaupt nicht mehr in der Lage, sich *in vivo* in menschlichen Zellen zu vermeh-

ren. Dafür sprechen auch die schwachen und kurz andauernden Immunantworten menschlicher Probanden⁴⁷.

Vorteile und Probleme der einzelnen Impfstofftypen

Inaktivierte Mumpsimpfstoffe bieten die Möglichkeit einer Immunisierung ohne Infektionsrisiko, aber die daraus resultierende Immunität erwies sich als nur von kurzer Dauer. Sie wurden deshalb rasch durch attenuierte Lebendvirusimpfstoffe ersetzt. Durch eine Vermehrung des Impfvirus im Wirt wird sowohl das humorale wie auch das zelluläre Immunsystem stimuliert^{48,49}. Bei Infektionen, die über die Schleimhäute erworben werden, lässt sich durch Lebendimpfstoffe auch die Mukosaimmunität (sekretorisches IgA) stimulieren, was wahrscheinlich für eine Protektion bedeutsam ist.

Impfstoffe aus attenuierten Mumpsviren können noch immer einen niedrigen Grad an Virulenz aufweisen und in seltenen Fällen zu impfassozierten Erkrankungen führen, wie dies im Falle von Urabe AM9 nachgewiesen wurde. Ein weiteres Problem stellt die Labilität der Impfviren bei Mumps und in noch viel höherem Ausmass bei Masern dar. Lagerungs- und Transportbedingungen bei 4 °C beschränken die Einsatzmöglichkeiten dieser Impfstoffe in Ländern, in denen eine geschlossene Kühlkette nicht aufrechterhalten werden kann.

Nach einer erhöhten Passagezahl sinkt die Immunogenität drastisch ab. Diese Erfahrung wurde mit dem Impfstamm Leningrad-3 gemacht, welcher nach unkontrollierten Passagen seine Wirksamkeit einbüsste. Je nach Virustyp kann eine Überattenuierung auch schon zwischen der 14. und der 23. Passage auftreten; genaue Voraussetzungen über das Verhalten eines bestimmten Virusisolates sind nicht möglich. Solche hochattenu-

ierten Impfstoffe, deren Immunogenität sicherlich nicht optimal ist, weisen dafür keine Virulenz auf. Das Rubini-Impfvirus, welches über mehr als 30 Passagen abgeschwächt wurde, gehört möglicherweise auch in diese Kategorie, obwohl abschliessende Untersuchungen noch nicht vorliegen. Da Rubini-Impfviren auf humanen Zellkulturen (MRC-5) gezüchtet werden, sind allergischen Reaktionen auf Fremdeiweisse ausgeschlossen. Aus Untersuchungen von Boriskin et al. geht hervor, dass überattenuierte Mumpsviren im besten Falle eine Immunogenität aufweisen, welche derjenigen von mit ultraviolettem Licht oder Formalin inaktivierten Viren entspricht⁷.

Epidemiologische Berechnungen haben gezeigt, dass die Wahl des Impfstoffes vom Immunitätsgrad der betroffenen Population beeinflusst wird. Bei niedrigem Immunitätsgrad ist ein weniger stark attenuierter Impfstoff mit höherer Immunogenität, aber auch höherer Rate von Impfkomplicationen vorzuziehen. Bei hoher Immunitätsrate dagegen wird die Wahl auf einen möglichst nebenwirkungsfreien, dafür weniger immunogenen Impfstoff fallen⁵⁰. Zur Aufrechterhaltung einer andauernden, die Wildviruszirkulation verhindernden Immunität einer Population, genügt möglicherweise eine einmalige Impfung von Kleinkindern nicht. Verschiedene Länder sind dazu übergegangen, eine zweite Impfdosis im Schulalter zu empfehlen. Angesichts einer ungenügenden Durchimpfungsrate von ca. 80 % in der Schweiz⁵¹ muss darauf hingewiesen werden, dass die konsequente Anwendung dieser Politik in Finnland praktisch zur Elimination der Wildviruszirkulation von Masern-, Mumps- und Rötelnviren geführt hat⁵². Die Durchimpfungsrate bei Kindern im Alter von 14 bis 18 Monaten und Kindern, die im Alter von sechs Jahren eine zweite Dosis erhalten haben, liegt

in Finnland bei 97%. Bei dieser Impfkampagne wurde ausschliesslich Jeryl Lynn als Mumpskomponente eingesetzt. Dieses Beispiel zeigt eindrücklich den Erfolg einer konsequenten und kontrollierten Impfpolitik.

