

Versuche zur gleichzeitigen Immunisierung gegen Zytomegalie und Röteln

M. Just, A. Bürgin-Wolff, R. Hernandez

Universitätskinderklinik Basel, Mikrobiologisch-immunologisches Laboratorium

1. Einführung

In vielen Arbeiten wird auf die zunehmende Bedeutung der Zytomegalie-Infektion als Ursache von congenitalen Infekten und kindlichen Entwicklungsstörungen [zum Beispiel 7] hingewiesen.

Eine spezifische Behandlungsmöglichkeit einer congenitalen Zytomegalie-Infektion gibt es nicht. In eigenen Versuchen konnten wir durch eine Therapie mit Cytosin-Arabinosid [3] und auch mit der i.m.-Applikation von humanem Interferon [4] wohl eine Beeinflussung der Zytomegalievirus-Ausscheidung im Urin, nicht aber eine sichere klinische Besserung bewirken.

Möglicherweise könnte durch aktive Immunisierungen gegen Zytomegalieviren vor Eintritt einer Schwangerschaft eine wirksame Prophylaxe der congenitalen Zytomegalie-Erkrankungen betrieben werden.

1974 publizierten *Elek* und *Stern* [2] Ergebnisse von Immunisierungsversuchen mit attenuierten Zytomegalieviren. Unabhängig von der englischen Untersuchung versuchten wir mit einem anderen, ebenfalls attenuierten Zytomegalievirus-Stamm Erwachsene zu immunisieren [5].

Es wäre wünschenswert, Mädchen im Schulalter nicht nur gegen Röteln, sondern auch noch gegen Zytomegalie zu impfen. Ob gleichzeitige Immunisierungen gegen Röteln und Zytomegalie möglich sind, sollte durch unsere Studie an Erwachsenen abgeklärt werden. Um nachweisen zu können, ob die durch Immunisierung gegen Zytomegalie induzierten Antikörper über längere Zeit persistieren, wurden die ersten mit dem attenuierten Zytomegalievirus TOWNE 125 immunisierten Erwachsenen 2 Jahre später nachkontrolliert.

2. Methoden

2.1. Probanden

Die Immunisierungsversuche wurden an männlichen und weiblichen Studenten und Assistenten unserer Klinik, die über die Versuche genau informiert waren und freiwillig daran teilnahmen, durchgeführt. Den Probanden war dringend geraten worden, für mindestens 1 Jahr keinen Sexualverkehr ohne kontrazeptive Massnahmen auszuüben.

2.2. Für Immunisierung verwendete Viren

Für die Immunisierung gegen Zytomegalie wurde der Zytomegalievirus-Stamm TOWNE 125 verwendet, der durch Passagen ausschliesslich auf humanen WI-38 Zellen attenuiert worden war. Details über diesen Virusstamm sind durch *Plotkin* [6] publiziert worden. Für die Rötelnimpfung wurde der im Handel erhältliche attenuierte Stamm CENDEHILL (RIT) benützt.

Bei der kombinierten Zytomegalie+Rötelnimpfung wurde zuerst der Trocken-Rötelnimpfstoff im Lösungsmittel aufgelöst. Sofort anschliessend wurde der gelöste Rötelnimpfstoff in eine Ampulle mit einer Probe getrockneten,

Die Rötelnimpfung zur Vorbeugung angeborener Missbildungen hat sich bereits gut bewährt. Ist es möglich, die Impfung mit derjenigen gegen Zytomegalieviren zu kombinieren und dadurch den präventiven Wirkungsgrad zu erhöhen? Hier wird in diesem Zusammenhang über einen grundlegenden Versuch berichtet.

attenuierten Zytomegalieviren ($TCD_{50} 10^{-3,0} - 10^{-3,5}$) gespritzt. Nach vollständiger Lösung wurden die in 1 ml gelösten Röteln- und Zytomegalieviren intramuskulär in den Oberarm injiziert.

