



Challenge in Virology

Saanen, 9./10. Januar 2004

Zusammenfassung von
Pietro Vernazza, St. Gallen

Inhaltsverzeichnis

Einleitung.....	3
Emerging infectious diseases.....	3
Duane Gubler, West Nile and Rift Valley Fever Viruses.....	3
West Nile: Das Virus	3
West Nile: Klinik	3
WNV-Epidemie in den USA	3
Vektoren und Übertragung von WNV.....	4
Diagnostik:	4
Ausblick auf 2004 und Ausbreitung des Virus.....	4
Rift valley fever	4
Christian Drosten: Die Entdeckung des Sars Coronavirus	5
Ohne Patienten, keine Virusisolation	5
Charakterisierung des Virus	5
Therapie von Sars?.....	6
Sars-Impfung.....	6
Sars – Wie weiter?	6
Roger Glass: Virale Gastroenteritiden: Noro-Virus.....	7
Viren: Häufigste Ursache von Durchfällen	7
Durchfalltypen	7
Norovirus.....	7
Noroviren in Austern und andere Übertragungswege.....	8
Therapie und Impfung	8
Prävention.....	8
HPV.....	9
Peter Itin, Dermatologie Aarau: Klinische Aspekte der HPV Infektion.....	9
HPV als STD	9
HPV und Immunschwäche.....	9
Douglas Lowy: HPV - Pathogenese und Impfung:	9
Hintergrund	9
Die Rolle von HPV bei der malignen Entartung	10
Prophylaktische Impfung.....	10
EBV	11
David Thorley-Lawson: Weshalb persistiert EBV?	11
Die Verbreitung von EBV	11
Wie gelingt es dem EBV, im Körper zu überleben?.....	11
Aktivierung in vivo	12
Sars.....	12
A. Osterhaus: Animals as Reservoirs of Infections.....	12
D.E. Low: Epidemiology and Clinical Aspects of Sars: The Toronto Experience	13

Einleitung

Zum 14. Mal jährt sich das Meeting „Challenges in Virology“. Neu ist dieses Jahr die Organisation. Was bisher von Wellcome, später Glaxo-Wellcome und dann GSK organisiert wurde, ist nun ein Anlass einer neuen Stiftung „SAFE-ID“, Swiss Academic Foundation for Education in Infectious Diseases. Damit ist die Organisation des Anlasses klar von der Industrie getrennt, doch die Industrie wird, im Sinne von „unrestricted grants“, auch weiterhin die Stiftung unterstützen.

Emerging infectious diseases

Duane Gubler, West Nile and Rift Valley Fever Viruses

D. Gubler war bis Ende 2003 am CDC verantwortlich für die Kontrolle von Emerging Infectious diseases. In seinem Vortrag fasste er das Wissen zu West-Nile zusammen streifte noch kurz Rift Valley Fever.

West Nile: Das Virus

Das WN-Virus gehört zusammen mit dem Japanischen Enzephalitisvirus zu den Flaviviren. Man fasst zahlreiche ähnliche Viren in einer Gruppe zusammen (JapEnzVirus, Murray-Valley EncV, St. Louis encephalitis). In Australien existiert ein Unterstamm von West Nile, das Hujya-Virus.

WNV zirkuliert in einem Reserviour zwischen Vögeln und Culex-Mücken. Solange es dort ist, bleibt es unerkannt. Die meisten Vogelarten erkranken nicht manifest. Das WNV wurde erstmals in Uganda entdeckt (1937) und ist schon lange in Afrika, Europa und West- und Zentralasien sowie im mittleren Osten beheimatet. Bis 1990 gab es eigentlich nie eine Epidemie ausserhalb dieser Regionen.

West Nile: Klinik

Die meisten WNV Infektionen beim Menschen (70—90%) verlaufen asymptomatisch. Die häufigste Manifestation ist sonst ein Dengue-artiges Fieber mit milden Kopfschmerzen, Pharyngitis und Rückenschmerzen von einigen Tagen Dauer. Auch ein Hautausschlag sowie eine Lymphadenopathie sind möglich. In ca. 1:150 Infektionen kommt es zu einer aseptischen Meningitis z.T. mit schlaffer Parese. Die Symptomatik ist schwerer bei älteren Menschen. Letal verläuft die Erkrankung praktisch nur im Alter von über 65 Jahren. In den USA sind ca. 2% der Bevölkerung infiziert. Die Immunität dürfte lebenslang sein.

