

1. Einleitung

Die zunehmende Anzahl von Impf-Antigenen in den STIKO-Impfempfehlungen für Kinder führte im Laufe der Jahre zu einer vermehrten Zahl von Impfungen. Um die Anzahl der Injektionen zu reduzieren, kam es zur Entwicklung immer neuer Kombinationsimpfstoffe (2, 3, 10, 26, 27). Das betraf sowohl die so genannten *Totimpfstoffe*, die nicht vermehrungsfähige Impfantigene beinhalten, als auch die *Lebendimpfstoffe*, welche apathogene (so genannte *attenuierte*) Erreger (Viren, Bakterien) enthalten und sich somit im Körper des Impflings (die natürliche Infektion nachahmend) zunächst erst einmal vermehren müssen, um dann (ohne echte Krankheitssymptome zu verursachen) die gewünschte lebenslange Immunität zu bewirken. Von 2001 bis September 2005 gab es zwei hexavalente Impfstoffe (Totimpfstoffe), mit denen gegen Diphtherie, Tetanus, Pertussis, Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3, Haemophilus influenzae Typ b und Hepatitis B immunisiert wurde.

Dadurch wurde die Zahl der Injektionen verringert. Weiterhin führte dies zur Verbesserung der Compliance bei den Eltern der Impflinge sowie zur Senkung der Kosten im Gesundheitswesen für die Behandlung von Krankheiten. Außerdem wird die Applikation von chemischen Substanzen, wie zum Beispiel Aluminiumhydroxid, Thiomersal und Natriumhydrogencarbonat, verringert. Mittlerweile wurde aus den meisten Impfstoffen Thiomersal wegen der erheblichen Nebenwirkungen entfernt.

Es ist bekannt, dass reifgeborene (am Termin geborene, auch als *termingerecht* geborene bezeichnet), gesunde Kinder auf die Einzelkomponenten in Kombinationsimpfstoffen, im Gegensatz zu monovalenten Impfstoffen, unterschiedlich stark protektive Antikörper bilden (27). In der Regel ist die Antikörperbildung auf Einzelimpfstoffe (monovalente Impfstoffe) besser als auf Kombinationsimpfstoffe, wo mehrere Komponenten in einem Impfstoff zusammengefasst werden. Es hat sich als vorteilhaft herausgestellt, die Impfungen mit Totimpfstoffen in zwei Schritten durchzuführen. Zunächst

erfolgt durch die Applikation einer oder mehrerer Antigendosen (Impfungen) das so genannte **Priming** des bisher naiven Immunsystems, dem dann nach sechs bis zwölf Monaten eine einmalige Auffrischung (**Boosterimpfung/Boosterung; boosting**) folgt. Am *Ende* des Priming, welches durch Antikörperbestimmungen bei den Impfungen *vor der Markteinführung* des Impfstoffes ermittelt wird, haben die meisten der geimpften Kinder Antikörper in *ausreichender Menge*, d. h. schützende Antikörpertiter/*protektive* Antikörper gebildet. Diese nach dem *Priming* erreichten Antikörpertiter fallen dann aber innerhalb eines Jahres relativ schnell wieder unter den protektiven Mittelwert (GMT) ab. Um diese normalen Titerabfälle zu verhindern und die Antikörperkonzentration im Blutserum für mehrere Jahre (fünf bis zehn Jahre) zu verstetigen, muss das Immunsystem die nochmalige „Bestätigung“ in Form der *Boosterimpfung* erhalten; jetzt bleiben die Antikörperkonzentrationen über wesentlich längere Zeit im einmal erreichten schützenden Bereich. *Priming* und *Boosterung* zusammen bilden deshalb erst die so genannte **Grundimmunisierung**. Mit Abschluss der Grundimmunisierung sind also in der Regel die als schützend geltenden Antikörperspiegel für mehrere Jahre erreicht (3, 27), die aber *lebenslang* nur aufrecht erhalten werden können, wenn man jeweils in ca. 10-Jahresintervallen, gewissermaßen immer wieder als Erinnerung für das Immunsystem, eine Auffrischungsimpfung durchführt. Bei Lebendimpfstoffen liegt die Sache etwas anders. Man geht heute noch davon aus, dass nach **zwei** Impfstoffgaben – eine reine Sicherheitsmaßnahme, da manchmal die Impfviren in der Ampulle lagerungsbedingt nicht mehr voll vermehrungsfähig sind – eine lebenslang schützende Immunität besteht. Wir sollten uns aber nicht allzu sehr wundern, wenn wir in den nächsten 20 Jahren auch hier noch etwas Neues hinzu lernen müssen.

In der Literatur gibt es zwar Einzelberichte zu Untersuchungen der Immunantwort von Frühgeborenen auf monovalente Impfstoffe und auf Einzelkomponenten in Kombinationsimpfstoffen (2, 8, 19, 21), bisher jedoch

nur wenige zu den beiden hexavalenten Impfstoffen, da diese erst seit 2001 angewandt wurden (11, 31, 32).

Frühgeborene haben ein hohes Risiko, impfpräventable Krankheiten zu bekommen. Deshalb ist es wichtig, die Frühgeborenen rechtzeitig zu impfen, ihr Impfverhalten zu überprüfen und den Impferfolg zu kontrollieren. In früheren Studien wurde mitgeteilt, dass Frühgeborene eine adäquate Immunantwort für Diphtherie, Tetanus und Pertussis zeigen (6, 10, 20), aber eine abgeschwächte Antwort für Poliomyelitis, Hepatitis B und Haemophilus influenzae Typ b aufweisen (9, 10, 21, 22, 41).

Es war Paul EHRLICH, ein wissenschaftlicher Mitarbeiter Robert KOCHs in Berlin, der am Ende des 19. Jahrhunderts darauf drang, das schützende Prinzip nach einer Immunisierung, die spezifischen Antikörper, zu messen und ihre biologische Bedeutung damit zu quantifizieren. Als EHRLICH 1908 für sein Lebenswerk den Nobelpreis erhielt, hat das Nobelpreiskomitee in seiner Begründung diese wissenschaftliche Leistung – nämlich die Quantifizierung der biologischen Wirkung spezifischer Antikörper im Blutserum – ausdrücklich erwähnt. Seither ist es möglich, nicht nur die therapeutische Dosis in einem Diphtherie- oder Tetanus-Heilserum exakt anzugeben, sondern auch bei einem Impfling durch Antikörperbestimmung im Serum festzustellen, ob er gegen eine künftige Infektion sicher geschützt ist oder nicht.

Die Methoden zur Konzentrationsbestimmung von Tetanus- und Diphtherie-Antitoxin, also jener IgG-Antikörper, welche im Gefolge einer Schutzimpfung mit Tetanus- und Diphtherie-Toxoiden oder einer durchgemachten Infektion/Erkrankung vom Immunsystem des Menschen gebildet wurden, sind heute international standardisiert. Deshalb erfolgt ihre Angabe in IU/ml bzw. IE/ml Serum. Die Angabe der Antikörpermenge in IE/ml bzw. IU/ml bedeutet, dass es sich um „internationale Einheiten (IE)/international units (IU)“ handelt. Zur Befundinterpretation gelten weltweit folgende Regeln:

- < **0,01 IU** Tetanus-Antitoxin/ml Serum oder Diphtherie-Antitoxin/ml Serum = kein Impfschutz vorhanden; eine komplette Grundimmunisierung (*Priming plus Boosterung*) ist erforderlich.

- **> 0,01 bis < 0,1 IU** Tetanus-Antitoxin/ml Serum oder Diphtherie-Antitoxin/ml Serum = Impfschutz fraglich; *eine Booster-Impfung* oder *eine Wiederholungs-Impfung* sind erforderlich.
- **≥ 0,1 IU** Tetanus-Antitoxin/ml Serum oder Diphtherie-Antitoxin/ml Serum = sicherer Impfschutz vorhanden; zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist *keine* erneute Impfung erforderlich.

Dieses Prinzip funktioniert bei den meisten der heute allgemein empfohlenen Schutzimpfungen so oder in ähnlicher Weise recht gut, weil man die protektive Antikörperdosis zunächst im Tierversuch ermitteln und danach beim Menschen bestätigen kann.

Dieses Prinzip funktioniert *nicht* bei der Pertussisschutzimpfung: Die protektiven Antikörper-Konzentrationen für Pertussis sind nicht eindeutig definiert und nicht wie für andere Impfantigene vergleichbar standardisiert (6, 10, 20, 27).

Das Problem der Pertussisimpfung besteht darin, dass wir bis heute nicht genau wissen, welche Einzelkomponenten des Pertussisbakteriums (*Bordetella pertussis*) das klinische Krankheitsbild **Keuchhusten/Pertussis** beim Menschen verursachen und damit folglich auch nicht genau, welche Einzelkomponenten des Pertussis-Erregers für die Ausbildung des gewünschten Impfschutzes in einer zu entwickelnden Vakzine erforderlich und welche entbehrlich sind. Es stehen eine ganze Reihe von Antigenen des Erregers zur Diskussion, und so gab es bei der Entwicklung der Pertussisimpfstoffe eine Fülle von Ansätzen für die Impfstoffherstellung. Diese Impfstoffherstellung wird darüber hinaus dadurch erschwert, dass es kein wirkliches Tiermodell der Pertussis gibt. Die immer wieder in der Literatur erwähnten Labortiere *Maus* oder *syrischer Goldhamster* sind in Wirklichkeit keine echten Tiermodelle, werden aber von der Legislative mangels besserer Alternativen geduldet. Es gibt kein Tier, das nach einer Infektion mit *Bordetella pertussis* das klinische Bild der Pertussis, d. h. des bedrohlichen *Keuchhustens* ausbildet. Noch nie haben ein syrischer Goldhamster oder eine Maus nach einer Infektion mit *Bordetella pertussis* *gehustet*. Das, was diese

Tiere ausbilden, ist allenfalls eine *Lymphozytose* im Blut, die gut im Blutbild der Tiere zu analysieren ist. Ursache dieser Lymphozytose, die wir ja auch beim Menschen in ca. 80 – 90 % aller Fälle von Säuglings-Keuchhusten kennen, ist das Pertussistoxin (PT; deshalb in der internationalen Literatur auch lymphocytosis promoting factor/LPF genannt). Dass dieses Pertussistoxin (PT) aber nicht allein und nicht ausschließlich für das Krankheitsbild beim Menschen verantwortlich sein kann, zeigt uns die Natur. 10 bis 15 % aller Pertussiserkrankungen des Menschen werden nicht durch *Bordetella pertussis* sondern durch *Bordetella parapertussis* verursacht. Der wesentliche Unterschied zwischen diesen beiden Keimen besteht aber in ihrer Fähigkeit zur Pertussistoxin-Bildung. Nur *Bordetella pertussis* produziert PT. Obwohl *Bordetella parapertussis* gar kein PT produzieren kann, verursacht es dennoch beim Menschen das typische klinische Bild des Keuchhustens mit allen seinen Konsequenzen. Deshalb ist es zwingend, dass es mindestens eine weitere Pathogenitäts-Komponente in beiden Keimen geben muss, die für die Krankheitsentstehung verantwortlich ist. Diese Komponente bzw. Komponenten, falls es sogar mehrere sein sollten, müssten dann neben dem PT ebenfalls in einem wirksamen Impfstoff enthalten sein.

Solange man den ersten für die Pertussis-Schutzimpfung verwendeten Impfstoff benutzte, den so genannten **Ganzkeimimpfstoff**, war das alles kein echtes Problem. Im Prinzip handelt es sich bei diesem Impfstoff um eine Aufschwemmung von ganzen, aber abgetöteten *Bordetella pertussis*-Bakterien in einer Lösung, die dann injiziert wird. Die Impfpraxis gab diesem Konzept Recht, denn in vielen Ländern, z. B. in der DDR, Polen, der Tschechoslowakei, aber auch in den Niederlanden und Finnland, wurde bei der Verwendung dieser Vakzine die Pertussis als Säuglingserkrankung in den 80er Jahren des vorigen Jahrhunderts bis zur Bedeutungslosigkeit zurückgedrängt. Das Problem dieser Ganzkeimimpfstoffe war aber ihre schlechte Verträglichkeit. Mehr als 50 % der Kinder, d. h. mindestens jeder zweite Impfling, reagierten mit heftigen lokalen (Rötung, Schwellung, Schmerz an der Impfstelle) und/oder systemischen Nebenwirkungen (Fieber über 39° C und allgemeinem

Kranksein für einige Tage). Das führte zu einer schlechten Akzeptanz dieses Impfstoffes in der Bevölkerung und damit in der alten Bundesrepublik zu sehr niedrigen Durchimpfungsraten. Zum Zeitpunkt der Wiedervereinigung Deutschlands gab es in der alten BRD Bundesländer, in denen weniger als 3 % aller Kinder eine Pertussisimpfung erhielten, in der ehemaligen DDR waren es über 90 % der Kinder eines jeden Jahrganges. Aus diesem Grunde wurde gegen Ende der 80er Jahre des vorigen Jahrhunderts die Suche nach Pertussis-Impfstoffen forciert, die nicht mehr den gesamten Pool aller Bakterienbestandteile, sondern nur noch einzelne, möglichst nur die für eine schützende Immunisierung unbedingt erforderlichen Teilkomponenten aus dem Bakterium *B. pertussis* enthielten. Diese im Prinzip *Teilkomponenten-Impfstoffe*, man könnte sie auch *Split- oder Spalt-Impfstoffe* nennen, wurden international, da sie nicht mehr ganze Bakterienzellen enthielten, unter dem Namen *azelluläre Pertussisimpfstoffe* bekannt. Weil man aber nicht wusste, welche Einzelkomponenten des Bakteriums *B. pertussis* außer dem wahrscheinlich wichtigen Pertussistoxin für die Immunität des Menschen unbedingt erforderlich sind, erschienen auf dem Markt monovalente (nur PT enthaltend), divalente (PT plus eine weitere Komponente), tri-, tetra- und sogar pentavalente Pertussis-Vakzinen, die alle aus Einzelkomponenten zusammengesetzt waren, keine ganzen Bakterien enthielten und deshalb unter dem Namen *azelluläre Pertussisimpfstoffe* angeboten wurden. In der Praxis zeigte sich dann bald ein Grundprinzip: Je weniger Einzelkomponenten eine solche azelluläre Vakzine enthielt, desto verträglicher war sie für das Kind; je größer die Anzahl der (theoretisch für eine sichere Schutzwirkung möglichen) Einzelkomponenten im Impfstoff war, desto ausgeprägter wurden wieder die klinischen Unverträglichkeitserscheinungen. Die pentavalenten azellulären Pertussisimpfstoffe sind praktisch genauso häufig mit unerwünschten Nebenwirkungen behaftet wie der alte Ganzkeimimpfstoff. So suchten die Herstellerfirmen irgendwo in der Mitte (zwischen eins und fünf) einen Kompromiss. Monovalenter Impfstoff, der nur PT enthält, kann wegen der oben erörterten natürlichen Gegebenheit nicht den 100 %-igen Schutz der

Bevölkerung garantieren. Es muss mindestens eine weitere antigene Komponente in der Vakzine sein – aber welche? Kein Tierversuch und keine Antikörperbestimmung im Labor helfen dabei weiter, weil es kein Versuchstier gibt. Natürlich kann man in modernen Labortests jeden gebildeten Antikörper gegen ein bekanntes Antigen in Menge und Spezifität testen, aber ob er dem Menschen nützt und einen Schutz vor der Entwicklung der Krankheit **Keuchhusten** bei einer späteren Infektion mit dem Krankheitserreger bietet, das können wir im Falle von *Pertussis* nicht an Hand eines Laborparameters aussagen. Wenn eine neue Pertussisvakzine nachweisbar die Ausbildung einer Lymphozytose nach Infektion mit *B. pertussis* beim Versuchstier verhindert, so sagt das lediglich, dass dieser Impfstoff biologisch wirksame Antikörper gegen das Pertussistoxin induziert. Die menschliche Krankheit Keuchhusten (Pertussis) ist aber nicht wegen ihrer häufig zu registrierenden Blut-Lymphozytose eine gefährliche Erkrankung, sondern wegen des Hypoxie, zerebrale Blutungen und Aspirationen bewirkenden Hustens. Ob klinische Symptome wie Husten verhinderbar sein werden, sagen weder die Antikörper-Titer noch die durch die Impfung im Blut verhinderte Lymphozytose im Tierversuch aus. Nur die langjährige Anwendung der vorhandenen Schutzimpfungen am Menschen und die Beobachtung der klinischen Häufigkeit an Pertussiserkrankungen sowie ihre Zuordnung zu den vormals bei den Patienten verwendeten Impfstoffen werden uns in der Zukunft vielleicht sagen können, welche Komponenten in einer azellulären Pertussisvakzine unbedingt erforderlich sind.

In unserer Studie standen den Impfärzten sowohl der Impfstoff **Hexavac**[®] mit den bivalenten Komponenten PT und FHA als auch der Impfstoff **Infanrix hexa**[®] mit den trivalenten Komponenten PT, FHA und Pertactin zur Verfügung.

Wenn man sich die bisher bekannt gewordenen Fakten zur Physiologie des embryonalen und fetalen Immunsystems beim Menschen vor Augen führt, wird einem vielleicht etwas bewusster, vor welchen Problemen die Impfexperten der STIKO bei der initialen Formulierung ihrer Empfehlungen für das

Standardvorgehen bei der Impfung von Frühgeborenen standen und auch weiterhin stehen.

