

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 9 (1987) 139 - 146

Institut für Spezifische Prophylaxe und Tropenmedizin der Universität Wien
(Vorstand: Univ. Prof. Dr. G. Wiedermann) (1)
Institut für Virologie der Universität Wien (Vorstand: Univ. Prof. Dr. Ch. Kunz) (2)
Smith Kline RIT, Rixensart, Belgien, Biological Division (3)

Aktive Immunisierung gegen Hepatitis B mit Hilfe eines gentechnologisch hergestellten Impfstoffes — abschließender Bericht

**G. Wiedermann¹, F. Ambrosch¹, P. Kremsner¹, H. Kollaritsch¹,
Ch. Kunz², P. Hauser³, E. Simeon³, F. E. Andre³, A. Safary³**

Einleitung

Vor einem Jahr hatten wir bereits Gelegenheit, alte Erfahrungen über unsere Studien mit einem gentechnologisch hergestellten Impfstoff gegen Hepatitis B im Rahmen der Jahrestagung zu berichten. Nach einjähriger Beobachtungszeit ist diese Studie nun zu Ende gegangen, und die Ergebnisse sowie weitere Aspekte sind zu besprechen. Die Wichtigkeit der Impfung gegen Hepatitis B im allgemeinen aufgrund der Epidemiologie braucht nicht mehr erörtert werden (2, 4, 8).

Auch die Bedeutung des gentechnologisch hergestellten Impfstoffes steht außer Streit. Es soll nur daran erinnert werden, daß es möglich sein wird, die Kosten bedeutend zu senken, daß unbegrenzt Material zur Verfügung steht, und daß emotionelle Bedenken gegen mögliche Infektionserreger im Plasmainpfstoff nun zur Gänze wegfallen können. In diesem Sinne soll nun die gesamte Studie vorgestellt werden.

Methodik und Durchführung der Studie

Hypersensibilitätsuntersuchungen als Vorstudie

64 Studenten der medizinischen Fakultät sowie Institutsangehörige standen ursprünglich zur Verfügung, 62 davon konnten in die Vorstudie inkludiert werden. Vorbedingungen dafür waren negative Ergebnisse bei Untersuchungen von HBsAg und Anti-HBs Antikörpern, sowie Normalwerte für GPT und ein guter allgemeiner Gesundheitszustand.

45 Personen wurden einem Pricktest unterzogen mit einem nur grob gereinigten Hez Zellimpfstoff (Lot 381) als Antigen (5 mcg/ml) mit Histamin und Placebo als Kontrollen. Lokalreaktionen wurden in geeigneten Zeitintervallen beobachtet. Nach 1 Stunde erhielten alle Nichtreagenten eine intradermale Injektion von 2 mcg/ml bzw. 10 mcg/ml der grob gereinigten Präparation (Lot 381) zusammen mit Histamin (0.01 mcg/ml) als Positivkontrolle und Placebo als Negativkontrolle. Nach 1 Monat wurde zur weiteren Auswertung der Tolerabilität an 40 vorgetesteten und 21 nicht

vorgetesteten Personen eine teilweise gereinigte Präparation (Lot 451) verabreicht. Gruppe I bestand aus 7 ursprünglich vorgetesteten Personen, die eine einzige Injektion der 4fachen Dosis (28 mcg Lot 451) erhielten. Gruppe II und III bestanden teils aus vorgetesteten und teils aus nicht vorgetesteten Personen, die eine dreimalige Injektion mit 7 mcg Lot 451 nach dem Schema 0-1-2 oder 0-1-6 Monaten erhalten hatten. Die allgemeine und lokale Verträglichkeit und Immunogenität wurden wie in der Hauptstudie bestimmt. IgE-Antikörper gegen Antigen von *Saccharomyces cerevisiae* wurden mit Hilfe eines RAST-Tests (Phadebas, Pharmacia) bestimmt.

