

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
Klinik für Nephrologie und Rheumatologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. med. B. Grabensee

Cytomegalievirus-Infektion nach Nierentransplantation
-
eine prospektive Untersuchung an 48 Organempfängern

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Andreas Will

2000

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Häussinger
Dekan

Referent: Prof. Dr. med. D. Bach

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. M.W. Beckmann

veröffentlicht unter: <http://www.ulb.uni-duesseldorf.de/diss/med/2001/will.html>

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	6
A. Historischer Rückblick.....	6
B. Epidemiologie und Transmission.....	6
C. CMV-Molekularbiologie	7
D. CMV-Krankheitsbilder.....	7
1. CMV-Pneumonie	9
2. Gastrointestinale CMV-Erkrankungen.....	10
3. CMV und ZNS	10
4. CMV-Retinitis.....	11
5. Besondere CMV-Manifestationen.....	11
E. CMV bei Transplantierten.....	12
F. Diagnostik	12
1. Serologie.....	12
2. Virämie	13
3. Polymerasekettenreaktion (PCR).....	13
4. Antigenämie.....	14
5. In-situ-Hybridisierung	14
G. Pharmaka nach Nierentransplantation.....	15
1. Immunsuppressiva	15
1.1 Kortikosteroide.....	15
1.2 Cyclosporin A.....	15
1.3 Mykophenolat-Mofetil.....	16
1.4 Andere Immunsuppressiva	16
2. Antivirale Therapie.....	16
2.1 Ganciclovir	16
2.2 Foscarnet.....	17
2.3 Andere Virustatika.....	18
H. Fragestellungen.....	19

II. Patienten und Methoden	21
A. Allgemeines	21
B. pp65-early-Antigen	24
C. CMV-DNA-PCR	26
1. Präparation der Leukozyten-DNA	27
2. Polymerasekettenreaktion (PCR)	27
3. CMV-PCR-EIA	28
D. Definitionen	28
E. Statistik	28
III. Ergebnisse	31
A. CMV-Konstellationen	31
B. CMV-Erkrankung	31
C. CMV-Konstellation und -Erkrankung	32
D. Molekularbiologische Diagnostik	33
1. Testparameter	34
2. Latenzen	35
E. Serologie und CMV-Erkrankung	35
F. T4/T8-Ratio und CMV-Erkrankung	35
G. Immunsuppression und CMV-Erkrankung	36
1. Kortikosteroidstoßtherapie	36
2. Mykophenolat-Mofetil	37
3. Anti-Lymphozyten-Globuline	38
4. Andere Immunsuppressiva	38
H. Rejektion und CMV	38
1. Rejektion und CMV-Erkrankung	38
2. Rejektion und asymptomatische CMV-Infektion	39
I. CMV und Transplantatfunktion	40
J. Transplantatfunktion nach drei Monaten	40
1. bei CMV-Erkrankung	40

2. bei Rejektion.....	41
K. Antivirale Therapie mit Ganciclovir	42
L. CMV-Erkrankung und HLA-Eigenschaften.....	43
M. Fallbeispiele.....	44
1. Patientin E.S.....	44
2. Patient M.R.....	45
IV. Diskussion.....	47
A. Risikogruppen.....	47
B. CMV und Rejektion.....	49
C. CMV und Transplantatfunktion.....	52
D. Diagnostik	54
E. Therapie der CMV-Erkrankung und -Infektion.....	58
F. HLA-Eigenschaften und CMV-Erkrankung.....	63
V. Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.....	64
VI. Abkürzungsverzeichnis.....	66
VII. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	67
VIII. Literatur-Verzeichnis.....	68

I. Einleitung

A. Historischer Rückblick

Im Jahre 1881 hatte der deutsche Pathologe Hugo Ribbert (1855-1920) erstmals zytomegale Zellen in einer Niere mikroskopisch beobachtet (Diosi 1997), er deutete sie jedoch als „eine sehr hübsche kompensatorische Hypertrophie“ bei fleckweiser interstitieller Nephritis eines totgeborenen luetischen Kindes (Ribbert 1881). 1904 berichteten Jesionek und Kiolemenoglou über „eigenartige große Zellen“ mit eosinophilen Einschlusskörpern im Zellkern. Im selben Jahr veröffentlichte auch Ribbert (1904) seine Erkenntnisse über diese „protozoenartigen Zellen“, die er ebenso in der Parotis von Kindern gefunden hatte. Goodpasture bezeichnete 1921 erstmals diese Umwandlung von Gewebszellen als „Cytomegalia“, von Glahn und Pappenheimer wiesen 1925 als erste auf eine wahrscheinliche Virusätiologie hin. Im Jahre 1956 konnten Weller, Rowe und Smith (Rowe et al. und Smith 1956) durch die Isolierung des menschlichen Speicheldrüsenvirus (salivary gland virus, später Cytomegalievirus) den endgültigen Beweis für die Virusätiologie dieser Erkrankung erbringen.

B. Epidemiologie und Transmission

Das humane Cytomegalievirus gehört zur Gruppe der β -Herpesviren und ist somit verwandt mit Viren wie Herpes-simplex- (Typ 1 und 2), Varizella-Zoster-, Epstein-Barr- und humanes Herpesvirus Typ 6. Es ist in der menschlichen Bevölkerung weltweit endemisch, seine Prävalenz hängt vom Lebensalter und von transmissionsbegünstigenden sozioökonomischen Faktoren ab. Sie erreicht in Mitteleuropa bei Erwachsenen ca. 50 %, in den Ländern der dritten Welt wird eine Prävalenz von ca. 90 % dagegen bereits im Kleinkindesalter erreicht (Reddehase 1995).

Die Virusübertragung erfolgt durch direkten körperlichen Kontakt oder durch Berührung mit kontaminierten Körperflüssigkeiten wie Speichel, Sperma, Urin, zervikale und vaginale Sekrete, Muttermilch (Plachter et al. 1996); daneben spielen die Transfusion von Blutprodukten und Organtransplantationen eine Rolle.

C. CMV-Molekularbiologie

Mit einer linearen Doppelstrang-DNA, die aus 229.354 Basenpaaren besteht, verfügt das Cytomegalievirus über das größte Genom aller humanpathogenen Viren. Die virale DNA wird in eine kurze Region (unique short region, U_s, 35.418 Basenpaare) und eine lange Region (unique long region, U_l, 169.972 Basenpaare) unterteilt (Emery und Griffiths 1990).

Die 18- bis 24-stündige Replikation des Cytomegalievirus läuft in drei Phasen ab. Die erste wird immediate early (IE)- Phase genannt, beginnt mit der Penetration des Virus in die Wirtszelle und dauert drei bis vier Stunden. Es folgt die early (E)- Phase von der vierten bis zur zwölften Stunde nach Infektion mit der Synthese der viralen DNA-Polymerase. Die abschliessende late (L)- Phase ist geprägt durch die Produktion der viralen Strukturproteine und endet schließlich mit der Freisetzung neuer infektiöser Viren (Mach et al. 1989).

Bereits eine Stunde nach Infektion der Zelle kann das sogenannte „major IE protein“ nachgewiesen werden. Die Anfangsphase der weiteren Genexpression ist abhängig von den Proteinen der IE-Phase, da diese die Promoter der early-Phase aktivieren. Die Gene der E-Phase kodieren vier Phosphoproteine (pp), darunter auch das für die Diagnostik wichtige pp65. Diese wiederum führen zur Synthese der viralen Matrix- und Tegument-Proteine sowie der „envelope glycoproteins“ in der late-Phase (Emery und Griffiths 1990).

Einige der CMV-Proteine sind in weiten Teilen homolog zu HLA-Molekülen der Klasse I, eine dadurch getriggerte Immunantwort des infizierten Wirtes wird seit mehreren Jahren kontrovers diskutiert (Beck und Barrell 1988).

D. CMV-Krankheitsbilder

Die Primärinfektion eines Immungesunden verläuft in der Regel klinisch inapparent und führt zur Serokonversion. Nur selten kommt es zum Auftreten eines Mononukleose-ähnlichen Krankheitsbildes mit zervikaler Lymphadenopathie, persistierendem Fieber, Myalgie, Arthralgie und anderen unspezifischen Symptomen (Plachter et al. 1996). Jedoch können bei dieser „EBV-negativen Mononukleose“ keine heterophilen Antikörper nachgewiesen werden. Das klinische Bild der CMV-Infektion kann aber auch in seltenen Fällen Panzytopenie, interstitielle Pneumonie, Hepatitis, Enteritis, Guillain-Barré-Syndrom, aseptische Meningitis, Chorioretinitis

und andere Organmanifestationen umfassen und reicht bis zur disseminierten Erkrankung. Die Erkrankung ist in der Regel milde und selbstlimitierend, obwohl auch hier Phasen verlängerter Virusausscheidung auftreten können (Britt 1996).

Erst bei noch nicht vollständig ausgereifter oder geschwächter Immunabwehr kommt es zu schwerwiegenden klinischen Manifestationen (Britt 1996, Ho 1991). So kann die Primärinfektion einer Schwangeren durch diaplazentare Übertragung zur Embryopathie mit petechialen Blutungen, Hepatosplenomegalie, Ikterus, Mikrozephalie und Chorioretinitis führen (Mertens et al. 1994). Angeborene Immundefekte wie z.B. die severe combined immunodeficiency (SCID) disponieren ebenso wie erworbene Immunopathien (z.B. AIDS) zu schweren Infektionsverläufen (Reddehase 1995).

Die drei statistisch größten Risikogruppen für das Auftreten einer CMV-Erkrankung sind Patienten mit iatrogenen Immunsuppression (z.B. nach Organtransplantation), Patienten mit onkologischen Erkrankungen sowie AIDS-Patienten, hier kann es u.a. zu Retinitis mit typischen Cotton-wool-Exsudaten und Blutungen, interstitieller Pneumonie und Ulzera im Gastrointestinaltrakt kommen (Millar et al. 1990, Meybehm et al. 1992).

Cytomegalievirusinfektionen können zu diversen Krankheitsmanifestationen führen. Sie prädisponieren durch ihren immunsuppressiven Effekt auch zu bakteriellen, viralen und mykotischen Superinfektionen (Fryd et al. 1980). Insbesondere treten gehäuft Infektionen mit *Aspergillus species* und *Pneumocystis carinii* auf (Tenschert 1992, Arend et al. 1996, Chlebowski et al. 1992).

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die verschiedenen Manifestationsformen der Cytomegalievirusinfektion je nach Prädisposition.

Immunkompetente Patienten	pränatale Infektion	nach Transplantation	AIDS-Patienten
<p>Meist asymptomatisch Gelegentlich</p> <ul style="list-style-type: none"> • „EBV-negative“ Mononukleose • Lymphadenopathie • Fieber • Myalgie 	<p>Klassische „Cytomegalie“</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ikterus • Hepatosplenomegalie • Petechiale Blutungen • Chorioretinitis • Mikrozephalie • ZNS-Verkalkungen • Lethargie • Krampfanfälle • Respiratorische Insuffizienz 	<ul style="list-style-type: none"> • Fieber • Leukopenie • Thrombozytopenie • interstitielle Pneumonie • gastrointestinale Manifestationen • Hepatitis • Transplantatverlust 	<ul style="list-style-type: none"> • Retinitis • Gastrointestinale Manifestationen (Ösophagitis, Enterokolitis, Gastritis) • Enzephalitis • Hepatitis, Pankreatitis • Interstitielle Pneumonie
<p>Selten</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pneumonie • Hepatitis • Guillain - Barré - Syndrom • Aseptische Meningitis 	<p>Langzeit-Schäden</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gehörschaden (zum Teil fortschreitend) • Augendefekte • Neurologische Störungen 		

Tab. 1: Symptomatik der Cytomegalievirus-Infektion [nach Plachter et al. 1996]

1. CMV-Pneumonie

Die CMV-Pneumonie ist eine interstitielle Pneumonie. Für die Diagnose ist der radiologische Nachweis von typischen Infiltraten, die in den basalen Lungenfeldern beginnen und zentripetal fortschreiten (Luby et al. 1974) und/oder eine Hypoxämie bei simultanem Nachweis des Cytomegalievirus in der bronchoalveolären Lavage (Immunzytochemie, PCR, Zytologie) oder der Nachweis der Virämie bzw. Antigenämie bei Ausschluß differentialdiagnostisch relevanter Erreger von Bedeutung (Reddehase 1995).

Typisch ist eine respiratorische Globalinsuffizienz mit Anstieg des CO₂-Partialdruckes und Absinken des O₂-Partialdruckes. Die Patienten haben trockenen, nicht produktiven Husten, der sich innerhalb kurzer Zeit bis zur Orthopnoe entwickeln kann. Ein Fortschreiten kann trotz antiviraler Therapie bis zum Tod führen.

2. Gastrointestinale CMV-Erkrankungen

Häufig treten gastrointestinale Manifestationen der CMV-Erkrankung auf. So berichteten z.B. Shrestha, Lord et al. über eine 69-jährige Patientin, die 10 Wochen nach Nierentransplantation eine CMV-bedingte Colitis mit Pseudo-Obstruktion entwickelte (Shrestha et al. 1996). Außerdem können Gastritiden (Stenglein et al. 1993), Ösophagitiden und Duodenitiden (Wilcox und Schwartz 1992) auftreten. In den Biopsien fallen intrazytoplasmatische und intranukleäre Einschlusskörper auf, die den vergrößerten Zellen das für eine CMV-Infektion typische Eulenaugen-ähnliche Aussehen verleihen. Eine Diagnosesicherung kann unter anderem durch in-situ-Hybridisierung erfolgen.

Die Pathogenese der gastrointestinalen CMV-Infektion beruht auf einer besonderen Häufung der CMV-Einschlüsse in Endothelzellen und einer daraus folgenden Vaskulitis. Sekundär kommt es zur Ischämie der Mukosa mit Nekrosenbildung (Drew 1988).

Eine Colitis äußert sich durch Diarrhoe, abdominelle Schmerzen, Gewichtsverlust und Fieber. Die Koloskopie zeigt diffuse Ulzerationen der Mukosa, submuköse Hämorrhagien und erythematöse Bereiche (Tenschert 1992). Bei der CMV-Ösophagitis steht klinisch die Odynophagie mit substernalem Thoraxschmerz im Vordergrund (Wilcox und Schwartz 1992).

Der Anstieg der Transaminasen ist ein Hinweis auf eine mögliche, meist nur begleitende Hepatitis, die alkalische Phosphatase steigt oft an, Bilirubin bleibt aber häufig nur geringfügig erhöht (Drew 1988). Zirka 25 bis 35 % der Patienten weisen einen Transaminasenanstieg im Rahmen der CMV-Infektion auf (Luby et al. 1974).

3. CMV und ZNS

In ungefähr einem Drittel der obduzierten Gehirne von AIDS-Patienten kann eine CMV-Infektion nachgewiesen werden (Kalayjian et al. 1993). Oft wurden eine Enzephalitis und Nekrose der periventrikulären ependymalen Zellen beschrieben (Vinters et al. 1989). Über einen Zeitraum von Tagen bis zu zwei Monaten entwickeln sich Kopfschmerzen. Lethargie, Minderung der Konzentration und Desorientiertheit, Paresen der Augenmuskeln und Nystagmus

können hinzutreten (Vinters et al. 1989). Außerdem wurde ein progredientes Psychosyndrom mit fremd- und autoaggressivem Verhalten beschrieben (Tenschert 1992). Trotz antiviraler Therapie mit Ganciclovir führt dieses Krankheitsbild oft innerhalb von 4 bis 6 Wochen nach Diagnosestellung zum Tode.

Organtransplantierte zeigen typischerweise diffuse kortikale Streuung der Herde. Bei der intrauterinen Infektion des Feten steht eine ependymale Nekrose mit dystropher Kalzifikation im Vordergrund, außerdem imponieren Mikrozephalie, Porenzephalie und Polymikrogyri (Dorfman 1973). Neugeborene weisen oft Chorioretinitis, neurosensorischen Hörverlust oder mentale Retardierung auf.

Eine sichere Diagnose einer ZNS-Beteiligung im Rahmen einer CMV-Infektion ist aber oft erst post mortem durch eine histopathologische Untersuchung möglich (Nielsen et al. 1984). Hinweisgebend sind eine lymphozytäre Pleozytose, Proteinerhöhung und erniedrigte Glucose im Liquor cerebrospinalis. Die Computer- oder Magnetresonanztomographie zeigt Nekrosen und Entzündungsherde in der jeweils typischen Lokalisation (periventrikulär, kortikal).

4. CMV-Retinitis

Die CMV-Retinitis ist durch ein Mischbild aus Cotton-Wool-Exsudaten, Blutungen und ischämischen Nekrosen der Netzhaut charakterisiert und betrifft zu Beginn oft nur ein Auge, tritt aber im Verlauf meist beidseitig auf. Erste klinische Symptome sind Skotome und andere Sehstörungen. Sie kann zur Erblindung der betroffenen Patienten führen, ist aber in den meisten Fällen einer systemischen oder intravitrealen Therapie mit Ganciclovir oder Foscarnet gut zugänglich (Stalder et al. 1997). Allerdings neigt diese Erkrankung zu Rezidiven, die oft eine Therapieintensivierung nötig machen. Schätzungsweise 20 % der AIDS-Patienten erkranken im Laufe der Zeit an einer CMV-Retinitis. Sie ist hiermit die häufigste intraoculare Infektion in diesem Kollektiv (Gallant 1992). Seltener sind Neugeborene oder Patienten nach Organtransplantation betroffen (Flores-Aguilar 1993).

5. Besondere CMV-Manifestationen

In Einzelfällen treten auch CMV-Infektionen auf, die sich nicht in typischen Organen manifestieren. So berichteten Benson und Smith (1992) über eine CMV-Prostatitis bei einem AIDS-Patienten. Mittels in-situ-Hybridisierung konnte bei einer ulzerierenden Vulvovaginitis CMV als

kausaler Faktor gesichert werden (Friedmann et al. 1990). Nur selten werden auch die ableitenden Harnwege von einer CMV-Infektion erfasst. Unter Umständen kann es dabei jedoch zu einer Ureterstriktur kommen (Ducloux et al. 1997).

E. CMV bei Transplantierten

Je nach Autor tritt bei 15 - 70 % der Nierentransplantierten in den ersten drei Monaten nach Organtransplantation eine CMV-Erkrankung auf (Patel et al. 1996, van Son und The 1990). Von den seronegativen Patienten, die ein CMV-positives Organ erhalten, erkranken im Rahmen der Erstinfektion unter Immunsuppression bis zu zwei Drittel mit einem Häufigkeitsgipfel in den ersten zwei postoperativen Monaten (Paya et al. 1988). Die Hälfte aller Fieberepisoden in den ersten Monaten nach allogener Organtransplantation wird einer CMV-Reaktivierung oder -Primärinfektion zugeschrieben (Spielberger et al. 1989).

Daneben sind Risikofaktoren für eine CMV-Erkrankung insbesondere die Verwendung von poly- oder monoklonalen Anti-Lymphozyten-Antikörpern (Johnson 1990), Retransplantationen (Stein 1988) und Rejektionstherapien wie z.B. die Erweiterung der Immunsuppression mit Mycophenolat-Mofetil oder Kortikosteroiden (Tenschert und Hulan 1992). Kausal besteht hier ein Zusammenhang zwischen der Immunkompetenz des Patienten und der Prävalenz von Infektionen.

Das klinische Bild der CMV-Infektion kann auch hier Fieber, schweres Krankheitsgefühl, Arthralgien, Myalgien, Panzytopenie, interstitielle Pneumonie, Hepatitis, Enteritis, Chorioretinitis und andere seltenere Organmanifestationen umfassen und reicht bis zur disseminierten Erkrankung.

F. Diagnostik

Die Diagnose einer CMV-Infektion kann durch verschiedene Methoden erfolgen. Wichtig sind dabei frühzeitige und schnelle Diagnosestellung, möglichst vor Beginn der Symptomatik, sowie hohe Sensitivität und Spezifität der diagnostischen Methoden.

1. Serologie

Mittels serologischer Methoden werden Antikörper gegen das CMV nachgewiesen, hierbei stehen IgG-enzyme-linked immunosorbent assay (EIA), IgM-EIA und die Komplementbindungsreaktion (KBR) zur Verfügung. Für die Diagnose einer akuten Erkrankung sind diese Parameter allerdings unsicher, da zum einen die Immunantwort und damit die Antikörperbildung des Patienten durch die Immunsuppression verzögert eintreten kann und zum anderen ein signifikanter (das heißt mindestens vierfacher) Titeranstieg und ein positives CMV-IgM oft ohnehin erst bei bereits bestehender klinischer Symptomatik nachweisbar sind (Cofer et al. 1991). Außerdem sind die serologischen Befunde zu wenig spezifisch hinsichtlich einer Differenzierung zwischen asymptomatischer CMV-Infektion bzw. -Reaktivierung und CMV-Erkrankung.

2. Virämie

Der kulturelle Nachweis von CMV aus der bronchoalveolären Lavage, dem Urin, Blut oder dem Oropharynx galt lange Zeit zwar als „Goldstandard“ (Allen 1989), allerdings beweist ein positiver Befund keine Erkrankung, da es sich auch um eine asymptomatische Organbesiedlung handeln kann (z.B. Virusausscheidung mit dem Urin). Lange Kulturdauer (im Mittel zirka 20 Tage) und geringere Sensitivität haben den Stellenwert des kulturellen Nachweises sinken lassen (van den Berg et al. 1989). Kurzzeitkulturen stellen eine Alternative dar, sind aber hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität der PCR oder dem pp65-Nachweis unterlegen.

In Gewebebiopsaten und Zellkulturen sind sogenannte Eulenaugenzellen spezifisch für CMV, während Einschlußkörperchen unspezifisch sind.

In der modernen Diagnostik haben sich molekularbiologische Methoden etablieren können, dazu gehören unter anderem die Polymerasekettenreaktion, der direkte CMV-Antigennachweis mittels monoklonaler Antikörper und die In-situ-Hybridisierung.

3. Polymerasekettenreaktion (PCR)

Der Nachweis von CMV-DNA mittels der Polymerasekettenreaktion weist eine hohe Sensitivität auf, allerdings kann durch Kontamination der Proben mit geringen Mengen DNA bereits ein falsch positives Ergebnis auftreten (Persing 1991). Außerdem können bei neuen CMV-Stämmen mit verändertem Erbgut die von den Primern erkannten DNA-Abschnitte so verändert sein, daß keine Amplifikation möglich ist und somit falsch negative Ergebnisse resultieren. Der

prädikative Wert hinsichtlich einer CMV-Erkrankung war in vielen Untersuchungen niedrig (Weber et al. 1994), Zwegberg-Wirgart et al. (1996) konnten 0,49 mit ihrer PCR erreichen. Andererseits zeigten Toyoda et al. (1997), daß die CMV-DNA-PCR im Vergleich zu Virämie- und IgM-Nachweis die höchste Sensitivität, Spezifität und Schnelligkeit aufwies. Außerdem liegt mit der Quantifizierung der DNA-Mengen ein Verlaufparameter für Therapie- und Erkrankungsverlauf vor (Abecassis et al. 1996).

4. Antigenämie

Mittels Immunfluoreszenz wird hier das virale Phosphoprotein 65 (pp65 oder early Antigen) in peripheren Blutleukozyten nachgewiesen. Je nach Veröffentlichung wurde die Sensitivität mit 0,88 bzw. 0,75 und die Spezifität mit 0,97 bzw. 0,55 hinsichtlich einer CMV-Erkrankung angegeben (Grefte et al. 1992 bzw. Zwegberg-Wirgart et al. 1996). Van den Berg et al. (1989) konnten eine Sensitivität von 0,89 und Spezifität von 0,93 belegen und der Nachweis gelang im Mittel 8 (+/- 7) Tage vor Beginn der klinischen Symptome.

Die Quantifizierung des Antigen-Nachweises wird von einigen Autoren zur Differenzierung zwischen asymptomatischer Antigenämie und CMV-Erkrankung mit Antigenämie empfohlen. Hierbei wird die Zahl der Antigen-positiven Zellen pro 10^5 Leukozyten als Parameter zur Therapieempfehlung genutzt und ein Grenzwert gesetzt (Niubò et al. 1996). Werte darüber erhöhen das Risiko einer CMV-Erkrankung um ein Vielfaches, Werte darunter lassen eher auf einen asymptomatischen Verlauf schliessen. Allerdings werden diese Grenzwerte sehr unterschiedlich gesetzt (Niubò 1996). Die Bedeutung der Quantifizierung liegt heute eher in der Kontrolle von Infektionsverlauf und Therapieerfolg.