Anforderungen an einen Impfstoff der Zukunft

Möglicherweise lässt sich die Immunogenität inaktivierter Impfstoffe durch die Verwendung neuer Adjuvantien steigern, so dass eine ebenso gute Immunität wie mit Lebendimpfstoffen erreicht wird, ohne das Risiko einer „Restvirulenz“ des Impfvirus eingehen zu müssen⁵³.

Ideal wäre aber die Verwendung eines avirulenten „Trägervirus“, das im geimpften Individuum repliziert und diejenigen Epitope des Wildvirus exprimiert, gegen die neutralisierende Antikörper gebildet werden. Ein solches Virus müsste durch Gentransfer konstruiert werden und sich auch über eine sehr grosse Passagezahl stabil verhalten. Theoretische könnte damit mit einer Impfung gegen mehrere Krankheiten immunisiert werden^{54,55}.

Summary

Mumps vaccines: Virological basis

The prevention of mumps virus infection relies on the application of live, attenuated mumps virus vaccines. The process of attenuation from a wildtype mumps isolate to a safe vaccine has been empirical. A lower degree of attenuation results in solid immunity but carries an increased risk of post-vaccination meningitis due to the vaccine strain. Currently used vaccine strains are highly attenuated and essentially free of vaccine strain induced disease. However, their immunogenicity may be lower than previously reported.

Résumé

Vaccins des oreillons: Base virologique

La prévention des oreillons est effectuée grâce aux vaccins contenant des virus ourliens vivants atténués. La différence entre un virus ourlien sauvage et un atténué est très petite. Un virus légèrement atténué engendre une forte immunité mais augmente le risque de développer des méningites postvaccinales. Actuellement on utilise des souches fortement atténuées qui ne font que très peu de complications mais dont l'immunogénicité semble plus faible que prévue.