Dass das T-Zell-Immunsystem eines Kindes erst am Ende des zweiten Lebensjahres voll funktionsfähig ist, gehört zu den fundamentalen Fakten, die bei der Implementierung von Schutzimpfungen in den Impfkalender immer beachtet werden müssen. Man wird deshalb im ersten Lebensjahr prinzipiell nur Schutzimpfungen realisieren können, die ihre Wirkung über die humorale Immunität des B-Zell-Systems entfalten. Erste Immunzellen des B-Zell-Systems sind beim menschlichen Fötus laut Lehrbuch bereits mit Beginn der achten Gestationswoche in der Leber nachgewiesen worden, und ab der 20. Gestationswoche beginnt das Knochenmark mit der Lymphopoese von B-Zellen (40). Durch viele subtile Untersuchungen ist sehr gut belegt, dass man derartige Schutzimpfungen ab dem vollendeten zweiten Lebensmonat eines termingerecht (38. - 42. Gestationswoche) und damit so genannten reifgeborenen Kindes in aller Regel erfolgreich und gefahrlos durchführen kann. Weil es sich aber um abgetötete Impfantigene handelt, die z. T. nur geringe Impfmunogenität aufweisen, wobei hier speziell die Pertussisantigene genannt seien, sind *wiederholte Impfstoffgaben* zur Anregung des naiven Immunsystems beim Säugling - das so genannte *Priming* - erforderlich. Man hat sich in Deutschland für Reifgeborene auf drei Impfstoffgaben im Abstand von mindestens vier Wochen geeinigt. In den USA wird bei identischem Impfbeginn ein Abstand von acht Wochen zwischen den wiederholten Impfstoffgaben empfohlen. Wie man sieht, gibt es in diesen Expertenempfehlungen durchaus Spielraum für subjektive Gesichtspunkte, da die Materie dafür sehr viel Raum lässt und neben so genannten *harten Fakten* sehr viel *Erfahrungswissen* einfließt.

So kommt es auch, dass man sogar Neugeborene am ersten Lebenstag impfen kann, wenn man zeitgleich eine Dosis des spezifischen Immunglobulins appliziert, d. h. eine so genannte ***Simultan-Impfung*** – gleichzeitige aktive und passive Schutzimpfung - durchführt. Diese Empfehlung gibt es zum Beispiel für die Hepatitis B-Impfung eines Neugeborenen, dessen Mutter Hepatitis B-

positiv getestet wurde. Zeitgleich zur Gabe von Hepatitis B-Impfstoff wird spezifisches Anti-Hepatitis B-Immunglobulin von menschlichen Blutspendern verabreicht. Derartige Simultanimpfungen sind ihrer Natur nach ausschließlich mit den so genannten Totimpfstoffen (*inactivated vaccines* oder *killed vaccines*) durchführbar. Bei Lebendimpfstoffen (*attenuated live-virus vaccines*), die in der Regel *vermehrungsfähiges* Impfvirus beinhalten und deshalb umgangssprachlich auch als *Lebendvirusimpfstoffe* bezeichnet werden, wie z. B. Masern-, Röteln-, Mumps- und Varizellen-Impfvirus bei der MMR-V-Schutzimpfung, würden die zeitgleich im Körper des Impflings anwesenden spezifischen Antikörper das Impfvirus sofort neutralisieren und somit einen Impferfolg verhindern. Da aber Säuglinge im ersten Lebenshalbjahr in aller Regel über einen diaplazentar übertragenen Fundus spezifischer Antikörper der IgG-Fraktion von der Mutter verfügen, den so genannten natürlichen immunologischen Nestschutz/Leihimmunität, der das Kind in den ersten sechs (vier bis zehn) Monaten vor vielen erregerbedingten Erkrankungen wie z.B. Masern schützt, sind während dieser Zeit Schutzimpfungen mit einer so genannten Lebendvakzine nicht zu empfehlen. Eine solche Impfung ist zwar für den Impfling ungefährlich, der gewünschte Impferfolg ist aber wegen der regelhaften Anwesenheit mütterlicher Antikörper im Kind vor Ablauf des sechsten Lebensmonats praktisch niemals und im zweiten Lebenshalbjahr auch nur bei den Kindern erfolgreich möglich, bei denen die mütterliche Leihimmunität inzwischen völlig abgeklungen ist. Wann dies der Fall beim einzelnen Kinde ist, kann man dem potentiellen Impfling aber *nicht ansehen* (man müsste allenfalls eine Antikörperbestimmung im Serum des Kindes durchführen) und deshalb lautet die STIKO-Empfehlung für Lebendvakzinen in Deutschland: MMR-V-Impfungen in aller Regel erst nach dem 11. Lebensmonat durchführen. Darüber hinaus machen diese Ausführungen noch zwei weitere wichtige Dinge deutlich. Einerseits sind alle Schutzimpfungen im Säuglingsalter im Prinzip Simultanimpfungen, andererseits können therapeutische Gaben von Plasma, Blut, Blutderivaten (Erythrozyten-, Thrombozytenkonzentrate usw.) und Immunglobulinen die geplanten

Schutzimpfungen (laut STIKO-Impfkalender mit Totimpfstoffen!) in gar keiner Weise behindern.

Mit der erfolgreichen Entwicklung der modernen Perinatalogie überlebten immer unreifere Kinder. So können heute Kinder, die in der 23. oder 24. Gestationswoche mit einem Gewicht von 400 bis 500 g geboren werden, durchaus aufgezogen und dann im Alter von zwei bis drei Monaten mit einem Gewicht von 2000 bis 2500 g ihren Eltern nach Hause übergeben werden. Spätestens hier werden die mit großem materiellen und personellen Aufwand in sorgsam behüteter Umgebung der neonatologischen Intensivstationen aufgezogenen Kinder den normalen Infektionsbedingungen der natürlichen Umwelt ausgesetzt. Sie können sich mit Erregern von im Prinzip impfpräventablen Infektionskrankheiten infizieren und schwer erkranken, irreversible Schäden nehmen oder sogar versterben.

Wenn man die obigen Zahlen zum Gestationsalter und Geburtstermin der Frühgeborenen durchrechnet, fällt auf, dass es zu recht extremen, geradezu grotesken Situationen kommen kann. So könnte ein Kind, das in der 24. Gestationswoche geboren wurde, nach acht bis zwölf Wochen zu seiner Familie entlassen werden. Das Kind wäre dann tatsächlich in der 32. bis 36. Schwangerschaftswoche einer normalen Gravidität, also immer noch nicht am eigentlichen Geburtstermin einer komplikationslos verlaufenden Schwangerschaft. Theoretisch wäre das Kind bei seiner Entlassung von der Neugeborenenabteilung noch gar nicht geboren. Hier liegt nun der Knackpunkt für die Impfexperten.

Variante 1: Die eine Gruppe der Experten empfiehlt, die Schutzimpfungen in Anlehnung an die guten Erfahrungen mit Reifgeborenen durchzuführen und alle Frühgeborenen – unabhängig von ihrem individuellen Reifegrad bei Geburt und ihrem rechnerischen Gestationsalter – nach Ablauf von acht Lebenswochen außerhalb des Uterus mit der ersten Schutzimpfung zu versorgen sowie die weiteren Schutzimpfungen jeweils im Abstand von vier Wochen folgen zu lassen. Man nennt das die *Schutzimpfungen entsprechend dem kalendarischen Alter des Kindes*. Diese Expertengruppe sieht die Gefahren

einer Infektion des nicht immunen Kindes nach der Entlassung aus der stationären Behandlung als so gravierend an, dass sie unbedingt mit den Schutzimpfungen schon auf der neonatologischen Intensivtherapiestation (ITS) beginnen wollen und auch möglichst viele Impfdosen während der stationären Aufzucht des Frühgeborenen verabreichen möchten. Die Frage ist jedoch, ob ein so unreifes Immunsystem bereits in gewünschter und erforderlicher Weise auf die Schutzimpfungen reagieren und einen wirksamen Impfschutz aufbauen kann? Oder ist diese theoretische Vorstellung von einem möglichst früh erworbenen aktiven Impfschutz des extrem zu früh geborenen Kindes nicht nur ein frommer Wunsch der Ärzte und Eltern, welcher von der Natur gar nicht erfüllt werden kann?

Variante 2: Eine andere Gruppe von Experten ist der Meinung, dass man die Frühgeborenen erst nach Ablauf einer Zeit erfolgreich impfen kann, wenn sie analog einem Reifgeborenen 40 Gestationswochen plus acht postnatale Lebenswochen gelebt haben. Bei dem obigen Rechenbeispiel eines in der 24. Gestationswoche geborenen Kindes bedeutet das, dass man die erste Schutzimpfung durchführen sollte, *wenn das Kind kalendarisch sechs Monate alt ist*. Sicherlich würde man zu diesem Zeitpunkt mit einer hervorragenden Impfantwort des Kindes rechnen können. Allerdings ginge man ein sehr hohes Risiko für Infektionen und Erkrankungen des Kindes mit Erregern ein, deren gesundheitliche Gefahren durch rechtzeitige und erfolgreiche Schutzimpfungen weitestgehend vermeidbar sind.

Die STIKO hat sich in ihren Empfehlungen für die Variante 1 entschieden, die seither in Deutschland praktiziert wird. Das bedeutet aber, dass die Wissenschaftler aufgefordert sind, das Resultat dieser entsprechend der STIKO-Empfehlungen realisierten Impfungen rechtzeitig und wiederholt zu überprüfen, da ja berechtigte Zweifel an der vollen Wirksamkeit dieser frühen Schutzimpfungen nicht von der Hand zu weisen sind.

Wir stellten deshalb folgende **Arbeitshypothese** für unsere Studie auf:

Das Immunsystem der zu früh geborenen Impflinge ist, verglichen mit dem des Reifgeborenen, wahrscheinlich noch unreif und vielleicht noch nicht voll leistungsfähig. Da es auch bei reifgeborenen Kindern speziell gegenüber den Pertussis-Impfantigenen, aber auch den Impfkomponenten aus dem Hepatitis B-Virus und von Haemophilus influenzae Typ b immer wieder zu ungenügender Antikörperbildung kommt, ist zu vermuten, dass diese Tendenz einer ungenügenden Antikörperbildung bei Frühgeborenen noch verstärkt und prozentual häufiger nachweisbar sein wird.

Falls sich diese Arbeits-Hypothese bestätigen sollte, wäre nach Wegen für eine mögliche Optimierung des derzeitigen Impfschemas für Frühgeborene zu suchen. Anderenfalls wäre die jetzige STIKO-Empfehlung in ihrer gegenwärtigen Form unverändert beizubehalten.

Deshalb war es Ziel und damit **Aufgabenstellung** der Studie zu untersuchen, ob die drei Impfungen mit einem hexavalenten Kombinationsimpfstoff im Rahmen der Grundimmunisierung (Priming) bei unseren Frühgeborenen zu einer ausreichenden Immunität gegen Diphtherie, Tetanus, Pertussis mit den oben gemachten Einschränkungen, Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3, Haemophilus influenzae Typ b und Hepatitis B führen. Weiterhin wurde geprüft, ob die Antikörperbildung bei den Frühgeborenen abhängig vom Geburtsgewicht ist und ob weitere Korrekturen am gegenwärtigen Impfkalender der Frühgeborenen für einen ausreichenden Impfschutz erforderlich sind.

2. Probanden, Prüfmaterial und Methoden

An der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald wurden von März 2002 bis April 2003 55 Frühgeborene des Perinatal-Zentrums hinsichtlich der Produktion protektiver Antikörper nach drei Impfungen mit einem modernen hexavalenten Kombinationsimpfstoff überprüft. Dazu wurden die in Deutschland von der STIKO allgemein empfohlenen Schutzimpfungen bei diesen Kindern entsprechend dem kalendarischen Alter unter stationären Bedingungen begonnen und von den Klinikärzten so lange fortgeführt, wie sich das Kind in stationärer Betreuung befand. Im Falle einer Entlassung in die Häuslichkeit vor der dritten Impfstoffgabe wurden die Schutzimpfungen termingerecht durch die niedergelassenen Kinderärzte realisiert.

Vor Beginn der Untersuchung erfolgte die Prüfung und Zustimmung zum Studienprotokoll durch die Ethikkommission der Universität Greifswald.

2.1 Ein- und Ausschlusskriterien:

Laut Einschlusskriterien wurden alle Frühgeborenen unterhalb der 36. SSW in die Studie einbezogen. Weitere Voraussetzung für die Aufnahme in die Studie war die Einverständniserklärung der erziehungsberechtigten Personen zur hexavalenten Impfung und zur Teilnahme an der Studie (Einwilligung der Eltern zu einer zusätzlichen Blutentnahme, s. Anlage 1 und 2). Bei allen Kindern mussten die Impftermine - mit einer maximal tolerierten Abweichung von vier Wochen - sowie die Blutentnahmen vor der ersten Impfung und vier Wochen nach der dritten Impfung eingehalten werden. Für jeden Patienten wurde eine Studienakte angelegt. In der Akte wurden die Einverständniserklärung abgelegt und Patientenstammdaten (Name,

Geschlecht, Geburtsdatum, Gestationsalter, Geburtsgewicht, Diagnosen, s. Anlage 3) notiert.

Es wurde telefonisch Rücksprache mit den niedergelassenen Kinderärzten gehalten, um das Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen bei den Kindern zu erfassen.

Die Ausschlusskriterien beinhalteten die fehlende Einwilligung zur Teilnahme an der Studie, in die Impfungen oder die Blutentnahmen, Frühgeborene mit Fehlbildungen, die durch operative Eingriffe eine zeitgerechte Impfung nicht zuließen, Abweichungen von den STIKO-Impfempfehlungen, fehlende Blutentnahmen sowie eine Hepatitis B-Infektion der Mutter, die ein anderes Impfschema bedingt hätte.

2.2 Studiendesign:

Die Einteilung erfolgte in drei Gruppen. Die Zuordnung zu den Gruppen wurde nach dem Geburtsgewicht vorgenommen: GG \leq 1000 g (n = 16; durchschnittliches Gestationsalter/dGA $27 \pm 1,8$ Wochen; durchschnittliches Geburtsgewicht/dGG 810 ± 130 g); GG = 1001 bis 1500 g (n = 11; dGA $30 \pm 2,3$ Wochen; dGG 1190 ± 110 g); GG > 1500 g (n = 25; dGA $34,3 \pm 1,2$ Wochen; dGG 2140 ± 250 g). In den jeweiligen Gewichtsgruppen waren 7 von 16 Kindern in **Gruppe 1** SGA-Kinder, 5 von 11 Kindern in **Gruppe 2** SGA-Kinder und 5 von 19 Kindern in **Gruppe 3** SGA-Kinder.

Die erste Impfung der Grundimmunisierung mit dem hexavalenten Kombinationsimpfstoff begann nach Vollendung des zweiten Lebensmonats. Das gesamte *Priming* umfasste drei Impfungen, wobei die Abstände zwischen ihnen laut STIKO-Empfehlung mindestens vier Wochen betragen.

26 Kinder erhielten die erste Impfdosis während ihres stationären Aufenthaltes auf der neonatologischen Abteilung des Universitätsklinikums Greifswald. Nur ein Kind erhielt auch die zweite Impfdosis, kein Kind alle drei Impfdosen während der stationären Betreuung. Alle übrigen Impfungen wurden von den

niedergelassenen Kinderärzten der Familien im jeweiligen Wohngebiet durchgeführt. Aufgegliedert auf die drei von uns gebildeten Gewichtgruppen der Frühgeborenen ergibt sich folgendes Bild der Impfdurchführung im Detail: In der Gruppe 1 der 16 Kinder mit einem Geburtsgewicht unter 1000 g wurde nach der ersten Impfstoffgabe nur noch bei einem Kind die zweite Impfstoffdosis in der Klinik verabreicht. Die anderen Schutzimpfungen in dieser Gruppe führten die niedergelassenen Kinderärzte in der Ambulanz durch.

In der Gruppe 2 der 11 Kinder mit einem Geburtsgewicht zwischen 1001 und 1500 g wurden nach der initialen Impfstoffgabe durch die Klinikärzte bei 10 von 11 Kindern alle anderen Impfungen durch ihre Heimatärzte in der Niederlassung realisiert. Ein Kind dieser Gruppe erhielt *alle drei Impfungen* vom Heimat-Kinderarzt. In der Gruppe 3 der 24 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht über 1500 g wurden ebenfalls *alle Impfungen* durch die Heimatärzte in der Niederlassung durchgeführt.

Die Komponenten des hexavalenten Impfstoffes richteten sich gegen Diphtherie, Tetanus, azelluläre Pertussisantigene (PT, FHA und zum Teil Pertactin), Haemophilus influenzae Typ b, Hepatitis B und Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3. Es erfolgten zwei Antikörper-Bestimmungen, eine vor Beginn der ersten Impfung, die zweite vier Wochen nach der dritten Impfung. Es wurden jeweils nur ca. 0,5 - 1,0 ml Venenblut entnommen.

Die Blutentnahme für die zweite Antikörperbestimmung erfolgte in der Regel nach Entlassung der Probanden aus der stationären Behandlung durch die niedergelassenen Kinderärzte (s. Anlage 4).

Bei unserer Untersuchung handelt es sich um eine Einfachblindstudie.