5. In-situ-Hybridisierung

Mittels biotinylierter CMV-DNA-Proben wird bei der Dot-blot-Hybridisierung virales Erbgut in Organproben nachgewiesen. Die In-situ-Hybridisierung ermöglicht den Nachweis von CMV-DNA auch in histologisch oder zytologisch unauffälligen Zellen, bei der Beurteilung von Nierenbiopsaten hat sie sich allerdings als weniger sensitiv gezeigt als eine PCR und wird deshalb heute wegen der eingeschränkten Verwertbarkeit nur selten durchgeführt (Seifert 1997). Allerdings gelang Koffron et al. (1997) der Nachweis von CMV-DNA in Organproben (u.a. Nierengewebe) von verstorbenen seropositiven Patienten, bei denen mittels PCR aus peripheren Blutleukozyten kein DNA-Nachweis möglich war.

G. Pharmaka nach Nierentransplantation

1. Immunsuppressiva

Nach allogener Nierentransplantation ist eine medikamentöse Immunsuppression nötig, um die gegen das körperfremde Organ gerichtete Immunantwort zu unterdrücken. Es wird dabei unterschieden zwischen dem immunsuppressiven Basisregime (Dual mit Kortikosteroiden und meist Cyclosporin A sowie Triple mit z. B. Mykophenolat-Mofetil zusätzlich) und der akuten Rejektionsbehandlung.

1.1 Kortikosteroide

Kortikosteroide binden an den spezifischen zytosolischen Glucocorticoid-Rezeptor, dieser Komplex wird in den Zellkern aufgenommen und es kommt zur Inhibition der Synthese verschiedener Proteine. Die immunsuppressive Wirkung wird über die Verminderung der Zytokin-Synthese vermittelt und äußert sich in der Hemmung der Aktivierung der T-Lymphozyten.

Die Antikörper-Produktion wird nur bei sehr hohen Konzentrationen beeinflusst. Wichtige Nebenwirkungen sind in der Reihenfolge des Auftretens Osteoporose und steroid-induzierter Diabetes mellitus (Resch und Szamel 1995).

Zur Therapie der akuten Abstoßung des Nierentransplantates hat sich eine hochdosierte Kortikosteroid-Stoßtherapie über fünf Tage (250 mg Methyl-Prednisolon/die) intravenös bewährt, Kortikosteroide sind aber auch fester Bestandteil des Basistherapieregimes.

1.2 Cyclosporin A

Dieses cyclische Peptid wird von dem Pilz *Tolypocladium inflatum* gebildet und besteht aus 11 Aminosäuren. Es hemmt vorwiegend die Bildung von Interleukin-2 und somit die Aktivierung der T-Lymphozyten, Antikörper-Synthese wird nur in geringem Maße gesenkt. Cyclosporin A gehört neben den Glucocorticoiden zur Standardtherapie (Dual-Therapie) der Prophylaxe einer Transplantatabstoßung bei den Patienten im untersuchten Kollektiv.

Reversible Nierenfunktionsstörungen sind die wichtigsten Nebenwirkungen, daneben können Leberfunktionsstörungen, Hypertrichose, Gingiva-Hypertrophie, Ödeme und Bluthochdruck auftreten (Resch und Szamel 1995).

1.3 Mykophenolat-Mofetil

Mykophenolat-Mofetil (MMF) ist ein neueres immunsuppressives Medikament, das eine relativ selektive Hemmung der Zellteilung erlaubt, wobei Lymphozyten stark und andere Gewebe nur wenig betroffen sind. Dies erfolgt über eine reversible selektive Inhibition der Inosin-Monophosphat-Dehydrogenase (Pirsch et al. 1996), die für die de-novo Synthese der Guanin-Nukleotide unersetzlich ist.

MMF wird im Rahmen der Triple-Therapie zusammen mit Cyclosporin A und Kortikosteroiden eingesetzt.

Akute Abstoßungen werden nach Nierentransplantation um schätzungsweise 50 % gegenüber Therapieschemata mit Azathioprin reduziert, die gastrointestinale Toxizität (Diarrhoe, Nausea und Erbrechen) steht bei den Nebenwirkungen im Vordergrund (Lui et al. 1996). Außerdem wird über eine gehäufte CMV-Virämie und erhöhte Inzidenz gastrointestinaler und anderer gewebsinvasiver CMV-Erkrankungen berichtet (Hodge 1996, Schnülle et al. 1998).

1.4 Andere Immunsuppressiva

Neben diesen Medikamenten werden außerdem Azathioprin, polyklonale Antilymphozyten- und Antithymozyten-Globuline (z.B. bei hohem Anteil von präformierten zytotoxischen Antikörpern) im Rahmen einer Induktionstherapie, monoklonale Lymphozyten-Antikörper (z.B. OKT 3), FK506 (ein Makrolidantibiotikum, das in seiner immunsuppressiven Wirkung 100-500mal potenter ist als Cyclosporin A) sowie weitere Substanzen eingesetzt.

2. Antivirale Therapie

Die wirksamsten Maßnahmen zur Behandlung einer CMV-Erkrankung bestehen heute in der Reduktion der immunsuppressiven Therapie und der Gabe von Ganciclovir (Tenschert und Hulan 1992). Prophylaktische Gaben von CMV-Hyperimmunglobulinen sind umstritten, da sie die Exazerbation der CMV-Erkrankung nicht mit hinreichender Sicherheit verhindern, sehr teuer sind und auch zu einer transienten Verschlechterung der Nierenfunktion führen können (Becker und Schulman 1995).

2.1 Ganciclovir

Ganciclovir (9-[1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl]guanin) ist ein Nukleosid-Analogon des Guanosin. Durch den Einbau des Analogon wird die virale DNA-Polymerase gehemmt und somit die Virusreplikation inhibiert. Neben seiner antiviralen Eigenschaft hat dieses Medikament myelosuppressive und nephrotoxische Nebenwirkungen, die die Einsetzbarkeit begrenzen. Zur Therapie einer CMV-Erkrankung nach Nierentransplantation ist Ganciclovir Mittel der ersten Wahl (Becker und Schulman 1995). Boivin et al. (1997) zeigten mittels PCR ein hochsignifikantes Absinken der CMV-DNA-Mengen in Leukozyten zehn Tage nach Beginn einer intravenösen Ganciclovir-Therapie. Bei frühzeitigem Therapiebeginn ist die CMV-Krankheit in mehr als 90 % der Fälle erfolgreich mit Ganciclovir behandelbar (Westhoff und Grabensee 1994).

Initial wird die Therapie für mindestens 10 Tage intravenös durchgeführt (10 mg/kg/d in 2 Dosen über 1 Stunde, bei Niereninsuffizienz Anpassung nach Kreatinin-Clearance), nach Rückbildung der Symptomatik und bei negativer virologischer Diagnostik (PCR, pp65) ist zur Rezidivprophylaxe eine Fortführung der Therapie mit oralen Gaben möglich (bei normaler Nierenfunktion 3 x 1000 mg per os, sonst Anpassung nach Kreatinin-Clearance). Hierunter kann es allerdings auch zu schweren Erkrankungsrezidiven kommen.

2.2 Foscarnet

Foscarnet (Trisodium-Phosphonoformat) ist ein Pyrophosphat-Analogon und hemmt direkt die virale DNA-Polymerase wie auch die reverse Transkriptase (Becker und Schulman 1995). Es hat somit antivirale Aktivität gegen CMV und HIV und findet deswegen insbesondere Anwendung in der Therapie von AIDS-Patienten mit CMV-Infektionen. Außerdem kommt Foscarnet bei Patienten zum Einsatz, die eine Infektion mit einem Ganciclovir-resistenten CMV-Stamm durchmachen. Die wichtigste Nebenwirkung dieser Substanz ist jedoch eine durch die tubuläre Toxizität fortschreitende Niereninsuffizienz (Becker und Schulman 1995). Sie gehört zu den Substanzen mit mittlerer bis hoher Nephrotoxizität. Je nach Untersuchung wurde bei 10 bis 60 % der intravenös therapierten Patienten eine dosislimitierende Nierendysfunktion beobachtet, eine renale Insuffizienz ist eine relative Kontraindikation (Jacobson 1992). Über eine Foscarnet-induzierte kristalline Glomerulonephritis mit nephrotischem Syndrom und akutem Nierenversagen nach Nierentransplantation berichtet Zanetta 1999.

Foscarnet wird für 14-21 Tage in einer Dosierung von 200 mg/kg/d (bzw. streng angepasst an die Nierenfunktion) intravenös gegeben, danach kann die Dosis im Rahmen der Erhaltungstherapie (Dauer hängt von der Immunlage des Patienten ab) auf 90-100 mg/kg/d reduziert werden.

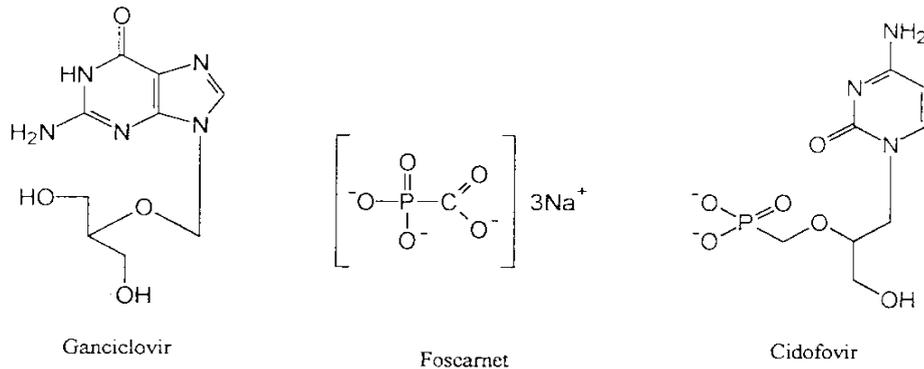


Abb. 1: Strukturformeln der CMV-wirksamen Virustatika Ganciclovir, Foscarnet und Cidofovir

2.3 Andere Virustatika

Cidofovir ist ein neueres Virustatikum. Auch seine Dosierung wird durch die Nephrotoxizität limitiert (Becker und Schulman 1995). Ebenso kann Aciclovir gegen CMV eingesetzt werden, wenngleich seine eigentliche Hauptindikation im Bereich der HSV-Infektion liegt. Erst bei höheren Aciclovir-Dosierungen konnte eine Verminderung der CMV-Erkrankungen gezeigt werden.

H. Fragestellungen

Die Bedeutung der Cytomegalievirusinfektion nach Nierentransplantation stand im Mittelpunkt dieser Untersuchung. Im einzelnen interessierten die Bewertung der laborchemischen Parameter für die Diagnose und Vorhersage einer CMV-Infektion und -Erkrankung, eine mögliche Korrelation von CMV-Infektion respektive -Erkrankung und Transplantatdysfunktion/-Rejektion/-Verlust, und die Rolle der verschiedenen Pharmaka zur immunsuppressiven und antiviralen Therapie.

Dazu wurden die Patienten einem regelmäßigen virologischen Screening (CMV-Serologie, pp65-Nachweis, CMV-DNA-PCR) unterzogen, so daß auch insbesondere ein Vergleich von Sensitivität und Spezifität der CMV-DNA-PCR und pp65-early-antigen-Bestimmung möglich ist.

- **Besteht ein Unterschied zwischen dem CMV-Early-Antigen-Test und der CMV-DNA-PCR hinsichtlich Sensitivität, Spezifität und negativem bzw. positivem prädiktiven Wert im Hinblick auf eine CMV-Erkrankung oder -Infektion?**

Zwar konnten Veal et al. (1996) eine positive Korrelation zwischen DNA-Nachweis in peripheren Bluteukozyten und Antigenämie (pp65) aufzeigen, je nach Studie wird jedoch der Wert der beiden Methoden hinsichtlich der Bedeutung für die Diagnose der CMV-Erkrankung sehr unterschiedlich beurteilt. So zeigten Segondy et al. (1996) für pp65-Antigenämie und CMV-DNA-PCR jeweils eine Sensitivität und Spezifität von mehr als 90 %, jedoch war der positive prädiktive Wert des DNA-Nachweises (25 %) im Gegensatz zum pp65-Test (50 %) nur gering. Dagegen lag bei einer französischen Untersuchung (Eckart et al. 1997) der positive prädiktive Wert für pp65-Antigenämie bei 52,6 % und DNA-PCR bei 44 %, die PCR hatte außerdem einen besseren negativen prädiktiven Wert (100% versus 95 %).

- **Lassen sich Risikogruppen für eine CMV-Erkrankung definieren und welche Faktoren beeinflussen das Erkrankungsrisiko?**

Nach Charpentier (1985) treten bei Primärinfektion etwa dreimal häufiger klinische Symptome auf als bei Sekundärinfektionen. Auch Kathawalla et al. (1996) sehen für CMV-seronegative Organempfänger bei CMV-seropositivem Donor das größte Erkrankungsrisiko.

Patienten mit einer Erweiterung der Immunsuppression (z.B. mit Mykophenolat-Mofetil oder aber Kortikosteroiden) stellen eine weitere Risikogruppe dar. Einige Autoren (Kraat et al. 1994, Boland et al. 1993) konnten für bestimmte HLA-Untergruppen bei Organspendern und –empfängern eine erhöhte Inzidenz der CMV-Erkrankung aufzeigen.

- **Welche Rolle spielen die verschiedenen immunsuppressiven Therapie-Schemata?**

Hodge (1996) untersuchte die Bedeutung von Mykophenolat-Mofetil bei Nierentransplantation und konnte keine signifikante Zunahme von opportunistischen Infektionen gegenüber einer Kontrollgruppe mit Azathioprin oder Placebo feststellen, lediglich die Häufigkeit von organinvasiven CMV-Infektionen war leicht erhöht. Die Zahl der Rejektionen und Organverluste waren unter Mykophenolat-Mofetil jedoch signifikant niedriger. Rejektionstherapien mit Kortikosteroiden disponieren ebenso zum Auftreten einer CMV-Infektion oder -Erkrankung.

- **Welches diagnostische und therapeutische Vorgehen ist bei den einzelnen Risikogruppen angezeigt?**

Paya (1996) empfiehlt ein abgestuftes Screening der Patienten je nach Risiko für das Auftreten einer CMV-Infektion. Empfänger mit CMV-Risikokonstellation (D+/R-) und/oder Mykophenolat-Mofetil- oder Rejektionstherapie sollten eng (wöchentlich oder alle zwei Wochen) überwacht werden. Mindestens eine der molekularbiologisch definierten Methoden muß neben der Serologie zum Standard gehören. Patienten mit niedrigerem Erkrankungsrisiko können in größerem Abstand oder bei klinischem Verdacht untersucht werden (Paya 1996). Hinsichtlich der Therapie besteht eine Diskussion, ob prophylaktisch, bei Auftreten von Anzeichen der Virämie oder Antigenämie (sogenannte „preemptive therapy“) oder erst bei manifester Erkrankung antiviral behandelt werden sollte. Eine US-amerikanische Studie (Brennan et al. 1997) konnte nachweisen, daß die PCR ein geeignetes Mittel ist, um den Zeitpunkt für die Einleitung der präemptiven Therapie zu bestimmen. In der Vergleichsgruppe mit Therapiebeginn bei symptomatischer Manifestation traten häufiger Erkrankungen auf (9 von 19), unter präemptiver Therapie erkrankten lediglich vier von 15 Patienten.

Gotti et al. (1996) berichteten über 160 Patienten, von denen 71 klinische und/oder laborchemische Zeichen einer Infektion entwickelten. Diese wurden auf Antigenämie (pp65) untersucht und alle 35 positiven Patienten wurden 3 Wochen mit Ganciclovir intravenös therapiert. Hierunter konnten 34 Patienten geheilt werden, ein Patient zeigte Resistenzen und reagierte erst auf Foscarnet. Von den 36 Organempfängern ohne Nachweis der Antigenämie entwickelte keiner eine CMV-Infektion.

Die Arbeitsgruppe um Conti empfiehlt eine prophylaktische Gabe von Ganciclovir bei allen Patienten mit CMV-Risikokonstellation (D+/R-) und Therapie mit Anti-Lymphozyten-Antikörpern. Hierdurch konnte eine signifikante Reduktion der Rejektionen, der CMV-Erkrankungen und der Todesfälle erreicht werden (Conti et al. 1997). Bulinski et al. (1996) publizierten, daß eine prophylaktische Behandlung aller Nierentransplantatempfänger (mit Ausnahme der Gruppe D-/R-) mit Ganciclovir intravenös die Inzidenz der CMV-Erkrankung auf 5,1 % senken kann. Die prophylaktische Gabe von CMV-Immunglobulin kann nach Kathawalla et al. (1996) die Inzidenz der CMV-Erkrankung senken und ihren Verlauf mildern. In Anbetracht der hohen Kosten wird dieses Vorgehen jedoch nicht als therapeutische Alternative für alle Transplantatempfänger angesehen.

- **Besteht ein kausaler Zusammenhang zwischen einer CMV-Infektion/-Erkrankung und einer Transplantat-Rejektion? Beeinflußt die CMV-Infektion oder -Erkrankung die Funktion des Nierentransplantates (akut oder chronisch) ?**

Reinke et al. konnten 1994 einen Zusammenhang zwischen akuter Rejektion mehr als ein Jahr nach Transplantation und asymptomatischer CMV-Infektion nachweisen. 17 von 21 mit Ganciclovir behandelten Patienten zeigten auch ohne weitere Anti-Rejektionstherapie eine Verbesserung der Nierenfunktion. Nach Eriksson et al. (1996) beeinflusste eine CMV-Erkrankung nicht signifikant das Transplantatüberleben, wohl aber das Patientenüberleben. So starben von 85 beobachteten Patienten im ersten Jahr sieben, fünf davon an einer CMV-Erkrankung. Dagegen fanden Morgan et al. (1992), dass bei Patienten mit CMV-Erkrankung die Transplantatfunktionsrate nach 6 Monaten mit 50 % signifikant niedriger war als bei Patienten ohne CMV-Erkrankung.

Richardson et al. (1981) berichteten über das Auftreten von reversiblen Transplantatdysfunktionen bei gleichzeitiger CMV-Virämie. Yilmaz et al. (1996) konnten an Ratten

zeigen, daß eine CMV-Infektion mit einem Anstieg der akuten Rejektionen und der Entwicklung der chronischen Abstoßung assoziiert war.

II. Patienten und Methoden

A. Allgemeines

Im Rahmen dieser prospektiven Untersuchung wurden 55 konsekutive Empfänger von Nierentransplantaten beobachtet, bei denen in der Zeit vom 28. Mai 1996 bis zum 25. November 1996 in den Medizinischen Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf eine allogene Nierentransplantation durchgeführt wurde.

Bei 5 Patienten (darunter 3 Patienten mit CMV-Risikokonstellation) kam es wenige Tage nach Transplantation zu einer schweren akuten Abstoßungsreaktion, die zur Explantation der Niere führte. Der Verlauf von zwei weiteren Patienten konnte nur ungenügend verfolgt werden, so daß die Ergebnisse von 48 Patienten in die Auswertung einfließen. Das mittlere Alter lag bei 44,1 (\pm 9,3) Jahren (Minimum 23, Maximum 65), 28 Patienten waren männlich, 20 weiblich.

Die zur terminalen Niereninsuffizienz führenden Grunderkrankungen der Patienten sind in der folgenden Tabelle 2 aufgelistet.

Grunderkrankung	Patientenanzahl	Prozentual
Glomerulonephritis	5	9,1
davon: IgA-Nephritis	2	3,6
fokal-segmental	2	3,6
mesangio-proliferativ	1	1,8
Adulte polyzystische Nierendegeneration (APKD)	8	14,6
Diabetische Nephropathie	8	14,6
Chron. Pyelonephritis	3	5,5
Lupus erythematodes	3	5,5
Amyloidose	2	3,6
Analgetika-Nephropathie	2	3,6
maligne Nephrosklerose	2	3,6

Grunderkrankung	Patientenanzahl	Prozentual
Gichtnephropathie	1	1,8
Markschwammnieren	1	1,8
Hämolytisch-urämisches Syndrom	1	1,8
Refluxnephropathie	1	1,8
Goodpasture-Syndrom	1	1,8
unklar	17	31,0
Insgesamt	55	100

Tab. 2: Grunderkrankungen der Organempfänger, die zur terminalen Niereninsuffizienz führten

Der Untersuchungszeitraum umfaßte durchschnittlich 95,6 (\pm 12,4) Tage (Minimum 76, Maximum 122) nach Transplantation, die letzte Untersuchung fand am 20. Februar 1997 statt.

Vor Transplantation wurden von Organspender und -empfänger CMV-Status (CMV-IgG-Nachweis mittels EIA) und HLA-Merkmale (HLA-A, -B, -DR) erfaßt. Titer der CMV-Komplementbindungsreaktion (KBR) und CMV-IgM des Empfängers wurden routinemäßig bestimmt.

Die erste Untersuchung auf eine CMV-Infektion fand spätestens 3 Tage nach Transplantation statt, anschließend mindestens alle zwei Wochen. Während des stationären Aufenthaltes und der ambulanten Betreuung wurden die Patienten regelmäßig klinisch untersucht, eine Angiodynographie des Nierentransplantates und eine Blutabnahme für die nachfolgend genannten Untersuchungen fanden statt. Bei Verdacht auf eine Rejektion, CMV-Infektion oder -Erkrankung wurden die Zeitabstände zwischen den Kontrollen verringert. Jedesmal wurden eine CMV-KBR, CMV-IgG- und CMV-IgM-EIA, CMV-DNA-PCR (Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie) und eine Bestimmung des pp65-early-antigens durchgeführt (d.h. insgesamt je 403 PCR- und pp65-Bestimmungen). Der prozentuale Anteil der CD4- und CD8-positiven Lymphozytensubpopulationen wurde bestimmt und der Quotient (T4/T8-Ratio) errechnet. Außerdem wurden regelmäßig Kontrollen des Blutbildes, der Transaminasen und der Nierenretentionswerte vorgenommen (Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf).

Zur Durchführung der CMV-Komplementbindungsreaktion sowie der CMV-IgG- und CMV-IgM-Enzyme-Immunsorbens-Assays dienen übliche Test-Kits (Abbott Diagnostics).

B. pp65-early-antigen

Das humane Cytomegalievirus (hCMV)-pp65-Antigen wurde mit Hilfe monoklonaler Antikörper (Clonab CMV, Fa. Biotest, Dreieich) und der Zytospinmethode) im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf nachgewiesen. Die monoklonalen Antikörper sind Maus-Immunglobuline der Subklasse IgG₁ (Klone C10 und C11), die spezifisch sind für das CMV-kodierte pp65-Antigen. Es besteht keine Kreuzreaktivität mit menschlichem Gewebe, Blutzellen oder Zellen, die durch andere Viren der Herpesgruppe infiziert sind (Grefte et al. 1992). Das pp65 ist das vorherrschende virale Protein, welches während aktiver Infektionen in peripheren Blutleukozyten nachweisbar ist. Infizierte Zellen mit dem CMV-early-antigen binden den monoklonalen Antikörper an die Kernoberfläche. Mit einem Sekundärantikörper (Clonab Ig FITC, Fa. Biotest, Dreieich), der gegen Immunglobuline der Klasse IgG gerichtet ist und zugleich fluoresziert, kann der Primärantikörper nachgewiesen werden. Das Ergebnis dieser Untersuchung kann fünf Stunden nach Blutabnahme vorliegen, womit dieser Test relativ schnell ist.

Diese Methode wurde durch die Arbeit von M. Link (Link 1998) im Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf etabliert. Der folgenden Beschreibung des Arbeitsablaufs liegt die Arbeitsanleitung des Institutes zugrunde.