WNV-Epidemie in den USA

Die „Eroberung“ der USA durch das WNV begann 1999 in NY. In den Folgenden Jahren fand sich eine rasche Ausbreitung innerhalb der 12 nordöstlichen Staaten der USA und Kanada. Bereits 2002 waren alle Staaten der USA östlich der Rocky Mountains betroffen. Im Jahre 2003 kam es über Californien nun auch zur Ausbreitung in den Westlichen Staaten. Ein rascher Anstieg der Fallzahlen 2003 hängt mit einer Änderung der Falldefinition zusammen. Im Gegensatz zu 2002, wo nur neurologische Fälle gemeldet wurden (n=4100), wird seit 2003 jeder Dengue-artige, serologisch verifizierte Fall gemeldet (ca. 8000).

Grosse ökonomische Probleme verursachte WN in den USA durch die Infektion der domestischen Tiere, insbesondere Rennpferde, da bei Pferden die Letalität bei 30% lag. Seit Einführung einer Impfung für Pferde 2003 hat sich dies beruhigt. Nebst anderen Säugetieren sind auch Reptilien infiziert. Insbesondere die Aligatoren in Florida gelten als neues Reservoir für WNV.

Vektoren und Übertragung von WNV

WNV findet sich bei zahlreichen Mückenspezies, mindestens 12 verschiedene Spezies, die auch Säugetiere stechen. Doch zur Übertragung kam es auch durch Blut- oder Organspenden. Das Virus findet sich in allen zellulären Bestandteilen des Blutes wie auch im Plasma. Damit ist wahrscheinlich, dass das Virus mit den Blutprodukten weltweit verbreitet werden kann.

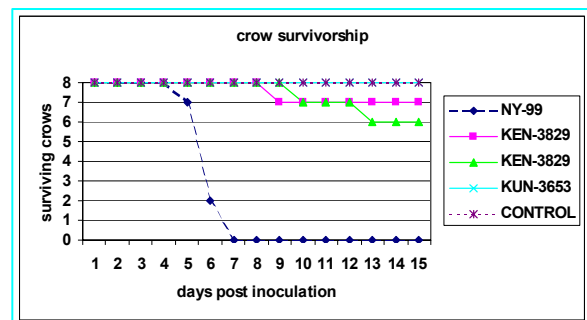
Diagnostik:

Sowohl Roche wie Chiron haben eine genetische Nachweismethode (PCR resp. Gene-Probe) entwickelt. Trotz hoher Sensitivität gibt es immer noch eindeutige Erkrankungen mit Serokonversion bei neg. PCR Nachweis.

Ausblick auf 2004 und Ausbreitung des Virus

Gubler rechnet für 2004 mit kleineren sporadischen Epidemien in den USA. Ca. 40-50% der Fälle werden nicht diagnostiziert. Interessant ist auch die Hypothese, wie sich das Virus von Ost nach West ausbreitet. Die Ausbreitung erfolgte ja saisonal. Man geht davon aus, dass die Zugvögel im Winter das Virus nach Süden bringen, sich dort mit Zugvögeln aus anderen geografischen Zonen treffen von wo das Virus dann wieder nach Norden gelangt.

Interessant ist die Frage, weshalb West Nile bisher nie ein epidemiologisches Problem war und jetzt plötzlich in den USA als „neue“ Krankheit auftritt. Zunächst einmal geht Gubler davon aus, dass die Übertragung von Europa in die USA nicht durch Vögel sondern durch Flugzeuge erfolgte. Doch das erklärt noch nicht, weshalb die Infektion jetzt so schwer verläuft. Experimente mit Krähen zufolge, hat sich aber die Virulenz des Erregers eindeutig verändert (Abbildung). Infiziert man Krähen mit verschiedenen WN-Stämmen so zeigt sich ein massiver Unterschied in der Überlebensrate. Während praktisch alle Krähen 6-7 Tage nach Infektion mit dem NY-Stamm -virus sterben, überleben fast alle Krähen, die mit einem Kenja-Stamm des WNV oder mit Kunja Virus infiziert wurden.