Verträglichkeit und Immunogenität

Die Hauptstudie erfaßte 283 männliche und weibliche Studenten der Universität Wien. Die Auswahlkriterien entsprachen denen der Vorstudie. Alle Untersuchungen erfolgten in Übereinstimmung mit den Bestimmungen der Deklaration von Helsinki. Die Impfungen wurden zufallsbedingt 10 Impfgruppen zugeteilt. Folgende Impfstoffe wurden 3 × in einmonatigem Intervall verabreicht: teilweise gereinigte Hefezellpräparationen: Lot B (5, 10, 20 und 40 RIA Einheiten), Lot C (5, 10, 20 RIA Einheiten); hochgereinigte Hefezellpräparationen: Lot H (10 und 20 mcg) und eine 20 mcg Dosis eines Plasmazellimpfstoffes (Nh 0658, MSD). Nach 12 Monaten wurde eine "Booster" Dosis mit 20 mcg eines gereinigten Hefezellimpfstoffes (Lot 4 phos) verabreicht. Alle Hefezellimpfstoffe stammten von Smith Kline-RIT (Rixensart). Die serologischen Untersuchungen erfolgten wie in der Vorstudie, HBs-Antikörper wurden mittels eines Festphasen-Radioimmunoassays (Ausab Abbot) bestimmt. Lokale Erscheinungen (Rötung, Schwellung, Schmerzhaftigkeit, Induration) wurden 4 Tage beobachtet (Fragebogen, Selbstbeobachtung) und als mild (1 Punkt), mäßig (2 Punkte), schwer (3 Punkte) oder fehlende Reaktion (0 Punkte) bewertet. Der höchsterreichbare Summenscore (TLSS) betrug 48. Als allgemeine Symptome wurden Fieber ($> 37,5^{\circ} \text{C}$), Kopfschmerz, gastrointestinale Symptome, Müdigkeit, Schwindel u. a. Symptome festgehalten.

Ergebnisse

Hypersensibilitätsuntersuchungen als Vortest

Sämtliche Pricktests mit Antigenpräparationen zeigten ein negatives Ergebnis. Bei den Intradermaltesten, die mit 2 Antigenkonzentrationen durchgeführt wurden, war nach 15 Minuten und 48 Stunden kein statistisch signifikanter Unterschied zur Placebogruppe feststellbar. Zwischen Personen, die durch Intradermaltest vorsensibilisiert waren und nicht sensibilisierten war kein Unterschied in lokaler und allgemeiner Verträglichkeit festzustellen und IgE-Antikörper gegen *Saccharomyces-cerevisiae*-Antigen wurden nicht induziert (die Daten scheinen nicht tabellarisch auf).

Verträglichkeitsstudie

Die lokale Verträglichkeit der Hauptstudie ist in Tab. 1, die allgemeine Verträglichkeit in Tab. 2 enthalten. Bei Betrachtung der lokalen Verträglichkeit fällt auf, daß der Summenscore, unabhängig von Herkunft und Dosis des verimpften Antigens, sehr niedrig ist und mit der Zahl der Injektionen nicht zunimmt. Allgemeinerscheinungen waren durchschnittlich mild und wurden ebenfalls mit steigender Zahl der Injektionen nicht häufiger, sondern zeigten eher eine Tendenz zu fallender Häufigkeit.

TABELLE 1
Lokalreaktionen nach Verabreichung verschiedener HBsAg-Präparationen
 Lot B und C = teilweise gereinigte Impfstoffe
 Lot H = gereinigter Impfstoff
 TLSS = "Total local symptom score" (Summen-Score der Lokalreaktionen)

Vakzine	Lot	Dosis (μg)	Personen (No.)	TLSS nach		
				1. Inj.	2. Inj.	3. Inj.
Hefezellimpfstoff	B	5	40	2,28	2,90	1,97
		10	40	1,54	1,75	4,44
		20	29	2,39	3,30	2,57
		40	19	5,42	5,31	3,63
	C	5	16	0,81	1,70	1,47
		10	18	3,72	3,61	2,27
		20	19	2,10	1,89	1,89
	H	10	9	2,88	3,77	1,62
		20	13	1,76	2,69	0,90
	Plasmaimpfstoff	NH 0658	20	59	0,97	1,23