Materialien:

- PBS-Puffer

Natriumchlorid	8,76 g
Kaliumchlorid	0,2 g
Kaliumdihydrogenphosphonat	0,2 g
Dinatriumhydrogenphosphonat H ₂ O	1,150 g
Aqua dest.	ad 1000 ml
- 50 µl Clonab CMV (1:5 in PBS-Puffer verdünnt)
- 50 µl Clonab Ig FITC (1:20 in PBS-Puffer verdünnt)
- Evans-Blue (0,02g / 200 ml in PBS-Puffer)

- Glycerin als Eindeckmedium (verdünnt in PBS-Puffer 9:1)
- Ethanol-Aceton (1:1) zum Fixieren

Die Abnahme von 10 ml Heparinblut diente zur Bestimmung des pp65-early-Antigens. Im Anschluß an 30 bis 45 Minuten Sedimentation wurden vom nahezu erythrozytenfreien Überstand zweimal 200 µl abgehoben, 4 ml PBS-Puffer zugefügt und es erfolgte das Abzentrifugieren der Leukozyten innerhalb von 5 Minuten bei 1350 U/min. Nach erneuter Aufnahme des Sediments in 4 ml PBS-Puffer erfolgte die Wiederholung der Zentrifugation. Mit 1 ml PBS-Puffer wurde das Sediment nun aufgenommen und am Sysmex®-Hämatologiesystem der Leukozytenanteil bestimmt. Lag dieser bei 700 bis 800 Leukozyten/µl wurde fortgefahren, ansonsten entsprechend mit PBS-Puffer verdünnt oder erneut zentrifugiert. 200 µl dieser Suspension wurden in der Zytocentrifuge bei 900 U/min für drei Minuten zentrifugiert und die zwei Präparate anschließend 30 Minuten bei Raumtemperatur getrocknet und durch fünfminütiges Eintauchen in ein Ethanol-Aceton-Gemisch (1:1) fixiert.

Nach dem Trocknen an der Luft (ca. 10 Minuten) und 10 Minuten in PBS-Puffer erfolgte das Auftragen von 50 µl des 1:5 verdünnten monoklonalen Antikörpers Clonab CMV (Fa. BioTest AG) auf die Präparate und anschließende Inkubation für 30 Minuten bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer. In 10 ml PBS-Puffer wurden die Objektträger dreimal 10 Minuten gewaschen und daraufhin 30 Minuten in der feuchten Kammer mit dem Sekundärantikörper Clonab Ig FITC (1:20 verdünnt, je 50 µl pro Präparat) im Dunkeln inkubiert. Nach anschließendem erneuten dreimaligen Waschen in PBS-Puffer erfolgte die Gegenfärbung mit Evans Blue (2 Minuten). Anschließend wurden die Präparate in Aqua bidest. gespült, luftgetrocknet, mit einem Tropfen Eindeckmedium versehen und eingefärbt. Nach Abschluß der Präparation standen zwei Objektträger mit insgesamt 280.000 - 300.000 Leukozyten zur Beurteilung im Fluoreszenzmikroskop zur Verfügung.

Alle Leukozyten weisen eine geringe - meist zytoplasmatische - Fluoreszenz auf, die jedoch unspezifisch ist. Granulozyten, die das pp65-early-Antigen tragen, fluoreszieren insgesamt deutlich stärker, die spezifische Fluoreszenz ist perinukleär und überstrahlt die ganze Zelle. Schon der Nachweis eines einzigen sicher positiven Granulozyten reichte aus, um im Zweifelsfall den Verdacht auf CMV-early-Antigen zu äußern. Die Beurteilung erfolgte rein qualitativ.

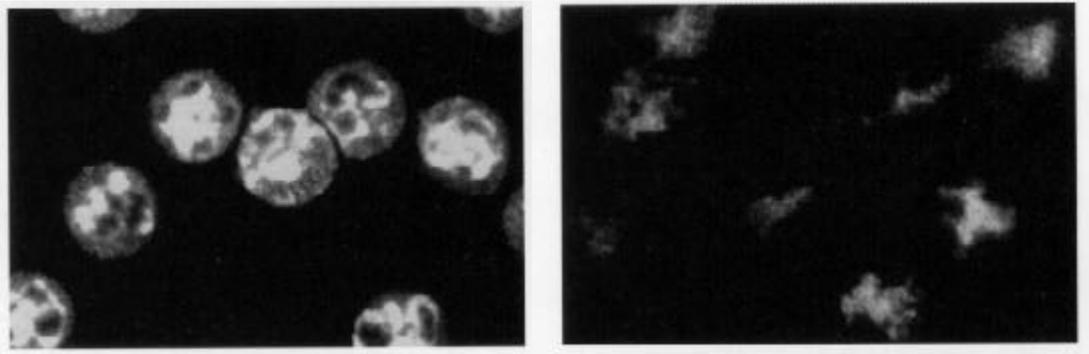


Abb. 2: Typische Befunde beim Nachweis des pp65: Links positiver Nachweis des pp65 in peripheren Blut-Leukozyten (PBL) bei einem Patienten nach Nierentransplantation. Die perinukleäre Fluoreszenz ist wesentlich stärker ausgeprägt als die unspezifische zytoplasmatische. Rechts negativer Befund, lediglich eine unspezifische zytoplasmatische Fluoreszenz ist darstellbar.

C. CMV-DNA-PCR

Die CMV-DNA-PCR wurde im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt, hierfür waren drei Arbeitsschritte notwendig. Zuerst die Präparation von Leukozyten-DNA aus peripherem Blut, dann die eigentliche Polymerasekettenreaktion und zuletzt ein enzyme-linked immunosorbent assay (EIA) zur Darstellung des Amplifikationsergebnisses. Diese PCR orientiert sich an den von Demmler et al. veröffentlichten Methoden zur Detektion von CMV-DNA (Demmler et al. 1988) und wurde durch die Arbeit von C. Krempe (Krempe 1998) am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf in ihrer hier verwendeten Form erarbeitet und etabliert. Der folgenden Beschreibung des Arbeitsablaufs liegt die Arbeitsanleitung des Institutes zugrunde.

Materialien:

- 4 ml Dextran T 5500 6 %
- PBS-Puffer (s.o.)
- 9 ml eisgekühltes ddH₂O
- 5 µl Proteinase K-Lösung (5 µg/ml)

- 80 µl Master Mix 8 µl PBS-Puffer
 - 10 µl PCR DIG Labeling Mix [enthält die Nukleotide dATP, dCTP, dGTP (je 200 µM), dTTP (190 µM), Digoxigenin-1-dUTP (10 µM)] (Gene Amp® dNTPs / Perkin Elmer)
 - je 10 µl MIE4 und MIE5 als Primer (30-60 µM) (synthetisiert mit Applied Biosystems Synthesizier, Model 381A)
 - 41,5 µl ddH₂O
 - 0,5 µl rekombinante *Thermus aquaticus* (Taq)-Polymerase (5 U/µl) (Perkin Elmer Cetus)

1. Präparation der Leukozyten-DNA

10 ml Heparinblut wurden bei 1000 U/min und 20 °C zentrifugiert, anschließend das Plasma abgenommen und die Zellfraktion mit PBS-Puffer auf 16 ml aufgefüllt. Nach Zugabe von 4 ml Dextran T 5500 6 % und Sedimentation für 45 Minuten bei Raumtemperatur wurden 15 ml des leukozytenreichen und erythrozytenarmen Überstandes bei 1000 U/min 10 Minuten zentrifugiert und das Zellpellet in 2,5 ml PBS wiederaufgenommen. Zur Erythrozytenlyse erfolgte die Zugabe von 9 ml eisgekühltem ddH₂O, 20 - 30 sec Schwenken und Stopp der Lyse durch Versetzen mit 3 ml PBS. Nach Zentrifugation (10 Minuten bei 10 °C und 1000 U/min) wurde der Überstand abgegossen und mit 5 ml PBS gewaschen (erneutes Zentrifugieren).

Im Anschluß an die Zellzählung in der Neubauerkammer (Soll: 1-4 x 10⁶ Zellen/ml) wurde evtl. eine erneute Zentrifugation oder weitere Verdünnung mit Puffer durchgeführt und nach Erreichen der Sollzellzahl die Proteinolyse mittels Zugabe von 5 µl Proteinase K-Lösung und Inkubation bei 55 °C für mindestens 40 Minuten eingeleitet, danach erfolgte die Inaktivierung der Proteinase im Wasserbad bei 95 °C für 10 Minuten.

2. Polymerasekettenreaktion (PCR)

20 µl des nun erhaltenen Leukozyten-DNA-Ansatzes wurden mit 80 µl Master Mix (8 µl PBS-Puffer, 10 µl PCR DIG Labeling Mix (enthält die Nukleotide), je 10 µl MIE4 und MIE5 als Primer (siehe Tab. 3), 41,5 µl ddH₂O und 0,5 µl Taq-Polymerase) in ein Reaktionsgefäß gegeben. Im Perkin Elmer DNA Thermal Cycler 9600® lief über ca. 6 Stunden die

Polymerasekettenreaktion ab. Diese bestand aus 40 Zyklen mit je drei Segmenten (Segment 1 bei 94 °C für 1,0 Minuten, Segment 2 bei 60 °C für 0,5 Minuten und Segment 3 bei 72 °C für 1,0 Minuten, Verlängerung des Segmentes 3 um 10 Sekunden pro Zyklus), abschließend im Soak File Abkühlung auf 4 °C bis zum Abschalten des Gerätes.

MIE-4	CCA AGC GGC CTC TGA TAA CCA AGC C	bp: 731 - 755
MIE-5	CAG CAC CAT CCT CCT CTT CCT CTG G	bp: 1165 - 1141

Tab. 3: Primer der CMV-DNA PCR / Länge des amplifizierten Produktes: 435 bp

Die 435 Basenpaare zählende Sequenz codiert einen Teil des major immediate-early (MIE) antigen des Cytomegalievirus (Towne strain) und befindet sich in Exon 4 dieses Gens.

3. CMV-PCR-EIA

In die Amplifikate erfolgte der Einbau von Digoxigenin-markierten Nukleotiden, die Sondenmarkierung gelang über biotin-modifizierte dUTPs (Digoxigenin-11-dUTP). Die Hybride wurden an die mit Streptavidin beschichtete EIA-Platte gebunden und mittels Anti-Digoxigenin-Konjugat nachgewiesen. Die Messung der Extinktionen erfolgte im SLT Reader® (405 nm) gegen Negativ- und Positiv-Kontrollen.

D. Definitionen

Eine CMV-Infektion wurde definiert als ein mindestens vierfacher Anstieg des CMV-KBR- oder -IgG-Titers, ein positives CMV-IgM oder ein positives Ergebnis in den molekularbiologischen Untersuchungsmethoden (Nachweis einer Virämie mittels CMV-early-Antigen pp65 oder CMV-DNA-PCR).

Die Diagnose einer CMV-Erkrankung stützte sich auf Befunde wie Fieber, Myalgien, Arthralgien, Leukopenie, Thrombopenie, Anstieg der Transaminasen, radiologischer Nachweis anderweitig unerklärbarer CMV-typischer Lungeninfiltrate oder histopathologische Sicherung eines Organbefalls (z.B. CMV-Ösophagitis) bei gleichzeitiger CMV-Infektion nach oben genannten Kriterien.

Biopsien der Transplantatnieren erfolgten bei ausbleibender Nierenfunktion, Funktionsverschlechterung oder bei Verdacht auf Rejektionen. Die Gewebeproben wurden im Institut für Pathologie der Universität Hamburg (Prof. Helmchen) beurteilt. Die Diagnose einer Rejektion wurde immer erst bei entsprechendem histologischen Befund als gesichert angesehen.

E. Statistik

Die Ergebnisse dieser Studie wurden mit verschiedenen statistischen Testmethoden untersucht, um signifikante Korrelationen festzustellen und die Daten exakter zu beschreiben (vgl. dazu Harms 1992). Die Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS 8.0 ausgewertet.

Im Vordergrund stand hierbei der χ^2 -Test. Dies ist ein sogenannter Vierfeldertest, mit dem die Abhängigkeit von zwei Merkmalen mit je zwei Ausprägungen untersucht werden kann.

	Merkmal 1	Merkmal 2	Zeilensumme
Stichprobe A	a	b	a + b
Stichprobe B	c	d	c + d
Spaltensumme	a + c	b + d	a + b + c + d = n

Tab. 4: Vierfeldertafel für den χ^2 -Test

Berechnung der Testgröße χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{(a \cdot d - b \cdot c)^2}{(a + c) \cdot (b + d) \cdot (a + b) \cdot (c + d)} \cdot n$$

Daneben wurde der Student t-Test genutzt, um auf einen signifikanten Unterschied zwischen zwei Mittelwerten zu untersuchen.

Berechnung der Testgröße t :

$$t = \frac{|\bar{d}|}{s_{\bar{d}}} = \frac{\text{Differenz der Mittelwerte}}{\text{mittlerer Fehler der durchschnittlichen Differenz}}$$

$$s_{\bar{d}} = s \cdot \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}$$

(n_1 und n_2 entsprechen der Anzahl der Patienten in den beiden zu vergleichenden Stichproben.)

Eine Signifikanz wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ angenommen (Konfidenzintervall 95 %). Ein hochsignifikanter Zusammenhang besteht bei $p < 0,01$.

Zur Bewertung der Qualität einer Testmethode (hier: pp65-early-Antigen-Test und CMV-DNA-PCR) dienen vier verschiedene Werte, Sensitivität und Spezifität sowie negativer und positiver prädiktiver Wert. Die Sensitivität mißt die Zahl der Erkrankten mit positivem Testergebnis im Verhältnis zur Zahl der Erkrankten insgesamt (Trefferquote), die Spezifität ist der Anteil der Gesunden mit negativem Testresultat an der Gesamtzahl der Gesunden. Der negative und der positive prädiktive Wert sagen etwas über die Wahrscheinlichkeit aus, bei entsprechendem Testergebnis auch wirklich krank oder gesund zu sein.

	Test positiv	Test negativ	Zeilensumme
Erkrankte	a	b	a + b
Gesunde	c	d	c + d
Spaltensumme	a + c	b + d	a + b + c + d = n

Tab. 5: Vierfeldertafel zur Berechnung der Testparameter

Testparameter

Sensitivität $= \frac{a}{a + b}$

Spezifität $= \frac{d}{c + d}$

positiver prädiktiver Wert $= \frac{a}{a + c}$

negativer prädiktiver Wert $= \frac{d}{b + d}$

III. Ergebnisse

Teilaspekte der Ergebnisse dieser Untersuchung wurden bereits veröffentlicht (Bach, D., Will, A., Krempe, C., Grabensee, B. 1997), insbesondere die unter den Punkten III.A, B, C, G, H, I, J und K angeführten Resultate.

A. CMV-Konstellationen

Von den 48 Patienten, deren Verlauf beobachtet wurde, gehörten 6 zur CMV-high-risk-group, da sie initial CMV-IgG-negativ waren und ein Transplantat eines CMV-IgG-positiven Spenders erhielten, d.h. sie machten im Rahmen der Transplantation eine Erstinfektion durch. Bei 8 Rezipienten waren sowohl Spender als auch Empfänger CMV-IgG-negativ, in 20 Fällen verfügten Empfänger und Donor über CMV-IgG-Antikörper und die verbleibenden 14 Patienten waren CMV-IgG-positiv und erhielten ein Organ eines nicht infizierten Spenders.

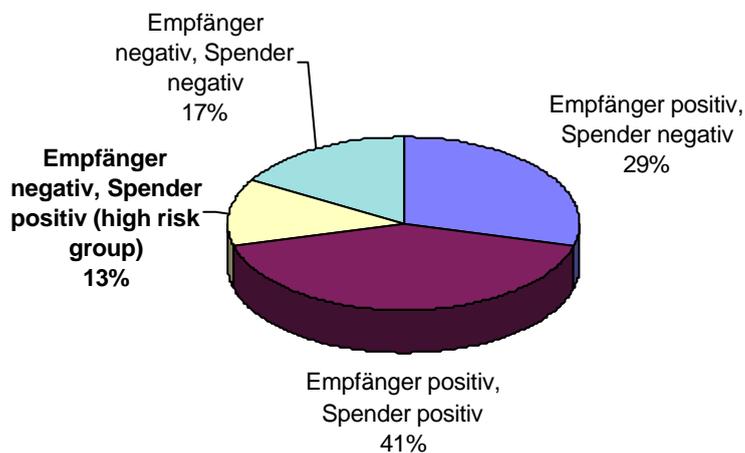


Abb. 3: Prozentuale Anteile der verschiedenen CMV-Konstellationen (D/R)

B. CMV-Erkrankung

Insgesamt trat im Untersuchungszeitraum bei 14 von 48 Patienten eine CMV-Erkrankung auf, in sieben Fällen in Form einer Pneumonie, zweimal als bioptisch gesicherte CMV-Ösophagitis und

einmal Hepatitis. Bei vier weiteren Patienten standen eher unspezifische Symptome im Vordergrund wie Leukopenie, Thrombozytopenie, Arthralgien und Myalgien sowie Fieber. Die folgende Tabelle 6 gibt eine Übersicht über die 14 Patienten mit CMV-Konstellation (Donor/Recipient), immunsuppressiver Therapie, Rejektion, Diagnostik und klinischer Manifestation der CMV-Erkrankung.

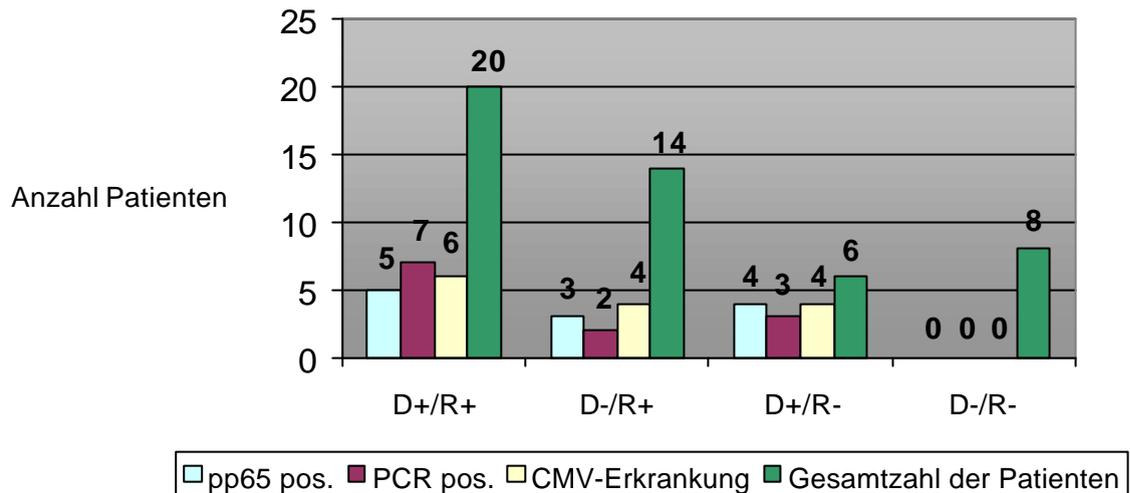
Patien t	D/R	Basis- Therapie	Zusatz- Therapie	Rejektion	PCR/pp65	Klinik
1	pos/pos	Triple	OKT3	Ja	PCR/pp65	Pneumonie
2	pos/pos	Dual		Ja	PCR/pp65	Arthralgien, Leukopenie, Fieber
3	pos/pos	Triple	ALG	Ja	pp65	Pneumonie
4	pos/pos	Triple		Nein	PCR	Ösophagitis
5	pos/pos	Triple		Ja	pp65	Pneumonie
6	pos/pos	Triple	FK506	Ja	PCR/pp65	Leukopenie, Fieber
7	neg/pos	Dual	FK506	Ja	PCR/pp65	Pneumonie
8	neg/pos	Triple		Ja	pp65	Pneumonie
9	neg/pos	Triple	FK506	Ja	PCR	Arthralgien, Fieber, Thrombopenie
10	neg/pos	Triple		Ja	pp65	Pneumonie
11	pos/neg	Dual		Ja	PCR/pp65	Fieber, Myalgien
12	pos/neg	Dual		Nein	PCR	Ösophagitis
13	pos/neg	Triple		Nein	pp65	Hepatitis, Leukopenie
14	pos/neg	Dual		Ja	PCR/pp65	Pneumonie

Tab. 6: Übersicht über die Patienten mit CMV-Erkrankung

C. CMV-Konstellation und -Erkrankung

Die folgende Abbildung 4 zeigt das Auftreten einer CMV-Erkrankung und die Ergebnisse der molekularbiologischen CMV-Diagnostik in Abhängigkeit von der Spender-Empfänger-Konstellation hinsichtlich CMV-IgG.

In der Gruppe D-/R- (Donor CMV-IgG-negativ/Rezipient CMV-IgG-negativ) trat keine CMV-Erkrankung auf, die Testergebnisse waren zu jedem Zeitpunkt negativ. Die Patienten mit der Zusammenstellung D+/R- zeigten mit vier von sechs die höchste Inzidenz der CMV-



Erkrankung gefolgt von den Patienten der Gruppen D+/R+ und D-/R+ mit 30,0 bzw. 28,6 %.

Abb. 4: CMV-Diagnostik und CMV-Erkrankung (in Abhängigkeit von der CMV-Konstellation)

D. Molekularbiologische Diagnostik

Insgesamt wurden je 403 Proben Heparinblut mittels pp65-Nachweis und CMV-DNA-PCR untersucht. Bei 14 Patienten trat eine klinisch und laborchemisch faßbare CMV-Erkrankung auf, 11 von ihnen zeigten einen positiven Nachweis des pp65-early-Antigens und bei 9 Patienten war das Ergebnis der CMV-DNA-PCR positiv. Beim pp65 gelang in 3 Fällen und bei der CMV-DNA-PCR in 5 Fällen trotz klinischer Symptomatik und positivem Ergebnis des jeweils anderen Tests kein sicherer Nachweis (vgl. Abb. 5). 6 Patienten zeigten einen positiven Nachweis sowohl der CMV-DNA als auch des pp65, jeder Patient mit CMV-Erkrankung war in mindestens einer der beiden molekularbiologischen Untersuchungsmethoden auffällig. Falsch positive Ergebnisse traten beim pp65 einmal (1/403) und bei der PCR dreimal (3/403) auf,

richtig negativ war das pp65 bei 33 Patienten und die PCR bei 31 Empfängern. Daraus ergeben sich für Sensitivität und Spezifität sowie negativen und positiven prädiktiven Wert die in der Abbildung 6 dargestellten Werte.

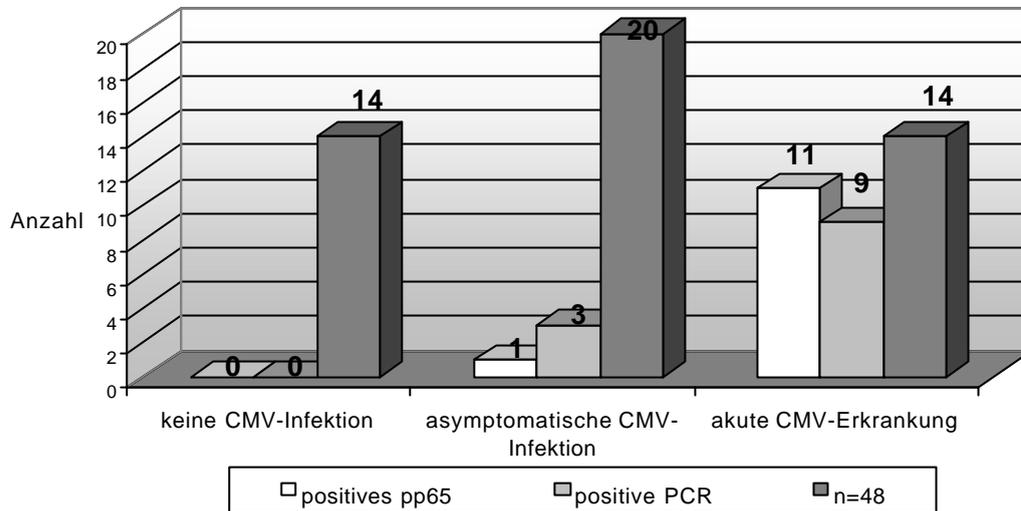


Abb. 5: PCR und pp65-Nachweis für die Differentialdiagnose von CMV-Erkrankung und - Infektion

1. Testparameter

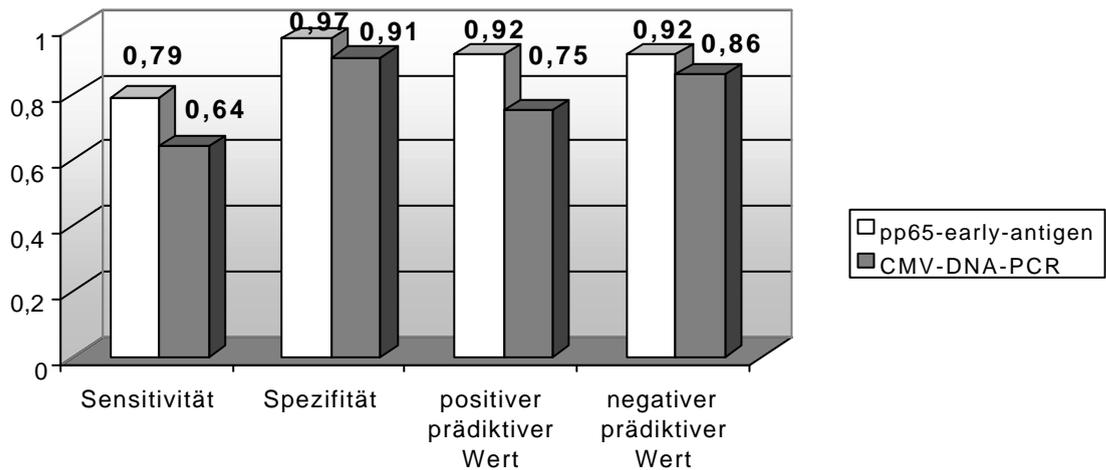


Abb. 6: Testparameter für PCR und pp65 hinsichtlich der CMV-Erkrankung

Hinsichtlich der CMV-Erkrankung ergaben sich für pp65-Nachweis bzw. CMV-DNA-PCR eine Sensitivität 0,79 bzw. 0,64 und eine Spezifität von 0,97 bzw. 0,91. Der positive prädiktive Wert war 0,92 bzw. 0,75, und der negative prädiktive Wert lag bei 0,92 bzw. 0,86.