2.3 Studienimpfstoffe:

Um die praxisübliche Realität und die lokalen Gegebenheiten abzubilden, wurden sowohl der Impfstoff Infanrix hexa[®] als auch der Impfstoff Hexavac[®] willkürlich von den niedergelassenen Kollegen verwendet.

Im Rahmen der Grundimmunisierung erhielten 20 Kinder alle drei Impfungen mit dem Impfstoff Infanrix hexa[®], 15 Kinder alle drei Impfungen mit dem Impfstoff Hexavac[®], 14 Kinder zwei Impfungen mit Infanrix hexa[®] und eine Impfung mit Hexavac[®] sowie zwei Kinder eine Impfung mit Infanrix hexa[®] und zwei Impfungen mit Hexavac[®].

Eine Dosis Hexavac[®] (0,5 ml) enthielt gereinigtes Diphtherietoxoid mindestens 20 IE (30 Lf), gereinigtes Tetanustoxoid mindestens 40 IE (10 Lf), gereinigtes Pertussistoxin 25 µg, gereinigtes filamentöses Haemagglutinin (FHA) 25 µg, Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HbsAg, gentechnologisch aus Hefezellen hergestellt) 5 µg, inaktiviertes Poliomyelitisvirus *Typ 1* 40 DE, inaktiviertes Poliomyelitisvirus *Typ 2* 8 DE, inaktiviertes Poliomyelitisvirus *Typ 3* 32 DE, Polysaccharide von *Haemophilus influenzae Typ b* 12 µg (letzteres an 24 µg Tetanus-Toxoid konjugiert).

Eine Dosis Infanrix hexa[®] (0,5 ml) enthält Diphtherietoxoid ≥ 30 IE, Tetanustoxoid ≥ 40 IE, gereinigte azelluläre Pertussisantigene: Pertussistoxin 25 µg, filamentöses Haemagglutinin (FHA) 25 µg, Pertactin 8 µg, Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HbsAg) 10 µg, inaktiviertes Poliomyelitisvirus *Typ 1* 40 DE, inaktiviertes Poliomyelitisvirus *Typ 2* 8 DE, inaktiviertes Poliomyelitisvirus *Typ 3* 32 DE, Polysaccharide von *Haemophilus influenzae Typ b* 10 µg (letzteres an 20 - 40 µg Tetanus-Toxoid konjugiert).

2.4 Labormethoden:

Die Blutproben (jeweils 0,5 - 1,0 ml) wurden den Probanden vor der ersten sowie vier Wochen nach der dritten Impfung entnommen. Das Blut wurde zentrifugiert, das Serum gewonnen, eingefroren und bis zur Laboranalyse bei -21°C gelagert. Die Proben wurden am Ende der Studie von zertifizierten Laboren, die an Ringversuchen teilnehmen, gleichzeitig und paarweise aufgearbeitet. Eine Positiv- und eine Negativ-Probe wurden mitgeführt.

Die Bestimmung der Diphtherie-, Tetanus- und Pertussis-Antikörpertiter erfolgte mittels ELISA (SERION ELISA classic, Firma Virion Serion und In house ELISA, Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay) sowie der HBs-Antikörper mittels AxSYM AUSAB (Firma Abbott) im Institut für Hygiene und Laboratoriumsmedizin des Klinikums Krefeld.

Als seroprotektive Antikörpertiter gelten $\geq 0,1$ IU/ml für Diphtherie- und Tetanusantitoxin und ≥ 10 mIE/ml für Anti-HbsAg (s. Tab. 1 a und 1 b). Von Immunogenität ist für Pertussistoxin- und FHA-Antikörpertiter vor Impfung bei einem Wert von ≥ 5 EU/ml und nach Impfung bei einem Wert von ≥ 5 EU/ml und einem 4-fachen Anstieg, bezogen auf den Ausgangswert (s. Tab. 1 a und 1 b), auszugehen (24).

Das nationale Referenzzentrum für Poliomyelitis- und Enteroviren des Robert-Koch-Institutes in Berlin bestimmte mit dem Neutralisationstest die Antikörpertiter gegen Poliomyelitisviren Typ 1, 2 und 3. Als schützend wird ein Serumantikörpertiter von $\geq 1:8$ für Poliomyelitisvirus Typ 1, 2 und 3 angesehen (s. Tab. 1 a und 1 b).

Die Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen bestimmte die PRP-Antikörper (für Haemophilus influenzae Typ b-Komponente) mittels EIA (Enzyme Immuno Assay). Bei einem PRP-Antikörpertiter $\geq 0,15$ $\mu\text{g/ml}$ ist von einem Kurzzeitschutz, bei einem Antikörpertiter $\geq 1,0$ $\mu\text{g/ml}$ von einem Langzeitschutz (s. Tab. 1 a und 1 b) auszugehen (7, 15).

2.5 Statistische Analyse:

Zum Nachweis des Impferfolges (Erreichen einer ausreichenden Antikörperkonzentration im Serum) im Ergebnis der drei Impfungen wurde innerhalb jeder Gewichtsgruppe für jede Impfkomponekte mit Hilfe des exakten Tests nach FISCHER überprüft, ob die Anzahl der Frühgeborenen mit Impfschutz nach den Impfungen signifikant höher ist als vor Beginn der Impfungen. Zur Berücksichtigung des erhöhten alpha-Risikos durch multiples Testen innerhalb der Gruppen wurde eine modifizierte BONFERRONI-Korrektur nach HOLM (17) zur Anwendung gebracht. Für die relativen Impferfolgshäufigkeiten wurden neben den 95 % - auch die 99 % - Konfidenzintervalle (CI 0,95 bzw. CI 0,99) angegeben. Die GMTs (geometrischen Mittelwerte) einschließlich ihrer 95 % - und 99 % - Konfidenzintervalle wurden ebenfalls berechnet (1, 13, 36). Die zusätzliche Angabe der 99 % - Konfidenzintervalle trägt dem erhöhten alpha-Risiko infolge des multiplen Testens innerhalb der Gruppen Rechnung.

3. Ergebnisse

Im Einschlusszeitraum befanden sich 165 Frühgeborene auf der neonatologischen Abteilung der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin des Klinikums der Ernst–Moritz-Arndt-Universität Greifswald. Von diesen 165 Kindern konnten 55 in die Studie eingeschlossen werden. Bei den übrigen Kindern wurde entweder von den erziehungsberechtigten Personen nicht die erforderliche Einwilligung gegeben, lag der Wohnort außerhalb der Erreichbarkeit zur Blutentnahme für die zweite Antikörperbestimmung oder es sprachen medizinische Komplikationen, beispielsweise schwere Fehlbildungen mit den erforderlichen operativen Korrekturen, gegen eine termingerechte Durchführung der Impfungen.

Von den 55 Frühgeborenen, die in die Studie aufgenommen wurden, kamen 51 zur Auswertung, 24 Jungen und 27 Mädchen. Durch Wegzug fielen vier Probanden aus der Studie heraus. Zum Zeitpunkt der ersten Impfung befanden sich alle Säuglinge in einem stabilen Allgemeinzustand. Es bestanden keine Kontraindikationen für eine Impfung. Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt der ersten Impfung betrug $11,7 \pm 4,2$ Wochen (Gruppe 1: $14,5 \pm 5,9$ Wochen; Gruppe 2: $9,7 \pm 1,7$ Wochen; Gruppe 3: $10,8 \pm 2,5$ Wochen).

Nach der Entlassung aus der stationären Behandlung wurden die Impfungen entsprechend den STIKO-Empfehlungen durch die Heimatärzte vervollständigt bzw. komplett durchgeführt.

Es wurde in dieser Periode der Studie wiederholt telefonisch Rücksprache mit den niedergelassenen Kinderärzten gehalten, um das Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen bei den Kindern zu erfassen.

Bei den von uns untersuchten Kindern traten keine unerwarteten oder unerwünschten Impfreaktionen auf.

3.1 Allgemeine Immunogenität der Impfstoffe:

In unserer Studie erreichten über 94 % der Frühgeborenen nach drei hexavalenten Impfungen Antikörpertiter, die einen ausreichenden Schutz gegen Diphtherie, Tetanus, Hepatitis B, Haemophilus influenzae Typ b beim Kurzzeitschutz und Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3 bieten; für FHA wurde eine ausreichende Immunogenität der Impfstoffe bzw. eine suffiziente Immunreaktion der Impflinge registriert (s. Abb. 1 und 2). Bezüglich der Immunantwort auf die beiden Impfstoffe gab es bei den SGA- und AGA-Kindern keine signifikanten Unterschiede.

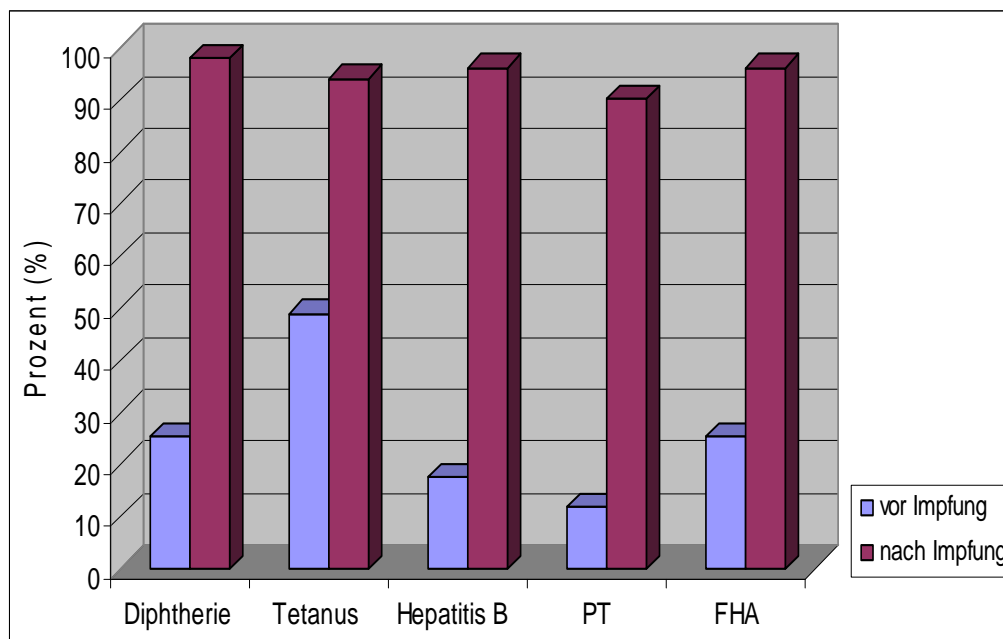


Abb. 1: Antikörper aller untersuchten Frühgeborenen vor und nach den ersten drei Impfungen mit einem hexavalenten Impfstoff (n = 51)

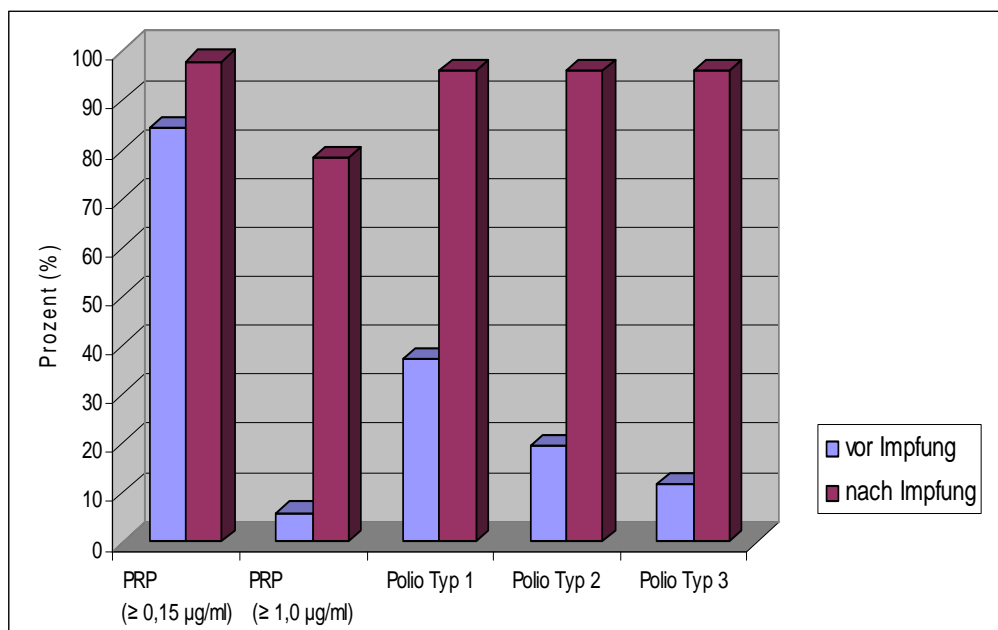


Abb. 2: Antikörper aller untersuchten Frühgeborenen vor und nach den ersten drei Impfungen mit einem hexavalenten Impfstoff (n = 51)

3.2 Diphtherie/Tetanus

Nach Abschluss der ersten drei hexavalenten Impfungen innerhalb der Grundimmunisierung hatten 94 % der Kinder einen als schützend geltenden Antikörpertiter gegen Tetanustoxin ($\geq 0,1$ IE/ml) und 98 % der Kinder gegen Diphtherietoxin ($\geq 0,1$ IE/ml) (s. Abb. 1 und Tab. 1 b). Der Anteil der Frühgeborenen mit einem ausreichenden Impfschutz gegen Tetanus und Diphtherie nahm im Ergebnis der drei Impfungen in allen Gewichtsgruppen signifikant zu (s. Tab. 3). Alle Frühgeborenen der Gruppe 2 erreichten einen ausreichenden Impfschutz gegen Tetanus [100 %, $CI_{0,95}$ (76,16 ; 100)]. In den Gruppen 1 [87,5 %, $CI_{0,95}$ (61,65 ; 98,45)] und 3 [95,8 %, $CI_{0,95}$ (78,88 ; 99,89)] (s. Abb. 3 und Tab. 2 b) war die Erfolgsquote etwas geringer (Gr. 1: 2 Kinder und Gr. 3: 1 Kind ohne ausreichenden Schutz). Für Tetanus war der GMT nach der dritten Impfung in Gruppe 1 mit 0.605 IU/ml [$CI_{0,95}$ (0,364 ;

1,161)] ca. 1,5-fach höher als in der Gruppe 2 mit 0,392 IU/ml [$CI_{0,95}$ (0,201 ; 0,763)] und etwa gleich hoch wie in der Gruppe 3 mit 0,508 IU/ml [$CI_{0,95}$ (0,377 ; 0,685)] (s. Tab. 4 b).

Gegen Diphtherie waren 100 % der Säuglinge der Gruppen 1 [$CI_{0,95}$ (82,93 ; 100)] und 3 [$CI_{0,95}$ (88,27 ; 100)] geschützt sowie 90,9 % der Gruppe 2 [$CI_{0,95}$ (58,72 ; 99,77)]. Ein Kind der Gruppe 2 war nicht geschützt (s. Abb. 3 und Tab. 2 b). Der GMT nach den ersten drei hexavalenten Impfungen der Grundimmunisierung für Diphtherie war in allen drei Gruppen etwa gleich hoch [Gruppe 1 mit 1,299 IU/ml, $CI_{0,95}$ (0,971 ; 1,738); Gruppe 2 mit 1,104 IU/ml, $CI_{0,95}$ (0,574 ; 2,124) und Gruppe 3 mit 1,151 IU/ml, $CI_{0,95}$ (0,900 ; 1,472)] (s. Tab. 4 b).

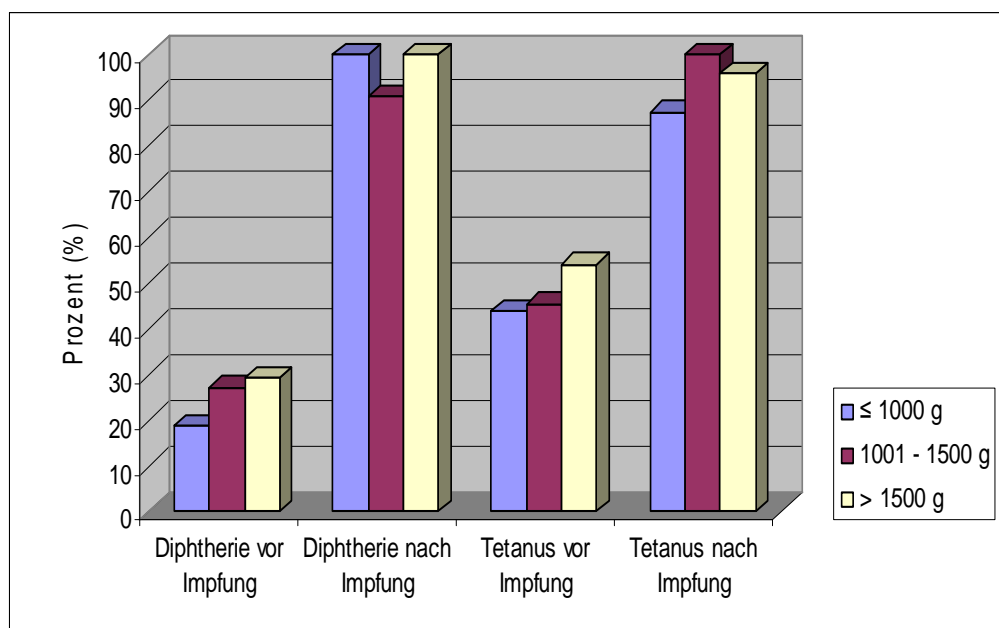


Abb. 3: Antikörper gegen Diphtherie/Tetanus - ausreichend immunisierte Frühgeborene vor und nach den ersten drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung

3.3 Hepatitis B

Einen Monat nach der dritten Impfung hatten 96 % aller untersuchten Frühgeborenen einen Antikörpertiter ≥ 10 mIE/ml für Anti-HBs-Ag (s. Abb. 1 und Tab. 1 b). Nach Abschluss der dritten hexavalenten Impfung innerhalb der Grundimmunisierung war die Zahl der Frühgeborenen mit einem ausreichenden Impfschutz signifikant angestiegen (s. Tab. 3). Die Anzahl der Kinder der Gruppe 1 mit einem ausreichenden Antikörpertiter lag jedoch mit 87,5 % [$CI_{0,95}$ (61,65 ; 98,45), zwei Kinder erreichten keine Antikörpertiter ≥ 10 mIE/ml] unter denen der Gruppen 2 und 3, welche jeweils zu 100 % [$CI_{0,95}$ Gr.2 (76,16 ; 100), Gr.3 (88,27 ; 100)] (s. Abb. 4 und Tab. 2 b) mit einem als schützend geltenden Titer reagierten. Vor der ersten hexavalenten Impfung war der GMT in allen drei Gruppen 0 mIU/ml. Nach der dritten Impfung war der GMT in der Gruppe 3 [937,1 mIU/ml, $CI_{0,95}$ (490,1 ; 1791,8)] etwa 15-fach höher als in der Gruppe 1 [59,5 mIU/ml, $CI_{0,95}$ (5,3 ; 668,7)] und ca. 5-fach höher als in der Gruppe 2 [176,1 mIU/ml, $CI_{0,95}$ (58,2 ; 533,5)] (s. Tab. 4 a und 4 b).