TABELLE 2
Allgemeinreaktionen nach Verabreichung verschiedener HBsAg-Präparationen
 Lot B und C = teilweise gereinigte Impfstoffe
 Lot H = gereinigter Impfstoff

Vakzine	Lot	Dosis (μ)	Personen (No.)	Allgemeinreaktionen in % nach		
				1. Inj.	2. Inj.	3. Inj.
Hefezellimpfstoff	B	5	40	15,0	10,0	5,1
		10	40	15,0	12,8	10,5
		20	29	17,2	13,8	10,7
		40	19	5,3	5,3	5,3
	C	5	16	37,5	5,9	17,6
		10	18	0	5,6	5,6
		20	19	15,8	10,5	15,8
	H	10	9	11,1	22,2	0
		20	13	15,4	15,4	0
	Plasmaimpfstoff	NH0658	20	59	33,9	19,0

Immunogenität

Wenn als Grundlage einer Serokonversion ein Anti-Hbs-Titer von > 10 mIU/ml festgesetzt wird (3, 9), dann war 1 Monat nach der 2. Injektion kein Unterschied zwischen hochgereinigtem Plasma und Hefezellimpfstoffen feststellbar. Ein Monat nach der 3. Immunisierung (0-1-2) bestanden auch keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich

TABELLE 3
Serokonversion zu verschiedenen Zeitpunkten des Impfprogrammes
 Lot B und C = teilweise gereinigte Impfstoffe
 Lot H = gereinigter Impfstoff

Vakzine	Lot	Dosis (µg)	Zahl der Impflinge mit anti-HBs > 10 mIU/ml (%)					
			1 Mon.	2 Mon.	3. Mon.	6 Mon.	12 Mon.	13 Mon.
Hefezellimpfstoff	B	5	4/13 (30.8)	20/33 (60.6)	36/38 (94.7)	29/33 (87.9)	27/38 (90.0)	31/31 (100)
		10	1/12 (8.3)	13/29 (44.8)	33/35 (94.3)	32/34 (94.1)	31/33 (93.9)	33/33 (100)
		20	2/13 (15.4)	18/27 (66.7)	30/31 (96.8)	26/27 (96.3)	29/29 (100)	29/31 (93.5)
		40	2/7 (28.6)	11/14 (78.6)	14/14 (100)	13/13 (100)	13/13 (100)	13/15 (86.7)
	C	5	2/5 (40.0)	7/12 (58.3)	14/16 (87.5)	12/14 (85.7)	10/13 (76.9)	13/13 (100)
		10	0/0 (0)	4/12 (33.3)	14/14 (87.5)	14/14 (100)	11/14 (78.6)	14/14 (100)
		20	1/5 (20.0)	6/11 (54.5)	14/14 (100)	14/15 (93.3)	14/15 (93.3)	15/16 (93.8)
	H	10	4/5 (0.0)	5/5 (100)	6/6 (100)	7/7 (100)	6/7 (85.7)	7/7 (100)
		20	2/6 (33.3)	12/12 (100)	7/7 (100)	11/11 (100)	11/11 (100)	1/11 (100)
	Plasmainpfstoff		20	33/46 (71.7)	48/52 (92.3)	51/53 (96.2)	49/49 (100)	46/49 (93.9)

TABELLE 4
Geometrische mittlere Titer (GMT) zu verschiedenen Zeitpunkten des Impfprogrammes
 Lot B = teilweise gereinigte Impfstoffe
 Lot H = gereinigter Impfstoff

Vakzine	Lot	Dosis (µg)	GMT nach Monat					
			1	2	3	6	12	13
Hefezellimpfstoff	B	5	5.1	13.1	94.1	66.4	45.4	6325.6
		10	3.2	9.9	89.2	108.4	66.1	5201.2
		20	4.1	18.3	189.1	320.6	217.0	4653.7
		40	4.9	29.2	314.0	536.5	323.6	2288.8
	C	5	7.2	12.3	52.1	47.9	32.6	10150.8
		10	—	6.4	38.5	51.7	29.7	7090.9
		20	4.9	14.7	91.5	66.5	48.1	3336.6
	H	10	15.2	84.8	194.4	292.6	187.1	8241.4
20		10.0	62.7	297.1	290.1	465.5	10406.4	
Plasmainpfstoff	NH0658	20	31.7	190.6	1012.0	1086.7	570.8	8186.5