2. Latenzen

Der Zeitpunkt der CMV-Erkrankung lag zwischen dem 13. und dem 111. Tag nach Transplantation, der Mittelwert lag bei 44,7 Tagen mit einer Standardabweichung von 12,3.

Der Nachweis von CMV-DNA mittels PCR-Technik erfolgte im Mittel 5,1 (\pm 1,3) Tage vor Beginn der Erkrankung (spätestens jedoch 5 Tage nach Beginn der Symptome), das pp65 konnte im Mittel 7,1 (\pm 1,9) Tage nach Beginn der CMV-Erkrankung nachgewiesen werden. Bei 4 Patienten lagen mehrere Tage zwischen klinischer und laborchemischer Diagnose (zwischen 9 und 42 Tagen).

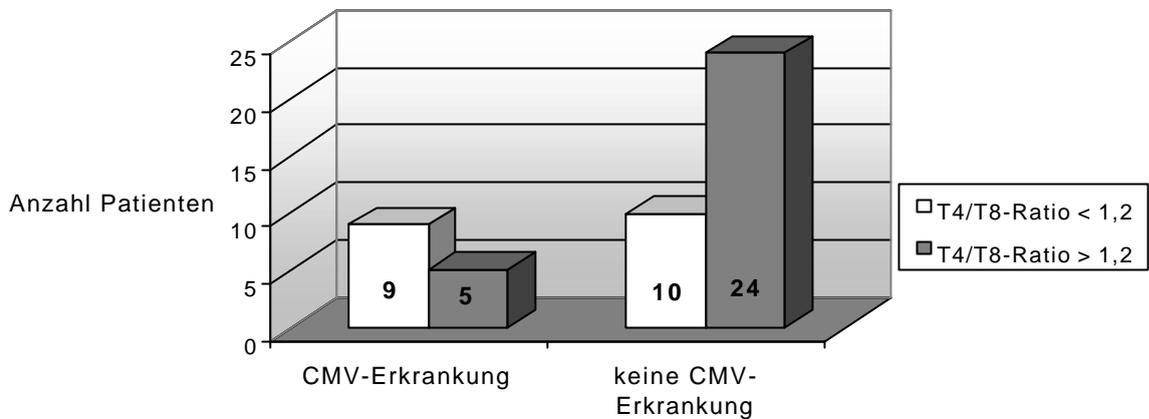
E. Serologie und CMV-Erkrankung

Serologisch konnte die CMV-Erkrankung bei 13 von 14 Patienten nachgewiesen werden, 5 Patienten zeigten ein positives IgM und signifikante Titeranstiege in KBR und IgG-EIA, in je zwei Fällen wurden KBR- und IgG-Anstieg, IgG-Anstieg und positives IgM oder isolierter IgG-Anstieg gefunden. Ein Patient entwickelte lediglich einen IgM-Titer und ein weiterer einen KBR-Titeranstieg und IgM-Nachweis. Bei einer Patientin konnte bei klinischer Diagnose und positivem Nachweis von pp65 und CMV-DNA kein serologischer Infektionsnachweis erfolgen. 20 Transplantatempfänger machten eine serologisch faßbare CMV-Infektion durch (3 zeigten dazu eine positive PCR, einer ein positives pp65) ohne klinische Hinweise auf eine CMV-Erkrankung. 6 Patienten zeigten ebenso wie die 8 CMV-IgG-negativen Empfänger, die ein Organ eines ebenfalls CMV-IgG-negativen Spenders erhielten, weder serologisch, molekularbiologisch noch klinisch Hinweise auf eine CMV-Erkrankung oder -Infektion.

F. T4/T8-Ratio und CMV-Erkrankung

Der Quotient aus dem prozentualen Anteil der CD4-positiven und der CD8-positiven Lymphozytensubpopulationen an den Gesamtlymphozyten (T4/T8-Ratio) lag bei 9 von 14 erkrankten Patienten unter einem Grenzwert von 1,2, bei 5 Patienten war er höher. In der

Gruppe der Patienten ohne CMV-Erkrankung zeigten nur 10 von 34 Transplantierten eine



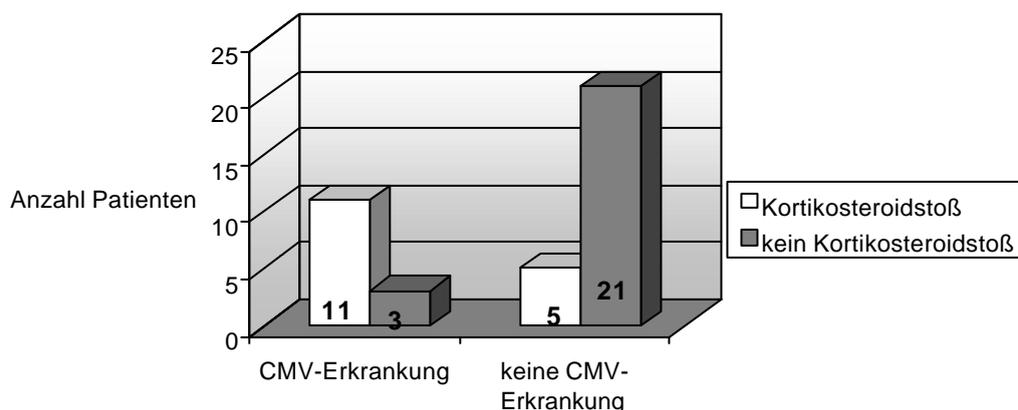
Verringerung der T4/T8-Ratio, während bei 24 Patienten der Grenzwert nicht unterschritten wurde (vgl. Abbildung 7). Das Absinken der T4/T8-Ratio korreliert demnach signifikant mit dem Auftreten einer CMV-Erkrankung (χ^2 -Test, $p < 0,05$). Die Sensitivität dieses Parameters bezüglich einer CMV-Erkrankung ist 0,64, die Spezifität beträgt 0,71. Der positive prädiktive Wert ist 0,47, der negative prädiktive Wert 0,83.

Abb. 7: T4/T8-Ratio in Korrelation zur CMV-Erkrankung

G. Immunsuppression und CMV-Erkrankung

1. Kortikosteroidstoßtherapie

Der Einsatz einer Kortikosteroidstoßtherapie über 5 Tage (250 mg Methyl-Prednisolon/die i.v.) zur Behandlung einer Rejektion des Transplantates korrelierte mit dem Auftreten einer CMV-Erkrankung. Von 16 Patienten mit Kortikosteroidstoßtherapie erkrankten 11, während von den restlichen 24 CMV-seropositiven Patienten ohne diese Therapie nur 3 erkrankten, dies ist



signifikant im χ^2 -Test für $p < 0,05$ (s. Abbildung 8).

Abb. 8: Kortikosteroidstoßtherapie und CMV-Erkrankung

Bei den 11 Patienten mit Rejektionstherapie wurde die CMV-Klinik im Mittel $17,8 (\pm 2,3)$ Tage nach Erweiterung der Immunsuppression diagnostiziert mit einer deutlichen Häufung zwischen dem 8. und 20. Tag (vgl. Abb. 9).

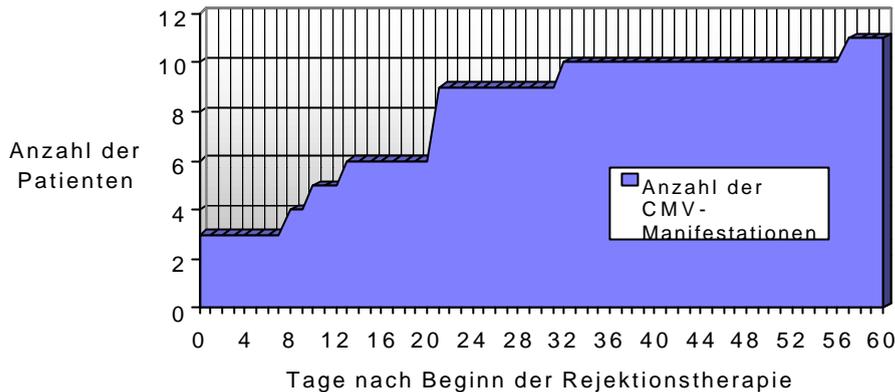


Abb. 9: Latenz zwischen Rejektionstherapie und CMV-Erkrankung

2. Mykophenolat-Mofetil

Auch die immunsuppressive Therapie mit Mykophenolat-Mofetil, Cyclosporin A und Kortikosteroiden (Triple) führte signifikant häufiger zu CMV-Erkrankungen als jene mit Cyclosporin A und Kortikosteroiden (Dual) (χ^2 -Test, $p < 0,05$).

Abbildung 10 zeigt die Häufigkeit des Auftretens der CMV-Erkrankung aufgeteilt nach Patienten mit Triple- ($n=17/ 9$ Erkrankungen) und mit Dual-Immunsuppression ($n=23/ 5$).

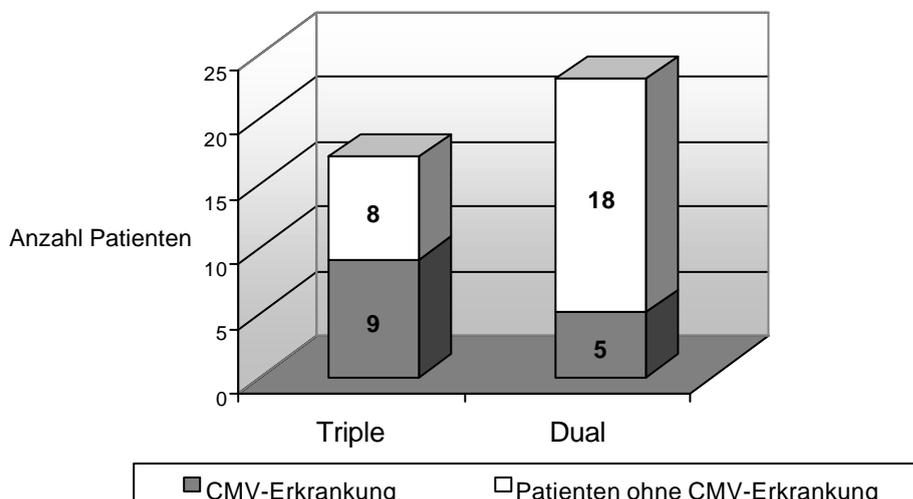


Abb. 10: CMV-Erkrankung und immunsuppressives Basisregime**3. Anti-Lymphozyten-Globuline**

Zwei der Patienten wurden bei positivem Nachweis präformierter zytotoxischer Antikörper (86% bzw. 75%) im Rahmen einer Induktionstherapie in der ersten Woche nach Transplantation mit Anti-Lymphozyten-Globulinen behandelt. Beide Patienten zeigten unter Triple-Immunsuppression eine akute Rejektion, die mit einem Kortikosteroidstoß gut therapiert wurde. Eine CMV-Erkrankung trat bei gleicher CMV-Konstellation (D+/R+) bei einem der Patienten auf, sprach auf eine intravenöse Ganciclovir-Therapie aber gut an.

4. Andere Immunsuppressiva

Eine Patientin (D+/R+/Triple-Immunsuppression) wurde im Rahmen einer Rescue-Therapie 10 Tage mit OKT3 behandelt, eine kurz darauffolgende (4 Tage nach Therapieende) CMV-Pneumonie machte Ganciclovir-Gaben erforderlich.

Drei Patienten erhielten zusätzlich FK506, bei allen trat eine CMV-Erkrankung auf.

H. Rejektion und CMV**1. Rejektion und CMV-Erkrankung**

Das Auftreten einer CMV-Erkrankung und einer akuten Transplantatrejektion korrelierten signifikant im χ^2 -Test ($p < 0,05$). Von 14 Patienten mit einer CMV-Erkrankung konnte bei 11 eine akute Transplantatrejektion histologisch gesichert werden. In der Gruppe der Patienten ohne Erkrankung ($n=34$) waren nur 9 Abstoßungsepisoden aufgetreten (vgl. Abb. 11). Mit einer Inzidenz von 0,55 (11/20) trat die CMV-Erkrankung im Patientenkollektiv mit akuter Transplantatrejektion signifikant häufiger auf als in der Gruppe ohne Abstoßungsreaktion im Beobachtungszeitraum (3/28).

Die CMV-Erkrankung trat bei den 11 Patienten mit Rejektion im Mittel 18,1 ($\pm 2,1$) Tage nach Diagnose der Transplantatabstoßung ein.

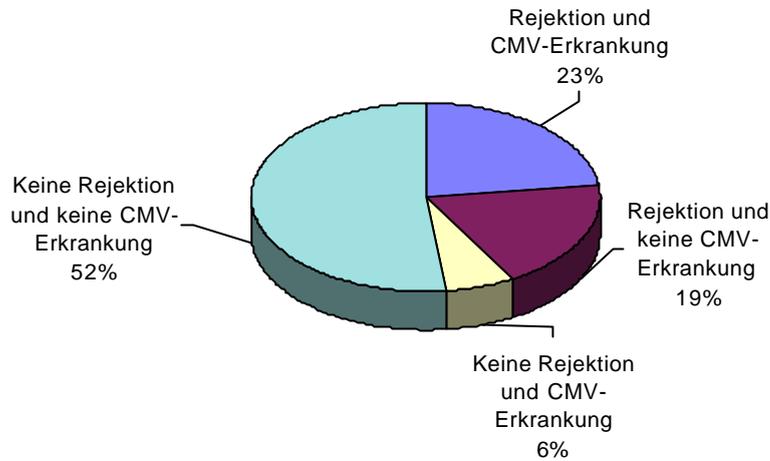


Abb. 11: Transplantatrejektion und CMV-Erkrankung

2. Rejektion und asymptomatische CMV-Infektion

Auch der Zusammenhang zwischen einer asymptomatischen CMV-Infektion und einer Rejektion wurde untersucht, hier ergab sich keine signifikante Korrelation (χ^2 -Test, $p > 0,05$).

Bei insgesamt 20 Patienten konnte eine asymptomatische CMV-Infektion nachgewiesen werden, von diesen durchliefen vier eine Abstoßungsperiode. Von 14 asymptomatischen Patienten ohne Nachweis einer Infektion (keine Antigenämie, negative PCR, unauffällige Serologie) wurde bei fünf Empfängern eine Rejektion gesichert (siehe Tabelle 7).

	asymptomatische CMV-Infektion	keine CMV-Infektion	
Rejektion	4	5	9
Keine Rejektion	16	9	25
	20	14	34

Tab. 7: Asymptomatische CMV-Infektion und Transplantatrejektion

I. CMV und Transplantatfunktion

Zur Beurteilung des akuten Einflusses einer CMV-Infektion oder -Erkrankung auf die Funktion des Nierentransplantates wurde der letzte Serum-Kreatininwert kurz vor Infektion bzw. Erkrankung mit dem maximalen Wert in den zwei darauffolgenden Wochen verglichen. Von 20 Patienten mit asymptomatischer Infektion hatten 10 eine stabile Nierenfunktion (bis $\pm 0,2$ mg/dl), je fünf zeigten eine leichte Verbesserung oder Verschlechterung (bis $\pm 0,5$ mg/dl). In der Gruppe der Patienten mit CMV-Erkrankung (n=14) hatten drei eine stabile Nierenfunktion, vier eine leichte, fünf eine mittlere (bis 2,0 mg/dl) und zwei eine deutliche Funktionsverschlechterung (mehr als 2,0 mg/dl) (Abb. 12). Im Mittel ergab sich bei CMV-Erkrankung ein Anstieg um 0,98 mg/dl ($\pm 0,32$) und

bei CMV-Infektion ein nahezu stabiles Serum-Kreatinin mit einem Absinken um 0,2 mg/dl ($\pm 0,06$), dies ist ein signifikanter Unterschied [Student t-Test ($p < 0,05$)].

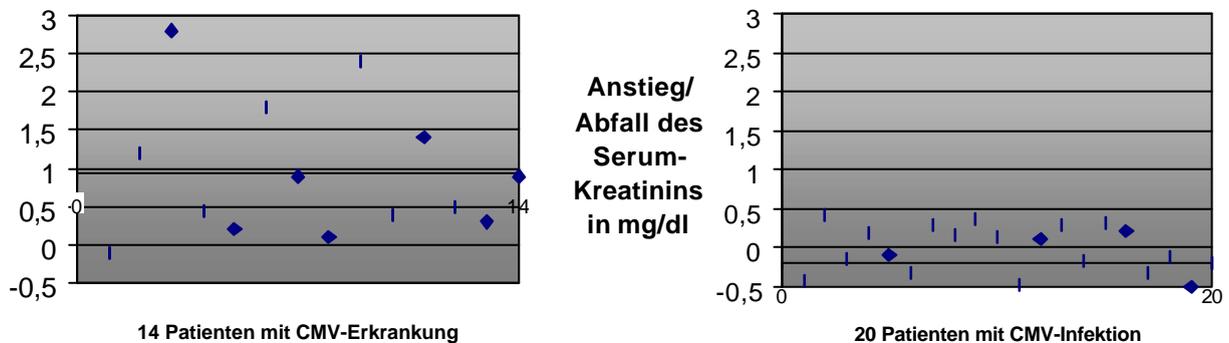


Abb 12: Transplantatfunktion (Veränderung des Serum-Kreatinins in mg/dl) während CMV-Erkrankung (links) oder -Infektion (rechts)

J. Transplantatfunktion nach drei Monaten

1. bei CMV-Erkrankung

Zur Abschätzung der Bedeutung einer CMV-Erkrankung für die langfristige Transplantatfunktion wurde der Wert des Serum-Kreatinins drei Monate post transplantationem in der Gruppe der Patienten mit CMV-Erkrankung (n=14) mit dem der Gruppe ohne CMV-Erkrankung (n=34) verglichen (vgl. Abb 13). Hierbei zeigte sich nach Auswertung mit Hilfe des Student t-Testes ($p < 0,01$), daß die Patienten mit CMV-Erkrankung einen hochsignifikant höheren Serum-Kreatininwert [3,1 mg/dl ($\pm 1,59$) gegenüber 2,0 mg/dl ($\pm 1,37$)] aufweisen, d.h. die Transplantatfunktion war hochsignifikant schlechter.

Nach drei Monaten waren 2 der 14 erkrankten Patienten dialysepflichtig, von den 34 nicht-erkrankten Transplantierten mußten 5 dialysiert werden ($p = \text{n.s. im } \chi^2\text{-Test}$).

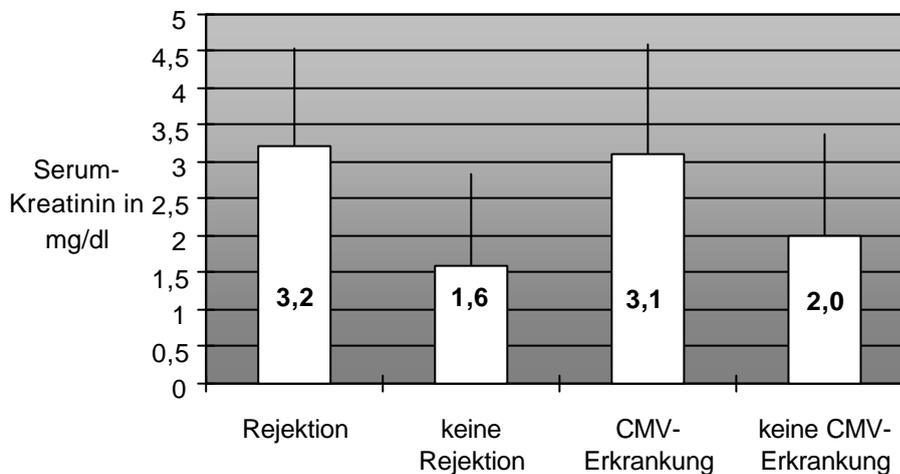


Abb. 13: Transplantatfunktion (Mittelwerte des Serum-Kreatinins in mg/dl) nach 3 Monaten bei Rejektion und CMV-Erkrankung

2. bei Rejektion

Die Serum-Kreatininwerte wurden aber auch in Abhängigkeit vom Auftreten einer Rejektion innerhalb des Beobachtungszeitraums ausgewertet (siehe Abb. 13). Hierbei ergab sich für das Kollektiv der Patienten, die eine Abstoßungsreaktion durchliefen (n=20), mit 3,2 mg/dl ($\pm 1,34$) ein hochsignifikant höherer Wert als für die Patienten, bei denen keine Abstoßung gesichert wurde [n=28, 1,6 mg/dl ($\pm 1,23$)] (Student t-Test, $p < 0,01$).

Nach drei Monaten waren 6 der 20 Patienten mit akuten Rejektionsepisoden dialysepflichtig, von den 28 anderen Organempfängern mußte 1 Patient dialysiert werden ($p < 0,05$, $\chi^2\text{-Test}$).

K. Antivirale Therapie mit Ganciclovir

14 Patienten zeigten eine CMV-Erkrankung und wurden intravenös mit Ganciclovir therapiert (abhängig von der Nierenfunktion zweimal täglich 75 bis 250 mg i.v.), nach durchschnittlich 12,3 Tagen wurde die Therapie bei negativem pp65 und negativer PCR auf orale Gaben (500 bis 1500 mg/d p.o. für im Mittel weitere 44 Tage) umgestellt (Abb. 14).

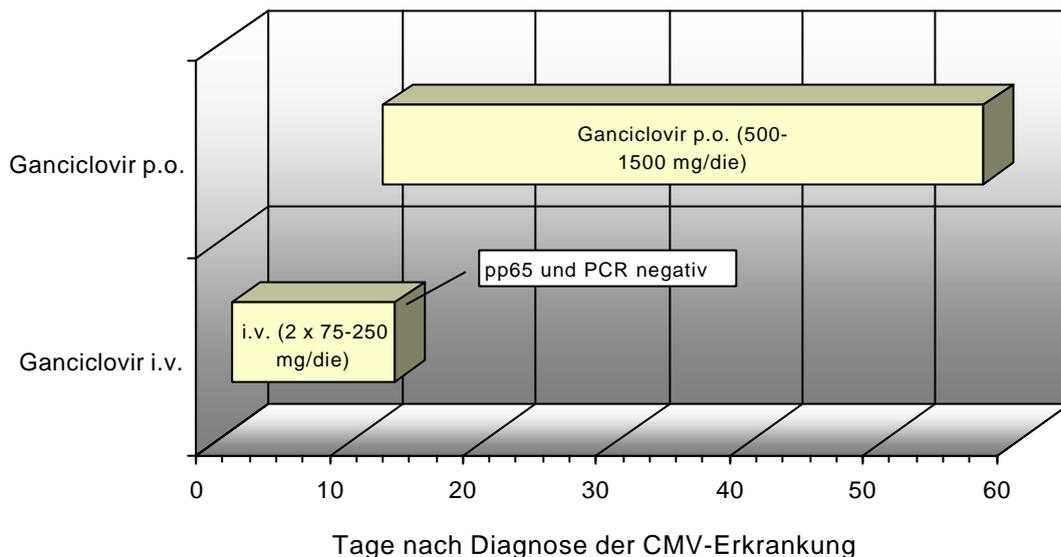


Abb. 14: Ganciclovir-Therapie nach Diagnose der CMV-Erkrankung

Alle Patienten zeigten hierunter eine deutliche Besserung der CMV-Symptomatik (Fiebersenkung, Rückgang der radiologisch nachgewiesenen Infiltrationen, Absinken der Transaminasen, Normalisierung der Laborparameter wie T4/T8-Ratio und negative Ergebnisse bei pp65 und PCR).