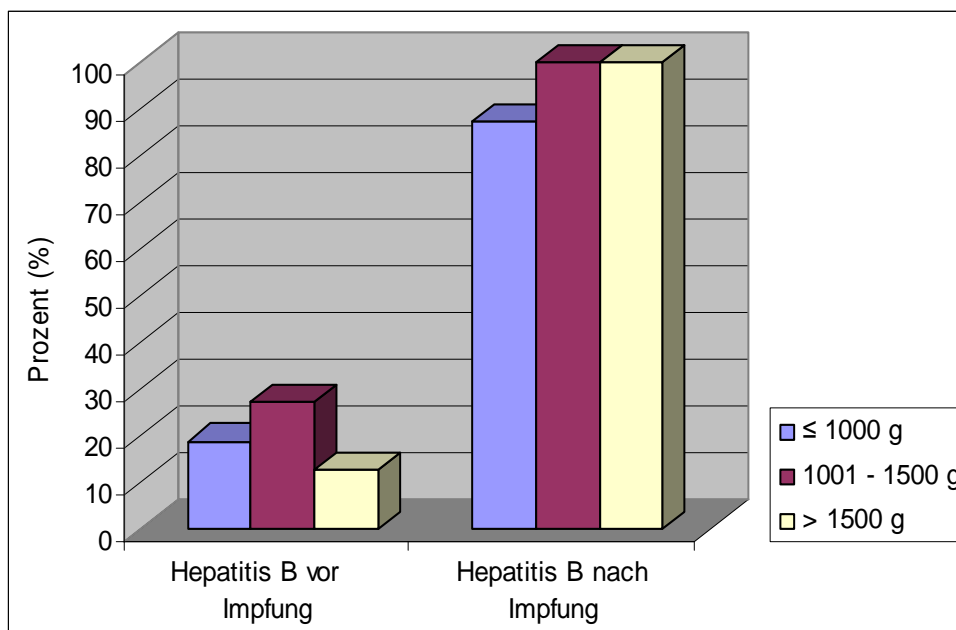


Abb. 4: Antikörper gegen Hepatitis B - ausreichend immunisierte Frühgeborene vor und nach den ersten drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung

3.4 Pertussis

Einen Wert ≥ 5 EU/ml und mindestens 4-fachen Anstieg der PT- und FHA-Antikörpertiter zeigten einen Monat nach der dritten hexavalenten Impfung im Rahmen der Grundimmunisierung 90,2 % bzw. 96 % der Impflinge (s. Abb. 1 und Tab. 1 b).

Der Anteil der Frühgeborenen mit einem ausreichenden Impfschutz gegen Pertussistoxin und filamentöses Haemagglutinin von *Bordetella pertussis* war einen Monat nach der dritten hexavalenten Impfung signifikant angestiegen (s. Tab. 3).

Die Frühgeborenen bildeten in allen drei Gruppen schlechter PT-Antikörper. Als (übereinkunftsgemäß) seroprotektiv geltende Antikörpertiter erreichten in **Gruppe 1** 87,5 % [$CI_{0,95}$ (61,65 ; 98,45)], in **Gruppe 2** 90,9 % [$CI_{0,95}$ (58,72 ;

99,77)] und in **Gruppe 3** 91,6 % [$CI_{0,95}$ (73,0 ; 98,97)] der Kinder (s. Abb. 5 und Tab. 2 b). Zwei Kinder in der Gruppe 1, ein Kind in der Gruppe 2 sowie ebenfalls zwei Kinder in der Gruppe 3 bildeten ungenügend und damit wahrscheinlich keine schützenden Antikörper. Die Antikörpertiter für FHA lagen in den Gruppen 1 mit 93,7 % der Kinder [15 von 16 Kindern, $CI_{0,95}$ (69,77 ; 99,84)] und 3 mit 95,8 % [23 von 24 Kindern, $CI_{0,95}$ (78,88 ; 99,89)] unter denen der Gruppe 2, die zu 100 % [$CI_{0,95}$ (76,16 ; 100)] immunisiert waren (s. Abb. 5 und Tab. 2 b). Die Antikörperbildung gegen Pertactin wurde nicht statistisch ausgewertet, da einer der beiden Impfstoffe kein Pertactin enthält. Deshalb wären die Ergebnisse nicht aussagekräftig, da mehr als die Hälfte der Kinder entweder mit beiden verfügbaren Impfstoffen geimpft wurden oder nur mit dem Impfstoff, der kein Pertactin enthält (s.o.). Die GMTs für PT und FHA waren einen Monat nach der dritten Impfung innerhalb der Grundimmunisierung auch hier in allen drei Gruppen vergleichbar (s. Tab. 4 b).

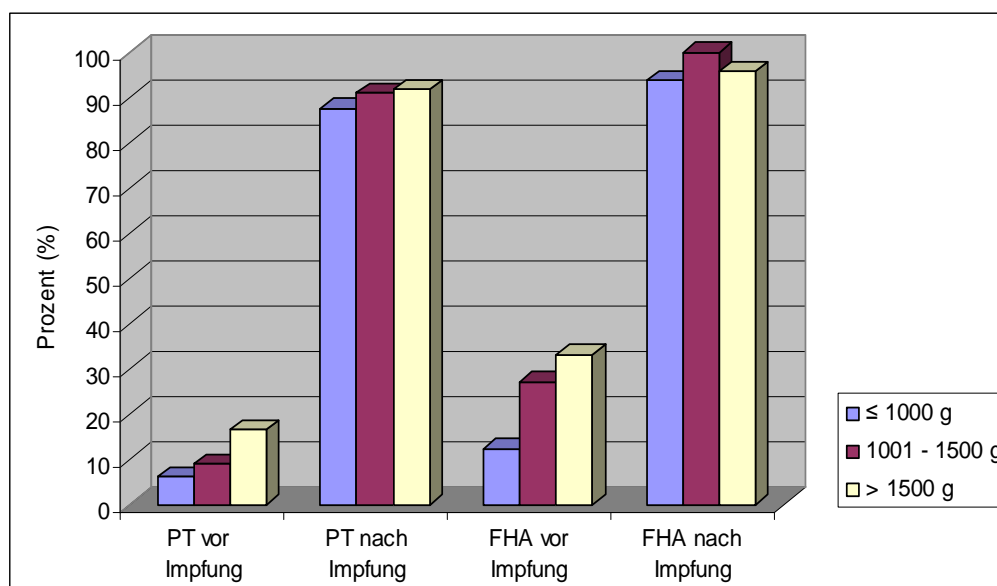


Abb. 5: Antikörper gegen PT/FHA - ausreichend immunisierte Frühgeborene vor und nach den ersten drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung

3.5 Haemophilus influenzae Typ b

Einen Monat nach der dritten Impfung wiesen 78,4 % der Kinder (s. Abb. 2 und Tab. 1 b) einen PRP-Antikörpertiter $\geq 1,0 \mu\text{g/ml}$ auf, der mit einem Langzeitschutz einhergeht (7, 15). Am schlechtesten reagierten die Frühgeborenen der Gruppe 2 mit 54,5 % [6 von 11 Kindern, $\text{CI}_{0,95}$ (23,38 ; 83,25)]. In der Gruppe 1 wurden von 75 % [12 von 16 Kindern, $\text{CI}_{0,95}$ (47,63 ; 92,74)] und in der Gruppe 3 von 91,6 % [22 von 24 Kindern, $\text{CI}_{0,95}$ (73,0 ; 98,97)] der Frühgeborenen schützende Antikörper gebildet (s. Abb. 6 und Tab. 2 b). Nach den drei Impfungen war in allen drei Gruppen ein signifikanter Anstieg der Frühgeborenen mit einem ausreichenden Impfschutz gegen Haemophilus influenzae Typ b mit Langzeitschutz zu verzeichnen (s. Tab. 3). Des weiteren war bei 98 % der Kinder (s. Abb. 2 und Tab. 1 b) von einem Kurzzeitschutz auszugehen. Dies entspricht einem Antikörpertiter von $\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$. Dabei erzielten die Gruppen 1 und 2 zu jeweils 100 % [$\text{CI}_{0,95}$ Gr.1 (82,93 ; 100), Gr.2 (76,16 ; 100)] und die Gruppe 3 zu 95,8 % [23 von 24 Kinder, $\text{CI}_{0,95}$ (78,88 ; 99,89)] diesen PRP-Antikörpertiter (s. Abb. 6 und Tab. 2 b). Gegen Haemophilus influenzae Typ b mit Kurzzeitschutz konnte im Ergebnis der drei Impfungen kein signifikanter Anstieg des Impfschutzes nachgewiesen werden (s. Tab. 3). Der Unterschied zwischen den Immunisierungsgraden vor und nach den drei Impfungen ist zwar nicht als statistisch signifikant nachweisbar (mittels der modifizierten BONFERRONI-Korrektur nach HOLM), das ist aber vor allem dem geringen Stichprobenumfang zuzuschreiben.

Der GMT nach den Impfungen für Haemophilus influenzae Typ b war in der Gruppe 3 mit $2,63 \mu\text{g/ml}$ [$\text{CI}_{0,95}$ (1,67 ; 4,15)] 1,5-fach höher als in der Gruppe 1 mit $1,70 \mu\text{g/ml}$ [$\text{CI}_{0,95}$ (1,04 ; 2,78)] und doppelt so hoch wie in der Gruppe 2 mit $1,26 \mu\text{g/ml}$ [$\text{CI}_{0,95}$ (0,46 ; 3,45)] (s. Tab. 4 b).

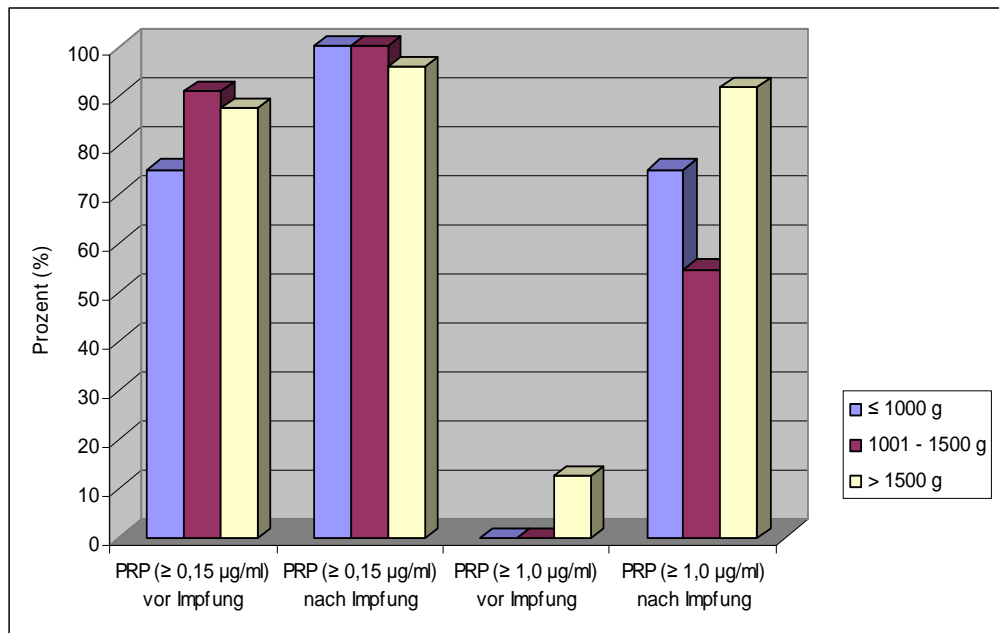


Abb. 6: Antikörper gegen Haemophilus influenzae Typ b - ausreichend immunisierte Frühgeborene vor und nach den ersten drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung

3.6 Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3

Der prozentuale Anteil der Frühgeborenen, die nach der dritten Impfung einen Antikörpertiter von $\geq 1:8$ gegen Poliomyelitis-Viren Typ 1, 2 und 3 hatten, lag in allen drei Gruppen über 96 % (s. Abb. 2 und Tab. 1 b). Die Anzahl der Frühgeborenen mit einem ausreichenden Impfschutz gegen Poliomyelitis-Virus Typ 2 und 3 war nach den drei Impfungen in allen Gewichtsgruppen signifikant angestiegen. Gegen Poliomyelitis-Virus Typ 1 war dieser signifikante Anstieg nur in den Gruppen 1 und 3 nachzuweisen (s. Tab. 3). Einen Monat nach der dritten Impfung waren aus der *Gruppe 1* 93,7 % [15 von 16 FG, $CI_{0,95}$ (69,7 ; 99,8)] gegen Polio Typ 1, 100 % [$CI_{0,95}$ (82,9 ; 100)] gegen Polio Typ 2 und ebenfalls 93,7 % [15 von 16 FG, $CI_{0,95}$ (69,7 ; 99,8)] gegen Polio Typ 3 ausreichend immunisiert. 90,9 % [10 von 11 FG, $CI_{0,95}$

(58,7 ; 99,7)] der Kinder der *Gruppe 2* waren gegen Polio Typ 1, 81,8 % [9 von 11 FG, $CI_{0,95}$ (48,2 ; 97,7)] gegen Polio Typ 2 und 90,9 % [10 von 11 FG, $CI_{0,95}$ (58,7 ; 99,7)] gegen Polio Typ 3 geschützt. In der *Gruppe 3* waren jeweils 100 % [$CI_{0,95}$ (88,2 ; 100)] der Kinder gegen Polio Typ 1, 2 und 3 ausreichend immunisiert (s. Abb. 7 und Tab. 2 b).

Die GMTs nach der dritten hexavalenten Impfung im Rahmen der Grundimmunisierung für Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3 waren jeweils in der Gruppe 2 am niedrigsten und in der Gruppe 3 am höchsten (s. Tab. 4 b).

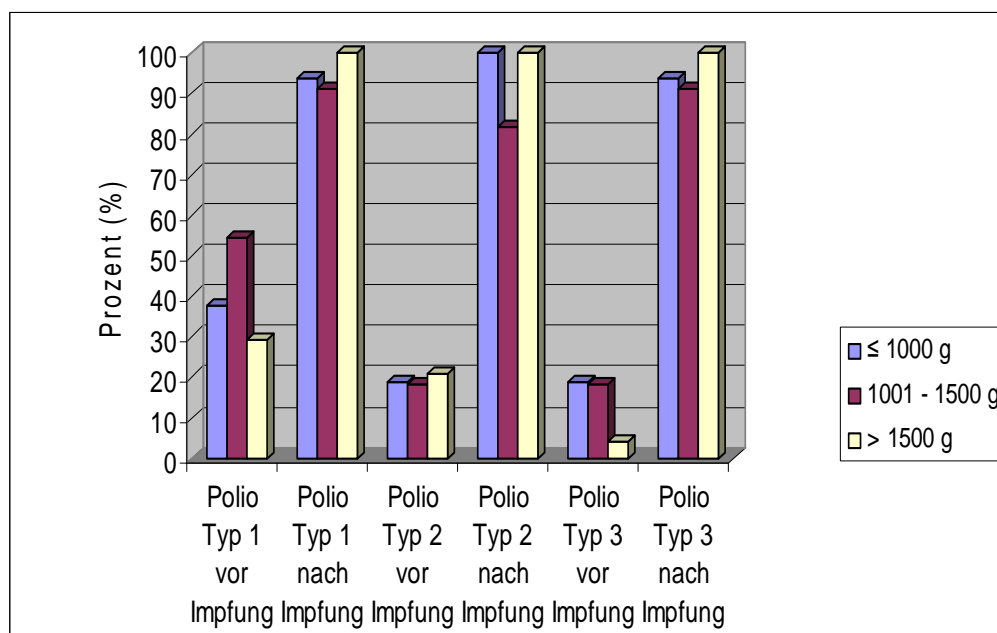


Abb. 7: Antikörper gegen Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3 - ausreichend immunisierte Frühgeborene vor und nach den ersten drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung

4. Diskussion

Alle zu früh geborenen Impflinge haben in unserer Studie die von der STIKO empfohlenen drei Impfstoffdosen entsprechend ihrem kalendarischen Alter nach vollendeter achter Lebenswoche, d. h. mit Beginn des dritten Lebensmonats, erhalten. Kein Kind hat mit übermäßig ausgeprägten lokalen oder allgemeinen Krankheitserscheinungen bzw. atypischen Impfverläufen reagiert. Damit ist auch in dieser Studie der Nachweis erbracht, dass die verwendeten hexavalenten Impfstoffe **Hexavac**[®] und **Infanrix hexa**[®] nicht nur bei Reifgeborenen, sondern auch bei Frühgeborenen hinsichtlich ihrer klinischen Verträglichkeit (*safety*) unbedenklich sind.