TABELLE 5
Geometrische mittlere Titer 1 Monat nach der 3. Injektion verschiedener gereinigter HBsAg-Präparationen

GMT = Geometr. mittl. Titer

4 G-T und 8 G-T = Tris gepufferte hochgereinigte Präparationen

4 G-P und 8 G-P = Phosphatgepufferte hochgereinigte Präparationen

Vakzine	Lot	Dosis (mcg)	GMT (mIU/ml)	
Hefezellimpfstoff	4 G-T	20	101.8	p 0,01
	8 G-T	20	131.7	
	4 G-P	20	212.4	
	8 G-P	20	393.8	
				p 0,01
Plasmaimpfstoff	NH 1365	20	598.3	n. s.

Serokonversionsraten zwischen teilweise gereinigten Hefezellimpfstoffen und hochgereinigten Impfstoffen (tab. 3). Die geometrischen mittleren Titer (GMT) jener Personen, die den Plasmazellimpfstoff erhalten hatten, waren nach der Grundimmunisierung etwas höher als bei den Impfungen, die Hefezellimpfstoff und sogar den hochgereinigten Hefezellimpfstoff (Lot H) verabreicht bekamen (Tab. 4). Im Anschluß an die "Booster"-Dosis nach 12 Monaten waren die GMT bei den Impfungen aller 10 Gruppen in etwa gleich hoch. Es schienen sogar die Titer nach Applikation einiger Hefezellimpfstoffe am höchsten zu sein, die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Schließlich wurde die Immunogenität verschieden gepufferter hochgereinigter Hefezellimpfstoffe geprüft und auch mit jener des Plasmazellimpfstoffes verglichen. Die Serokonversionsraten waren schon nach der 2. Impfung dieser Serie knapp unter, zumeist aber über 90% (diese Daten sind nicht wiedergegeben). Ein Monat nach der 3. Injektion (Tab. 5) war der mittlere geometrische Titer (GMT) der Plasmaimpfstoffgruppe nicht signifikant different von jener Gruppe, die Lot 8 G-P des phosphatgepufferten Hefezellimpfstoffes erhalten hatte. Der GMT der Plasmaimpfstoffgruppe war jedoch signifikant höher als der der übrigen Impfstoffgruppen. Weiters ist festzustellen, daß phosphatgepufferte Hefezellvakzine (4 G-P und 8 G-P) signifikant höhere Titer induzierten als trisgepufferte Präparationen (4 G-T und 8 G-T).

Diskussion

Die Vorstudie diente dazu, eventuell auftretende Überempfindlichkeitsreaktionen gegen residuale Hefezellantigene zu registrieren. Hauttests und intramuskuläre Injektionen nur grob gereinigter Präparationen ließen keinen Anhalt dafür erkennen. Hypersensibilitätserscheinungen traten auch nicht nach Impfung sensibilisierter Personen auf und auch RAST-Tests (nach Impfung mit gereinigten Hefezellimpfstoffen) gaben keinen Hinweis auf das Vorhandensein Saccharomyces-spezifischer IgE-Antikörper im Serum der Impflinge. Auch andere Autoren (5, 6, 7, 11) konnten keinen Hinweis auf hefespezifische IgE-Antikörper bei ihren Impfungen finden, sodaß offenbar Überempfindlichkeitserscheinungen gegen residuelle Hefeantigene in den Rekombinanten-Impfstoffen kein Problem darstellen.