Bei drei Patienten kam es unter fortlaufender oraler Gabe von Ganciclovir zu schweren Erkrankungsrezidiven (einmal Ösophagitis mit histologischer Sicherung, zweimal Pneumonie), die eine erneute stationäre Aufnahme und intravenöse Gaben von Ganciclovir nötig machten. Bei zwei dieser Patienten war das pp65 wieder nachweisbar, bei dem dritten Patienten konnte bereits zwei Wochen vor der klinischen Manifestation mittels PCR CMV-DNA in peripheren Leukozyten amplifiziert werden. Serologisch fiel bei allen drei Patienten zwei bis drei Wochen nach klinischer Manifestation ein CMV-IgG-Titeranstieg um drei oder mehr Titerstufen auf.

Unter der erneuten intravenösen Therapie waren klinische und laborchemische Infektionszeichen wieder rückläufig, pp65 und DNA-PCR blieben im weiteren Verlauf negativ.

L. CMV-Erkrankung und HLA-Eigenschaften

Die CMV-Erkrankung wurde in Beziehung gesetzt zum Auftreten bestimmter human-leucocyte-antigen-(HLA)-Eigenschaften bei den Organempfängern und auch bei den Organspendern. Mittels χ^2 -Test wurde auf einen signifikanten Unterschied der Häufigkeit der einzelnen HL-Antigene in der Gruppe der Patienten mit CMV-Erkrankung (n=14) zu der Gruppe ohne CMV-Erkrankung (n=34) untersucht.

Für keines der Antigene der analysierten Untergruppen A, B und DR ergab sich eine signifikante Korrelation zum Auftreten der CMV-Erkrankung.

Beispielhaft zeigen die folgenden Tabellen 8 und 9 die Anteile der jeweils 2 häufigsten Antigene pro Untergruppe.

	CMV-Erkrankung (n = 14)	Keine CMV-Erkrankung (n = 34)	alle Patienten (n = 48)	
HLA-A1	1	6	7	p = n.s.
HLA-A2	2	10	12	p = n.s.
HLA-B7	3	8	11	p = n.s.
HLA-B44	2	6	8	p = n.s.
HLA-DR1	2	8	10	p = n.s.
HLA-DR11	2	7	9	p = n.s.

Tab. 8: HL-Antigene der Organempfänger und CMV-Erkrankung

	CMV-Erkrankung (n = 14)	Keine CMV-Erkrankung (n = 34)	alle Patienten (n = 48)	
HLA-A1	2	6	8	p = n.s.
HLA-A4	2	10	12	p = n.s.
HLA-B7	3	9	12	p = n.s.
HLA-B44	1	6	7	p = n.s.
HLA-DR7	1	6	7	p = n.s.
HLA-DR11	2	10	12	p = n.s.

Tab. 9: HL-Antigene der Organspender und CMV-Erkrankung

M. Fallbeispiele

1. Patientin E.S.

Bei der 55-jährigen Patientin E.S. führte eine Lupus-Nephritis zur terminalen Niereninsuffizienz, die eine Hämodialyse-Behandlung über insgesamt sieben Jahre notwendig machte. Es wurde eine allogene Leichennierentransplantation durchgeführt.

Sowohl Spender als auch Empfänger wiesen CMV-IgG-Antikörper auf, jeweils ein Mismatch auf HLA-A, HLA-B und HLA-DR, negatives Cross-Match. Die immunsuppressive Therapie bestand aus Cyclosporin A und Kortikosteroiden.

Das Transplantat nahm in den ersten Tagen noch nicht die Funktion auf, bis Tag 21 wurde weiter hämodialysiert. CMV-Serologie und pp65 waren direkt postoperativ und an den Tagen 15 und 29 negativ. Die PCR war postoperativ und am Tag 15 negativ, zeigte aber am Tag 29 erstmals einen positiven Nachweis von CMV-DNA.

Am 31. Tag kam es zu Temperaturanstieg bis 38,4 °C verbunden mit Arthralgien, Myalgien und zunehmender Dyspnoe. Laborchemisch waren ein Abfall der Leukozyten von 6.500/μl auf 2.800/μl und ein Absinken der T4/T8-Ratio auf 0,9 nachweisbar. Am Tag 32 wurde ein pp65-Nachweis geführt, die Serologie zeigte signifikante Titeranstiege (IgG und KBR) und ein positives IgM. Unter Verdacht auf eine CMV-Erkrankung wurde eine 14-tägige intravenöse Ganciclovir-Therapie eingeleitet (175 mg/d).

In zeitlichem Zusammenhang mit dieser Episode kam es zu einem Anstieg des Serum-Kreatinins von 2,4 mg/dl auf 3,7 mg/dl, sodaß bei Verdacht auf eine Abstoßungsreaktion am Tag 31 eine Nierenbiopsie durchgeführt wurde. Prof. Helmchen (Institut für Pathologie, Universität Hamburg) diagnostizierte eine Transplantat-Glomerulitis und eine mittelgradige floride vaskuläre Rejektion. Differentialdiagnostisch war auch an eine renale Beteiligung bei CMV-Infektion zu denken, immunhistochemisch konnte jedoch kein virales Material nachgewiesen werden.

Ohne weitere spezifische Rejektionstherapie sank das Serum-Kreatinin unter der Ganciclovir-Therapie wieder auf Werte um 1,4 mg/dl, das klinische Bild der Patientin besserte sich zunehmend und die laborchemischen Parameter normalisierten sich. Im Laufe der weiteren Beobachtungsperiode blieben pp65-Nachweis, PCR und Serologie unauffällig.

2. Patient M.R.

Nach 4 Jahren Hämodialyse bei terminaler Niereninsuffizienz auf dem Boden einer nicht weiter differenzierten Glomerulonephritis wurde bei dem Patienten M.R. eine allogene Leichennierentransplantation durchgeführt. Es bestanden je ein Mismatch auf HLA-A und HLA-DR, zwei Mismatches auf HLA-B, die CMV-Konstellation war D+/R+, das Cross-Match war negativ. Die immunsuppressive Therapie bestand aus Cyclosporin A, Kortikosteroiden und Mykophenolat-Mofetil.

Das Transplantat nahm seine Funktion direkt auf, es entwickelte sich eine gute Diurese und das Serum-Kreatinin sank auf Werte um 1,4 mg/dl, sodass der Patient postoperativ keiner weiteren Hämodialyse bedurfte.

Nach drei Wochen kam es jedoch zu klinischen Zeichen einer Abstoßungsreaktion mit einem Anstieg des Serum-Kreatinins auf maximal 3,3 mg/dl. Am Tag 24 wurde eine Nierenbiopsie durchgeführt, in der eine mittelschwere interstitielle Rejektion gesichert werden konnte. Daraufhin wurde eine fünftägige (Tag 26-30) Kortikosteroidstoßtherapie (250 mg Methyl-Prednisolon i.v./die) eingeleitet, unter der es zu einer deutlichen Verbesserung der Transplantatfunktion kam, es wurden keine Hämodialysen notwendig und das Serum-Kreatinin lag bei 1,8 mg/dl.

Die CMV-Diagnostik (Serologie, PCR und pp65) war bis dahin unauffällig und auch klinisch gab es keinen Anhalt für eine CMV-Erkrankung. Am Tag 32 gelang mittels PCR erstmalig der Nachweis viraler DNA bei negativem early-Antigen-Test, es wurde bei fehlender Klinik jedoch noch keine antivirale Therapie eingeleitet. Eine weitere Kontrolle ergab am Tag 45 positive

Ergebnisse in der PCR und für das pp65, zwei Tage später ergaben sich radiologisch und klinisch bei Verschlechterung des Allgemeinzustandes (Temperatur axillär bis 38,7 °C, Dyspnoe, Arthralgien) Hinweise für eine interstitielle Pneumonie, die T4/T8-Ratio lag bei 0,9. Die Transplantatfunktion blieb stabil mit Serum-Kreatinin-Werten um 1,7 mg/dl.

Eine sofort eingeleitete intravenöse Ganciclovir-Therapie (500 mg/d) führte zur Besserung der klinischen Symptomatik mit Entfieberung, ein Röntgenbild des Thorax zeigte nach 9 Tagen eine deutliche Abnahme der interstitiellen Zeichnungsvermehrung und die CMV-Diagnostik blieb im weiteren Verlauf negativ. Nach 12 Tagen wurde die antivirale Therapie auf orale Gaben (3 x 1000 mg/die) umgestellt und noch 4 Wochen beibehalten.

IV. Diskussion

Im Erfassungszeitraum vom 28. Mai 1996 bis zum 25. November 1996 wurden 55 Nierentransplantationen in den Medizinischen Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt. Aufgrund von perakuten Abstoßungsreaktionen mit folgender Organexplantation (n=5) und wegen fehlender follow-up Ergebnisse (n=2) flossen die Resultate der Untersuchungen an 48 Patienten in die Auswertung ein. Die Datenerfassung wurde am 20. Februar 1997 beendet.

Ziel der Untersuchung war eine Bestandsaufnahme hinsichtlich der Bedeutung von CMV-Infektionen nach Nierentransplantation. Dabei waren die Inzidenz der CMV-Infektion und -Erkrankung, die Relevanz der immunsuppressiven und antiviralen Therapie, die Validität der verschiedenen laborchemischen Parameter sowie eine mögliche Korrelation von CMV-Infektion und Transplantatrejektion von besonderem Interesse.

Die Bedeutung der CMV-Erkrankung nach Nierentransplantation unterstreicht eine vieldiskutierte Untersuchung von McCarthy et al. (1993). Hier wurde festgestellt, dass bei Organempfängern mit CMV-Erkrankung im Mittel 31 zusätzliche stationäre Behandlungstage erforderlich waren und die Krankenhauskosten das 2,9fache derer von Patienten ohne CMV-Erkrankung betragen.

Die Verteilung der CMV-Konstellationen - wie in Abb. 3 (S. 30) dargestellt - spiegelt zum einen die Verbreitung des Cytomegalievirus in der allgemeinen Bevölkerung wieder und zum anderen die erhöhte Durchseuchungsrate im Kollektiv der Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Mit einer Inzidenz von 0,29 liegt die CMV-Erkrankung im untersuchten Kollektiv in dem Bereich, der auch von anderen Autoren angegeben wird [z. B. 0,33 (Eriksson 1996)].

A. Risikogruppen

Nach den vorliegenden Ergebnissen lassen sich drei Risikogruppen für eine CMV-Erkrankung definieren.

Hierzu zählt insbesondere der Anteil der Organempfänger, die im Rahmen der Organtransplantation eine Erstinfektion durchmachen. In dieser Untersuchung erkrankten zwei Drittel dieser Patienten gegenüber nur einem Drittel der übrigen Patienten, wie auch bereits von verschiedenen Autoren vorbeschrieben. Je nach Arbeitsgruppe ist die Inzidenz der CMV-Erkrankung in dieser Gruppe zwei- bis achtfach erhöht (Charpentier 1985, Eckart 1997, Eriksson 1996, Kathawalla 1996). Eine endogene Reaktivierung der CMV-Infektion ist in ihrer klinischen Manifestation durch die bereits vor Immunsuppression stattgehabte Feiung mit Antikörperbildung in der Regel wesentlich geringer ausgeprägt als die Erstinfektion (Eriksson et al. 1996).

Auch der Grad der Immunsuppression bestimmt wesentlich das Risiko für das Auftreten einer CMV-Erkrankung (Reddehase 1995, Yeung et al. 1998). Newstead (1995) hebt die Bedeutung von mono- und polyklonalen Antilymphozyten-Globulinen als wichtigstem Risikofaktor hervor. Schnülle et al. (1998) sowie Hodge (1996) berichteten über eine erhöhte Inzidenz von CMV-Infektionen und organinvasiven insbesondere gastrointestinalen CMV-Erkrankungen unter Mykophenolat-Mofetil. Auch wir konnten zeigen, daß die Rejektionstherapie mittels Kortikosteroidstoß über 5 Tage (250 mg Methyl-Prednisolon i.v/die) und ebenso die Mykophenolat-Mofetil-Therapie zu einer erhöhten Inzidenz der Erkrankung führten (jeweils signifikant im χ^2 -Test für $p < 0,05$). Von den 14 erkrankten Patienten hatten 11 zuvor eine spezifische Rejektionstherapie erhalten, die anderen drei Patienten erhielten Mykophenolat-Mofetil im Rahmen des immunsuppressiven Basisregimes. Daneben wurden OKT3 (1 Patient, 1 erkrankte), Anti-Lymphozyten-Globuline (2 Patienten, 1 erkrankte) und FK506 (3 Patienten, alle erkrankten) eingesetzt. Aufgrund der geringen Patientenzahl kann jedoch keine statistische Bewertung erfolgen. In der Literatur wird jedoch für Patienten mit diesen Immunsuppressiva eine erhöhte Inzidenz von CMV-Erkrankungen beschrieben (Gomez et al. 1996, Schnülle et al. 1998, Turgeon et al. 1998, Yeung et al. 1998).

Erwartungsgemäß erhöhte also eine verstärkte Immunsuppression das Risiko für das Auftreten der opportunistischen CMV-Erkrankung (Bach 1997).

Die von einigen Autoren beschriebene erhöhte Inzidenz von CMV-Erkrankungen bei Patienten mit bestimmten HLA-Eigenschaften (z.B. HLA-DR 7 [Kraat et al. 1994]) oder Empfängern von Organen mit bestimmten HLA-Eigenschaften (z.B. HLA-B7 [Boland et al. 1993]) konnte von uns nicht bestätigt werden.

B. CMV und Rejektion

Der Zusammenhang zwischen einer CMV-Infektion oder -Erkrankung und dem Auftreten einer Transplantatrejektion wird immer wieder kontrovers diskutiert. Oft konnte eine Korrelation nachgewiesen werden, die Kausalität bleibt unklar. Erklärungsansätze beruhen darauf, dass CMV entweder die Rejektion triggert oder eine latente Virusinfektion im Rahmen der Rejektion reaktiviert wird.

Bouedjoro-Camus et al. berichteten 1999 über eine matched-pair-Studie mit 192 Patienten, bei der keine Korrelation zwischen einer CMV-Infektion und einer akuten Rejektion nachweisbar war. Eine CMV-Erkrankung erhöhte das Risiko einer akuten Transplantatabstoßung jedoch um den Faktor 6 (Odds ratio 5,98). Sie interpretierten dieses erhöhte Risiko pathogenetisch als Ausdruck der systemischen inflammatorischen Reaktion im Rahmen der CMV-Erkrankung.

In Übereinstimmung mit den Daten von Bouedjoro-Camus konnte kein Zusammenhang zwischen der asymptomatischen CMV-Infektion und einer akuten Rejektion nachgewiesen werden ($p = \text{n.s.}$). Ebenso korrelierten das Auftreten einer CMV-Erkrankung und eine Rejektion des Transplantates im untersuchten Patientenkollektiv signifikant ($p < 0,05$). Allerdings trat die Erkrankung im Mittel erst 18,1 ($\pm 2,1$) Tage nach Diagnose der Abstoßung und 17,8 ($\pm 2,3$) Tage nach Beginn der spezifischen Rejektionstherapie auf. Außerdem korrelierte die Abstoßungstherapie zum gleichen Signifikanzniveau mit dem Auftreten der CMV-Erkrankung. Der zeitliche Ablauf legt die Vermutung nahe, dass die CMV-Infektion nicht als kausaler Faktor für die Rejektion anzusehen ist, sondern daß die CMV-Erkrankung durch die erweiterte Immunsuppression begünstigt wurde. Für diesen Erklärungsansatz spricht unter anderem auch der Verlauf beim Patienten M.R. (vgl. Fallbeispiel 2, S. 44) mit erstmaligem Nachweis viraler DNS sechs Tage nach Beginn einer Abstoßungstherapie. (vgl. Bach 1997)

Allerdings besteht auch die Möglichkeit, daß die Rejektion bereits Ausdruck einer anderweitig noch nicht faßbaren CMV-Infektion war und erst die Rejektionstherapie dann zur klinisch und laborchemisch gesicherten CMV-Erkrankung führte. Die Probleme der histologischen Differentialdiagnose zwischen CMV-assoziiierter Transplantatschädigung und akuter Rejektion

wurden bereits vielfach beschrieben (Herrera et al. 1986, Kashyap et al. 1999) und traten zum Beispiel auch bei der Patientin E.S. auf (Fallbeispiel 1, S. 43). In diesem Zusammenhang berichten unter anderem The et al. (1992) über eine erhöhte Inzidenz von Transplantat-Rejektionen bei CMV-Antigenämie, Eriksson et al. (1996) konnten aber keine Unterschiede bezüglich des graft survival in Abhängigkeit vom Auftreten einer CMV-Infektion oder -Erkrankung feststellen.

Mittels DNA-PCR wurden 34 Nierenbiopsate mit der Diagnose akute Rejektion sowie 18 Gewebeprobe von obduzierten „nierengesunden“ Patienten auf CMV-DNA untersucht. 14 (41 %) der Transplantatbiopsate und 4 (22%) der normalen Nierengewebeprobe waren positiv. Markovic-Lipkovski et al. (1992) deuten den relativ hohen Anteil der positiven Befunde bei Leichennieren als Ausdruck der Viruspersistenz und Hinweis auf die Bedeutung der Niere als Infektionsort. Dass in 41 % der Biopsate mit Rejektion CMV-DNA nachweisbar ist, lässt auf eine Rolle des CMV als Modulator der Abstossungsreaktion schliessen.

Die partielle Homologie viraler Proteine zu HLA-Molekülen der Klassen I und II (insbesondere HLA-DR β -Kette und immediate early-2-Protein) dient als Grundlage eines Ansatzes, der die Korrelation von Rejektion und CMV-Erkrankung durch die Induktion einer sowohl gegen die Virus-Proteine als auch gegen Zellen mit den spezifischen HLA-Eigenschaften (z.B. im Nierentransplantat) gerichteten Immunantwort im Rahmen der CMV-Infektion erklärt. Demnach präsentieren infizierte Zellen die viralen Proteine auf der Plasmamembran, wodurch spezifische zytotoxische T-Zellen aktiviert werden. Diese Immunantwort richtet sich aufgrund der Homologie jedoch auch gegen Zellen des Transplantates, sodass eine durch die CMV-Infektion getriggerte Transplantatabstoßung erklärt werden könnte (Emery und Griffiths 1990).

Es wird auch eine Erhöhung der Antigen-Eigenschaften des Transplantates durch die CMV-Infektion vermutet, der Pathomechanismus ist bislang jedoch noch nicht genau geklärt (Markovic-Lipkovski et al. 1992). CMV induziert unter anderem eine vermehrte Expression von Glykoproteinen auf der Oberfläche von infizierten Zellen, die eine Sequenzhomologie zum β_2 -Mikroglobulin der HLA-Klasse-I-Antigene aufweisen (Link et al. 1990).

Van Dorp et al. (1993) wiesen an Kulturen von Epithelzellen des proximalen Tubulus sowohl nach Zytokin-Stimulation als auch bei CMV-Infektion eine erhöhte intercellular adhesion molecule-1- (ICAM-1) und MHC-Molekül-Expression nach.

Außerdem führt die inflammatorische Reaktion durch die CMV-Infektion im Bereich der Niere zur Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen (vascular adhesion molecule-1 [VCAM-1]) (Yilmaz et al. 1996). Alloreaktive zytotoxische T-Zellen binden über Rezeptoren an diese Zellen und könnten so zur Rejektion des Transplantates führen (Meyer et al. 1994). Die Verbesserung der Transplantatfunktion und auch histologischer Rejektionszeichen vieler Patienten während der Ganciclovir-Therapie spricht für diese Theorie (Tilney 1999).

Reinke et al. (1994) konnten einen erhöhten Anteil HLA-DR-positiver T-Zellen (> 10 %) sowohl im Rahmen von CMV-Infektionen als auch bei akuten Transplantat-Abstoßungen nachweisen, ein kausaler Zusammenhang ist bis dato nur diskutiert worden. Die Ähnlichkeit der immunologischen Reaktionen legt aber eine mögliche direkte oder indirekte Kreuzreaktion zwischen CMV-Infektion und Rejektion nahe. Patienten mit akuter Rejektion bis zu einem Jahr nach Nierentransplantation, die nicht auf die übliche Therapie ansprach, zeigten eine Korrelation zu klinisch asymptomatischer CMV-Infektion (82 % PCR-positiv, 42 % Antigenämie), nach antiviraler Therapie mit Ganciclovir war die Transplantatfunktion stabil. Dies legt einen kausalen Zusammenhang zwischen CMV-Infektion und Rejektion nahe.

Auch Fellström et al. stellen in einer Übersicht (1999) die Bedeutung der CMV-Infektion für die chronische Rejektion heraus. Im Rattenmodell (Inkinen 1999, Lautenschlager et al. 1997) konnte gezeigt werden, dass CMV-Infektionen die Kollagen-Synthese im Nieren-Transplantat erhöhen und damit zu einer verstärkten Fibrose und chronischen Rejektion führten. Tilney (1999) weist hier auf die typische subendotheliale inflammatorische Reaktion im Rahmen der CMV-Infektion hin, die den Veränderungen bei Rejektionen mit Transplantat-Arteriosklerose (Lautenschlager et al. 1997) ähnelt.

Eine Klärung dieses Zusammenhanges kann nur durch weitere Untersuchungen erfolgen.

C. CMV und Transplantatfunktion

In engem Zusammenhang mit der Diskussion um die Bedeutung des CMV für das Rejektionsgeschehen steht die Auswirkung auf die akute und dauerhafte Transplantatfunktion. Von vielen Autoren wird eine Verschlechterung der Transplantatfunktion im Rahmen einer CMV-Erkrankung (The et al. 1992) beschrieben. Als Differentialdiagnose bei Fieber und abnehmender Transplantatfunktion werden CMV-Erkrankung und akute Rejektion genannt. Die sogenannte CMV-Glomerulopathie im Transplantat mit mononukleären Zellen, Obliteration von Kapillarlumina durch PAS-positive Fibrillen und geschwollenen Endothelzellen ist histologisch nur schwer von der Transplantatglomerulitis abzugrenzen. Der sichere Nachweis von CMV als ätiologischem Faktor ist bislang noch nicht geführt worden (Detwiler et al. 1998). CMV-assoziierte Viruseinschlußkörperchen treten zum Beispiel in weniger als 1 % der Transplantatnieren-Biopsate auf (Kashyap 1999). Gesichert ist, dass CMV zu einer proliferativen Glomerulonephritis führen kann, wie z.B. bei Kindern mit kongenitaler CMV-Infektion.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen im Einklang mit diesen Veröffentlichungen, dass sich die Nierenfunktion im Rahmen der CMV-Erkrankung im Gegensatz zur asymptomatischen Infektion tendentiell verschlechtert (vgl. Abb. 12), inwieweit diese Verschlechterung jedoch nur passager ist (wie zum Beispiel von Richardson et al. 1981 beschrieben) kann nicht eindeutig beurteilt werden. Zwar ist die Transplantatfunktion bei den Patienten mit CMV-Erkrankung am Ende des Beobachtungszeitraums hochsignifikant schlechter als bei Patienten, die keine CMV-Erkrankung durchmachten, gleiches gilt aber auch bei Betrachtung der Nierenfunktion in Korrelation mit dem Auftreten einer Rejektion (Abb. 13). Da im Kollektiv der Patienten mit CMV-Erkrankung die Inzidenz der Transplantatabstoßungsepisoden wiederum signifikant höher war als unter den Patienten ohne akute Rejektion in der Beobachtungsphase, ist anhand unserer Ergebnisse nicht eindeutig zu klären, ob die verschlechterte Transplantatfunktion nach 3 Monaten auf die CMV-Erkrankung oder die gehäuften Rejektionen zurückzuführen ist (vgl. Bach 1997).

Von Detwiler et al. wurde 1998 über einen Patienten mit CMV-induzierter nekrotisierender Glomerulonephritis nach Nierentransplantation berichtet. Lichtmikroskopisch waren intraglomeruläre Viruseinschlußkörperchen zu sehen, elektronenmikroskopisch konnten keine

Immunkomplexe nachgewiesen werden, immunhistochemisch gelang der CMV-Nachweis im Biopsiegewebe. Ohne Änderung der immunsuppressiven Therapie und nach 8 Wochen Therapie mit Ganciclovir waren in einer Kontrollbiopsie die glomerulären Veränderungen nicht mehr nachweisbar. Dieser Verlauf deutet wiederum auf eine ätiologische Bedeutung des CMV für die glomerulären Veränderungen hin, ist aber bislang der einzige beschriebene Fall dieser Art.