Das CDC hat nun auch die früheren Epidemien in Europa / Afrika retrospektiv untersucht. Tatsächlich gab es hier 1994 nur kleinere Epidemien. Doch dann einzelne mittlere Epidemien in Tunesien und Ägypten und 1999 eine grössere Epidemie in Zentralrussland mit vielen Todesfällen. Somit haben wir es tatsächlich mit einer veränderten Virulenz von WNV zu tun und es ist ein Frage der Zeit, bis auch wir grössere Fallserien beobachten werden.

Rift valley fever

Erste Isolation 1930. In Sub-Sahara Regionen weit verbreitet. Die natürlichen Wirte sind nicht bekannt, ev. Huftiere. Wie bei WNV kommen viele Mückenarten als Vektoren in Frage. Das Virus hat sich seit 2000 vom Afrikanischen Rift Valley langsam gegen Yemen und Saudi-Arabien ausgebreitet. Es ist anzunehmen, dass sich das Virus noch weiter verbreiten wird. Für die Prävention wäre die Elimination von Wassertümpeln und Sumpfbereichen entscheidend.

Der Epizoonotische Zyklus ist sehr speziell für RVF. Die Mücken übertragen das Virus vertikal auf die Eier, sodass epidemische Ausbrüche immer nach feuchtem Wetter (nach der Brut) auftreten. Solche schweren Epidemien traten 1997/98 in Kenia und Somalia auf. Während solchen Epidemien erkrankten Tiere und Menschen praktisch gleichzeitig.

Beim Menschen findet sich vorwiegend ein asymptomatischer Verlauf. Hämorrhagische Erkrankung und Encephalitis (je ca. 1%) sind jedoch möglich. Häufig kommt es zur retinalen Vaskulitis. Eine Impfung existiert für Haustiere und Menschen.

Christian Drosten: Die Entdeckung des Sars Coronavirus

Der junge „Entdecker“ des Sars Coronavirus gab eine Übersicht über die spannende Entdeckung des Sars Coronavirus.

Ohne Patienten, keine Virusisolation

Für das Bernhardt Nocht Institut begann die Suche nach dem Sars Erreger mit dem ersten Patienten, der wegen Sars-Verdacht in Frankfurt zwischenlanden musste. Der erste Verdacht auf ein Virus drängte sich auf, als die Forscher in Vero-Zellkulturen einen zytopathischen Effekt beobachteten.

In der Folge haben die Forscher am BNI aus den Kulturüberständen mittels „random amplification“ mit 15 degenerativen Primern Virussequenzen gesucht. So fanden sie zunächst 20 verschiedene Sequenzen, und für zwei davon fand ergab sich aus dem Vergleich mit der Datenbank eine grosse Homologie mit Coronaviren.

Der Frankfurt-Patient war am 24. März wieder gesund, sodass eine Serokonversion auf infizierten Zellen mit Immunfluoreszenz möglich wurde. Über Nacht wurden diagnostische Primers aufgrund der Sequenzanalyse produziert. Aus einer Selektion von 4 Primern konnten dann auch bei der ebenfalls erkrankten Frau des Patienten das gleiche Virus identifiziert werden.

Charakterisierung des Virus

In der Folge wurden die Primers weiter entwickelt, doch bis heute können die besten Primers nur 75% der Viren diagnostizieren. Die Sensitivität wird deutlich besser wenn Trachealsekret oder BAL verwendet werden. Doch diese Methode ist sicher gefährlicher für die Personen, die diese Proben entnehmen müssen.

In der Diskussion hat Roger Glass (CDC, s. unten) erwähnt, dass sie im Moment Nachweismethoden aus dem Stuhl entwickeln, welche erstaunlicherweise etwa gleich sensitiv sind wie aus TS doch ohne das Risiko für das Personal.