Literaturverzeichnis

- 1 Johnson CD, Goodpasture EW. An investigation on the etiology of mumps. *J Exp Med* 1934; 59:1–19.
- 2 Johnson CD, Goodpasture E. The etiology of mumps. *Am J Hyg* 1935; 21:46–57.
- 3 Buynak EB, Hilleman MR. Live attenuated mumps virus vaccine. 1. Vaccine development. *Proc Soc Exp Biol Med* 1966; 13:769–775.
- 4 Penttinen K, Cantell K, Somer P, Poikolainen A. Mumps vaccination in the Finnish defense forces. *Am J Epidemiol* 1968; 88:234–244.
- 5 Habel K. Vaccination of human beings against mumps: Vaccine administered at the start of an epidemic. I. Incidence and severity of mumps in vaccinated and control groups. *Am J Hyg* 1951; 54:295–311.
- 6 Andzhaparidze OG, Boriskin YS, Bogomolova NN, Drynov ID. Mumps-virus persistently infected cell cultures release defective interfering virus particles. *J Gen Virol* 1982; 63:499–503.
- 7 Boriskin YS, Kaptsova TI, Lotte VD, Skvortsova OI, Örvell C. Laboratory markers for overattenuation of mumps vaccine virus. *Vaccine* 1988; 6:483–488.
- 8 Nichol ST, Rowe JE, Fitch WM. Punctuated equilibrium and positive Darwinian evolution in vesicular stomatitis virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:10424–10428.
- 9 Elliot GD, Afzal MA, Martin SJ, Rima BK. Nucleotide sequence of a matrix fusion and putative SH protein genes of mumps virus and their deduced amino acid sequences. *Virus Res* 1989; 12:61–75.
- 10 Yamada A, Takeuchi K, Tanabayashi K, Hishiyama M, Sugiura A. Sequence variation of the P gene among mumps virus strains. *Virology* 1989; 172:374–376.
- 11 Yeo RP, Afzal MA, Forsey T, Rima BK. Identification of a New Mumps Virus Lineage by Nucleotide Sequence Analysis of the SH Gene of 10 Different Strains. *Arch Virol* 1993; 128:371–377.
- 12 Künkel U, Schreier E, Siegl G, Schultze D. Molecular characterization of mumps virus strains circulating during an epidemic in Eastern Switzerland 1992/93. *Arch Virol* 1994; 136:433–438.
- 13 Jensik SC, Silver S. Polypeptides of mumps virus. *J Virol* 1976; 17:363–373.
- 14 Enders JF, Kane LW, Cohen S, Levens JH. Immunity in mumps; experiments with monkeys (*Macacus mulatta*). Development of complement-fixing antibody following infection and experiments on immunization by means of inactivated virus and convalescent human serum. *J Exp Med* 1945; 81:93–117.
- 15 Lambert B. The frequency of mumps and mumps orchitis and the consequences for sexuality and fertility. *Acta Genet* 1951; 2 (Suppl 1).
- 16 Johansson CJ. Clinical studies of sterile couples with special reference to the diagnostic, etiology and prognosis on fertility. *Acta Obstet Gynec Scand* 1957; 36 (Suppl 5).
- 17 Penttinen K, Helle E-P, Norrby E. Differences in antibody response induced by formaldehyde inactivated and live mumps vaccines. *Develop Biol Standard* 1979; 43:265–268.
- 18 Afzal MA, Pickford AR, Forsey T, Minor PD. Heterogeneous mumps vaccine. *Lancet* 1992; 340:980–981.
- 19 Brunell PA, Brickman A, Steinberg S. Evaluation of a live attenuated mumps vaccine (Jeryl Lynn) with observations on the optimal time for testing serologic response. *Am J Dis Child* 1969; 118:435–440.
- 20 Weibel RE, Buynak EB, McLean AA, Roehm RR, Hilleman MR. Persistence of antibody in human subjects for 7 to 10 years following administration of combined live attenuated measles, mumps, and rubella virus vaccines (40967). *Proc Soc Exp Biol Med* 1980; 165:260–263.
- 21 Popow-Kraupp T, Kundi M, Ambrosch F, Vanura H, Kunz C. A controlled trial for evaluating two live attenuated mumps-measles vaccines (Urabe AM9-Schwarz and Jeryl Lynn-Moraten) in young children. *J Med Virol* 1986; 18:69–79.
- 22 Christenson B, Heller L, Boettiger M. The immunizing effect and reactogenicity of two live attenuated mumps virus vaccines in Swedish schoolchildren. *J Biol Standard* 1983; 11:323–331.
- 23 Kim-Farley R, Bart S, Stetler H, et al. Clinical mumps vaccine efficacy. *Am J Epidemiol* 1985; 121:593–597.
- 24 Hersh BS, Fine PEM, Kent WK, et al. Mumps outbreak in a highly vaccinated population. *J Pediatr* 1991; 119:187–193.
- 25 Sugg WC, Finger JA, Levine RH, Pagano JS. Field evaluation of live mumps vaccine. *J Pediatr* 1968; 72:461–466.
- 26 Forsey T. Mumps vaccines – current status. *J Med Microbiol* 1994; 41:1–2.
- 27 Ehrengut W. Mumps vaccine and meningitis. *Lancet* 1989; 2:751.
- 28 Peltola H, Heinonen OP. Frequency of true adverse reactions to measles-mumps-rubella vaccine. A double-blind placebo-controlled trial in twins. *Lancet* 1986; 1:939–942.
- 29 Nalin DR. Mumps vaccine complications: which strain? *Lancet* 1989; 1369–1390.
- 30 Forsey T, Mawn JA, Yates PJ, Bentley ML, Minor PD. Differentiation of vaccine and wild mumps viruses using the polymerase chain reaction and dideoxynucleotide sequencing. *J Gen Virol* 1990; 71:987–990.
- 31 Cochi SL, Preblud SR, Orenstein WA. Perspectives of relative resurgence of mumps in the United States. *Am J Dis Child* 1988; 142:499–507.
- 32 Yamanishi K, Takahashi M, Ueda S, et al. Studies of live mumps virus vaccine. V. Development of a new mumps vaccine „AM9“ by plaque