Anhand von Fünf-Jahres-Resultaten analysierten Tenschert et al. die klinischen Parameter, die die Langzeitfunktion von Nierentransplantaten beeinflussen. Eine CMV-Risikokonstellation und auch eine CMV-Erkrankung im Verlauf blieben ohne signifikanten Einfluss auf die Transplantatfunktion (Tenschert et al. 1997). Schnitzler et al. (1997) dagegen konnten nachweisen, dass Nierentransplantate CMV-seropositiver Spender zumindest bei CMV-seronegativen Empfängern ein signifikant ($p < 0,0002$, Kaplan-Meier) geringeres graft survival zeigen. Morris et al. (1993) dagegen stellten keine höhere Inzidenz des Transplantatversagens bei CMV-Mismatch und CMV-Infektion fest. Morgan et al. (1992) fanden, dass Patienten mit CMV-Erkrankung nach 6 Monaten nur in 50 % ausreichende Transplantatfunktion aufwiesen, jene ohne CMV-Erkrankung waren zu 80 % nicht dialysepflichtig.

Conti (1997) zeigte, dass eine generelle antivirale Prophylaxe mit Ganciclovir (3 Wochen intravenös, 2 Monate oral) nicht nur die Inzidenz der CMV-Erkrankung reduzierte (33 % versus 13 %), sondern auch signifikant ($p < 0,01$) seltener akute Rejektionen auftraten. Das graft survival nach einem Jahr war ebenfalls signifikant besser ($p < 0,01$).

Kashyap et al. (1999) untersuchten die Bedeutung des Nachweises von CMV-Viruseinschlußkörperchen im Transplantat für die Transplantat-Funktion. Hierbei stellte sich heraus, dass alle Fälle von Organverlust durch eine akute Rejektion erklärbar waren, die direkte virale interstitielle Nephritis wurde nicht als kausal angesehen.

Im Institut für Pathologie der Universität Hamburg (Prof. Dr. Helmchen) wurden insgesamt 10 Biopsien von Patienten dieser Untersuchung mittels in-situ-Hybridisierung auf CMV getestet. Es gelang in keiner Probe der Nachweis viralen Materials, auch lichtmikroskopisch waren keine Virus-Einschlußkörperchen nachweisbar. Differentialdiagnostisch wurde jedoch in drei Fällen bei Transplantatglomerulitis der Verdacht auf eine Beteiligung bei CMV-Infektion (pp65

und/oder PCR waren positiv) geäußert. Alle drei Patienten erhielten sowohl eine antivirale als auch Rejektions-Therapie, die Nierenfunktion verbesserte sich in allen drei Fällen. Eine Aussage über die letztliche Ätiologie ist somit nicht möglich.

Schnitzler et al. (1997) und Morris et al. (1993) schätzen die Bedeutung des CMV für graft- und Patienten-survival jedoch in der Ganciclovir-Zeit als nicht so bedeutend ein. Deswegen wird von ihrer Seite ein CMV-Matching im Rahmen der Organallokation eher zurückhaltend beurteilt.

D. Diagnostik

Im Rahmen dieser prospektiven Untersuchung wurde im Transplantationszentrum Düsseldorf unter standardisierten Bedingungen ein regelmäßiges virologisches Screening durchgeführt, das neben der CMV-Serologie eine Bestimmung des viralen pp65-early-antigens sowie eine CMV-DNA-PCR umfaßte. Regelmäßig heisst, dass direkt nach Nierentransplantation sowie alle zwei Wochen im Beobachtungszeitraum die Laborparameter kontrolliert sowie die Patienten klinisch untersucht wurden. Bei Verdacht auf eine Rejektion oder CMV-Infektion wurden die Kontrollintervalle verringert. Somit kann ein Vergleich der beiden molekularbiologischen Methoden hinsichtlich ihrer diagnostischen Wertigkeit erfolgen.

Für die CMV-DNA-PCR wurde von vielen Autoren eine Diagnose der CMV-Infektion vor klinischer Manifestation beschrieben, im Mittel 16 bis 8 Tage (Abecassis et al. 1996). Im Rahmen dieser Untersuchung lag der Zeitraum zwischen positivem PCR-Befund und CMV-Erkrankung durchschnittlich bei 5,1 (\pm 1,3) Tagen, der pp65-Nachweis jedoch gelang im Mittel 7,1 (\pm 1,9) Tage nach Beginn der CMV-Erkrankung. Die CMV-DNA-PCR bietet also in besonderem Maße die Möglichkeit, im Rahmen eines Screenings der Patienten einen Beginn der antiviralen Therapie bereits vor klinischer Manifestation festzulegen. Im Falle einer bereits aufgetretenen Erkrankung mit hochgradigem Verdacht auf CMV als Ätiologie ist der pp65-Nachweis aufgrund seiner Schnelligkeit (6 h gegenüber der PCR mit mindestens 30 h) von Vorteil, denn in dieser Situation ist ein schneller Therapiebeginn entscheidend für den weiteren Krankheitsverlauf. Außerdem wird das early-antigen nur im Falle einer aktiven Infektion exprimiert, virale DNA ist hingegen auch im Stadium der Latenz (zum Beispiel bei bis zu 20 %

gesunder Probanden [Meyer et al. 1994]) nachweisbar. Hier ist eine Quantifizierung der Viruslast diagnostisch wegweisend (Lautenschlager 1993).

Bei allen erkrankten Patienten konnte mindestens ein positives Testresultat erzielt werden, bei lediglich 4 falsch positiven Ergebnissen. Im Gegensatz dazu lieferte die Serologie bei 33 Transplantierten Hinweise auf eine CMV-Infektion (meist im Rahmen einer endogenen Reaktivierung ohne klinische Manifestation), davon erkrankten lediglich 13 Patienten. Somit ist die Serologie zu wenig spezifisch hinsichtlich der Diagnose der CMV-Erkrankung. Außerdem liegen positive serologische Befunde in der Regel erst zu einem relativ späten Zeitpunkt vor (Cofer et al. 1991)

Die Spezifität hinsichtlich des Auftretens einer CMV-Erkrankung lag mit 0,97 für das pp65-early-antigen und mit 0,91 für die CMV-DNA-PCR in einem für die klinische Anwendung durchaus üblichen Rahmen. Die Sensitivität beider Parameter (0,79 für pp65 bzw. 0,64 für CMV-PCR) war jedoch vergleichsweise niedrig, so dass bei Anwendung nur einer der beiden Methoden ein relativ großer Anteil von Patienten der Diagnostik entgeht. Segondy et al. (1996) konnten für ihren PCR-Ansatz in eigenen Untersuchungen eine Sensitivität von 100 % erreichen, Unterschiede in der Methodik (anderer Primer, Methode der DNA-Isolation) mögen dies erklären.

Eine weitere Ursache für diese relative Einschränkung der Methodik kann im Studiendesign gesehen werden, da nur alle zwei Wochen planmäßig eine Kontrolle der Parameter erfolgte. Autoren, die bessere Werte für Sensitivität und prädiktive Werte erreichen konnten, haben in der Regel die Intervalle auf maximal eine Woche limitiert (Toyoda et al. 1997, Imbert-Marcille et al. 1997, The et al. 1992). In dieser Untersuchung haben wir uns aus Kosten- und Kapazitätsgründen der Laboratorien auf größere Intervalle beschränken müssen.

Der positive prädikative Wert hinsichtlich einer CMV-Erkrankung lag für das pp65 bei 0,92, für die PCR bei 0,75, Abecassis et al. (1996) konnten mit der PCR nur Werte von 0,55 erreichen. Dieser Wert ist insbesondere für die Entscheidung zur sogenannten „preemptive therapy“ wichtig, da nur bei hoher Wahrscheinlichkeit einer folgenden CMV-Erkrankung auch eine antivirale Therapie indiziert ist.

Koffron et al. (1997) zeigten bei verstorbenen CMV-seropositiven Patienten, dass bei negativer PCR aus peripheren Blutleukozyten (PBL) mittels in-situ-Hybridisierung an Organproben ein DNA-Nachweis möglich war. Hierbei war die höchste Viruslast im Lungengewebe nachweisbar, im Nierengewebe war sie deutlich niedriger. Dies wurde als Ausdruck der CMV-Persistenz in den Organen interpretiert, die PCR aus PBL war jedoch stets negativ bei fehlender Reaktivierung.

Die PCR wurde immer wieder wegen ihrer hohen Sensitivität als zu sensitiv und zu wenig spezifisch im Hinblick auf eine CMV-Erkrankung kritisiert, in Abhängigkeit von Primer, Cyclor-Dauer und anderen methodischen Parametern kann diese jedoch modifiziert werden. Toro und Ossa (1996) gelang zum Beispiel der Nachweis von CMV-DNA bei gesunden seropositiven Patienten in Stresssituationen (Überarbeitung) und auch bei oralen Herpes simplex-Virus (HSV)-Läsionen. Es kann also auch zu mit der PCR erfassbaren subklinischen Reaktivierungen kommen. Jedoch liegt die Viruslast bei diesen Verläufen wesentlich niedriger als zum Beispiel bei Nierentransplantierten, die eine CMV-Erkrankung durchmachen. Durch die adäquate Definition insbesondere des Cut-off-Bereiches spezifisch für jeden PCR-Ansatz (Cirocco et al. 1999) und den Verlauf der Viruslast liegen die entscheidenden Hinweise auf den Infektionsverlauf vor. Die Spezifität kann so durchaus 0,90 erreichen.

Immer wieder wird auch die Bedeutung der Lagerung der Proben für den PCR-Ansatz diskutiert. Roberts et al. (1997) verglichen PCR-Ergebnisse nach Lagerung bei Raumtemperatur und bei 4 °C sowie Intervallen von 0 h, 6 h, 24 h, 48 h und 72 h zwischen Blutentnahme und Beginn der Aufarbeitung miteinander. Die PCR blieb immer positiv und auch die quantitativen DNA-Mengen blieben gleich unabhängig von Temperatur und Lagerdauer. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden die Blutproben für pp65 und PCR spätestens 3 h nach Blutentnahme aufgearbeitet um mögliche Beeinträchtigungen gering zu halten.

Für die Antigenämie-Diagnostik zum Nachweis des pp65 stehen verschiedene kommerzielle Antikörper zur Verfügung. Die beiden häufigsten sind Argene Biosoft 1C3 und Biotest C10,C11 (in dieser Untersuchung genutzt). George (1997) verglich diese beiden Antikörper miteinander. Mit 1C3 konnte eine bessere Sensitivität erreicht werden, die Anzahl positiver Zellen war signifikant höher (Wilcoxon, $p < 0,001$), und es gelang der Nachweis von pp65 bei Proben, bei denen mit C10, C11 kein Nachweis möglich war. Allerdings wurde von Gerna

1996 auf dem International Consensus Symposium on Advances in the Diagnosis, Treatment and Prophylaxis of CMV-Infection (Fort Myers) berichtet, dass kein relevanter Unterschied in den kommerziell erhältlichen Ansätzen besteht.

Zweyberg et al. (1996) kommen aufgrund eigener Untersuchungen zu dem Schluß, dass alle CMV-seropositiven Patienten und jene mit CMV-Risikokonstellation (D+/R-) zumindest in den ersten 8 Wochen nach Transplantation einem Monitoring unter Einschluß von pp65- und CMV-DNA-Nachweis mittels PCR unterzogen werden sollten, um hier eine preemptive Therapie bei positiven Testresultaten einleiten zu können.

Hinsichtlich der verschiedenen diagnostischen Möglichkeiten einer CMV-Infektion zeigte sich, dass bei Verdacht auf eine akute CMV-Erkrankung die Kombination der beiden molekularbiologischen Methoden (pp65-Nachweis und CMV-DNA-PCR) zu den besten Ergebnissen führte. Bei Kombination der beiden Methoden lag die Sensitivität hinsichtlich der CMV-Erkrankung bei 1,0 und die Spezifität bei 0,88. Der negative prädiktive Wert betrug 1,0 und der positive prädiktive Wert war 0,77. Auch The et al. (1992) und Plachter (1996) empfehlen die simultane Durchführung beider Methoden um maximalen Nutzen zu haben und um bei gefährdeten Patienten eine schnelle Diagnose mit frühzeitigem Therapiebeginn zu ermöglichen.

Die Ergebnisse machen deutlich, daß beide molekularbiologischen Methoden nebeneinander eingesetzt werden sollten. Alleine bei 8 der 14 Erkrankten gelang ein Nachweis der Infektion lediglich mittels einer der beiden Methoden bei negativem Resultat der anderen Methode. Der Vorteil der PCR liegt insbesondere in der Möglichkeit einer Diagnose bereits vor der klinischen Manifestation (hier im Mittel 5,1 Tage), das pp65 ist besser zur Differentialdiagnose bei unklarem Krankheitsbild geeignet.

Die serologische Diagnostik sollte daneben immer durchgeführt werden, wenn auch in der Regel nur zur retrospektiven Bestätigung der Diagnose.

Westhoff und Grabensee (1994) beschrieben, dass das Absinken der CD4/CD8-Ratio unter einen Grenzwert von 1,0 einen dringenden Hinweis auf eine drohende oder schon aktive CMV-Erkrankung darstellt. Ein Absinken der T4/T8-Ratio unter einen Grenzwert von 1,2 korrelierte zwar auch im untersuchten Patientengut signifikant mit dem Auftreten einer CMV-Erkrankung, die Bedeutung dieses Parameters liegt aber eher in einer Stützung der anderweitig (insbesondere

PCR oder pp65) gesicherten Diagnose. Außerdem kann die T4/T8-Ratio auch im Rahmen anderer insbesondere viraler Infektionen absinken (Döcke et al. 1994). Dieser Wert ist somit relativ unspezifisch.

Sowohl pp65 als auch CMV-DNA-PCR können quantifiziert werden (Anteil fluoreszenzmikroskopisch pp65-positiver Zellen / DNA-Kopien pro μl). Hierdurch ergibt sich neben der in dieser Untersuchung rein qualitativen Diagnose noch die Möglichkeit des Therapiemonitorings. Dabei korrelieren höhere Viruslast bzw. hoher Anteil pp65-positiver Zellen mit höherem Erkrankungsrisiko (Niubò et al. 1996, Poirier-Toulemonde et al. 1997, The et al. 1992). Wie Boivin (1997) und andere (Poirier-Toulemonde et al. 1997) zeigten, sinkt nach Beginn der intravenösen Ganciclovir-Therapie der viral load (als Anzahl der DNA-Kopien in der PCR) signifikant ab. Grossi (1997) fand für die Antigenämie einen vergleichbaren Verlauf. Eine Quantifizierung der DNA-Mengen in PBL ermöglicht auch eine Aussage über die Schwere der Erkrankung und den Krankheitsverlauf (Eckart et al. 1997, Imbert-Marcille et al. 1997). Mas et al. (1999) führten bei 65 Nierentransplantierten regelmäßig eine CMV-PCR durch, 41 Patienten zeigten im qualitativen Ansatz ein positives Testresultat, nur acht Transplantierte erkrankten tatsächlich. Alle 41 positiven Proben wurden ebenso mit einem quantitativen PCR-Ansatz untersucht. Hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Viruslast. Die acht erkrankten Patienten hatten alle eine Viruslast von mehr als 500 Viruskopien / 10^6 PBL, während alle 33 Patienten, die nicht erkrankten unterhalb des Cut-off-Bereiches lagen. Sensitivität und Spezifität dieses quantitativen PCR-Tests lagen im untersuchten Kollektiv bei 100 %. Das Absinken der Viruslast unter antiviraler Therapie korreliert zudem gut mit dem klinischen Verlauf der CMV-Erkrankung (Toyoda et al. 1997). Anderenfalls muß an eine Resistenz des Virusstammes gedacht werden.

Neue Methoden hinsichtlich der Diagnostik der CMV-Infektion sind unter anderem der Nachweis von mRNA (codierend für das immediate-early 1 - antigen) mittels PCR wie von Blok et al. 1999 beschrieben. Die Sensitivität dieses Test lag bei 100 % und der Nachweis gelang im Mittel am 26. Tag nach Transplantation und vor CMV-Erkrankung. Bei pp65 (d 35) und Zellkultur (d 65) konnten erst deutlich später positive Befunde erzielt werden.

E. Therapie der CMV-Erkrankung und -Infektion

Mittel der ersten Wahl zur Therapie der manifesten CMV-Erkrankung ist Ganciclovir (Becker und Schulman 1995). Bei frühzeitigem Therapiebeginn ist in mehr als 90 % der Fälle eine erfolgreiche Therapie mit Ganciclovir möglich (Westhoff und Grabensee 1994). Boivin (1997) konnte nach Beginn der Ganciclovir-Therapie einen deutlichen Abfall der Viruslast mittels PCR nachweisen, Grossi et al. zeigten, dass die Antigenämie 24-48 Stunden nach der ersten Ganciclovir-Gabe stark reduziert wird (Grossi et al. 1997). Tritt dies nicht ein ist an eine primäre Resistenz des Virusstammes zu denken. Bei Organempfängern sind diese Resistenzen selten, AIDS-Patienten sind wesentlich häufiger betroffen (Grossi 1997). In dieser Untersuchung trat bei einem Patienten trotz intravenöser Ganciclovir-Therapie keine klinische Besserung ein, und der pp65-Nachweis blieb positiv (PCR zu allen Zeitpunkten negativ). Unter der klinischen Annahme einer Resistenz wurde die Therapie auf Foscarnet umgesetzt, worunter innerhalb von 5 Tagen eine Besserung eintrat (Entfieberung, pp65 negativ).

Derzeit wird der Zeitpunkt des Behandlungsbeginns kontrovers diskutiert. Die potentiellen Optionen sind Prophylaxe, preemptive therapy (d.h. bei laborchemischen Hinweisen [insbesondere PCR und pp65] auf eine Erkrankung ohne klinische Zeichen) oder antivirale Therapie erst bei klinischer Manifestation z.B. in Form einer Pneumonie.

Eine prospektive Untersuchung konnte zeigen, dass es unter oraler Prophylaxe mit Ganciclovir dreimal 1000 mg/die (bzw. angepasst an die Nierenfunktion) in den ersten 12 Wochen nach Nierentransplantation für alle Patienten zu keiner CMV-Erkrankung kam und nur 11 % der Patienten durchliefen eine asymptomatische CMV-Virämie (Kuypers et al. 1988). Martin und Snyderman (1996) konnten im Rahmen einer randomisierten Studie (n=304) nachweisen, dass eine orale Ganciclovir-Prophylaxe im Vergleich zu Placebo zu einer Reduktion der Inzidenz von CMV-Erkrankungen von 19 % auf 5 % führte. Kuypers et al. empfehlen aus Kostengründen jedoch nur eine orale Prophylaxe für high-risk-Patienten (D+/R-), für alle anderen Patienten mit moderatem Risiko (D+/R+ und D-/R+) wird ein regelmäßiges Screening angeraten mit preemptive intravenöser Ganciclovir-Therapie. Ram Peddi (1997) und Turgeon (1998) sowie Gomez (1996) erweitern die Patientengruppe für prophylaktische Ganciclovir-Gaben noch um solche, die mit Anti-Lymphozyten-Globulinen (ALG) bzw. OKT3 behandelt werden, da auch diese ein höheres Erkrankungsrisiko aufweisen. Turgeon rät hier zu intravenösen Gaben

während ALG-Therapie mit anschließender oraler Administration. Gomez et al. konnten bei Patienten mit OKT3-Therapie im direkten Vergleich die Inzidenz der CMV-Erkrankung von 37,9 % auf 7,7 % reduzieren. Eine Dauer von 100 bis 120 Tagen nach Nierentransplantation wird empfohlen, da in diesem Zeitraum mehr als 90 % der CMV-Erkrankungen auftreten (Ram Peddi et al. 1997). Kürzere Behandlungsdauer (z.B. 3 Wochen) führt zu einer Verlagerung der Erkrankungsinzidenz in einen späteren Zeitraum. Die Inzidenz der CMV-Erkrankung bei Patienten mit ALG-Induktionstherapie sank unter diesem Therapieschema von 24 % auf 10 %, bei ALG-Gabe im Rahmen von Rejektionstherapien konnte eine Reduktion von 64 % auf 22 % erreicht werden.

Brennan et al. (1997) randomisierten Patienten in eine Gruppe mit preemptive therapy (unter wöchentlicher PCR-Kontrolle) und eine Gruppe mit Therapiebeginn erst bei klinischer Manifestation (deferred therapy). Hier gelang eine signifikante Reduktion der Inzidenz der CMV-Erkrankung. Die direkten Therapiekosten waren zwar durch den häufigeren Einsatz des Ganciclovir höher, durch die geringere Erkrankungsinzidenz war aber die gesamte Hospitalisationsdauer geringer. Somit ist also auch unter ökonomischen Gesichtspunkten eine preemptive therapy von Vorteil. Gerade bei der Diskussion um die relativ hohen Kosten von virologischem Monitoring und preemptive therapy muss auch an die von McCarthy et al. (1993) veröffentlichten Daten zu den Kosten der CMV-Erkrankung erinnert werden. Diese ergab eine 2,9fache Steigerung der Krankenhausaufgaben bei Patienten mit CMV-Erkrankung nach Organtransplantation. Somit sind die Kosten für ein relativ teures diagnostisches und therapeutisches Schema oft (neben geringerer Morbidität und Mortalität) niedriger als die durch gehäufte CMV-Erkrankungen verursachten Ausgaben.

Alle Patienten in dieser Untersuchung wurden erst bei klinischem Verdacht **und** laborchemischem/virologischem Infektionsnachweis antiviral therapiert. Im Zeitraum der Untersuchung wurden keine antivirale Prophylaxe und auch keine „preemptive“ Therapie durchgeführt, d.h. kein Patient erhielt alleine aufgrund zum Beispiel eines positiven PCR- oder pp65-Befundes ohne klinische Zeichen einer Infektion Ganciclovir.

Die vorliegenden Ergebnisse jedoch und die Literatur lassen zur Zeit einen Therapiebeginn spätestens bei klinischem Verdacht **oder** aber bei Nachweis der CMV-DNA mittels PCR oder positivem pp65-Befund auch ohne klinisches Korrelat als plausibel erscheinen (hohe Spezifität

dieser Parameter: 0,97 beim pp65 und 0,91 bei der CMV-DNA-PCR). Diese „preemptive“ Therapie führte in vielen Studien zu einer signifikanten Reduktion von Morbidität und Mortalität. Gotti et al. (1996) therapierten alle Patienten mit einem positiven pp65-Antigennachweis mit Ganciclovir intravenös für drei Wochen, bei keinem der 35 Patienten trat eine CMV-Erkrankung auf. Daher wird von dieser Arbeitsgruppe die preemptive Therapie gegenüber der doch bei einem größeren Patientenanteil nötigen prophylaktischen antiviralen Therapie befürwortet.

Die gefürchteten Nebenwirkungen der Ganciclovir-Therapie (Nephrotoxizität und Myelosuppression) treten wesentlich seltener auf als meist angenommen (Gotti et al. 1996). So wiesen viele der Patienten in dieser Untersuchung unter Ganciclovir-Therapie tendentiell eher bessere Nierenfunktionswerte auf. Calvar et al. publizierten 1994 einen Bericht über zwei Patienten, bei denen die im Rahmen der CMV-Erkrankung aufgetretene Leukopenie mit granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) behandelt wurde. Dies ermöglichte eine Therapie mit Ganciclovir ohne Dosisreduktion, da so das Risiko der Nebenwirkung einer weiteren Leukopenie reduziert wurde.

Während der Therapie ist eine weitere virologische, quantifizierbare Diagnostik zur Kontrolle des Krankheitsverlaufs und des Therapieerfolgs indiziert. Eine Quantifizierung der CMV-PCR oder des pp65-Nachweises ist im Rahmen dieser Untersuchung nicht erfolgt, es wurde nur eine rein qualitative Aussage (Nachweis positiv oder negativ) getroffen. Als Parameter zur Messung der Viruslast dienen die Extinktionswerte, die nach der CMV-DNA-PCR durch den anschließenden enzyme-linked immunosorbens assay (EIA) gemessen werden. Dabei korrelieren hohe Extinktionswerte bei quantitativen Versuchsansätzen mit hoher Viruslast. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden versuchsweise einzelne Proben mehrmals untersucht um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu testen. Die Werte lagen immer eindeutig über oder unter dem Cut-off-Bereich, der durch Negativ und Positiv-Kontrollen definiert wurde. Allerdings streuten die Extinktionswerte so, daß wir uns beim hier genutzten Ansatz gegen eine quantitative Aussage entschlossen und nur eine qualitative Aussage trafen.