In der Folge ging es nun um die phylogenetische Klärung der viralen Abstammung. Offenbar findet sich mit allen Methoden die gleiche Homologie: Sars-CoV sollte zur Gruppe 2 der Coronaviren gezählt werden hat sich dort aber phylogenetisch ganz früh von der Gruppe 2 getrennt. Möglicherweise wird man in Zukunft von einer Gruppe 2b sprechen.

Interessanterweise finden sich in der Sars-Epidemie zwei verschiedene Clusters von Sars CoV, es war jedoch der TTTT-Kluster aus dem M-Hotel in HongKong, der weltweit verbreitet wurde und der GGGG-Phänotyp blieb im Wesentlichen in Guandong. Allerdings war die Virulenz bei beiden Clustern etwa gleich. Der wahrscheinliche Rezeptor für das neue Virus ist auch bereits bekannt: Sars CoV hat eine ganz klar definierte Bindungsstelle auf dem ACE-2 Rezeptor, wobei die Aminosäuren 318-510 an der Bindung beteiligt sind (Li et al, Nature 2003; Wong et al, 2003).

Therapie von Sars?

Erfahrungen aus Toronto und HongKong zeigen, dass Ribavirin ausser eine hämolytischen Anämie nichts bringt. Der Effekt der Steroide ist unklar, in Toronto (s. unten) wurden diese bei Patienten eingesetzt, die intubiert werden mussten.

Doch neue Therapiemöglichkeiten werden evaluiert. Der Fusionsmechanismus von SCoV wurde ebenfalls bereits untersucht. Es scheint, dass es sich um einen sehr ähnlichen Mechanismus wie beim HIV handelt. Nicht überraschend, dass der HIV-Fusionshemmer Enfuvirtide auch die SCoV-Replikation hemmt. Es wird bereits an spezifischen Peptiden gearbeitet, welche als Fusionhemmer eingesetzt werden könnten. (Gallagher 2003)

Bereits werden Protease-Inhibitoren für SCoV entwickelt (Anand Science 2003). Bei Coronaviren ist die wichtigste Protease (Chymotrypsin-like protease) hoch konserviert. Damit stellt diese ein gutes Ziel für die Entwicklung einer antiviralen Substanz. Ob wir je einmal ein Sars-Medikament brauchen werden, ist völlig ungewiss, doch vielleicht wird das Mittel ja dann einmal gegen harmlose Schnupfenviren eingesetzt.....

Ein weiterer Ansatzpunkt wäre die Hemmung der Co-V-Helikase. Ähnliche Helikasehemmer existieren für Herpesviren und HCV, es wäre möglich, dass diese auch für SCoV funktionieren würden (Thiel JGegVirologie 2003).

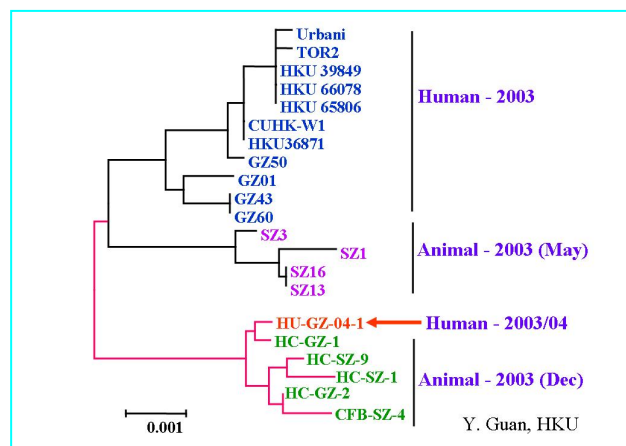
Sars-Impfung

Ein Adenovirus-Vektor mit Sars-epitopen provoziert bei Makakken eine gute CTL Aktivität (Gao et al, Lancet 2003). Eine Entwicklung eines Sars Impfstoffes ist sicher angesichts des weit verbreiteten Reservoirs bei Tieren eine sinnvolle Strategie.

Sars – Wie weiter?