2.3. Antikörperuntersuchungen

Die für den Nachweis der immunfluoreszierenden IgG- bzw. IgM-Antikörper (IF-IgG- bzw. IF-IgM-AK) und der komplementbindenden Antikörper (KB-AK) gegen Zytomegalieviren verwendeten Methoden sind ausführlich in unserer ersten Arbeit über Zytomegalie-Impfung beschrieben [5].

Die Bestimmung der hämagglutinationshemmenden Antikörper (HH-AK) gegen Röteln erfolgte nach den üblichen Methoden [1].

3. Resultate

3.1. Kombinierte Immunisierung gegen Röteln+Zytomegalie

Es wurden 12 freiwillige Erwachsene, die weder HH-Röteln-AK noch IF-Zytomegalie-IgG-AK aufwiesen, gleichzeitig mit attenuierten Röteln- und Zytomegalieviren immunisiert.

Antikörperbefunde

Wie aus der *Tabelle 1* hervorgeht, konnten bei allen 12 Immunisierten 6 Wochen nach i.m.-Applikation von Röteln- +Zytomegalieviren sowohl HH-AK gegen Röteln als auch IF-IgG-AK gegen Zytomegalie nachgewiesen werden.

Die Titer der Röteln- und der Zytomegalie-IgG-AK waren in gleicher Grössenordnung wie diejenigen, die nach nicht kombinierter Immunisierung mit attenuierten Röteln- bzw. Zytomegalieviren erreicht werden.

KB-AK und IF-IgM-AK gegen Zytomegalie waren nur bei einem Teil der Immunisierten (4 bzw. 3 von 12) nachweisbar.

Auch bei den Probanden, die nur mit Zytomegalieviren immunisiert worden waren, konnten nur bei einer Minderheit KB-AK und IF-IgM-AK gefunden werden (vgl. Tab. 2 und Lit 5).

Nebenwirkungen

Bis heute haben wir an total 23 Freiwilligen ohne vorbestehende IF-IgG-AK gegen Zytomegalie intramuskulär eine Dosis von $10^{-3,0} - 10^{-3,5} TCD_{50}$ Zytomegalievirus TOWNE 125 appliziert. 18 dieser 23 Immunisierten (79%) zeigten an der Impfstelle eine zwischen dem 14.–16. Tag

Tabelle 1

*Kombinierte Zytomegalievirus- + Rötelnvirus-Immunsierungen
attenuierte Zytomegalieviren TOWNE 125 + attenuierte Rötelnviren CENDEHILL*

	Antikörper-Titer VOR kombinierter Immunsierung	6 Wochen NACH kombinierter Immunsierung MIT Antikörper-Anstieg	Antikörper-Titer minimal maximal	
<i>Röteln-HH-Antikörper</i>	negativ**	12/12*	1:32	1:512
<i>Zytomegalievirus-Antikörper</i>				
Komplementbindung	negativ***	4/12*	1:20	1:80
Fluoreszierende AK				
Total (IgG)	negativ***	12/12*	1:40	1:1280
IgM indirekt	negativ***	1/12*	1:10	
IgM fraktioniert	negativ***	3/12*		

* erste Zahl: Zahl der Erwachsenen mit Antikörpern

** zweite Zahl: Zahl der getesteten Erwachsenen

** negativ = unter 1:8

*** negativ = unter 1:10

Tabelle 2

*Antikörperkontrollen über längere Zeit nach i.m.-Zytomegalievirus-Immunsierungen 1973/74
Erwachsene ohne Antikörper gegen Zytomegalie vor Immunsierung*

	4 Wochen nach** Immunsierung			9 Monate nach Immunsierung			2 Jahre nach Immunsierung		
	Zahl *	Antikörpertiter minimal maximal		Zahl *	Antikörpertiter minimal maximal		Zahl *	Antikörpertiter minimal maximal	
Komplementbindung	1/10		1:20	0/9			0/8		
<i>Fluoreszierende Antikörper</i>									
Total (IgG)	10/10	1:640	1:2560	9/9	1:160	1:1280	8/8	1:40	1:640
IgM indirekt	3/9	1:10	1:160	1/9	1:10		0/8		
IgM fraktioniert:	7/9			1/9			0/8		