Eine Reduktion des Anteils der pp65-positiven Leukozyten in der Immunfluoreszenzmikroskopie und ein Absinken der viralen DNA-Mengen in den peripheren

Blutleukozyten sind prognostisch positiv zu bewerten. Bei stabilen oder steigenden Werten unter Ganciclovir-Therapie sowie klinischer Verschlechterung ist an eine Ganciclovir-Resistenz des Virusstammes zu denken und ein Umsetzen der Therapie auf Foscarnet zu erwägen (wie bei einem Patienten in dieser Untersuchung erfolgt).

Über falsch negative Befunde in der Polymerasekettenreaktion unter Ganciclovir-Therapie ist berichtet worden. Der Wirkstoff scheint auch inhibitorische Wirkung auf die für die PCR notwendige Taq-Polymerase zu haben. Dies ist bei plötzlichem Absinken der Viruslast in der PCR unter Ganciclovir-Therapie neben dem eigentlichen Therapieerfolg differentialdiagnostisch zu bedenken (Yedidag et al 1996).

Die Therapie mit Ganciclovir ist bei allen Patienten unter stationären Bedingungen mit intravenösen Gaben (10mg/kg/d bzw. angepaßt an die Kreatinin-Clearance) begonnen worden. Hierunter waren virologische, laborchemische und klinische Befunde rückläufig. Die Therapie wurde bei negativer PCR und negativem pp65 nach mindestens zehntägigen intravenösen auf orale Gaben (500 – 1500 mg/d je nach Kreatinin-Clearance) umgestellt. Von 14 Patienten zeigten drei darunter erneut eine schwere organinvasive CMV-Erkrankung (einmal Ösophagitis, zweimal Pneumonie) mit Nachweis von pp65 und CMV-DNA, die erst unter intravenöser Therapie wieder rückläufig war.

Ähnliche Verläufe wurden von mehreren Autoren unter oraler Ganciclovir-Therapie beschrieben (Humar et al. 1999). Aufgrund geringer Erfahrung mit der oralen Applikationsform werden als Pathomechanismus zu geringe effektive Blut-Spiegel vermutet. Martin und Snyderman (1996) berichten, dass die Bioverfügbarkeit von oralem Ganciclovir nur 10 % der intravenösen Dosis beträgt. Turgeon et al. (1998) raten deswegen zur Gabe von zweimal 1000 mg/die per os. Unter oraler Therapie ist also mit Erkrankungsrezidiven zu rechnen, eventuell muß eine Verlängerung der intravenösen Therapiedauer erwogen werden oder aber eine höhere Dosierung bei oraler Applikationsform.

Zur Zeit laufen diverse Versuche, mittels attenuierter CMV-Stämme (meist Towne strain) einen Impfstoff zu entwickeln. Bisher war in klinischen Versuchen durch die noch replizierenden Viren nur die Schwere der CMV-Erkrankung beeinflusst worden. Die Inzidenz der CMV-Infektion und -Erkrankung blieb unverändert (Paya 1996). Rekombinante CMV-Proteine haben im Tierversuch zu ausreichender Immunität geführt. Britt (1996) rechnet bei Impfung von

Nierentransplantierten mit einer Reduktion der CMV-Erkrankung um das 10- bis 40fache und mit verbessertem graft survival. Hamilton et al. (1997) berichten über die Entwicklung eines Antikörpers gegen das CMV-Protein gpUL75 mittels Transfer von heavy und light chains eines Mausantikörpers auf humane konstante Antikörperregionen. In vitro - Ergebnisse zeigten, dass dieser Antikörper mit verschiedenen Virusstämmen infizierte Zellen erkennt. Hier besteht ein möglicher Ansatz für Prophylaxe und Therapie von CMV-Infektionen und -Erkrankungen in der Zukunft.

F. HLA-Eigenschaften und CMV-Erkrankung

Eine weitere Fragestellung dieser Untersuchung war die Bedeutung der HLA-Eigenschaften des Organempfängers und auch -spenders für die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer CMV-Erkrankung.

Einige Autoren haben eine signifikante Häufung bestimmter HL-Antigene bei Nierentransplantierten mit CMV-Erkrankung beschrieben und in diesem Zusammenhang ein erhöhtes Morbiditätsrisiko für Patienten mit diesen Eigenschaften postuliert. So berichtet Kraat (1994) über eine Inzidenz der CMV-Infektion von 56 % bei HLA-DR7 positiven Patienten im Gegensatz zu 25 % bei HLA-DR7 negativen Patienten ($p < 0,02$). Boland et al. (1993) stellten fest, dass Empfänger von Organen HLA-B7-positiver Spender ein signifikant erhöhtes Risiko für CMV-Erkrankungen aufweisen. Bislang besteht jedoch noch keine befriedigende pathogenetische Erklärung für diese Beobachtungen. Einige der HLA-Proteine sind in Teilen homolog zu viralen Proteinen des CMV. Die Immunantwort gegen die Virus-Proteine von Individuen mit diesen HLA-Eigenschaften könnte durch diese Homologie reduziert sein. Die Klärung dieser Frage ist Gegenstand vielfältiger aktueller Untersuchungen.

Die Analyse der Antigen-Häufigkeiten der Untergruppen A, B und DR von Spendern und Empfängern in unserem Kollektiv ergab keine signifikante Korrelation zum Auftreten der CMV-Erkrankung. Diese Ergebnisse sollen zunächst rein deskriptiv sein, eine Deutung kann in diesem Rahmen nicht erfolgen.

V. Zusammenfassung und Schlußfolgerungen

Im Rahmen dieser prospektiven Untersuchung wurden 55 konsekutive Patienten nach Nierentransplantation für einen Zeitraum von durchschnittlich 95,6 Tagen beobachtet. Die Ergebnisse von 48 Patienten konnten für die Auswertung genutzt werden, 7 Patienten konnten aufgrund frühzeitiger Explantation (n=5) oder wegen Compliance-Problemen (n=2) nicht mit einbezogen werden.

Ein regelmäßiges virologisches Screening unter Einschluß von pp65-early-antigen-Nachweis mittels Immunfluoreszenz, Nachweis von CMV-DNA durch Polymerasekettenreaktion und Virusserologie gab einen Überblick über die Bedeutung des Cytomegalievirus für Nierentransplantatempfänger.

Die Inzidenz der CMV-Erkrankung (14 Patienten, 29,2 %) lag in dem von einigen Autoren beschriebenen Rahmen. In 13 Fällen war der Verlauf durch Ganciclovir-Gaben gut behandelbar, bei einem Patienten mußte Foscarnet eingesetzt werden. Eine asymptomatische CMV-Infektion meist im Rahmen einer endogenen Reaktivierung oder Superinfektion mit einem anderen CMV-Stamm wurde bei 20 Patienten (41,6 %) beobachtet.

Patienten mit CMV-Risikokonstellation (D+/R-), Triple-Immunsuppression (unter Einschluß von Mykophenolat-Mofetil) und/oder Rejektionstherapie bei akuter Abstoßung stellten sich in dieser Untersuchung als die Kollektive mit dem größten Risiko einer CMV-Erkrankung dar. Jeder der erkrankten Organempfänger wies mindestens einen dieser Risikofaktoren auf.

Deswegen ist vor allem bei diesen Patienten ein besonders enges CMV-Infektions-Screening (unter Einschluß der molekularbiologischen Methoden / pp65 und DNA-PCR) angezeigt. Spätestens bei Vorliegen eines positiven Testresultates ist nach derzeitigem Wissensstand und auch nach den hier vorliegenden Ergebnissen ein Beginn der Ganciclovir-Therapie indiziert. Bei der „preemptive“ Therapie genügt schon das Vorliegen positiver Testresultate ohne weitere klinische Infektionszeichen, um eine antivirale Therapie einzuleiten. Unter diesem therapeutischen Regime gelang in einigen Untersuchungen eine deutliche Reduktion von CMV-assoziiierter Morbidität und Mortalität. Außerdem ist trotz hoher Kosten für Diagnostik und antivirale Therapie insgesamt eine Verringerung der CMV-verursachten Ausgaben möglich.

Eine weitere Entwicklung ist die Quantifizierung der pp65- und PCR-Befunde, z.B. durch Angabe des relativen Anteils der pp65-positiven Zellen in der Immunfluoreszenz oder durch Vergleich der nach PCR gemessenen unterschiedlichen Extinktionen im anschließenden enzyme-linked immunosorbent assay. Therapiebeginn und -dauer lassen sich mittels dieser Methoden besser definieren.

Der Nachweis des pp65-early-Antigens und die CMV-DNA-PCR haben nebeneinander einen festen Stellenwert in der Diagnostik der CMV-Infektion und Erkrankung. Die hier genutzten Verfahren erreichen eine gute Spezifität (0,97 und 0,91), die etwas geringere Sensitivität (0,64 bis 0,79) liegt unter anderem in den zweiwöchigen Untersuchungsintervallen begründet, die Kombination der beiden Nachweis-Verfahren bietet aber die Möglichkeit einer Optimierung dieses Problems.

Die intravenöse Ganciclovir-Therapie hat bei 13 von 14 Patienten zur klinischen, laborchemischen und virologischen Befundbesserung geführt, bei einem Patienten trat erst unter Foscarnet eine Besserung ein. Bei Umstellung der Ganciclovir-Therapie von intravenösen auf orale Gaben traten Erkrankungsrezidive auf, hier ist eventuell eine längere intravenöse Therapie oder aber höhere Dosierung bei oraler Applikation zu empfehlen. Die Bewertung der oralen Ganciclovir-Therapie muß weiteren Untersuchungen vorbehalten sein.

Eine CMV-Erkrankung korrelierte zwar mit dem Auftreten einer akuten Rejektion, aber ebenso mit der Abstossungstherapie. Die Erkrankung trat im Mittel 18,1 Tage nach Diagnose der Abstossung und 17,8 Tage nach Beginn der Rejektionstherapie auf. Dies legt eher eine CMV-Aktivierung im Zuge der erhöhten Immunsuppression nahe. Allerdings kann die Rejektion auch Teil einer CMV-Infektion sein, die erst unter der Abstossungstherapie auch laborchemisch fassbar wurde. Vielfältige Untersuchungen konnten eine Korrelation von CMV-Erkrankung und Rejektion nachweisen. Partielle Homologien von CMV-Proteinen und HLA-Strukturen sowie die Expression von VCAM-1 auf Endothelzellen sind mögliche Erklärungen für diesen Zusammenhang. Während der akuten CMV-Erkrankung kommt es oft zu einer Verschlechterung der Transplantatfunktion, ob im Rahmen einer Abstossung oder einer allgemeinen systemischen Entzündungsreaktion kann durch diese Ergebnisse nicht differenziert werden. Das graft survival scheint aber nicht beeinträchtigt zu werden.

Eine vorbeschriebene Assoziation der CMV-Erkrankung mit HLA-Eigenschaften des Organempfängers (insbesondere HLA-DR 7) konnten wir nicht aufzeigen.

VI. Abkürzungsverzeichnis

AIDS	acquired immune deficiency syndrome
ALG	Anti-Lymphozyten-Globuline
APKD	adulte polyzystische Nierendegeneration
CMV	Cytomegalievirus
CsA	Cyclosporin A
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EBV	Epstein-Barr-Virus
EIA	enzyme-linked immunosorbent assay
HLA	human leucocyte antigen
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
KBR	Komplementbindungsreaktion
MMF	Mykophenolat-Mofetil
n.s.	nicht signifikant (d.h. $p > 0,05$)
PBL	periphere Blut-Leukozyten
PCR	Polymerasekettenreaktion
pp65	Phosphoprotein 65 (virales Protein) , CMV-early antigen
SCID	severe combined immunodeficiency

VII. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 1	Strukturformeln der CMV-wirksamen Virustatika.....	17
Abb. 2	Typische Befunde beim Nachweis des pp65.....	25
Abb. 3	CMV-Konstellationen.....	30
Abb. 4	CMV-Diagnostik und CMV-Erkrankung.....	32
Abb. 5	PCR und pp65 für die DD CMV-Erkrankung/-Infektion.....	33
Abb. 6	Testparameter für PCR und pp65 hinsichtlich der CMV-Erkrankung.....	33
Abb. 7	T4/T8-Ratio in Korrelation zur CMV-Erkrankung.....	35
Abb. 8	Kortikosteroidstoßtherapie und CMV-Erkrankung.....	35
Abb. 9	Latenz zwischen Rejektionstherapie und CMV-Erkrankung.....	36
Abb. 10	CMV-Erkrankung und immunsuppressives Basisregime.....	36
Abb. 11	Transplantatrejektion und CMV-Erkrankung.....	38
Abb. 12	Transplantatfunktion während CMV-Erkrankung/-Infektion.....	39
Abb. 13	Transplantatfunktion nach 3 Monaten bei Rejektion und CMV-Erkrankung.....	40
Abb. 14	Ganciclovir-Therapie nach Diagnose der CMV-Erkrankung.....	41
Tab. 1	Symptomatik der Cytomegalievirus-Infektion.....	8
Tab. 2	Grunderkrankungen der Organempfänger.....	21-22
Tab. 3	Primer der CMV-DNA-PCR.....	26
Tab. 4	Vierfeldertafel für den χ^2 -Test.....	28
Tab. 5	Vierfeldertafel zur Berechnung der Testparameter.....	29
Tab. 6	Übersicht über die Patienten mit CMV-Erkrankung.....	31
Tab. 7	Asymptomatische CMV-Infektion und Transplantatrejektion.....	38
Tab. 8	HL-Antigene der Organempfänger und CMV-Erkrankung.....	42
Tab. 9	HL-Antigene der Organspender und CMV-Erkrankung.....	43

VIII. Literatur-Verzeichnis

Abecassis, M. M., Koffron, A. J., Kaplan, B., Buckingham, M., Muldoon, J. P. et al.

Role of PCR in the diagnosis and management of CMV in solid organ recipients: What is the predictive value for the development of disease and should PCR be used to guide antiviral therapy ?

Transplant. Proc. 28 (1996), 2-4

Allen, K. A., Markin, R. S., Rennard, S. I., Shaw, B. W., Thompson, A. B., Woods, R. P., Linder, J. L.

Bronchoalveolar lavage in liver transplant recipients

Acta Cytol. 33 (1989), 539-543

Arend, S.M., Westendorp, R.G.J., Kroon, F.P.

Rejection treatment and cytomegalovirus infection as risk factors for Pneumocystis carinii pneumonia in renal transplant recipients

Clin Infect Dis 22 (1996), 920-925

Bach, D., Will, A., Krempe, C., Grabensee, B.

Bedeutung risikoadaptierter antiviraler Prophylaxe und moderner Virusdiagnostik für das Organüberleben nach Nierentransplantation

Deutsche Medizinische Wochenschrift 122/43 (1988), 1334

Beck, S., Barrell, B. G.

Human cytomegalovirus encodes a glycoprotein in homologous to MHC Class I antigens

Nature 331 (1988), 269-272

Becker, B. N., Schulman, G.

Nephrotoxicity of antiviral therapies

Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. 5 (1995), 375-379

Benson, P.J., Smith, C.S.

Cytomegalovirus prostatitis

Urology 40 (1992), 165-167

Berge, I.J.M. ten, Wever, P.C., Wolbink, A.M., Surachno, J.

Increased systemic levels of soluble granzymes A and B during primary cytomegalovirus infection after renal transplantation

Transpl. Proc. 30(1998), 3972-3974

Blok, M.J., Christiaans, M.H.L., Goossens, V.J., van Hooff, J.P., Sillekens, P.

Early detection of human cytomegalovirus infection after kidney transplantation by nucleic acid sequence-based amplification

Transplantation 67 (1999), 1274-1277

Boivin, G., Quirk, M. R., Kringstad, B. A., Germain, M., Jordan, M. C.
Early effects of ganciclovir therapy on the quantity of cytomegalovirus DNA in leukocytes of immunocompromised patients

Antimicrob. Agents Chemother. 41 (1997), 860-862

Boland, G.J.

Factors influencing the occurrence of active cytomegalovirus (CMV) infections after organ transplantation

Clin Exp Immunol. 94 (1993), 306-312

Bouedjoro-Camus, M.C., Novella, J.L., Toupance, O., Wynckel, A.

La maladie à cytomégalovirus: facteur du risque de rejet aigu d'allogreffe rénale. Étude exposés/non exposés

Presse Med 28 (1999), 619-624

Brennan, D. C., Garlock, K. A., Lippmann, B. A. et al.

Control of cytomegalovirus-associated morbidity in renal transplant patients using intensive monitoring and either preemptive or deferred therapy

J Am Soc Neph (1997), 118-125

Brennan, D. C., Garlock, K. A., Lippmann, B. A. et al.

Polymerase chain reaction-triggered preemptive or deferred therapy to control cytomegalovirus-associated morbidity and costs in renal transplant patients

Transplant. Proc. 29 (1997), 809-811

Britt, W.J.

Vaccines against human cytomegalovirus: time to test

Trends in Microbiol 4 (1996), 34-38

Britt, W. J., Alford, C. A.

Cytomegalovirus

in Fields, B. N., Knipe, D. M., Howley, P. M.: Virology

(Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996), 2493-2524

Bulinski, P. Toledo-Pereyra, L. H., Dalal, S., Hernandez, G.

Cytomegalovirus infection in kidney transplantation: prophylaxis and management

Transplant. Proc. 28 (1996), 3310-3311

Calvar, C., Martin, J.M., Lopez de Novales, E.

Granulocyte colony stimulating factor and leukopenia due to cytomegalovirus in a renal transplant patient

Nefrologia 14 (1994), 355-358

Charpentier, B.

Infections virales chez le transplanté renal: Un chapitre en évolution

Act. Nephrol. (1985), 319-342

Chlebowski, H., Westhoff, A., Bach, D., Grabensee, B.

Die Pneumocystis carinii-Pneumonie: eine lebensbedrohliche Komplikation nach Nierentransplantation
Med. Klinik 87 (Suppl. 1) (1992), 49-52

Ciocco, R.E., Ciancio, G., Esquenazi, V., Burke, G.W., Miller, J.
Kidney recipient CMV incidence in the ganciclovir era: monitoring viral DNA by a CMV-PCR assay
Transplantation Proc 31 (1999), 1362-1363

Cofer, J. B., Morris, C. A., Sutker, W. L., Husberg, B. S., Goldstein, R. M., Gonwa, T. A., Klintmalm, G. B.
A randomized doubleblind study of the effect of prophylactic immunoglobulin on the incidence and severity of CMV infection in liver transplant recipients
Transplant. Proc. 23 (1991), 1525

Conti, D. J., Shen, G., Singh, T., Isenberg, A., Freed, B. M.
Ganciclovir prophylaxis of cytomegalovirus disease
Transplant. Proc. 29 (1997), 804-806

Demmler, G. J., Buffone, G. J., Schimbor, C. M., May, R. A.
Detection of cytomegalovirus in urine from newborns by using polymerase chain reaction DNA amplification
J. infect. Dis. 158(1988), 1177-1184

Detwiler, R.K., Singh, H.K., Bolin, P.
Cytomegalovirus-induced necrotizing and crescentic glomerulonephritis in a renal transplant patient
Am. J. of Kidn. Dis. 32 (1998), 820-824

Diosi, P.
Albert Jesionek - auf der Spur der Zytomegalie-Krankheit
Gesnerus 54 (1997), 96-112

Döcke, W.D., Reinke, P., Staffia, G., Settmacher, U., Höger, T.
An immune monitoring program for the management of immunosuppressive therapy in the early phase after transplantation
Transplantationsmedizin 6 (1994), 13-28

Dorfman, L.J.
Cytomegalovirus encephalitis in adults
Neurology 23 (1973), 136-144

Drew, W. L.
Cytomegalovirus infection in patients with AIDS
J. Infect. Dis. 158 (1988), 449-456

Ducloux, D., Bresson-Vautrin, C., Chalopin, J. M.

Is cytomegalovirus a cause of ureteral stricture in renal transplant recipients ?

Transplant Int. 10 (1997), 238-240

Eckart, P., Brouard, J., Vabret, A., Freymuth, F., Guillot, M., Ryckelnyck, J. P., Hurault de Ligny, B.

Detection of human cytomegalovirus in renal transplantation: Comparison of four diagnostic methods: DNA in sera by polymerase chain reaction (PCR), DNA in leukocyte by PCR, pp65 leukocytic antigenemia and viremia

Transplant Proc. 29 (1997), 2387-2389

Emery, V. C., Griffiths, P. D.

Molecular biology of cytomegalovirus

Int. J. Exp. Path. 71 (1990), 905-918

Eriksson, B.M., Zwegberg Wirgart, B., Claesson, K., Tufveson, G., Magnusson, G., Tötterman, T., Grillner, L.

A prospective study of rapid methods of detecting cytomegalovirus in the blood of renal transplant recipients in relation of patient and graft survival

Clin. Transplant. 10 (1996), 494-502

Fellström, B., Backman, U., Larsson, E., Zezina, L.

Immunologic and nonimmunologic risk factors of chronic rejection

Transplantation Proc 31 (1999), 1304-1305

Flores-Aguilar, M., Kuppermann, B.D., Quiceno, J.I. et al.

Pathophysiology and treatment of clinically resistant cytomegalovirus retinitis

Ophthalmology 100 (1993), 1022-1031

Friedmann, W., Schäfer, A., Kretschmer, R.

CMV-Virusinfektion von Vulva und Vagina

Geburtsh. u. Frauenheilk. 50 (1990), 729-730

Fryd, D. S., Peterson, P. K., Ferguson, R. M., Simmons, R. L., Balfour, H., Najarian, J. S.

Cytomegalovirus as a risk factor in renal transplantation

Transplantation 30 (1980), 436-439

Gallant, J.E., Moore, R.D., Richman, D.D., Keruly, J., Chaisson, R.E., Zidovudine Epidemiology Study Group

Incidence and natural history of cytomegalovirus disease in patients with advanced human immunodeficiency virus disease treated with zidovudine

J. Infect. Dis. 166 (1992), 1223-1227

George, K., Rinaldo, Ch.R.

Comparison of commercially available antibody reagents for the cytomegalovirus pp65 antigenemia assay

Clin Diagn Virol 7 (1997), 147-152

Gomez, E., de Ona, M., Aguado, S., Alvarez-Grande, J.

Cytomegalovirus preemptive therapy with ganciclovir in renal transplant patients treated with OKT 3

Nephron 74 (1996), 367-372

Goodpasture, E. W., Talbot, F. B.

Concerning the nature of „protozoan-like“ cells in certain lesions of infancy

Am. J. Dis. Child. 21 (1921), 415-425

Gotti, E., Suter, F., Baruzzo, S., Perani, V., Muioli, F., Remuzzi, G.

Early ganciclovir effectively controls viremia and avoids the need for cytomegalovirus (CMV) prophylaxis in renal transplant patients with cytomegalovirus antigenemia

Clin. Transplant. 10 (1996), 550-555

Grefte, J. M. M., van der Gun, B. T. F., Schmolke, S., van der Giesen, M., van Son, W. J., Plachter, B., Jahn, G., The, T. H.

Cytomegalovirus antigenemia assay: Identification of the viral antigen as the lower matrix protein pp65

Journ. Infect. Dis. 166 (1992), 683-684

Grossi, P., Baldanti, F.

Treatment of ganciclovir-resistant human cytomegalovirus infection

Journ. Nephrol. 10 (1997), 146-151

Hamilton, A., Manuel, D.M., Grundy, J., Harris, W.J.

A humanized antibody against human cytomegalovirus gpUL75 (gH) for prophylaxis or treatment of CMV infections

J Infect Dis 176 (1997), 59-68

Harms, V.

Biomathematik, Statistik und Dokumentation

Harms-Verlag, Kiel, 6. Aufl., 1992, 186-221

Herrera, G.A., Alexander, R.W., Gockerman, J.P.

Cytomegalovirus glomerulopathy: a controversial lesion

Kidney Int 29 (1986), 725-733

Ho, M.

Cytomegalovirus biology and infection

(Plenum Medical Book Co, New York, 1991)

Hodge, E. E.

The role of mycophenolate mofetil in clinical transplantation

World J. Urol. 14 (1996), 249-255

Humar, A., Uknis, M., Matas, A.

Cytomegalovirus disease recurrence after ganciclovir treatment in kidney and kidney-pancreas transplant recipients
Transplantation 67 (1999), 94-97

Imbert-Marcille, B.-M., Cantarovich, D., Billaudel, S.