Wie die jüngsten Fälle aus HongKong zeigen, ist das Reservoir in China noch nicht eliminiert (und vermutlich kaum je eliminierbar). Eine Mitteilung von Y.Guan, von der Honkong University vom 6. Januar 04 lässt aber aufhorchen. Das virus, welches anfangs Januar identifiziert wurde, ist aufgrund der phylogenetischen Analyse (s. Abbildung) weit entfernt von den SCoV, welche uns letztes Jahr beschäftigten, dafür nahe verwandt mit den Viren, die im Dezember 03 bei Tieren gefunden wurden. Somit handelt es sich beim jüngsten Fall um eine neue Übertragung vom Tier auf den Menschen.

Wie es weiter gehen wird, ist unklar. Insbesondere können Virulenz und Infektitiosität des neuen Virus nicht definitiv abgeschätzt werden.



Roger Glass: Virale Gastroenteritiden: Noro-Virus

In seiner Einleitung seines hoch interessanten Referates fasst Roger Glass die relative Bedeutung von Noroviren (vgl. mit Sars, West-Nile etc) in zwei Wörtern zusammen: **Everyone poops!** Jede(r) von uns, hat schon einmal eine Norovirus-Infektion durchgemacht.

Viren: Häufigste Ursache von Durchfällen

Gastroenteritiden sind besonders häufig bei Kleinkindern. Bei uns hat ein Kleinkind insgesamt ca. 8-12 Diarrhoe-Episoden. Als Regel gilt: Alle Diarrhoen im Kleinkindalter sind viral bedingt (Adeno, Noro, Rota...). Nur bei Kindern im Hort, kommt es auch zu bakteriellen Infektionen.

Doch bezüglich der Erregeridentifikation befinden wir uns in einem diagnostischen Vakuum. In einer klassischen Arbeit von Baan & Griffin, 1990 fand sich in über 30'000 Stuhlroben von Patienten mit Durchfall in 94% kein (bakterieller) Erreger. Doch auch von den viralen Erregern bleiben 65% „unbekannt“. Neuere Untersuchungen zeigen, dass 90% der Durchfälle mit bisher unbekanntem Erreger durch Noroviren verursacht werden. Somit sind Noroviren mit Abstand die häufigste Ursache für akute Durchfallerkrankungen. Gemäß einer Untersuchung in Peru bei Kindern mit Diarrhoe (serokonversion dokumentiert) warden 25% der Hospitalisationen wegen Durchfall durch Norovirus hervorgerufen (Rotavirus: 40%). Umgerechnet bedeutet dies, dass weltweit 250'000 Kinder an den Folgen einer Norovirusinfektion sterben.

Durchfalltypen

Roger Glass teilt die Durchfallerkrankungen epidemiologisch in zwei Klassen: Demokraten und Republikaner. Die Demokratischen Durchfälle betreffen alle Menschen, Reich und Arm, schwarz und weiss. Dazu gehören die durch Norovirus verursachten Durchfälle.

Die beiden Typen lassen sich auch wie folgt unterteilen:

- Kinderdurchfälle (Gr. A Rotavirus, Astrovirus, Adeno-V, Noro, Sapovirus) Diese hinterlassen oft eine Immunität.
- Epidemische Durchfälle (fast ausschliesslich Norovirus, selten Sapovirus). Diese Erreger werden durch Essen und Wasser übertragen und hinterlassen keine Immunität.

Norovirus

Das Virus wurde nach dem Ort der Erstbeschreibung, Norwalk, Ohio, 1968 benannt (Adler Zickl, J Infect Dis 1969). Damals sind 50% von 232 Studenten einer Schule erkrankt. Das Virus wurde 1972 durch Kapikian identifiziert, doch auch 32 Jahre später wissen wir noch weniger über Noro als über das Sars-CoVirus! Roger Glass spielte am Schluss seines Vortrages noch einen kurzen Video-Clip von Bill gates, in welchem dieser sagte, dass er nicht verstehen könne, dass man eine Krankheit, von der man wisse dass jährlich tausende von Kinder sterben würden, einfach unbeachtet lasse, währenddem man Millionen in die Erforschung seltener Krankheiten stecke.