Die im Rahmen der Hauptstudie durchgeführten Reaktogenitätsuntersuchungen ergaben eine gute lokale und allgemeine Verträglichkeit. Allfällige Nebenerscheinungen waren nur mild, leichte lokale Schmerzhaftigkeit und Müdigkeit waren die Hauptsymptome. Sie nahmen mit der Zahl der Reaktionen nicht zu (was wieder gegen die Existenz einer Hypersensibilität spricht), sondern eher ab. Unterschiede zwischen Plasma- und Hefezellimpfstoffen bestanden diesbezüglich nicht. Die Erfolgskontrolle der Impfungen erfolgte durch Bestimmung der Serokonversion und der geometrischen mittleren Titer (GMT). Wenn ein Titer von 10 mIU/ml als Schutzgrenze angenommen wird (3, 9), war bereits 1 Monat nach der 2. Impfstoffgabe kein Unterschied zwischen Hefe- und Plasmaimpfstoffen festzustellen. Hinsichtlich GMT waren anfänglich nach Plasmaimpfstoffgabe etwas höhere Titer festzustellen, die Unterschiede verschwanden aber im Anschluß an die Auffrischimpfung nach 1 Jahr. Bei der Prüfung verschieden hergestellter hochgereinigter Hefezellpräparationen zeigte sich, daß phosphatgepufferte Präparationen offenbar höhere Titer als trisgepufferte Präparationen induzieren konnten. Bereits ein Monat nach der dritten Injektion (bei einem Schema 0-1-2) waren die durch die Charge 8 G-P induzierten Titer denen nach Plasmaimpfstoffgabe vergleichbar.

Zusammenfassung

Verschiedene Chargen eines rekombinanten Hefezellimpfstoffes in verschiedener Dosierung und, zum Vergleich, ein aus Plasma gewonnener Impfstoff (20 mcg/Dosis) wurden jungen gesunden Erwachsenen verabreicht. Diese Versuche wurden nach Bewilligung der Ethikkommission und entsprechend der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Geprüft wurden eventuelle Hypersensibilitätsreaktionen, Verträglichkeit und Immunogenität. Keinerlei Zeichen von Hypersensibilitätsreaktionen wurden beobachtet. Die Verträglichkeit war bei allen Impfstoffen sehr gut, Nebenerscheinungen geringfügig, unabhängig von Dosis und Zahl der Injektionen. Impfstoffe wurden in den Monaten 0-1-2-12 verabreicht und ihre Immunogenität überprüft. Einen Monat nach der zweiten Impfung war zwischen den gereinigten Hefe- und Plasmaimpfstoffen kein Unterschied der Serokonversionsraten (> 10 mIU/ml) feststellbar. Nur teilweise gereinigte Hefezellpräparationen induzierten etwas niedrigere Serokonversionsraten. Ein Monat nach der 3. Vakzination waren die Serokonversionsraten in allen Gruppen gleich. Im Anschluß an die ersten 3 Injektionen induzierte der Plasmaimpfstoff etwas höhere geometrische mittlere Titer (GMT) als die Hefezellimpfstoffe. Nach der "Booster"-Dosis nach einem Jahr waren die durch Hefezellimpfstoffe induzierten Titer jedoch mindestens so hoch wie die durch Plasmaimpfstoff induzierten GMT. Wurden die gereinigten Hefeimpfstoffe als phosphat- statt trisgepufferte Präparationen eingesetzt, so konnte eine weitere Erhöhung der GMT erreicht werden, sodaß die Charge 8 G-P bereits nach der 3. Injektion Titer induzierte, die denen des Plasmaimpfstoffes vergleichbar waren.

Schlüsselwörter

Aktive Immunisierung, Hepatitis B, Gentechnologie

Summary

Active immunization against hepatitis B with a recombinant DNA vaccine — Final report

Several lots of a yeast-derived hepatitis B vaccine at different doses and a 20 µg dose of plasma-derived vaccine were tested in young healthy adults and compared with respect to risk of hypersensitivity reactions, reactogenicity and immunogenicity. No signs of hypersensitivity either preexisting or vaccine-induced were observed.