Bleibt noch der Gesichtspunkt, die Impfstoffe auf ihre Güte zu prüfen, d.h. auf ihre Wirksamkeit (*efficacy*) und Immunogenität (*immunogenicity*).

Alle Kinder haben Antikörper gegen einige oder alle in der Vakzine enthaltenen Antigene gebildet. Es gab selbst unter den extrem zu früh Geborenen, den Kindern mit einem Geburtsgewicht unter 1000 g, *keinen kompletten Impfversager*. Die STIKO-Empfehlung, die ja aus den Erfahrungen mit Reifgeborenen entwickelt wurde, hat sich also auch nach unseren Untersuchungen und Beobachtungen in der Praxis prinzipiell bewährt.

Nach Abschluss der dritten Impfstoffgabe der Grundimmunisierung mit einem hexavalenten Kombinationsimpfstoff wurde für mehr als 94 % der Frühgeborenen ein ausreichender Impfschutz gegen Diphtherie, Tetanus, Hepatitis B, Haemophilus influenzae Typ b im Kurzzeitschutz und Poliomyelitis-Virus Typ 1, 2 und 3 erzielt; für FHA (Pertussis) wurde eine ausreichende Immunogenität der Impfstoffe bzw. eine suffiziente Immunantwort der Impflinge dokumentiert.

Etwa ein Fünftel der Impflinge bildete keine ausreichenden PRP-Antikörper im Langzeitschutz und ein Zehntel keine für eine suffiziente Immunantwort der Kinder/Immunogenität der Vakzinen ausreichenden PT-Antikörper (s. Abb. 1

und 2 sowie Tab. 1 b). Das ist deutlich mehr als in der Fachliteratur für Reifgeborene angegeben wird und bestätigt unsere initiale Arbeitshypothese.

4.1 Diphtherie/Tetanus

Bei den heutigen Impfstoffen handelt es sich um Toxoidimpfstoffe. Meist werden sie in Kombination als DT-, DTaP- Vakzine oder auch in erweiterten Kombinationen, wie jetzt im hexavalenten Impfstoff, verwendet. Die Herstellung des Impfstoffes erfolgt durch Zusatz von Formaldehyd zum Kulturfiltrat (Rohtoxin) der Diphtherie- bzw. Tetanusbakterien. Durch Adsorption an Aluminiumverbindungen wurde eine Immunitätssteigerung erreicht. Der durch die Impfung hervorgerufene Schutz richtet sich jeweils gegen die toxinbedingten Krankheits-Symptome (15, 33, 38). Aufgrund der hohen Durchimpfungsrate der Bevölkerung waren bereits vor Beginn der Grundimmunisierung etwa 25 % der zu früh geborenen Kinder gegen Diphtherie und 49 % gegen Tetanus durch mütterliche Leihimmunität geschützt (s. Tab. 1 a), wobei sich die Anzahl der ausreichend (passiv) immunisierten Kinder vor der ersten Impfung zwischen den drei Gruppen nicht wesentlich unterschied (s. Tab. 2 a). Nach der dritten hexavalenten Impfung fiel auf, dass die Kinder der Gruppe 2 (90,9 %, $CI_{0,95}$ [58,7 ; 99,7] der Frühgeborenen) gegen Diphtherie schlechter schützende Antikörper bildeten als die Kinder der Gruppen 1 und 3 (je 100 % der Frühgeborenen, Gr.1 $CI_{0,95}$ [82,9 ; 100], Gr.2 $CI_{0,95}$ [88,2 ; 100]) (s. Tab. 2 b). Gegen Tetanus hatten die Frühgeborenen mit einem Gewicht ≤ 1000 g weniger schützende Antikörper gebildet (87,5 %, $CI_{0,95}$ [61,6 ; 98,4]) als die Kinder mit einem höherem Geburtsgewicht (Gruppe 2: 100 % der Frühgeborenen, $CI_{0,95}$ [76,1 ; 100]; Gruppe 3: 95,8 % der Frühgeborenen, $CI_{0,95}$ [78,8 ; 99,8]) (s. Tab. 2 b).

4.2 Hepatitis B

In den meisten Ländern werden, seit ihrer Entwicklung Mitte der 80er Jahre, rekombinante Vakzinen zur aktiven Immunisierung gegen eine Hepatitis B-Virus-Infektion verwendet. Die Impfstoffe enthalten in gentechnisch veränderten Hefezellen produziertes HBsAg. Bis Anfang der 90er Jahre wurde die Hepatitis B-Impfung nur für sogenannte Risikogruppen empfohlen. Im Jahre 1992 rief die WHO dazu auf, bis 1997 weltweit die generelle Hepatitis B-Impfung einzuführen. Dies geschah aufgrund der mangelnden Compliance der Risikogruppen. Da in Deutschland die Hepatitis B-Impfung erst seit 1996 von der STIKO generell empfohlen und durchgeführt wird, ist die Durchimpfung unter den Müttern und somit die Weitergabe mütterlicher Antikörper via Plazenta an das Kind noch nicht sehr groß (15, 38). Nur 17 % der Frühgeborenen hatten vor der Grundimmunisierung einen Schutz gegen Hepatitis B (s. Tab. 1 a). Nach Beendigung der ersten drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung erreichten 96 % der Kinder einen ausreichenden Schutz (s. Tab. 1 b). Wie auch in anderen Studien nachgewiesen (18, 29, 34), produzieren Frühgeborene mit einem sehr niedrigen Geburtsgewicht gegen einige Einzelkomponenten des hexavalenten Impfstoffes deutlich weniger Antikörper als Frühgeborene mit einem höheren Geburtsgewicht. In unserer Studie bildeten 87,5 % der Kinder der Gruppe 1 ($CI_{0,95}$ [61,6 ; 98,4]) seroprotektive Antikörper gegen Hepatitis B, in den Gruppen 2 und 3 jeweils 100 % (Gr.2 $CI_{0,95}$ [76,1 ;100], Gr.3 $CI_{0,95}$ [88,2 ; 100]) (s. Tab. 2 b). Die beiden Kinder der Gruppe 1 mit unzureichendem Impfschutz hatten ein Geburtsgewicht von 690 g und 815 g.

Es ist bekannt, dass bei den Hepatitis B-Vakzinen auch im späteren Lebensalter mit 5 - 10 % Non-Respondern oder Low-Respondern zu rechnen ist. Deshalb wurden für die Risikogruppen Antikörpertiter-Kontrollen und Wiederholungsimpfungen von der STIKO empfohlen und eingeführt. Es wundert nicht, wenn dieses Problem bei Frühgeborenen deutlicher hervortritt.

4.3 Pertussis

Für die Pertussisimpfung gibt es zum einen Ganzkeimvakzine und zum anderen die azellulären Vakzinen. Der Ganzkeimimpfstoff besteht aus Pertussisbakterien. Diese werden im flüssigen Kulturmedium gezüchtet, danach abgetötet und dann durch Zentrifugieren gereinigt. Die 1981 in Japan entwickelten azellulären Vakzinen enthalten nicht mehr das gesamte Material der abgetöteten Bakterienzellen, sondern nur noch bestimmte Teile der Bakterien, so genannte „gereinigte Antigene“ oder Virulenzfaktoren des Erregers. Auch die gentechnologische Herstellung der einzelnen Bestandteile ist heute möglich. Die auf dem Markt erhältlichen azellulären Impfstoffe enthalten ein oder mehrere der bekannten Antigene bzw. biologisch aktiven Komponenten der Pertussisbakterien (15, 33). Gegen Pertussistoxin (PT) und filamentöses Haemagglutinin (FHA) war die Zahl der Frühgeborenen, die so genannte vermutlich seroprotektive Antikörpertiter bildeten, in allen drei Gruppen vergleichbar (s. Tab. 2 b). Gegen PT bildeten jedoch weniger Kinder (90,2 %, $CI_{0,95}$ [78,6 ; 96,7]) der Definition entsprechend hohe und deshalb vermutlich schützende Antikörpertiter als gegen FHA (96,1 % der Kinder, $CI_{0,95}$ [86,5 ; 99,5]) (s. Tab. 1 b). Wie bereits erwähnt, wurde die Antikörperbildung gegen Pertactin nicht statistisch ausgewertet, da einer der beiden Impfstoffe kein Pertactin enthält und so die Ergebnisse nicht aussagekräftig sind. Die Pertussiskomponente ist im Gegensatz zu Diphtherie und Tetanus ein schlechteres Antigen und erfordert deshalb bei der Impfung mit Kombinationsimpfstoffen zur Grundimmunisierung drei Impfungen im ersten Lebensjahr und eine Booster-Impfung im zweiten Lebensjahr. Das zeigte sich sowohl bereits bei der alten Ganzkeim-Pertussis-Vakzine in Kombination mit Diphtherie und Tetanus (DTPw) als auch bei der Impfung reifgeborener Säuglinge bei Einführung der modernen azellulären Pertussis-Vakzine (DTaP). Auch bei Reifgeborenen ist keine 100 %-ige Serokonversion zu erzielen (37, 42, 43).

Im Abschnitt *Studiendesign* wurde bereits dargelegt, dass die Studienleitung keinen Einfluss auf die niedergelassenen Kollegen hinsichtlich der Verwendung der damals auf dem Markt vorhandenen zwei hexavalenten Impfstoffe genommen hat. Unter diesen freien Wettbewerbsbedingungen kam es zu der Situation, dass etwa die Hälfte der Kinder jeweils mit einem der beiden Impfstoffe geimpft wurde bei geringem Überwiegen der Anwendung von Infanrix hexa[®]. Wenn es auch aus wissenschaftlicher Sicht damals noch keine stichhaltige Begründung gab, einen der Impfstoffe zu bevorzugen, z.B. Infanrix hexa[®] den Vorzug zu geben, weil er mit seiner trivalenten azellulären Pertussiskomponente eine theoretisch größere Chance zur Ausbildung einer schützenden Pertussisimmunität haben könnte, so ist ein Wechsel der beiden Impfstoffe bei einem Impfling schon damals wenig empfehlenswert gewesen. Gegen die in einem der beiden Impfstoffe (Hexavac[®]) nicht vorhandene Pertactinkomponente können dann keinesfalls ausreichende Antikörpertiter gebildet werden. Das Universitäts-Klinikum Greifswald hatte sich damals darauf festgelegt, den Impfstoff Hexavac[®] zu verwenden.

4.4 Haemophilus influenzae Typ b

Seit 1990 wird die Impfung gegen Haemophilus influenzae Typ b von der STIKO empfohlen (39). Haemophilus influenzae Typ b gehört zu den polysaccharidkapseltragenden Bakterien. Kinder bis zum zweiten Lebensjahr sind nicht in der Lage, auf polysaccharidkapseltragende Erreger bzw. isolierte Polysaccharidantigene in Form von Impfstoffen mit einer Antikörperbildung zu reagieren. Die heute zur Anwendung kommenden Konjugatimpfstoffe lösen aber durch Kopplung des Kapselpolysaccharids an ein Trägerprotein eine entsprechende Immunantwort auf das Polysaccharid auch bei Kindern unter zwei Jahren aus (28). Als Trägerproteine fungieren Diphtherietoxoid (PRP-D), das äußere Membranprotein von Neisseria meningitidis (PRP-OMP-outer membrane protein), eine atoxische Variante des Diphtherietoxins-CRM 197

(cross reacting material-PRP-HbOC) und wie beim hexavalenten Impfstoff Tetanustoxoid (PRP-TT). Bei den beiden von uns verwendeten Impfstoffen Infanrix hexa[®] und Hexavac[®] fungiert dieses Tetanustoxoid lediglich als Trägerprotein und nicht als Tetanustoxoid-Antigen.

Gegen *Haemophilus influenzae* Typ b im Kurzzeitschutz waren vor Beginn der Grundimmunisierung 84 % der Kinder durch die Leihimmunität von der Mutter geschützt (s. Tab. 1 a). Danach bildeten aktiv jeweils 100 % der Frühgeborenen der Gruppen 1 und 2 (Gr.1 $CI_{0,95}$ [82,9 ; 100], Gr.2 $CI_{0,95}$ [76,1 ; 100] sowie 95,8 % ($CI_{0,95}$ [78,8 ; 99,8] der Gruppe 3 seroprotektive Antikörper (s. Tab. 2 b). Im Langzeitschutz waren vor Beginn der hexavalenten Impfung nur 5 % der Kinder geschützt, wobei diese alle der Gruppe 3 angehörten (s. Tab. 1 a). Nach Abschluss der drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung waren von 78 % der Frühgeborenen (s. Tab. 1 b) in unserer Studie schützende Antikörper gegen *Haemophilus influenzae* Typ b im Langzeitschutz gebildet worden (Gruppe 1: 75 % der Kinder, $CI_{0,95}$ [47,6 ; 92,7]; Gruppe 2: 54,5 % der Kinder, $CI_{0,95}$ [23,3 ; 83,2]; Gruppe 3: 91,6 % der Kinder, $CI_{0,95}$ [73,0 ; 98,9]) (s. Tab. 2 b).

Dies wurde auch in früheren Studien nachgewiesen (29, 41). Seit den 90er Jahren gab es eine breite Diskussion zu den monovalenten Hib-Impfstoffen, welcher der vier Impfstoffe (PRP-TT, PRP-D, PRP-OMP, PRP-HbOC) die beste Immunogenität besitzt. Alle Studien bei reifgeborenen Kindern konnten belegen, dass nur der PRP-OMP-Impfstoff nach zwei Impfungen im ersten Lebensjahr und einer Booster-Impfung im zweiten Lebensjahr zum Langzeitschutz führte. Damit wies er eine vergleichbar gute Immunogenität wie die Diphtherie- und Tetanustoxoid-Antigene nach der gleichen Anzahl von Impfungen auf. Für alle anderen monovalenten Hib-Impfstoffe galt, dass drei Impfungen im ersten Lebensjahr und eine vierte im zweiten Lebensjahr zum Aufbau des Langzeitschutzes nötig sind. Jede Kombination verschlechterte die Antikörperbildung nur. Dieses Problem kristallisiert sich bei den frühgeborenen Kindern noch deutlicher heraus (5, 14, 15).

4.5 Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3

Für die Schutzimpfung gegen Poliomyelitis stehen drei verschiedene Impfstoffe zur Verfügung. Dabei handelt es sich um zwei Totimpfstoffe (IPV und eIPV) sowie einen Lebendimpfstoff (OPV). Wegen des, wenn auch sehr kleinen, Risikos einer Vakzine-assoziierten paralytischen Poliomyelitis (VAPP) nach Gabe oraler Poliomyelitis-Vakzine (OPV) wird in Deutschland seit 1998 von der STIKO die ausschließliche Anwendung der inaktivierten Vakzine empfohlen (23, 39). Bei den Poliomyelitis-Impfviren ist bekannt, dass Poliomyelitis-Impfvirus Typ 3 das am schlechtesten immunogene Agens ist und das Poliomyelitis-Impfvirus Typ 2 die höchsten Schutzraten hervorruft.

Vor Beginn der Grundimmunisierung waren 37 % der Frühgeborenen gegen Typ 1, 19 % der Frühgeborenen gegen Typ 2 und 11 % der Frühgeborenen gegen Typ 3 durch mütterliche Antikörper ausreichend geschützt (s. Tab. 1 a). Nach den erfolgten Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung bildeten weniger Säuglinge der Gruppe 2 schützende Antikörper gegen Poliomyelitis Typ 1 (90,9 % der Frühgeborenen, $CI_{0,95}$ [58,7 ; 99,7]), Typ 2 (81,8 % der Frühgeborenen, $CI_{0,95}$ [48,2 ; 97,7]) und Typ 3 (90,9 % der Frühgeborenen, $CI_{0,95}$ [58,7 ; 99,7]) im Gegensatz zu den Säuglingen der Gruppen 1 und 3 (Typ 1 93,7 %, $CI_{0,95}$ [69,7 ; 99,8] und 100 %, $CI_{0,95}$ [88,2 ; 100]; Typ 2 je 100 %, $CI_{0,95}$ [82,9 ; 100] und [88,2 ; 100]; Typ 3 93,7 % und 100 %, $CI_{0,95}$ [69,7 ; 99,8] und [88,2 ; 100]; s. Tab. 2 b).

Damit verhalten sich die Frühgeborenen prinzipiell wie reifgeborene Kinder und sogar Erwachsene hinsichtlich der Antikörperbildung gegen die einzelnen Typen der Poliomyelitis-Impfviren.