* erste Zahl: Zahl der Erwachsenen mit Antikörpern
zweite Zahl: Zahl der getesteten Erwachsenen

** publiziert 1975 [5]

nach Immunsierung auftretende Lokalreaktion, die nach spätestens einer Woche verschwand. Bei der kombinierten Impfung Röteln+Zytomegalie konnte eine gleichartige Lokalreaktion bei 10 der 12 Immunsierten (83%) beobachtet werden. Andere Nebenwirkungen traten auch bei der kombinierten Immunsierung nicht auf.

(Nummer 6 in Tab. 3) der 8 nach 2 Jahren untersuchten Probanden ein signifikanter Titerabfall aufgetreten ist.

Wie zu erwarten war, fanden sich 2 Jahre nach Immunsierung keine KB-AK und keine IF-IgM-AK gegen Zytomegalie mehr.

Die detaillierten Resultate können den Tabellen 2 und 3 entnommen werden.

3.2. Dauer des AK-Nachweises nach Immunsierung gegen Zytomegalie

Von den 10 1973/74 zum erstenmal gegen Zytomegalie immunsierten erwachsenen Freiwilligen, die vor der Applikation der attenuierten Viren keine Antikörper aufwiesen, konnten wir nach 9 Monaten 9 und nach 2 Jahren 8 nachkontrollieren. Bei allen waren humorale Zytomegalie-IF-AK der IgG-Klasse nachweisbar, wobei nur bei einem

4. Diskussion

Bei allen Freiwilligen, denen bis heute attenuierte Zytomegalieviren TOWNE 125 intramuskulär appliziert worden sind, konnten 4–6 Wochen nach Immunsierung IF-IgG-Antikörper gegen Zytomegalie nachgewiesen werden. Bei den 8 Probanden, die wir über einen Zeitraum von 2 Jahren verfolgen konnten, waren IF-IgG-AK mit einer Aus-

Tabelle 3

Antikörperkontrollen über längere Zeit nach i.m.-Zytomegalievirus-Immunisierungen 1973/74

Titer der fluoreszierenden IgG-Antikörper

Versuchsperson	1. vor Immunisierung	2.* 4 Wochen nach Immunisierung	3. 9 Monate nach Immunisierung	4. 2 Jahre nach Immunisierung
1	negativ	1:1280	1:640	1:640
2	negativ	1:640	1:320	1:320
3	negativ	1:2560	1:1280	1:640
4	negativ	1:1280	1:1280	1:640
5	negativ	1:640	1:640	1:640
6	negativ	1:640	1:160	1:40
7	negativ	1:640	1:160	1:160
8	negativ	1:640	1:640	1:320

 keine simultane
Bestimmung
zwischen 2./3.

 simultane
Bestimmung
zwischen 3./4.

* publiziert 1975 [5]

nahme in etwa der gleichen Titerhöhe wie kurz nach Immunisierung vorhanden. Die durch die Immunisierung induzierten Zytomegalie-AK scheinen trotz fehlender Virämie/Virurie [5] zu persistieren. Es ist uns aber klar, dass mit dem serologischen Nachweis der Persistenz der humoralen Zytomegalie-AK noch kein absoluter Beweis dafür erbracht ist, dass die durch die Immunisierung induzierten Serum-AK vor einer Infektion mit wilden Zytomegalieviren (und vor einer congenitalen Infektion) schützen.

Die Idee, Mädchen vor Erreichen der Pubertät nicht nur gegen Röteln, sondern auch gerade gegen Zytomegalie zu impfen, ist sicher verlockend. Unsere Befunde bei den kombinierten Immunisierungsversuchen zeigen, dass keine negative gegenseitige Beeinflussung zwischen den attenuierten Röteln- und Zytomegalieviren erfolgt.