Reactogenicity was low and similar in all vaccine groups. It was not dose related and unaffected by the number of injections. Immunogenicity was evaluated for a 0-1-2- and 12 month vaccination schedule. Seroconversion rates (> 10 mIU/ml) were not significantly different between the purified yeast- and plasma derived vaccines one month after the second vaccination whereas the percentage of seroconversion was slightly lower in the groups receiving only partly purified recombinant vaccines. Seroconversion rates were not significantly different between all vaccine groups after the third vaccination. Although GMTs induced by the plasma derived vaccine were somewhat higher after the first 3 injections, the antibody titres induced by the recombinant vaccine were at least as high as those elicited by a plasma-derived vaccine following the booster dose. Several lots of purified yeast derived vaccines were tested in other trials. When phosphate instead of trisbuffered preparations were used, GMTs could be further improved, so that lot 8 G-P induced geometric mean titres comparable to those induced by a plasma derived vaccine already one month after the third injection.

Key words

Active immunization, hepatitis B, recombinant DNA technology.

Literatur

1. AMBROSCH, F., KREMSNER, P., KUNZ, Ch., SAFAY, A., WIEDERMANN, G. (1986): Aktive Immunisierung gegen Hepatitis B mit Hilfe eines gentechnologisch hergestellten Impfstoffes. Mit. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 8, 17-22.
2. ANONYMOUS (1983): *Morb Mortal Wkly. Rep.* 32, 23-30.
3. FRISCH-NIGGEMEYER, W., AMBROSCH, F., HOFFMANN, H. (1986): The assessment of immunity against hepatitis B after vaccination. *J. Biol. Stand.* 14, 255-258.
4. GUST, I. (1982): Comparison of epidemiology of hepatitis A and B. In: Szmuness W., Alter, H. J., Maynaed, J. E. eds. *Viral Hepatitis*. Philadelphia: Franklin Institute Press. 129-143.
5. JILG, W., SCHMIDT, M., ZOULEK, G., LORBER, B., WILSKÉ, B., DEINHARDT, F. (1984): Clinical evaluation of a recombinant hepatitis B vaccine. *Lancet* II; 1174-1175.
6. SCOLNIK, E. M., McLEAN, A. A., WEST, D. U., McLEER, W. J., MILLER, W. J., BUYNACK, E. B. (1984): Clinical evaluation in healthy adults of a hepatitis B vaccine made by recombinant DNA. *J. Am. Med. Ass.* 251, 2812-2815.
7. SCHEIERMANN, N., GESEMANN, K. M., KREUZFELDER, E., PAAR, D. (1987): Effects of a recombinant yeast-derived hepatitis B vaccine in healthy adults. *Postgr. Med. J.* 63, 115-119.
8. SOBESLAVSKY, O. (1980): Prevalence of markers of hepatitis B virus infection in various countries: a WHO collaborative study. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 58, 621-628.
9. SZMUNESS, W., STEVENS, C. E., ZANG, E. A., HAREY, E. J., KELLNER, A. (1981): A controlled clinical trial of the efficacy of the hepatitis B vaccine (Heptavax B): A final report. *Hepatology* 1, 377-385.
10. WIEDERMANN, G., AMBROSCH, F., HAUSER, P., SIMEON, E., ANDRE, F. E., SAFARY, A. (1985): Reactogenicity and Immunogenicity of Lots of different purity of a hepatitis B vaccine produced in yeast. *Int. Symp. on chronic hepatitis*. Nov. 28-29, Taipei Taiwan, abstracts 55.
11. ZAJAC, B. A., WEST, D. J., McLEER, W. J., SCOLNICK, E. M. (1986): Overview of clinical studies with hepatitis B vaccine made by recombinant DNA. *J. Infect.* 13 (Supplement A), 39-45.

KORRESPONDENZADRESSE:

Univ. Prof. Dr. G. Wiedermann
Institut für Spezifische Prophylaxe und Tropenmedizin

Kinderspitalgasse 15
A-1095 Wien

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1987

Band/Volume: [9](#)

Autor(en)/Author(s): Wiedermann Gerhard, Kreamsner Peter Gottfried, Ambrosch Franz, Kollaritsch Herwig, Kunz Ch., Hauser P., Simeon E., Andre F. E., Safary A.

Artikel/Article: [Aktive Immunisierung gegen Hepatitis B mit Hilfe eines gentechnologisch hergestellten Impfstoffes abschließender Bericht. 139-146](#)