Es zeigte sich, dass in den drei Gruppen unterschiedlich viele Frühgeborene unabhängig vom Geburtsgewicht schützende Antikörper gegen die verschiedenen Einzelkomponenten des hexavalenten Impfstoffes bildeten.

4.6 Antikörpertiter vor und nach den ersten drei Impfungen der Grundimmunisierung

Von einem geringen Teil der Kinder wurde zwar ein als schützend geltender Antikörpertiter nach der dritten hexavalenten Impfung erzielt, es war aber ein Abfall des Titers nach der dritten Impfung gegenüber dem Ausgangswert zu beobachten. Die Erklärung dafür findet sich zum einen in der Übertragung der mütterlichen plazentagängigen IgG-Antikörper (Leihimmunität) und zum anderen in der Gabe von Immunglobulinen, Erythrozyten- oder Thrombozytenkonzentraten. Bei sechs Kindern in der Gruppe mit einem Gewicht ≤ 1000 g erfolgte die Gabe von Immunglobulinen, Erythrozyten- oder Thrombozytenkonzentraten. Die mütterlichen und transfundierten Antikörper werden mit zunehmendem Alter des Kindes abgebaut und durch eigene erworbene Impf-Antikörper ersetzt. Damit ist der Impfschutz bei Beendigung der Grundimmunisierung trotzdem gegeben.

Besonders auffallend war dieser Abfall des Titers für Tetanus und Poliomyelitis-Virus Typ 1, 2 und 3. Der Antikörpertiter gegen Tetanustoxin fiel bei insgesamt 10 Kindern (Gruppe 1 ein Kind, Gruppe 2 drei Kinder und Gruppe 3 sechs Kinder) sowie gegen Poliomyelitisviren Typ 1 bei fünf Kindern (Gruppen 1 und 3 je zwei Kinder und Gruppe 2 ein Kind), Typ 2 bei drei Kindern (jeweils ein Kind pro Gruppe) und Typ 3 ebenfalls bei drei Kindern (Gruppe 1 ein Kind und Gruppe 2 zwei Kinder). Bei jeweils nur einem Kind war dies für Hepatitis B (Gruppe 2) und Diphtherie (Gruppe 3) zu beobachten. Eine zusätzliche Impfung wäre deshalb bei diesen Kindern empfehlenswert.

Außerdem ist festzustellen, dass der Abfall der Antikörpertiter vor allem bei den Kindern der Gruppe 3 (insgesamt 10 Frühgeborene) zu verzeichnen war. Das kann darauf zurückzuführen sein, dass die Frühgeborenen mit einem höheren Geburtsgewicht und einer späteren Gestationswoche mehr plazentagängige IgG-Antikörper gegen die impfpräventablen Erkrankungen von der Mutter übertragen bekommen haben. Der Transport von IgG über die

Plazenta ist ein aktiver Prozess (Transzytose) und beginnt mit der 12. Gestationswoche. Die Transzytose von IgG nimmt ab der 22., vor allem ab der 30. Woche sehr stark zu. Deshalb besitzen Frühgeborene mit einer sehr niedrigen Gestationswoche nach der Geburt einen deutlich niedrigeren IgG-Spiegel (25, 40).

Die Antikörper gegen PT und FHA sowie die PRP-Antikörper für den Langzeitschutz zeigten diesen Abfall nicht. Dies kann dafür sprechen, dass hier von der Mutter keine oder nur Spuren von Antikörpern via Plazenta übertragen wurden, möglicherweise bedingt durch einen unzureichenden Impfschutz, eine geringe humorale Immunität der Mutter oder eine kurze Schwangerschaft.

Wahrscheinlicher ist aber, dass dieser Befund nur widerspiegelt, was klinische Beobachtungen den Ärzten schon seit Jahrzehnten sagen: Ein diaplazentar übertragener Nestschutz gegen Pertussis oder Hib-Infektionen ist unzureichend oder existiert überhaupt nicht.

4.7 Immunisierungsgrad

Der Immunisierungsgrad nach der dritten Impfung (s. Tab. 3) war in den Gruppen 1 und 3 für alle Antigene, außer für Haemophilus influenzae Typ b im Kurzzeitschutz, signifikant höher als vor den Impfungen. In der Gruppe 2 traf dies nicht für Haemophilus influenzae im Kurzzeitschutz und für Poliomyelitis Typ 1 zu. Der Immunisierungsgrad für Haemophilus influenzae im Kurzzeitschutz vor der Impfung betrug in der **Gruppe 1** 75 % (CI_{0,95} [47,6 ; 92,7]), in der **Gruppe 2** 90,9 % (CI_{0,95} [58,7 ; 99,7]), in der **Gruppe 3** 87,5 % (CI_{0,95} [67,6 ; 97,3]) (s. Tab. 2 a). Nach den ersten drei Impfungen wurde ein Immunisierungsgrad von 100 % in den Gruppen 1 und 2 (Gr.1 CI_{0,95} [82,9 ; 100], Gr.2 CI_{0,95} [76,1 ; 100]) sowie 95,8 % in der Gruppe 3 (CI_{0,95} [78,8 ; 99,8]) erreicht (s. Tab. 2 b). Für Poliomyelitis-Virus Typ 1 betrug der Immunisierungsgrad der Gruppe 2 vor der Impfung 54,5 % (CI_{0,95} [23,3 ; 83,2]) und danach 90,9 % (CI_{0,95} [58,7 ; 99,7]) (s. Tab. 2 a und 2 b). Wie

bereits erwähnt, ist der Unterschied zwischen den Immunisierungsgraden vor und nach den drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung statistisch nicht signifikant (nach der modifizierten Bonferroni-Korrektur nach Holm). Das ist vor allem dem geringen Stichprobenumfang zuzuschreiben.

4.8 Vergleich Frühgeborene und Reifgeborene

In unserer Studie war die Antikörperbildung der Frühgeborenen gegen die meisten Antigene mit denen reifer Neugeborener aus der Literatur (7, 26, 27) vergleichbar. Dies wurde, wie bereits erwähnt, in zahlreichen Studien für Einzelkomponenten in Kombinationsimpfstoffen nachgewiesen (6, 20, 35). Wir haben insgesamt eine gute Übereinstimmung mit OMENACA et al. gesehen (32). Die Seroprotektionsraten und die geometrischen Mittelwerte der Antikörpertiter (GMT) lagen einen Monat nach den ersten drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung im Allgemeinen im Bereich derer reifgeborener Kinder. Im Einzelnen ist festzustellen, dass bei den Frühgeborenen mit einem sehr niedrigen Geburtsgewicht (Gruppe 1) weniger Kinder (je 87,5 %, s. Tab. 2 b) protektive Antikörper gegen Hepatitis B, Tetanus und Pertussistoxin bildeten als die Frühgeborenen der Gruppen 2 und 3 und die reifen Neugeborenen (4, 12, 22, 27). Weiterhin bildeten weniger Frühgeborene der Gruppe 2 schützende Antikörper gegen Poliomyelitis-Virus Typ 2 (81,8 % der FG, $CI_{0,95}$ [48,2 ; 97,7]) und Haemophilus influenzae Typ b im Langzeitschutz (54,5 % der FG, $CI_{0,95}$ [23,3 ; 83,2]) als die übrigen Frühgeborenen und die reifen Neugeborenen (7, 21, 27, 29) (s. Tab. 2 b).

Abschließend ist zu bemerken, dass mit Wirkung vom 20.09.2005 der Impfstoff Hexavac[®] wegen Bedenken bezüglich des Langzeitschutzes gegen Hepatitis B vom Markt genommen wurde. Die Zulassung ruht auf Veranlassung der europäischen Arzneimittelbehörde EMA auf unbestimmte Zeit.

Diese Bedenken können wir aufgrund der Ergebnisse unserer Studie nicht teilen. 96 % der Frühgeborenen bildeten seroprotektive Antikörper gegen Hepatitis B, wobei die Frühgeborenen entweder nur mit Hexavac[®] (15 FG) oder Infanrix hexa[®] (20 FG) oder mit beiden Impfstoffen (16 FG) geimpft wurden. Von den 51 Frühgeborenen waren zwei Kinder „Non-Responder“ (Anti-HBs < 10 mIE/ml) und 11 Kinder „Low-Responder“ (Anti-HBs ≥ 10 und < 100 mIE/ml). Die übrigen 38 Kinder hatten Anti-HBs-Titer > 100 mIE/ml. Dieses gute Ergebnis kann aber auf unsere geringe Probandenzahl von 51 Frühgeborenen zurückzuführen sein.

Im Vergleich der Kinder, die nur mit Infanrix hexa[®], nur mit Hexavac[®] oder beiden Impfstoffen geimpft wurden, ließ sich kein wesentlicher Unterschied hinsichtlich der Antikörperbildung feststellen.

5. Schlussfolgerungen

Frühgeborene sollten unabhängig vom individuellen Gestationsalter wie reife Neugeborene ab vollendetem zweiten Lebensmonat mit Kombinationsimpfstoffen geimpft werden, um rechtzeitig einen wirksamen Impfschutz zu erzielen (4, 10, 16, 30). Die Ergebnisse zeigen, dass auch extrem kleine und sehr unreife Frühgeborene in den meisten Fällen ohne atypische Impfreaktionen rechtzeitig und erfolgreich zu impfen sind. Bei der Mehrzahl der Frühgeborenen waren nach Abschluss des Priming der Grundimmunisierung seroprotektive Antikörper gegen alle Impfantigene nachweisbar. Je nach Antigen lag der prozentuale Anteil der Frühgeborenen mit einem schützenden Antikörpertiter zwischen 54,5 % (PRP-Antikörper für einen Langzeitschutz gegen *Haemophilus influenzae* Typ b als schlechtestes Ergebnis) und 100 % (z.B. Tetanus- und Diphtherieantitoxin als bestes Ergebnis) (s. Tab. 2 b). Damit hat sich aber unsere Arbeitshypothese bestätigt: Der Anteil an Non- oder Low-Respondern ist bei Frühgeborenen tatsächlich höher als bei reifgeborenen Kindern.

Natürlich sind wir uns der kleinen Anzahl der untersuchten Kinder bewusst. Deshalb bedarf es weiterführender multizentrischer Studien, um unsere Daten zu validieren und festzustellen, ob zur Erreichung eines frühzeitigen Impfschutzes bei Frühgeborenen im ersten Lebensjahr eine zusätzliche, vierte hexavalente Impfung empfohlen werden sollte.

Die Boosterung im zweiten Lebensjahr würde dann als fünfte hexavalente Impfung den Abschluss der Grundimmunisierung bilden.

Natürlich muss auch ein so entsprechend unserem aktuellen Wissensstand folgendes, *optimiertes Impfschema für Frühgeborene* wieder in Form einer neuen Impfstudie mittels Antikörperanalysen auf seine Wirksamkeit geprüft werden.

6. Zusammenfassung

Durch die von der STIKO für Kinder empfohlene zunehmende Zahl von Impfantigenen kam es im Laufe der Jahre zu einer stark vermehrten Anzahl von Injektionen. Um diese zahlreichen Injektionen zu reduzieren, kam es zur Entwicklung immer neuer Kombinationsimpfstoffe. Von 2001 bis September 2005 gab es zwei hexavalente Impfstoffe, mit denen gegen Diphtherie, Tetanus, Pertussis, Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3, Haemophilus influenzae Typ b und Hepatitis B immunisiert wurde.

Ziel dieser Studie war herauszufinden, ob auch Frühgeborene auf die einzelnen Komponenten von hexavalenten Impfstoffen (DTaP-HBV-IPV/Hib) im Rahmen der Grundimmunisierung ausreichend seroprotektive Antikörper bilden. Außerdem wurde das Impfverhalten in der Praxis bei zwei auf dem Markt befindlichen Impfstoffen abgebildet, ohne direkten Einfluss auf die Wahl des verwendeten Impfstoffes der niedergelassenen Ärzte zu nehmen.

Deshalb wurden von März 2002 bis April 2003 Frühgeborene (n = 55) der neonatologischen Abteilung der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin des Klinikums der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald untersucht. Die Einteilung erfolgte in drei Gruppen mit einer Zuordnung entsprechend dem Geburtsgewicht. Die Grundimmunisierung begann gemäß kalendarischem Alter nach vollendetem zweiten Lebensmonat und umfasste drei Impfstoffgaben des Priming. Es erfolgten Antikörper-Bestimmungen vor Beginn der ersten Impfung und vier Wochen nach der dritten hexavalenten Impfung.

Nach Abschluss der ersten drei Impfungen im Rahmen der Grundimmunisierung mit einem hexavalenten Kombinationsimpfstoff erreichten mehr als 94 % der Frühgeborenen einen ausreichenden Impfschutz gegen Tetanus, Diphtherie, Hepatitis B und Poliomyelitis Typ 1, 2 und 3; für FHA wurde sinngemäß eine ausreichende Immunogenität der beiden verwendeten Vakzinen und/oder eine suffiziente Immunantwort der Impflinge

festgestellt. Etwa ein Fünftel der Impflinge bildete keine ausreichenden PRP-Antikörper im Langzeitschutz und ein Zehntel keine für eine suffiziente Immunantwort typischen bzw. für eine korrekte Impfstoff-Immunogenität ausreichenden PT-Antikörper (s. Abb. 1 und 2 sowie Tab. 1 b).

Frühgeborene sollten wie reife Neugeborene ab vollendetem zweiten Lebensmonat mit Kombinations-Impfstoffen geimpft werden. Die gegenwärtige STIKO-Empfehlung ist in ihrer Tendenz grundsätzlich richtig. Allerdings wurde durch unsere Untersuchungen die Arbeitshypothese von der partiellen Unreife des Immunsystems einzelner frühgeborener Impflinge bestätigt, weshalb eine Modifizierung der STIKO-Impfempfehlungen zur Optimierung des allgemeinen Impferfolges aller Frühgeborener von uns vorgeschlagen wird: **Für alle Frühgeborenen wäre eine zusätzliche hexavalente Impfung innerhalb des ersten Lebensjahres zu empfehlen, um einen ausreichenden Impfschutz gegen *Hämophilus influenzae* Typ b im Langzeitschutz, Pertussis und bei sehr kleinen Frühgeborenen mit einem sehr niedrigen Gestationsalter und Geburtsgewicht auch gegen Hepatitis B zu erreichen.**

7. Tabellen

Tabelle 1 a: Immunogenität aller untersuchten Frühgeborenen vor Beginn der Grundimmunisierung

(Gesamte Population n = 51 / relative Häufigkeit hr / Konfidenzintervalle CI)

Schützende Antikörpertiter	vor Grundimmunisierung		
	hr in %	95%-CI	99%-CI
Diphtherie (≥ 0,1 IU/ml)	25,5	[14,3 ; 39,6]	[11,7 ; 43,9]
Tetanus (≥ 0,1 IU/ml)	49,0	[34,7 ; 63,4]	[30,8 ; 67,4]
Hepatitis B (≥ 10 mIU/ml)	17,6	[8,4 ; 30,9]	[6,5 ; 35,1]
PRP (≥ 1,0 µg/ml)	5,9	[1,2 ; 16,2]	[0,7 ; 19,9]
PRP (≥ 0,15 µg/ml)	84,3	[71,4 ; 92,9]	[67,2 ; 94,7]
PT (≥ 5 EU/ml)	11,8	[4,4 ; 23,9]	[3,1 ; 27,9]
FHA (≥ 5 EU/ml)	25,5	[14,3 ; 39,6]	[11,7 ; 44,0]
Polio Typ 1 (≥ 1:8)	37,2	[24,1 ; 51,9]	[20,7 ; 56,2]
Polio Typ 2 (≥ 1:8)	19,6	[9,8 ; 33,1]	[7,7 ; 37,4]
Polio Typ 3 (≥ 1:8)	11,7	[4,4 ; 23,9]	[3,1 ; 27,9]

Tabelle 1 b: Immunogenität aller untersuchten Frühgeborenen einen Monat nach der dritten Impfung im Rahmen der Grundimmunisierung

(Gesamte Population n = 51 / relative Häufigkeit hr / Konfidenzintervalle CI)

Schützende Antikörpertiter	nach drei Impfungen der Grundimmunisierung		
	hr in %	95%-CI	99%-CI
Diphtherie ($\geq 0,1$ IU/ml)	98,0	[89,6 ; 99,9]	[86,3 ; 99,9]
Tetanus ($\geq 0,1$ IU/ml)	94,1	[83,7 ; 98,7]	[80,1 ; 99,3]
Hepatitis B (≥ 10 mIU/ml)	96,1	[86,5 ; 99,5]	[83,1 ; 99,8]
PRP ($\geq 1,0$ μ g/ml)	78,4	[64,7 ; 88,7]	[60,4 ; 91,0]
PRP ($\geq 0,15$ μ g/ml)	98,0	[89,6 ; 99,9]	[86,3 ; 99,9]
PT (≥ 4 fachen Anstieg und ≥ 5 EU/ml)	90,2	[78,6 ; 96,7]	[74,6 ; 97,8]
FHA (≥ 4 fachen Anstieg und ≥ 5 EU/ml)	96,1	[86,5 ; 99,5]	[83,1 ; 99,8]
Polio Typ 1 ($\geq 1:8$)	96,1	[86,5 ; 99,5]	[83,1 ; 99,8]
Polio Typ 2 ($\geq 1:8$)	96,1	[86,5 ; 99,5]	[83,1 ; 99,8]
Polio Typ 3 ($\geq 1:8$)	96,1	[86,5 ; 99,5]	[83,1 ; 99,8]