Bevor solche prophylaktische Massnahmen auf breiter Basis erfolgen können, müssen zuerst mit kleinen Feldstudien weitere Erfahrungen gewonnen werden. Vor allem sollte man die Ergebnisse der geplanten Challenge-Versuche mit wilden Viren oder nur wenig attenuierten Viren abwarten.

Zusammenfassung

Bei Erwachsenen wurden Immunisierungsversuche mit gleichzeitiger i.m.-Applikation von abgeschwächten Röteln- (*Cendehill*) und von abgeschwächten Zytomegalieviren (TOWNE 125) durchgeführt. Es fanden sich keine Unterschiede im Antikörpertiter gegen beide Viren und im Auftreten von lokalen Nebenwirkungen zwischen Simultan- oder Einzelapplikation der beiden Virusstämmen.

Bei Erwachsenen, die gegen Zytomegalie immunisiert worden waren, fanden sich 2 Jahre später immer noch fluoreszierende IgG-Antikörper; nur bei einem von 8 Probanden trat ein signifikanter Titerabfall auf.

Summary

Experiments on simultaneous immunization against cytomegalovirus and rubella

An immunisation trial with simultaneously applied attenuated rubellavirus (*Cendehill*) and attenuated cytomegalovirus (TOWNE 125) was done in adults. There was no difference in antibody-titers against both viruses and in side-reactions (local ones only) between simultaneous or single application of the two viruses.

Adults immunized against cytomegalovirus two years ago still had IF-IgG-antibodies; in only 1 of 8 volunteers there was a significant antibody-decline.

Résumé

Essais simultanés d'immunisation contre la cytomégalie et la rubéole

Nous avons effectué un essai d'immunisation combinée (v.i.m.) par le virus atténué de la rubéole (*Cendehill*) ainsi que celui de la cytomégalie (TOWNE 125). On n'a pu détecter aucune différence ni du taux des anticorps ni des réactions secondaires par la vaccination combinée et l'application du virus séparé.

Après deux ans d'immunisation contre la cytomégalie, on a pu détecter encore des anticorps Ig-G fluorescents. Chez un candidat sur 8 on a constaté une diminution significative du taux des anticorps.

Literatur

- [1] *Bürgin-Wolff A., Hernandez R., Just M.*: Separation of rubella IgM, IgA and IgG antibodies by gel filtration on agarose, *Lancet* 1278, 11/1971.
- [2] *Elek S.D., Stern H.*: Development of a vaccine against mental retardation caused by cytomegalovirus infection in utero, *Lancet* 7845, 1/1974.
- [3] *Emödi G., Sartorius J., Just M., Rohner F., Bühler U.*: Virus studies in the treatment of congenital cytomegalovirus infections by cytosine arabinoside. *Helv. paed. acta* 27, 557, 1972.

- [4] *Emödi G., Reilly R.O., Müller A., Everson L.K., Binswanger U., Just M.*: The effect of exogenous interferon in cytomegalovirus infections. *J. of inf. dis.* in press 1976.
- [5] *Just M., Bürgin-Wolff A., Emödi G., Hernandez R.*: Immunisation trials with live attenuated cytomegalovirus TOWNE 125, *Infection* 111, 1975.
- [6] *Plotkin S.A., Furukawa T., Zygraich N., Huygelen C.*: Candidate cytomegalovirus strain for human vaccination, *Inf. Immun.* 521, 1975.
- [7] *Stagno S., Reynolds D.W., Tsiantos A., Fucillo D.A., Long W., Alford Ch.A.*: Comparative serial virologic and serologic studies of symptomatic and subclinical congenitally and natally acquired cytomegalovirus infections. *J. inf. dis.* 568, 1975.

Die vorliegende Arbeit wurde durch einen Forschungskredit des Schweizerischen Nationalfonds (4.124–0.74) zum Teil unterstützt.

Adresse des Verfassers

Prof. Dr. *Max Just*, Universitätsklinik, Römergasse 8, CH-4005 Basel.