- cloning. *Biken Journal* 1973; 16: 161–166.
- 33 *Colville A, Pugh S.* Mumps meningitis and measles, mumps, and rubella vaccine. *Lancet* 1992; 340:786–780.
- 34 *Forsey T, Bentley ML, Minor PD.* Mumps vaccines and meningitis. *Lancet* 1992; 340:980.
- 35 *Giammanco G, Livolti S, Salemi I, Bilancia GG, Mauro L.* Immune response to simultaneous administration of a combined measles, mumps and rubella vaccine with booster doses of diphtheria-tetanus and poliovirus vaccine. *Eur J Epidemiol* 1993; 9:199–202.
- 36 *Li Volti S, Giammanco-Bilancia G, Grassi M, Garozzo R, Glück R, Giammanco G.* Duration of the immune response to MMR vaccine in children of two age-different groups. *Eur J Epidemiol* 1993; 9:311–314.
- 37 *Glück R, Hoskins JM, Wegmann A, Just M, Germanier R.* Rubini, a new live attenuated mumps vaccine virus strain for human diploid cells. *Develop Biol Standard* 1986; 65:29–35.
- 38 *Boriskin YS, Yamada A, Kaptsova TI, et al.* Genetic evidence for variant selection in the course of dilute passaging of mumps vaccine virus. *Res Virol* 1992; 143:279–283.
- 39 *Afzal MA, Pickford AR, Yates PJ, Forsey T, Minor PD.* Matrix protein gene sequence of vaccine and vaccine-associated strains of mumps virus. *J Gen Virol* 1994; 75:1169–1172.
- 40 *Hilleman M, Weibel DS, Buynak EB, Stokes JJ, Whitman JEJ.* Live attenuated mumps-virus vaccine. 4. Protective efficacy as measured in a field evaluation. *N Engl J Med* 1967; 276:252–259.
- 41 *Wolinsky JS, Waxham MN, Server AC.* Protective effects of glycoprotein-specific monoclonal antibodies on the course of experimental mumps virus meningoencephalitis. *J Virol* 1985; 53:727–734.
- 42 *Merz DC, Scheid A, Choppin PW.* Importance of antibodies to the fusion glycoprotein of paramyxoviruses in the prevention in the spread of infection. *J Exp Med* 1980; 151:275–288.
- 43 *Merz DC, Scheid A, Choppin PW.* Immunological studies of the functions of paramyxovirus glycoproteins. *Virology* 1981; 109:94–105.
- 44 *Merz DC, Wolinsky JS.* Biochemical features of mumps virus neuraminidases and their relationship with pathogenicity. *Virology* 1981; 114:218–227.
- 45 Anonymus. Meningitis associated with measles-mumps-rubella vaccines. *Weekly Epidemiological Record* 1992; 67:301–302.
- 46 *Shramek G, Deinhardt F.* Development of an attenuated mumps virus vaccine. II. Immune response of animals to vaccination with inactivated and live attenuated mumps viruses. *J Immunol* 1969; 102:1093–1098.
- 47 *Ströhle A, Germann D.* Schnelltest zum Nachweis neutralisierender Antikörper gegen Mumpsviren (MuV) [Abstract]. Schweizerische Gesellschaft für Mikrobiologie 1994.
- 48 *Chiba Y, Horino K, Umetsu M, Wataya Y, Chiba S, Nakao T.* Virus excretion and antibody response in saliva in natural mumps. *Tohoku J Exp Med* 1973; 111:229–238.
- 49 *Chiba Y, Dzierba JL, Morag A, Ogra PL.* Cell-mediated immunresponse to mumps virus infection in man. *J Immunol* 1976; 116:12–15.
- 50 *Nokes DJ, Anderson RM.* Vaccine safety versus vaccine efficacy in mass immunisation programmes. *Lancet* 1991; 338:1309–1312.
- 51 Bundesamt für Gesundheitswesen. Kleinkinderimpfungen. Eine repräsentative Erhebung zur Durchimpfung in der Schweiz 1991. *Bull BAG* 1992; 32:504–507.
- 52 *Peltola H, Heinonen OP, Valle M, et al.* The elimination of indigenous measles, mumps, and rubella from finland by a 12-year, two dose vaccination program. *N Engl J Med* 1994; 331:1397–1402.
- 53 *Johnson AG.* Molecular adjuvants and immunomodulators: new approaches to immunization. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7:277–289.
- 54 *Sprent J, Tough DF.* Lymphocyte live-span and memory. *Science* 1994; 265:1395–1400.
- 55 *Rabinovich NR, McInnes P, Klein DL, Hall BF.* Vaccine technologies: view to the future. *Science* 1994; 265:1401–1404.

Danksagungen

Wir danken den Herren Drs. med. Daniel Trachsel und Marc-Antoine Gamba für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Korrespondenzadresse

Dr. med. D. Germann
 Institut für Medizinische
 Mikrobiologie
 Friedbühlstrasse 51
 CH-3010 Bern