Tabelle 2 a: Ausreichend immunisierte Kinder vor der Grundimmunisierung
 (relative Häufigkeit - hr / Konfidenzintervalle - CI / Geburtsgewicht - GG / Probandenzahl - n)

Gruppe	Antikörper	hr (%)	95% CI	99% CI
Gruppe 1 (GG ≤ 1000 g) (n = 16)	Hepatitis B	18,7	[4,0 ; 45,6]	[2,2 ; 53,4]
	Tetanus	43,7	[19,7 ; 70,1]	[14,7 ; 76,3]
	Diphtherie	18,7	[4,0 ; 45,6]	[2,2 ; 53,4]
	PT	6,3	[0,2 ; 30,2]	[0,0 ; 38,1]
	FHA	12,5	[1,6 ; 38,3]	[0,7 ; 46,3]
	PRP (≥ 0,15 µg/ml)	75,0	[47,6 ; 92,7]	[40,0 ; 95,4]
	PRP (≥ 1,0 µg/ml)	0,0	[0 ; 17,0]	[0 ; 25,0]
	Polio Typ 1	37,5	[15,1 ; 64,5]	[10,8 ; 71,3]
	Polio Typ 2	18,7	[4,0 ; 45,6]	[2,2 ; 53,4]
	Polio Typ 3	18,7	[4,0 ; 45,6]	[2,2 ; 53,4]
Gruppe 2 (GG 1001 – 1500 g) (n = 11)	Hepatitis B	27,2	[6,0 ; 60,9]	[3,3 ; 69,3]
	Tetanus	45,4	[16,7 ; 76,6]	[11,4 ; 83,0]
	Diphtherie	27,2	[6,0 ; 60,9]	[3,3 ; 69,3]
	PT	9,1	[0,2 ; 41,3]	[0 ; 50,9]
	FHA	27,2	[6,0 ; 60,9]	[3,3 ; 69,3]
	PRP (≥ 0,15 µg/ml)	90,9	[58,7 ; 99,7]	[49,1 ; 99,9]
	PRP (≥ 1,0 µg/ml)	0,0	[0 ; 23,8]	[0 ; 34,2]
	Polio Typ 1	54,5	[23,3 ; 83,2]	[16,9 ; 88,5]
	Polio Typ 2	18,1	[2,2 ; 51,7]	[0,9 ; 60,8]
	Polio Typ 3	18,1	[2,2 ; 51,7]	[0,9 ; 60,8]
Gruppe 3 (GG > 1500 g) (n = 24)	Hepatitis B	12,5	[2,6 ; 32,3]	[1,4 ; 38,7]
	Tetanus	54,1	[32,8 ; 74,4]	[27,3 ; 79,3]
	Diphtherie	29,1	[12,6 ; 51,0]	[9,2 ; 57,3]
	PT	16,7	[4,7 ; 37,4]	[2,9 ; 43,8]
	FHA	33,3	[15,6 ; 55,3]	[11,9 ; 61,4]
	PRP (≥ 0,15 µg/ml)	87,5	[67,6 ; 97,3]	[61,2 ; 98,5]
	PRP (≥ 1,0 µg/ml)	12,5	[2,6 ; 32,3]	[1,4 ; 38,7]
	Polio Typ 1	29,1	[12,6 ; 51,0]	[9,3 ; 57,3]
	Polio Typ 2	20,8	[7,1 ; 42,1]	[4,7 ; 48,5]
	Polio Typ 3	4,2	[0,1 ; 21,1]	[0,02 ; 27,1]

Tabelle 2 b: Ausreichend immunisierte Kinder einen Monat nach der dritten hexavalenten Impfung im Rahmen der Grundimmunisierung

(relative Häufigkeit - hr / Konfidenzintervalle - CI / Geburtsgewicht - GG / Probandenzahl - n)

Gruppe	Antikörper	hr (%)	95% CI	99% CI
Gruppe 1 (GG ≤ 1000 g) (n = 16)	Hepatitis B	87,5	[61,6 ; 98,4]	[53,7 ; 99,3]
	Tetanus	87,5	[61,6 ; 98,4]	[53,7 ; 99,3]
	Diphtherie	100	[82,9 ; 100]	[74,9 ; 100]
	PT	87,5	[61,6 ; 98,4]	[53,7 ; 99,3]
	FHA	93,7	[69,7 ; 99,8]	[61,8 ; 99,9]
	PRP (≥ 0,15 µg/ml)	100	[82,9 ; 100]	[74,9 ; 100]
	PRP (≥ 1,0 µg/ml)	75,0	[47,6 ; 92,7]	[40,0 ; 95,4]
	Polio Typ 1	93,7	[69,7 ; 99,8]	[61,8 ; 99,9]
	Polio Typ 2	100	[82,9 ; 100]	[74,9 ; 100]
	Polio Typ 3	93,7	[69,7 ; 99,8]	[61,8 ; 99,9]
Gruppe 2 (GG 1001 – 1500 g) (n = 11)	Hepatitis B	100	[76,1 ; 100]	[65,7 ; 100]
	Tetanus	100	[76,1 ; 100]	[65,7 ; 100]
	Diphtherie	90,9	[58,7 ; 99,7]	[49,1 ; 99,9]
	PT	90,9	[58,7 ; 99,7]	[49,1 ; 99,9]
	FHA	100	[76,1 ; 100]	[65,7 ; 100]
	PRP (≥ 0,15 µg/ml)	100	[76,1 ; 100]	[65,7 ; 100]
	PRP (≥ 1,0 µg/ml)	54,5	[23,3 ; 83,2]	[16,9 ; 88,5]
	Polio Typ 1	90,9	[58,7 ; 99,7]	[49,1 ; 99,9]
	Polio Typ 2	81,8	[48,2 ; 97,7]	[39,1 ; 99,0]
	Polio Typ 3	90,9	[58,7 ; 99,7]	[49,1 ; 99,9]
Gruppe 3 (GG > 1500 g) (n = 24)	Hepatitis B	100	[88,2 ; 100]	[82,5 ; 100]
	Tetanus	95,8	[78,8 ; 99,8]	[72,8 ; 99,9]
	Diphtherie	100	[88,2 ; 100]	[82,5 ; 100]
	PT	91,6	[73,0 ; 98,9]	[66,7 ; 99,5]
	FHA	95,8	[78,8 ; 99,8]	[72,8 ; 99,9]
	PRP (≥ 0,15 µg/ml)	95,8	[78,8 ; 99,8]	[72,8 ; 99,9]
	PRP (≥ 1,0 µg/ml)	91,6	[73,0 ; 98,9]	[66,7 ; 99,5]
	Polio Typ 1	100	[88,2 ; 100]	[82,5 ; 100]
	Polio Typ 2	100	[88,2 ; 100]	[82,5 ; 100]
	Polio Typ 3	100	[88,2 ; 100]	[82,5 ; 100]

Tabelle 3: Nachweis des signifikanten Antikörperanstiegs nach der dritten hexavalenten Impfung im Rahmen der Grundimmunisierung
 (Exakter Test nach Fischer / Modifizierte Bonferroni-Korrektur nach Holm / alpha = 0,05)
 (sig. - signifikant ; n.sig. - nicht signifikant)

Antikörper	Gruppe 1		Gruppe 2		Gruppe 3	
	Exakter Test nach Fisher	nach Bonferroni-Korrektur	Exakter Test nach Fisher	nach Bonferroni-Korrektur	Exakter Test nach Fisher	nach Bonferroni-Korrektur
Diphtherie	p = 0,0000	sig.	p = 0,0075	sig.	p = 0,0000	sig.
Tetanus	p = 0,0233	sig.	p = 0,0124	sig.	p = 0,0018	sig.
Hepatitis B	p = 0,0002	sig.	p = 0,0010	sig.	p = 0,0000	sig.
PRP ≥ 0,15µg/ml	p = 0,1012	n. sig.	p = 1,0000	n. sig.	p = 0,6085	n. sig.
PRP ≥ 1,0µg/ml	p = 0,0000	sig.	p = 0,0124	sig.	p = 0,0000	sig.
FHA	p = 0,0000	sig.	p = 0,0010	sig.	p = 0,0000	sig.
PT	p = 0,0000	sig.	p = 0,0003	sig.	p = 0,0000	sig.
Polio Typ 1	p = 0,0021	sig.	p = 0,1486	n. sig.	p = 0,0000	sig.
Polio Typ 2	p = 0,0000	sig.	p = 0,0089	sig.	p = 0,0000	sig.
Polio Typ 3	p = 0,0000	sig.	p = 0,0019	sig.	p = 0,0000	sig.

Tabelle 4 a: Immunogenität der untersuchten Frühgeborenen vor Beginn der Grundimmunisierung
 (Geometrisches Mittel - GMT / Konfidenzintervalle - CI / Geburtsgewicht - GG / Probandenzahl - n)

Schützende Antikörpertiter	Gruppe 1 (GG ≤ 1000 g) (n = 16)			Gruppe 2 (GG 1001 – 1500 g) (n = 11)			Gruppe 3 (GG > 1500 g) (n = 24)		
	GMT	95%-CI	99%-CI	GMT	95%-CI	99%-CI	GMT	95%-CI	99%-CI
Diphtherie (≥ 0,1 IU/ml)	0,071	[0,042 ; 0,118]	[0,035 ; 0,143]	0,068	[0,050 ; 0,091]	[0,044 ; 0,104]	0,076	[0,058 ; 0,099]	[0,053 ; 0,109]
Tetanus (≥ 0,1 IU/ml)	0,140	[0,105 ; 0,187]	[0,094 ; 0,208]	0,182	[0,101 ; 0,329]	[0,078 ; 0,423]	0,190	[0,132 ; 0,275]	[0,116 ; 0,313]
Hepatitis B (≥ 10 mIU/ml)	0,0	[0,0 ; 0,2]	[0,0 ; 0,8]	0,0	[0,0 ; 0,01]	[0,0 ; 0,4]	0,0	[0,0 ; 0,0]	[0,0 ; 0,0]
PRP (≥ 1,0 µg/ml)	0,20	[0,15 ; 0,27]	[0,14 ; 0,30]	0,29	[0,18 ; 0,46]	[0,15 ; 0,56]	0,45	[0,32 ; 0,64]	[0,28 ; 0,72]
PT (≥ 5 EU/ml)	1,577	[0,986 ; 2,521]	[0,824 ; 3,017]	1,451	[0,777 ; 2,711]	[0,596 ; 3,53]	1,562	[1,154 ; 2,116]	[1,035 ; 2,358]
FHA (≥ 5 EU/ml)	2,257	[1,244 ; 4,098]	[0,99 ; 5,147]	2,528	[1,447 ; 4,418]	[1,143 ; 5,594]	2,8	[1,973 ; 3,942]	[1,74 ; 4,513]
Polio Typ 1 (≥ 1:8)	4,9	[2,4 ; 10,2]	[1,8 ; 13,5]	7,9	[3,2 ; 19,3]	[2,2 ; 28,2]	4,8	[2,9 ; 8,1]	[2,4 ; 9,7]
Polio Typ 2 (≥ 1:8)	3,7	[1,9 ; 6,9]	[1,5 ; 8,9]	4,2	[1,8 ; 9,6]	[1,3 ; 13,6]	3,8	[2,6 ; 5,5]	[2,2 ; 6,3]
Polio Typ 3 (≥ 1:8)	3,8	[1,8 ; 8,2]	[1,3 ; 10,9]	5,1	[1,5 ; 17,1]	[0,9 ; 28,5]	2,2	[1,8 ; 2,9]	[1,6 ; 3,1]

Tabelle 4 b: Immunogenität der untersuchten Frühgeborenen einen Monat nach der dritten Impfung im Rahmen der Grundimmunisierung

(Geometrisches Mittel – GMT / Konfidenzintervalle - CI / Geburtsgewicht - GG / Probandenzahl - n)

Schützende Antikörpertiter	Gruppe 1 (GG ≤ 1000 g) (n = 16)			Gruppe 2 (GG 1001 – 1500 g) (n = 11)			Gruppe 3 (GG > 1500 g) (n = 24)		
	GMT	95%-CI	99%-CI	GMT	95%-CI	99%-CI	GMT	95%-CI	99%-CI
Diphtherie (≥ 0,1 IU/ml)	1,299	[0,971 ; 1,738]	[0,869 ; 1,943]	1,104	[0,574 ; 2,124]	[0,435 ; 2,8]	1,151	[0,900 ; 1,472]	[0,825 ; 1,606]
Tetanus (≥ 0,1 IU/ml)	0,650	[0,364 ; 1,161]	[0,292 ; 1,449]	0,392	[0,201 ; 0,763]	[0,152 ; 1,012]	0,508	[0,377 ; 0,685]	[0,339 ; 0,762]
Hepatitis B (≥ 10 mIU/ml)	59,5	[5,3 ; 668,7]	[2,1 ; 1687,5]	176,1	[58,2 ; 533,5]	[36,4 ; 851,8]	937,1	[490,1 ; 1791]	[388,8 ; 2258]
PRP (≥ 1,0 µg/ml)	1,70	[1,04 ; 2,78]	[0,86 ; 3,35]	1,26	[0,46 ; 3,45]	[0,30 ; 5,27]	2,63	[1,67 ; 4,15]	[1,42 ; 4,89]
PT (≥ 4 fachen Anstieg und ≥ 5 EU/ml)	36,3	[23,0 ; 57,3]	[19,4 ; 68,2]	28,4	[12,8 ; 63,0]	[9,2 ; 88,2]	34,1	[25,2 ; 46,1]	[22,6 ; 51,4]
FHA (≥ 4 fachen Anstieg und ≥ 5 EU/ml)	91,0	[54,4 ; 152,3]	[44,7 ; 185,4]	101,2	[51,8 ; 198,0]	[39,0 ; 262,8]	78,2	[60,1 ; 101,7]	[54,7 ; 111,7]
Polio Typ 1 (≥ 1:8)	59,4	[27,3 ; 129,1]	[20,3 ; 173,7]	39,9	[13,5 ; 118,1]	[8,5 ; 186,7]	118,0	[74,0 ; 188,2]	[62,7 ; 222,4]
Polio Typ 2 (≥ 1:8)	88,6	[41,0 ; 191,6]	[30,5 ; 257,4]	74,9	[23,6 ; 238,2]	[14,5 ; 388,2]	127,5	[81,0 ; 200,7]	[68,9 ; 236,0]
Polio Typ 3 (≥ 1:8)	124,5	[52,9 ; 292,7]	[38,2 ; 406,0]	112,3	[37,6 ; 335,7]	[23,7 ; 533,1]	280,3	[205,2 ; 382,7]	[183,6 ; 427,7]

8. Anlagen

Anlage 1

Einverständniserklärung

Ich/Wir erkläre(n) mich/uns damit einverstanden, dass mein/unser Kind:

Name:

Geburtsdatum:

an der Studie: „ Die Antikörperbildung von Frühgeborenen bezogen auf die einzelnen Komponenten eines hexavalenten Impfstoffes im Rahmen der Grundimmunisierung“ teilnimmt.

Über Ziel und Zweck bin ich/sind wir ausführlich aufgeklärt worden.

Ich/Wir haben keine weiteren Fragen und bin/sind mit der Teilnahme meines/unseres Kindes an der oben genannten Studie einverstanden.

Ich/Wir sind darauf hingewiesen worden, dass ich/wir jederzeit die Zustimmung zu dieser Studie zurückziehen können.

Ich/Wir wurden darüber aufgeklärt, dass sich hierdurch keine Nachteile in der medizinischen und ärztlichen Versorgung meines/unseres Kindes ergeben.

Datum:

Unterschrift des/der aufklärenden
Arztes/Ärztin

Unterschrift des/der
Erziehungsberechtigten

Unterschrift des/der
Erziehungsberechtigten

Anlage 2

Aufklärungsbogen

Elterninformation zur Studie: „Die Antikörperbildung von Frühgeborenen bezogen auf die einzelnen Komponenten eines hexavalenten Impfstoffes im Rahmen der Grundimmunisierung“

Behandelnder Arzt/Ärztin:

Name des/der Erziehungsberechtigten:

Name des Kindes:

Sehr geehrte Eltern,

Sie haben Ihr Einverständnis zur Schutzimpfung Ihres Kindes gegen Diphtherie, Tetanus (Wundstarrkrampf), Pertussis (Keuchhusten), Poliomyelitis (Kinderlähmung), Haemophilus influenzae Typ b (Hib) und Hepatitis B erteilt (siehe Anlage 3).

Diese Schutzimpfungen mußten bisher mit sechs oder mehr Injektionen verabreicht werden.

Seit 2001 gibt es diese Komponenten als hexavalenten Impfstoff, das heißt, dass nur noch eine Einzelinjektion (ein Einstich) erforderlich ist (insgesamt drei Impfungen im ersten Lebensjahr, diese sind von der STIKO und dem Land Mecklenburg-Vorpommern empfohlen).

Bei reifen Neugeborenen konnte ein ausreichender Impfschutz auf diesen hexavalenten Impfstoff nachgewiesen werden.

Bei Frühgeborenen gibt es dazu bisher keine ausreichenden Ergebnisse. Es ist jedoch wichtig, auch bei Ihrem Frühgeborenen die Wirksamkeit des hexavalenten Impfstoffes nachzuweisen, um eventuelle Impfdefizite aufzudecken und Gegenmaßnahmen zu ergreifen.