Usefulness of DNA viral load quantification for cytomegalovirus disease monitoring in renal and pancreas/renal transplant recipients
Transplant 63 (1997), 1476-1481

Inkinen, K., Scots, A., Krogerus, L., Bruggeman, C., Ahonen, J., Lautenschlager, I.

CMV increases collagen synthesis in chronic rejection in rat renal allograft
Transplantation Proc 31 (1999), 1361

Jacobson, M. A.

Review of the toxicities of foscarnet
J. Acquired Immun. Defic. Syndrome 5 (1992), 11-17

Jesionek, A., Kiolemenoglou, B.

Ueber einen Befund von protozoenartigen Gebilden in den Organen eines hereditär-luetischen Foetus
Münch.med.Wschr. 51 (1904), 1905-1907

Johnson, P. C., Hogg, K. M., Sarosi, G. A.

The rapid diagnosis of pulmonary infections in solid organ transplant recipients
Sem. resp. Infect. 5 (1990), 2-9

Kalayjian, R.C., Cohen, M.L., Bonomo, R.A., Flanigan, T.P.

Cytomegalovirus ventriculoencephalitis in AIDS
Medicine 72 (1993), 67-77

Kashyap, R., Shapiro, R., Jordan, M., Randhawa, P.S.

The clinical significance of cytomegaloviral inclusions in the allograft kidney
Transplantation 67 (1999), 98-103

Kathawalla, S. A., Stillwell, P. C., Gordon, S., Haug, M., Perl, M., Arroliga, A. C., Mehta, A. C., Avery, R., Kirby, T.

Cytomegalovirus infection in seromismatched lung transplant recipients with and without prophylaxis with CMV immunoglobulin
Transplant. Proc. 28 (1996), 16

Koffron, A.J., Patterson, B.K., Yan, S., Abecassis, M.I.

Latent human cytomegalovirus: a functional study
Transplant. Proc 29 (1997), 793-795

Kraat, Y.J., Christiaans, M.H.L., Bruggeman, C.A.

Risk factors for cytomegalovirus infection and disease in renal transplant recipients: HLA-DR7 and triple therapy
Transpl Int 7 (1994), 362-367

Kramer, M.R., Marshall, S.E., Starnes, V.A., Theodore, J.
Infectious complications in heart-lung transplantation
Arch Intern Med 153 (1993), 2010-2016

Krempe, C.
Zytomegalie-Virus-DNA-Nachweis mit der Polymerase-Ketten-Reaktion
Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1998)

Kuypers, D.R.J., Vanrenterghem, Y.
Prophylaxis of cytomegalovirus infection in renal transplantation
Nephrol Dial Transplant 13 (1988), 3012-3016

Lautenschlager, I.
CMV-diagnosis in transplant patients
Transplantationsmed. 5 (1993), 2-4

Lautenschlager, I., Salmela, K., Hävry, P.
Does CMV infection affect the outcome of renal allografts ?
Transplant. Proc. 24 (1992), 281-282

Lautenschlager, I., Soots, A., Krogerus, L.
CMV increases inflammation and accelerates chronic rejection in rat kidney allografts
Transplant. Proc. 29 (1997), 802-803

Link, H., Battmer, K., Kugland, H., Arseniev, L., Kleine, D.
Cytomegalievirusinfektion: Pathophysiologie, moderne Nachweismethoden und Therapie beim immunsupprimierten Patienten
Zeitschrift f. Transpl.Med. 2 (1990), 12-22

Link, Martin
Untersuchungen zur Häufigkeit, Diagnose, Einfluss auf die Nierenfunktion und Therapie einer Cytomegalievirus-Infektion nach Nierentransplantation mittels des Nachweises des CMV-Early-Antigens im peripheren Blut
Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1998)

Luby, J. P., Burnett, W., Hull, A. R., Ware, A. J., Shorey, J. W., Peters, P. C.
Relationship between cytomegalovirus and hepatic function abnormalities in the period after renal transplant
J. infect. Dis. 129 (1974), 511-518

Lui, S. L., Halloran, P. F.
Mycophenolate mofetil in kidney transplantation
Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. 5 (1996), 508-513

Mach, M., Stamminger, Th., Jahn, G.

Human cytomegalovirus: recent aspects from molecular biology
J. Gen. Virol. 70 (1989), 3117

**Markovic-Lipkovski, J., Müller, C.A., Engler-Blum, G., Strutz, F., Kühn, W.,
Risler, T., Lauchhart, W., Müller, G.A.**

Human cytomegalovirus in rejected kidney grafts; detection by polymerase chain reaction
Neprol Dial Transplant 7 (1992), 865-870

Martin, M.,

Combination protocols for prevention of CMV disease in the high risk transplant patient
Transplant. Proc 28 (Suppl 2) (1996), 12-13

Martin, M., Snyderman, D.R.

How effective is oral ganciclovir ?
Transplant. Proc 28 (Suppl 2) (1996), 14-15

Mas, V., Alvarellos, T., Albano, S., Ferreira-Gonzalez, A.

Utility of cytomegalovirus viral load in renal transplant patients in Argentina
Transplantation 67 (1999), 1050-1055

McCarthy, J.M., Karim, M.A., Keown, P.A.

The cost impact of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients
Transplantation 55 (1993), 1277-1282

Mertens, Th., Schrappe, M., Gelderblom, H.

Herpesviridae
in Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K.: Innere Medizin
(Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 3. Aufl. 1994), 400-407

Meybehm, M., Kindermann, E., Bierhoff, E:

Zytomegalieinfektionen im Gastrointestinaltrakt
Praxis und Klinik (1992), 185-189

Meyer, T., Scholz, D., Warnecke, G., Schomaker, P.

Bedeutung der PCR, des pp65-Antigen-Nachweises und der Serologie in der Diagnostik
aktiver CMV-Infektionen
Transplantationsmedizin 6 (1994), 34-40

Millar, A., Patou, G., Miller, R., Grundy, J., Katz, D.

Cytomegalovirus in the lungs of patients with AIDS
Am. rev. respir. dis. 141 (1990), 1474-1477

Morgan, J.D.T., Horsburgh, T., Simpson, A., Bell, P.R.F.

Cytomegalovirus infection during OKT3 treatment for renal allograft rejection
Transplantation Proc. 24 (1992), 2634-2635

Morris, D.J., Martin, S., Johnson, R.W.G.

HLA mismatching and cytomegalovirus infection as risk factors for transplant failure in cyclosporin-treated renal allograft recipients
J med Virol 41 (1993), 324-327

Müller, Th., Tolle, S., Keuchel, M., Schindler, S., Hocke, G.

Detection and differential diagnosis of CMV infection under OKT3 therapy
Transplantationsmedizin 5 (1993), 5-7

Newstead, C.G.

Cytomegalovirus disease in renal transplantation
Nephrol Dial Transplant 10 (Suppl 1) (1995), 68-73

Nielsen, S.L., Petito, C.K., Urmacher, C.D., Posner, J.B.

Subacute encephalitis in acquired immune deficiency syndrome: A postmortem study
Am. J. Clin. Path. 82 (1984), 678-682

Niubò, J., Pérez, J. L., Martínez-Lacasa, J. T., García, A., Roca, J., Fabregat, J., Gil-Vernet, S., Martín, R.

Association of quantitative cytomegalovirus antigenemia with symptomatic infection in solid organ transplant patients
Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 24 (1996), 19-24

Patel, R., Weisner, R., Paya, C. V.

Prophylaxis and treatment of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation
Clin. Imm. 5 (1996), 13-24

Paya, C. V.

Defining an optimal regimen for cytomegalovirus prophylaxis in organ transplant recipients
Transplant. Proc. 28 (1996), 9-11

Paya, C. V., Hermans, P. E., Smith, T. F., Rakela, J., Wiesner, R. H., Krom, R. A. F., Torres, V .E., Sterioff, S., Wilkowske, C. J.

Efficiency of gancyclovir in liver and kidney transplant recipients with severe cytomegalovirus infection
Transplantation 46 (1988), 229-234

Persing, D. H.

Polymerase chain reaction: trenches to benches
J. Clin. Microbiol. 29 (1991), 1281

Pirsch, J.D., Sollinger, H.W.

Mycophenolate Mofetil – clinical and experimental experience
Therap. Drug Mon. 18 (1996), 357-361

Plachter, B., Weise, K., Reddehase, M. J.

Pathogenese und Diagnostik der Cytomegalovirus-Infektion

Dtsch. med. Wschr. 121 (1996), 1365-1368

Poirier-Toulemonde, A.S., Imbert-Marcille, B.M., Ferré-Aubineau, V. et al.

Successful quantification of cytomegalovirus DNA by competitive PCR and detection with capillary electrophoresis

Mol Cell Probes 11 (1997), 11-23

Ram Peddi, V., Hariharan, S., Schroeder, T.J., Roy First, M.

Impact of ganciclovir prophylaxis on cytomegalovirus infection in recipients of cadaveric renal allografts

Nephron 76 (1997), 49-55

Reddehase, M. J.

Cytomegalievirus-Infektion

Die gelben Hefte 35 (1995), 95-103

Reinke, P., Fietze, E., Ode-Hakim, S., Prösch, S., Lippert, J., Volk, H.-D.

Late-acute renal allograft rejection and symptomless cytomegalovirus infection

The Lancet 344 (1994), 1737-1738

Resch, K., Szamel, M.

Beeinflussung des Immunsystems

in Fülgraff, G., Palm, D.: Klinische Pharmakologie

(Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, 9. Auflage 1995), 353-354

Ribbert, H.

Partielle-compensatorische Hypertrophie der Harnkanälchenepithelien bei fleckweiser interstitieller Nephritis eines totgeborenen luetischen Kindes

Sitzungsberichte der Niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde, 27. Juni 1881

Ribbert, H.

Ueber protozoenartige Zellen in der Niere eines syphilitischen Neugeborenen und in der Parotis von Kindern

Cbl. allg. Path. path. Anat., 15 (1904), 945-948

Richardson, W. P., Colvin, R. B., Cheeseman, S. H. et al.

Glomerulopathy associated with cytomegalovirus viremia in renal allografts

N. Engl. J. Med. 305 (1981), 57

Roberts, Th.C., Buller, R.S., Storch, G.A.

Effects of storage temperature and time on qualitative and quantitative detection of cytomegalovirus in blood specimens by shell vial culture and PCR

J Clin Microbiol 35 (1997), 2224-2228

Rowe, W. P., Hartley, J. W., Waterman, S., Turner, H. C.

Cytopathogenic agent resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids

Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92 (1956), 418-424

Rubin, R. H., Cosimi, A. B., Tolckoff-Rubin, N. E., Russel, P. S., Hirsch, M. S.

Infections disease syndromes attributable to cytomegalovirus and their significance among renal transplant patients

Transplantation 24 (1977), 458-464

Schleibner, S., Schneeberger, H., Land, W.

Rationelle Anwendung der Cytomegalie-Prophylaxe nach Nierentransplantation

Transplantationsmedizin 4 (1992), 71-73

Schnitzler, M. A., Woodward, R.S., Brennan, D.C., Bailey, Th.C.

Impact of cytomegalovirus serology on graft survival in living related kidney transplantation: implications for donor selection

Surgery 121(1997), 563-568

Schnitzler, M. A., Woodward, R.S., Brennan, D.C., Bailey, Th.C.

The effects of cytomegalovirus serology on graft and recipient survival in cadaveric renal transplantation: implications for organ allocation

Am J Kidn Dis 29 (1997), 428-434

Schnülle, P., van der Woude, F.J.

Mycophenolat Mofetil im Vergleich zu anderen Immunsuppressiva

Der Internist 39 (1998), 879-886

Segondy, M., Mourad, G., Boumzebra, A., Montes, B., Leray, H.

Comparison of viral culture, pp65-antigenemia and polymerase chain reaction for the detection of cytomegalovirus in blood specimens from renal transplant recipients

Transplant. Proc. 28 (1996), 2810

Seifert, G.

Die Diagnostik der Zytomegalie (CMV) im Biopsie- und Operationsmaterial

Pathologie 18 (1997), 207-217

Sharma, A.K., Taylor, J.D., Tong, W., Brown, M.W.

Utility of the pp65 direct antigenemia test in the diagnosis of cytomegalovirus (CMV) in renal transplant recipients

Transplant. Proc. 29 (1997), 799

Shrestha, B. M., Darby, C., Fergusson, C., Lord, R., Salaman, J. R., Moore, R. H.

Cytomegalovirus causing acute colonic pseudo-obstruction in a renal transplant recipient

Postgrad. Med. J. 72 (1996), 429-430

Sigler, C.A.

CMV Pneumonia after renal transplantation
ANNA J 23 (1996), 500-501

Smith, M. G.

Propagation in tissue cultures of cytopathogenic virus from human salivary gland virus disease
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92 (1956), 424-430

**Spielberger, M., Schmid, T., Sandbichler, P., Pernthaler, H., Bösmüller, C.,
Semenitz, E., Margreiter, R.**

Infektiöse Komplikationen in der Frühphase nach Nierentransplantation
Wien. klin. Wschr. 101 (1989), 238-241

**Stalder, N., Sudre, P., Olmari, M., Opravil, M., Gabriel, V., Sansonetti, A.,
Overbeck, J.v., Herbort, C.P., Hirschel, B., Swiss HIV Cohort Study Group**

Cytomegalovirus retinitis: Decreased risk of bilaterality with increased use of systemic treatment
Clin. Infect. Dis. 24 (1997), 620-624

Stein, D.S., Verano, A. S., Levandowski, R. A.

Successful treatment with ganciclovir of disseminated cytomegalovirus infection after liver transplantation
Amer. J. Gastroent. 83 (1988), 684-686

**Stenglein, S., Werner, M., Sinzger, C., Korn, K., Plachter, B., Beck, R.,
Neumayer, H.-H., Jahn, G.**

Akute Cytomegalievirus-Gastritis nach Nierentransplantation
Dtsch. med. Wschr. 118 (1993), 1597-1602

Tenschert, W., Cremaschi, L., Reek, C., Fernandez, S., Huland, H.

Fünf-Jahres-Resultate der Nierentransplantation in Hamburg: Untersuchung klinischer Parameter, welche die Langzeitfunktion von Nierentransplantaten beeinflussen
Transplantationsmedizin 9 (1997), 132-137

Tenschert, W., Huland, H.

Zytomegalievirus- (CMV-) Erkrankungen nach allogener Nierentransplantation
Med. Klin. 87 (1992), Suppl. 1, 43-48

**The, T. H., van der Ploeg, M., van den Berg, A. P., Vlieger, A. M., van der
Giessen, M., van Son, W. J.**

Direct detection of cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes - a review of the antigenemia assay and polymerase chain reaction
Transplantation 54 (1992), 193-198

Tilney, N.L.

Chronic rejection and its risk factors
Transplantation Proc 31 (1999), 41S-44S

Toro, A.I., Ossa, J.

PCR activity of CMV in healthy CMV-seropositive individuals: does latency need redefinition ?
Res Virol 147 (1996), 233-238

Toyoda, M., Carlos, J. B., Galera, O. A., Galfayan, K., Zhang, X., Sun, Z., Czer, L. S. C., Jordan, S. C.

Correlation of cytomegalovirus DNA levels with response to antiviral therapy in cardiac and renal allograft recipients
Transplantation 63 (1997), 957-963

Turgeon, N., Fishman, J.A., Basgoz, N., Tolkoff-Rubin, N.E., Rubin, R.H.

Effect of oral acyclovir or ganciclovir therapy after preemptive intravenous ganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease in cytomegalovirus seropositive renal and liver transplant recipients receiving antilymphocyte antibody therapy
Transplantation 66 (1998), 1780-1786

Van den Berg, A. P., van der Bij, W., van Son, W. J., Anema, J., van der Giese, M., Schirm, J., Tegzessw, A. M., The, T. H.

Cytomegalovirus antigenemia as a useful marker of symptomatic cytomegalovirus infection after renal transplantation - a report of 130 consecutive patients
Transplantation 48 (1989), 991-995

Van Dorp, W.T., van der Woude, F.J.

Cytomegalovirus directly enhances MHC class I and intercellular adhesion molecule-1 expression on cultured proximal tubular epithelial cells
Transplantation 55 (1993), 1967-1971

Van Son, W. J., The, T. H.

Cytomegalovirus infection after transplantation: an update
Transplant Int. 2 (1990), 147

Von Glahn, W. C., Pappenheimer, A. M.

Intranuclear inclusions in visceral disease
Am. J. Path. 1 (1925), 445-466

Veal, N., Payan, C., Fray, D., Sarol, L., Blanchet, O., Kouyoumdjian, S., Lunel, F.

Novel DNA-assay for cytomegalovirus detection: Comparison with conventional culture and pp65 antigenemia assay
J. Clin. Microbiol. 34 (1996), 3097-3100

Vinters, H.V., Kwok, M.K., Ho, H.W., Anders, K.H., Tomiyasu, U., Wolfson, W.L.

Cytomegalovirus in the nervous system of patients with the acquired immune deficiency syndrome
Brain 112 (1989), 245-68

Weber, B., Nestler, U., Ernst, W., Rabenau, H., Braner, J., Birkenbach, A., Scheuermann, E.-H., Schoeppe, W., Doerr, H. W.

Low correlation of human cytomegalovirus DNA amplification by polymerase chain reaction with cytomegalovirus disease in organ transplant recipients

J. Med. Virol. 43 (1994), 187-193

Westhoff, A., Grabensee, B.

Diagnostik und Therapie der Cytomegalievirus-Erkrankung nach Organtransplantation

Intensivmed. 31 (1994), 264-269

Wilcox, C.M., Schwartz, D.A.

Symptomatic CMV duodenitis

J. Clin. Gastroenterol. 14 (1992), 293-297

Wittes, J.T., Kelly, A., Plante, K.M.

Meta-analysis of CMV Ig studies for the prevention and treatment of CMV infection in transplant patients

Transplant. Proc 28 (Suppl 2) (1996), 17-24

Yedidag, E.N., Koffron, A.J., Abecassis, M.

Acyclovir triphosphate inhibits the diagnostic polymerase chain reaction for cytomegalovirus

Transplantation 62 (1996), 238-242

Yeung, J.S., Tong, K.L., Chan, H.W.H.

Clinical pattern, risk factors and outcome of CMV infection in renal transplant recipients: local experience

Transplantation Proc 30 (1998), 3144-3145

Yilmaz, S., Koskinen, P. K., Kallio, E., Bruggeman, C. A., Hävry, P. J., Lemström, K. B.

Cytomegalovirus infection-enhanced chronic kidney allograft rejection is linked with intercellular adhesion molecule-1 expression

Kidney Int. 50 (1996), 526

Zanetta, G., Maurice-Esteva, L., Mousson, Chr., Justrabo, E., Tanter, Y.

Foscarnet-induced crystalline glomerulonephritis with nephrotic syndrome and acute renal failure after kidney transplantation

Transplantation 67 (1999), 1376-1378

Ziegenhagen, D.J.

Zytomegalievirusinfektion nach Nierentransplantation – Der aktuelle Erkenntnisstand

Med. Klin. 85 (1990) 32-36

Zweyberg Wirgart, B., Claesson, K., Eriksson, B.-M., Brundin, M., Tufveson, G., Tötterman, Th., Grillner, L.

Cytomegalovirus (CMV) DNA amplification from plasma compared with pp65 antigen (ppUL83) detection in leukocytes for early diagnosis of symptomatic CMV infection in kidney transplant patients

Clin. Diagn. Virol. 7 (1996), 99-110

Arbeitsanleitung des Institutes für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf für die **CMV-DNA-PCR**

Arbeitsanleitung des Institutes für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf für den Nachweis des **pp65**

Cytomegalievirus-Infektion nach Nierentransplantation – eine prospektive Untersuchung an 48 Organempfängern

Andreas Will

Cytomegalievirus (CMV)-Infektionen haben großen Anteil an Morbidität und Mortalität nach Nierentransplantation (NTP). In dieser prospektiven Studie wurde der Verlauf post transplantationem unter besonderer Berücksichtigung von CMV-Infektionen und Transplantat-Rejektionen bei 48 NTP-Patienten über durchschnittlich 95,6 Tage (min. 76, max. 122) beobachtet. Die Evaluierung der Wertigkeit der diagnostischen Methoden, die Definition von Risikogruppen für das Auftreten von CMV-Erkrankungen und die Frage nach einer Korrelation von Rejektionen und CMV-Erkrankung standen im Mittelpunkt der Untersuchung.

Die Patienten (28 männlich, 20 weiblich, durchschnittliches Alter 44,1 Jahre) wurden direkt nach NTP und anschließend alle 2 Wochen auf eine CMV-Infektion untersucht, bei Verdacht auf eine CMV-Infektion wurden die Zeitabstände auch verringert. Hierzu wurden jedesmal eine CMV-KBR, CMV-IgM- und -IgG-EIA, CMV-DNA-PCR und eine Bestimmung des pp65-early-Antigens durchgeführt.

Eine akute CMV-Erkrankung konnte bei 14 Patienten nachgewiesen werden, 20 Patienten zeigten eine asymptomatische CMV-Infektion und bei 14 Patienten konnte keine CMV-Infektion festgestellt werden. Für den Nachweis des pp65-early-Antigens bzw. eine positive CMV-DNA-PCR ergaben sich hinsichtlich einer CMV-Erkrankung folgende Werte: Sensitivität 0,79 bzw. 0,64, Spezifität 0,97 bzw. 0,91, im Mittel wurde das pp65-early-Antigen *7,1 Tage nach*, CMV-DNA in der PCR jedoch *5,1 Tage vor* dem Beginn der CMV-Erkrankung nachgewiesen. 14 Patienten wurden mit Ganciclovir therapiert, initial intravenös, später oral, unter oraler Therapie kam es bei 3 Patienten zu schweren Rezidiven der CMV-Erkrankung, die unter erneuter intravenöser Therapie rückläufig waren.

Die höchste Erkrankungsinzidenz trat bei Patienten mit CMV-Risikokonstellation, Triple-Immunsuppression und/oder Abstossungstherapie auf. Es ist ein enges CMV-Infektions-Screening (unter Einschluss der molekularbiologischen Methoden/pp65 und PCR) angezeigt und eine „preemptive therapy“ mit Ganciclovir indiziert. Therapiebeginn und –dauer lassen sich mittels Quantifizierung der pp65- und PCR-Befunde definieren. Bei Umstellung der Ganciclovir-Therapie von intravenösen auf orale Gaben können unter Umständen Erkrankungsrezidive auftreten, hier ist eventuell eine längere intravenöse Therapie zu empfehlen.

Im Rahmen der CMV-Erkrankung kam es im Gegensatz zur asymptomatischen CMV-Infektion zu einer transienten Verschlechterung der Transplantatfunktion. Transplantatrejektion und CMV-Erkrankung korrelierten signifikant, die Kreuzreaktivität von Antikörpern bei partieller Homologie von viralen Proteinen und HLA-Molekülen sowie eine viral induzierte Expression von Adhäsionsmolekülen dienen als theoretische Erklärung hierfür. Die CMV-Erkrankung trat in dieser Untersuchung erst nach Beginn der Rejektionstherapie auf, dies deutet dagegen auf eine durch die Immunsuppression aktivierte CMV-Infektion hin. Dieser Zusammenhang bleibt weiter zu diskutieren.

Lebenslauf

Andreas Will
 Birkenhof 28
 40225 Düsseldorf
 Tel.: 0211 – 933 75 21

geboren am 26. Mai 1973 in Hilden

Familienstand ledig

Schulbildung

1979 - 1983 Adolf-Reichwein-Grundschule Hilden

1983 - 1992 Dietrich-Bonhoeffer-Gymnasium Hilden
 Allgemeine Hochschulreife

Universitätsstudium

WS 1992/93 - SS 1994 Vorklinisches Studium der Humanmedizin
 an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

August 1994 Ärztliche Vorprüfung

WS 1994/95 - SS 1997 Klinisches Studium der Humanmedizin
 an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

August 1995 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

August 1997 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Oktober 1997 - September 1998 Praktisches Jahr an den Medizinischen Einrichtungen
 der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

November 1998 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Berufliche Tätigkeit

Januar 1999 - Juli 2000 Arzt im Praktikum, Medizinische Klinik III
 Klinikum Krefeld, Direktor: Prof. Dr. D. Bach

seit Juli 2000 Assistenzarzt, Medizinische Klinik III
 Klinikum Krefeld, Direktor: Prof. Dr. D. Bach

Düsseldorf, Mai 2001