Daher wollen wir prüfen, ob mit diesem Impfstoff ein ausreichender Impfschutz gegen Diphtherie, Tetanus, Pertussis, Poliomyelitis, Haemophilus influenzae Typ b sowie Hepatitis B bei den Frühgeborenen, das heißt auch bei Ihrem Kind, erreicht wird.

Dazu ist eine Antikörperbestimmung eine Woche vor der ersten Impfung und vier Wochen nach der dritten Impfung erforderlich.

Diese Antikörperbestimmung erfolgt aus dem Blut Ihres Kindes.

Wenn sich Ihr Kind zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme noch auf der Neonatologie befindet, erfolgt diese zusammen mit den erforderlichen anderen Blutuntersuchungen, so dass keine zusätzliche Belastung notwendig ist.

Ist Ihr Kind bereits aus unserer Einrichtung entlassen, erfolgen die erste und zweite Blutentnahme im Zuge einer evtl. Nachuntersuchung in der Kinderklinik Greifswald oder durch den zuständigen Kinderarzt.

Es werden jeweils nur ca. 0,5 – 1,0 ml Blut entnommen. Für diese Blutentnahmen bedarf es Ihrer Genehmigung.

Der Nutzen, der sich für Sie - speziell für Ihr Kind - aus der Teilnahme ergibt, ist, dass sie erfahren, ob Ihr Kind einen ausreichenden Impfschutz nach diesen Impfungen entwickelt hat. Diese Aussage kann aber erst nach der Auswertung der Blutentnahme vier Wochen nach der dritten Impfung erfolgen.

Datenschutz

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig.

Sie wurde von einer unabhängigen Ethikkommission unter ethischen, rechtlichen und medizin-wissenschaftlichen Gesichtspunkten geprüft und als unbedenklich eingestuft.

Alle Daten unterliegen dem Datenschutzgesetz. Sämtliche Daten der Untersuchung werden in anonymisierter Form aufgezeichnet, die in Zusammenhang mit dieser klinischen Studie stehen.

Bitte stellen Sie dem/der Arzt/Ärztin Ihres Kindes so lange Fragen, bis Sie alle Aspekte über Ziel, Wesen und Bedeutung dieser Untersuchung verstanden haben, bevor Sie sich für oder gegen die Teilnahme Ihres Kindes entscheiden.

Außerdem können sie jederzeit ohne Angabe von Gründen Ihr Kind aus dem Projekt herausnehmen, ohne dass Ihnen oder dem Kind ein Nachteil in der ärztlichen oder medizinischen Behandlung entsteht. In diesem Fall werden Ihre Daten aus der Studie gelöscht.

Patientenstammblatt

1. Angaben zur Mutter

Name: _____ Vorname: _____ Geburtsdatum: _____

Anschrift: _____
_____ Telefon: _____

Parität:
Gewicht vor Schwangerschaft:
Gewichtszunahme:
Impfstatus:

2. Angaben zum Kind

Name: _____ Vorname: _____ Geburtsdatum: _____

SSW:
Geburtsgewicht:
Hausarzt:
gestillt ja/nein: _____ wenn ja, bis:
Aufnahmedatum: _____ Entlassungsdatum:
Termin Risikosprechstunde:

Diagnosen: _____ klin. Verlauf:
(SGA/AGA/LGA)

1. Blutentnahme:	- ca. 6. - 8. LW	⇒	□
	- Tag der Blutentnahme	⇒	□
1. Impfung:	- ab vollendeter 8. LW	⇒	□
	- Tag der Impfung	⇒	□
2. Impfung:	- ca. vier Wochen nach der 1. Impfung	⇒	□
	- Tag der Impfung	⇒	□
3. Impfung:	- ca. vier Wochen nach der 2. Impfung	⇒	□
	- Tag der Impfung	⇒	□
2. Blutentnahme:	- ca. vier Wochen nach der 3. Impfung	⇒	□
	- Tag der Blutentnahme	⇒	□

AK-Titer

	1. BE	2. BE
Tetanus		
Diphtherie		
Pertussis		
Poliomyelitis		
Hib		
Hepatitis B		

Impfantikörperstudie bei Frühgeborenen

Sehr geehrte Frau Kollegin, sehr geehrter Herr Kollege,

im Rahmen einer Promotion möchten wir das Thema:

„Die Antikörperbildung von Frühgeborenen auf die einzelnen Komponenten eines hexavalenten Impfstoffes im Rahmen der Grundimmunisierung“ bearbeiten.

Darstellung der geplanten Untersuchungsanordnung:

Die Grundimmunisierung beginnt frühestens acht Wochen (vollendeter zweiter Lebensmonat) nach der Geburt und umfasst drei Impfungen, wobei die Abstände zwischen ihnen jeweils vier Wochen betragen (STIKO-Empfehlung).

Die Komponenten des hexavalenten Impfstoffes richten sich gegen Diphtherie, Tetanus, Pertussis, Haemophilus influenzae Typ b, Hepatitis B und Poliomyelitis. Der Name des verwendeten hexavalenten Impfstoffes ist Hexavac[®] bzw. Infanrix hexa[®].

In der Studie soll bei Frühgeborenen die Produktion von Antikörpern durch die oben genannten Impfungen untersucht werden. Dazu wird der Antikörpertiter des Frühgeborenen ein bis zwei Wochen bzw. unmittelbar vor der ersten Impfung zur Grundimmunisierung bestimmt. In der Regel erfolgt die dazu notwendige Blutentnahme stationär. Eine **zweite Bestimmung des Antikörpertiters soll vier Wochen nach der dritten Impfung** durchgeführt werden.

Es werden jeweils nur **ca. 0,5 - 1,0 ml Blut entnommen**. Die entnommenen **Proben** werden mit dem **Patientennamen, Geburtsdatum, dem Kennwort „Impfung“** und dem **Entnahmedatum** versehen. Danach bitten wir Sie um telefonische Benachrichtigung der Doktorandin.

Doktorand: Kati Petschaelis, Telefon 03834/898903.

Bitte **lagern** Sie die **Proben im Kühlschrank**, bis sie vom Doktoranden abgeholt werden. Voraussetzung der Aufnahme in die Studie ist die Einverständniserklärung der erziehungsberechtigten Personen zur hexavalenten

Impfung. Die Aufklärung erfolgt auf der Neonatologie in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Greifswald und wir informieren Sie über die an der Studie teilnehmenden Patienten.

Es gibt bisher **keine umfassenden inhaltlichen Untersuchungen** hinsichtlich der Antikörperbildung auf Kombinationsimpfstoffe bei Frühgeborenen.

Wir bitten Sie herzlich um Ihre Mithilfe und danken im Voraus.

Prof.Dr.med.S.Wiersbitzky
Klinikdirektor
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
EMAU Greifswald

PD Dr.R.Bruns
Klinik für Kinder-
und Jugendmedizin
EMAU Greifswald

9. Literaturverzeichnis

1. Altman D, Machin D, Bryant T, Gardner M. Statistics with confidence. Vol. 2: Bristol: BMJ Books, p. Chapter 6, 2000.
2. Aristegui J, Dal-Re R, Diez-Delgado J, Mares J, Casanovas JM, Garcia-Corbeira P, De Frutos E, Van Esso D, Verdaguer J, De la Flor J, Moraga F, Boceta R, Garcia-Martinez JA. Comparison of the reactogenicity and immunogenicity of a combined diphtheria, tetanus, acellular pertussis, hepatitis B, inactivated polio (DTPa-HBV-IPV) vaccine, mixed with the Haemophilus influenzae type b (Hib) conjugate vaccine and administered as a single injection, with the DTPa-IPV/Hib and hepatitis B vaccines administered in two simultaneous injections to infants at 2, 4 and 6 months of age. *Vaccine* 21 (25-26): 3593-3600, 2003.
3. Avdicova M, Prikazsky V, Hudeckova H, Schuerman L, Willems P. Immunogenicity and reactogenicity of a novel hexavalent DTPa-HBV-IPV/Hib vaccine compared to separate concomitant injections of DTPa-IPV/Hib and HBV vaccines, when administered according to a 3, 5 and 11 months vaccination schedule. *Eur J Pediatr* 161 (11): 581-587, 2002.
4. Blondheim O, Bader D, Abend M, Peniakov M, Reich D, Potesman I, Handsher R, Gidoni I, Linder N. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 79 (3): F206-208, 1998.
5. Bulkow LR, Wainwright RB, Letson GW, Chang SJ, Ward JI. Comparative immunogenicity of four Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines in Alaska Native infants. *Pediatr Infect Dis J* 12 (6): 484-492, 1993.
6. Conway S, James J, Balfour A, Smithells R. Immunisation of the preterm baby. *J Infect* 27 (2): 143-150, 1993.

7. Curran MP, Goa KL. DTPa-HBV-IPV/Hib vaccine (Infanrix hexa). *Drugs* 63 (7): 673-682; discussion 683-684, 2003.
8. Da Villa G, Picciotto L, Ribera G, Bencivenga M, Cotugno M, Hartmann P. Effective antibody response in newborn babies living in Maldives to simultaneous vaccination against hepatitis B, poliomyelitis, diphtheria and tetanus. *Vaccine* 13 (9): 795-798, 1995.
9. D'Angio CT, Maniscalco WM, Pichichero ME. Immunologic response of extremely premature infants to tetanus, Haemophilus influenzae, and polio immunizations. *Pediatrics* 96 (1 Pt 1): 18-22, 1995.
10. Faldella G, Alessandroni R, Magini GM, Perrone A, Sabatini MR, Vancini A, Salvioli GP. The preterm infant's antibody response to a combined diphtheria, tetanus, acellular pertussis and hepatitis B vaccine. *Vaccine* 16 (17): 1646-1649, 1998.
11. Faldella G, Galletti S, Corvaglia L, Ancora G, Alessandroni R. Safety of DTaP-IPV-Hib-HBV hexavalent vaccine in very premature infants. *Vaccine* 25 (6): 1036-1042, 2007.
12. Golebiowska M, Kardas-Sobantka D, Chlebna-Sokol D, Sabanty W. Hepatitis B vaccination in preterm infants. *Eur J Pediatr* 158 (4): 293-297, 1999.
13. Graf U, Henning H-J, Stange K, Wilrich P-T. *Formeln und Tabellen der angewandten mathematischen Statistik*. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 1987.
14. Granoff DM, Anderson EL, Osterholm MT, Holmes SJ, McHugh JE, Belshe RB, Medley F, Murphy TV. Differences in the immunogenicity of three Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines in infants. *J Pediatr* 121 (2): 187-194, 1992.

15. Heininger U. Impfratgeber - Impfeempfehlungen für Kinder, Jugendliche und Erwachsene. Vol. 2: UNI - MED Verlag AG, p. 1-132, 2001.
16. Hohendahl J, Nusslein TG. Vaccination of extremely small premature infants in the hospital and in private practice. *Kinderkrankenschwester* 16 (11): 458-461, 1997.
17. Holm S. A simple sequential rejective multiple test procedure. 65-70, 1979.
18. Huang FY, Lee PI, Lee CY, Huang LM, Chang LY, Liu SC. Hepatitis B vaccination in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 77 (2): F135-138, 1997.
19. Khalak R, Pichichero ME, D'Angio CT. Three-year follow-up of vaccine response in extremely preterm infants. *Pediatrics* 101 (4 Pt 1): 597-603, 1998.
20. Koblin BA, Townsend TR, Munoz A, Onorato I, Wilson M, Polk BF. Response of preterm infants to diphtheria-tetanus-pertussis vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 7 (10): 704-711, 1988.
21. Kristensen K, Gyhrs A, Lausen B, Barington T, Heilmann C. Antibody response to *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide conjugated to tetanus toxoid in preterm infants. *Pediatr Infect Dis J* 15 (6): 525-529, 1996.
22. Lau YL, Tam AY, Ng KW, Tsoi NS, Lam B, Lam P, Yeung CY. Response of preterm infants to hepatitis B vaccine. *J Pediatr* 121 (6): 962-965, 1992.

23. Leonardt I, Stück B, Fescharek R, Arras-Reiter C, Schmitt H-J. Neue Impfstrategie gegen Poliomyelitis. *Deutsches Ärzteblatt* 42: 2044-2049, 1997.
24. Liese JG. Die Entwicklung von azellulären Pertussisimpfstoffen - Studien zur Sicherheit, Immunogenität, Kombinationsfähigkeit und Wirksamkeit. 2004.
25. Liese JG, Knuf M. Vaccination of preterm infants. *Monatsschr Kinderheilkd* 157 (8): 758-766, 2009.
26. Mallet E, Belohradsky BH, Lagos R, Gothefors L, Camier P, Carriere JP, Kanra G, Hoffenbach A, Langue J, Undreiner F, Roussel F, Reinert P, Flodmark CE, Stojanov S, Liese J, Levine MM, Munoz A, Schodel F, Hessel L. A liquid hexavalent combined vaccine against diphtheria, tetanus, pertussis, poliomyelitis, Haemophilus influenzae type B and hepatitis B: review of immunogenicity and safety. *Vaccine* 22 (11-12): 1343-1357, 2004.
27. Mallet E, Fabre P, Pines E, Salomon H, Staub T, Schodel F, Mendelman P, Hessel L, Chryssomalis G, Vidor E, Hoffenbach A. Immunogenicity and safety of a new liquid hexavalent combined vaccine compared with separate administration of reference licensed vaccines in infants. *Pediatr Infect Dis J* 19 (12): 1119-1127, 2000.
28. Meyer M, Gahr M. Immunologische Grundlagen der Polysaccharid-Protein-Konjugatimpfung. *Monatsschr Kinderheilkd* 141: 770 - 776, 1993.
29. Munoz A, Salvador A, Brodsky NL, Arbeter AM, Porat R. Antibody response of low birth weight infants to Haemophilus influenzae type b polyribosylribitol phosphate-outer membrane protein conjugate vaccine. *Pediatrics* 96 (2 Pt 1): 216-219, 1995.

30. Mutz I. Impfungen bei Frühgeborenen. *Pediatr Paedol* 31: 161-162, 1996.
31. Omenaca F, Garcia-Sicilia J, Garcia-Corbeira P, Boceta R, Romero A, Lopez G, Dal-Re R. Response of preterm newborns to immunization with a hexavalent diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hepatitis B virus-inactivated polio and Haemophilus influenzae type b vaccine: first experiences and solutions to a serious and sensitive issue. *Pediatrics* 116 (6): 1292-1298, 2005.
32. Omenaca F, Garcia-Sicilia J, Garcia-Corbeira P, Boceta R, Torres V. Antipolyribosyl ribitol phosphate response of premature infants to primary and booster vaccination with a combined diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hepatitis B-inactivated polio virus/Haemophilus influenzae type b vaccine. *Pediatrics* 119 (1): e179-185, 2007.
33. Otto S, Mahner B, Kadow I, Beck JF, Wiersbitzky S, Bruns R. General non-specific morbidity is reduced after vaccination within the third month of life - the Greifswald study. *J Infect* 41 (2): 172-175, 2000.
34. Patel DM, Butler J, Feldman S, Graves GR, Rhodes PG. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in healthy very low birth weight infants. *J Pediatr* 131 (4): 641-643, 1997.
35. Ramsay ME, Miller E, Ashworth LA, Coleman TJ, Rush M, Waight PA. Adverse events and antibody response to accelerated immunisation in term and preterm infants. *Arch Dis Child* 72 (3): 230-232, 1995.
36. Sachs L. *Angewandte Statistik - Anwendung statistischer Methoden*. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 1999.

37. Schneeweiss B, Bock HL, Bogaerts, Graul G, Köditz H, Schulte-Wissermann H, Wiersbitzky S, Sänger R, Clemens R, APV-044 S. Klinische Studie der azellulären Pertussis-Vakzine zur Booster-Impfung. *Kinderarzt* 26: 501-507, 1995.
38. Spiess H. *Impfkompodium*. Vol. 5. Stuttgart - New York: Georg Thieme Verlag, p. 156-253, 1999.
39. Steffens I, Fehrmann S. Empfehlungen der Ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert Koch-Institut. *Epidemiologische Bulletin* 30: 235-250, 2004.
40. Wahn U, Seger R, Wahn V. *Pädiatrische Allergologie und Immunologie*. Vol. 3. München Jena: Urban & Fischer, p. 9-19, 1999.
41. Washburn LK, O'Shea TM, Gillis DC, Block SM, Abramson JS. Response to Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in chronically ill premature infants. *J Pediatr* 123 (5): 791-794, 1993.
42. Wiersbitzky S, Bock HL, Bruns R, Clemens R, Graul G, Köditz H, Padelt H, Schneeweiss B, Meister W. Verträglichkeit und Immunogenität einer 3-Komponenten-azellulären Pertussis-Vakzine (DTPa) im Vergleich zur klassischen DTPg-Vakzine. *Monatsschr Kinderheilkd* 144: 159-166, 1996.
43. Wiersbitzky S, Bruns R, Schneeweiss B, Köditz H, Graul G, Padelt H, Bock HL, Bogaerts, APV-027 S. Reaktogenitat und Immunogenität einer kombinierten azellulären Dreikomponenten-Pertussis-Diphtherie-Tetanus-Vakzine (aDTP) von ShmithKline Beecham im Vergleich zur herkömmlichen Ganzkeim-Pertussis-Diphtherie-Tetanus-Vakzine (wDTP). *Monatsschr Kinderheilkd* 142 (Suppl.1): 43, 1994.