Der Übertragungsweg von Norovirus ist Wasser und Esswaren. Es genügen weniger als 10 Viruspartikel für eine Übertragung. Allerdings fehlt ein Tiermodell sodass all unser Wissen bisher aus Freiwilligenstudien am Menschen stammt. Das Virusgenom ist seit 1993 sequenziert. Dies war Grundlage für die PCR-Diagnostik aber auch für die Serodiagnostik durch die Expression von Antigenen aus ORF-2.

Noroviren in Austern und andere Übertragungswege

Kurz vor dem Abendessen, an dem es auch Austern gab, erzählte Glass eine eindruckliche Geschichte: Ein Outbreak im September 93 betraf zahlreiche Personen in den ganzen USA. Als Risikofaktor wurde der Verzehr von Austern identifiziert. In der Folge ergab eine minutiöse Recherche, dass alle Austern aus dem gleichen Fischfanggebiet von 3x3km stammten. Hier fand man dann auch einen Fischer, der während Tagen mit einer Durchfallerkrankung im seichten Wasser stand und sich im Wasser entleerte. Alle Personen dieses Outbreaks wurden mit dem gleichen Stamm infiziert die beim Fischer im Stuhl nachweisbar waren. Dieser Fischer hat während 3 Tagen ca. 6 Millionen Oystern in 14 Staaten infiziert ([MMWR 42\(49\):1993](#)).



Wenn Noroviren einmal in einer Institution sind, dann sind diese kaum mehr wegzubringen. Besonders hartnäckig und häufig halten sich Noro-Epidemien, welche im Winter häufiger sind, auch auf Kreuzschiffen. Im Irakkrieg musste das USS Saratoga wegen einer Noro-Epidemie einige Tage in den „Ausstand“ treten. Glass bezeichnete eine Kreuzfahrt als Freiwilligen-Experiment mit Noroviren. Im Jahr 2002 wurden 10 Kreuzschiffe von 14 Noroausbrüchen heimgesucht. Sogar die Desinfektion des ganzen Schiffes unterbricht die Infektionskette nicht vollständig. Norovirus bleibt in der Umgebung, z.B. in Teppichen und wird auch so direkt übertragen.

Wenn danach gesucht wird, dann finden sich bei mind. 52% aller Outbreaks Noroviren als Verursacher.

Eine klar dokumentierte Übertragung von einem Fussballteam auf das gegnerische Team während des Wettkampfes (keine weiteren gemeinsamen Aufenthaltsorte oder Essen) zeigt, dass auch enger Körperkontakt für eine Übertragung genügt ([Becker et al. NEJM, 2000](#)).

Therapie und Impfung

Die Behandlung der Norovirus Infektion ist lediglich symptomatisch (Rehydratation). Infolge der grossen Diversifität des Virus dürfte eine Impfung schwierig sein. Das Viruskapsid ist immunogen und eine Impfung mit diesem Protein hinterlässt einen Impfschutz. Im Moment wird versucht, dieses Protein in Esswaren zu integrieren, z.B. Salznüsse. Damit könnte eine Impfung über das Essen mit einer Vielzahl von Proteinen erfolgen.

Prävention

Das Virus ist resistent gegenüber Chlorbehandlung im Wasser (10ppm) und es bleibt bei Raumtemperatur über Monate stabil; daher die häufige Übertragung durch Wasser. Die Replikation im Darm ist massiv (10^{14} Kopien/ml) und die Ausscheidung im Stuhl dauert mindestens 2 Wochen länger als die symptomatische Phase. Von Kreuzschiff-Ausbrüchen ist bekannt, dass eine sekundäre Infektion häufiger ist, wenn es primär zum Erbrechen kam. Vermutlich beim Erbrechen Tröpfchenbildung.

Zur Prävention in geschlossenen Einrichtungen (Lager, Spital, Kreuzschiff) ist entscheidend, dass die Übertragung blockiert wird. Die Umgebung muss dort sofort dekontaminiert werden, wo viele Personen ein- und aus gehen. Kranke und Gesunde sollen getrennt werden und die gründliche Händedesinfektion muss forciert werden. Aber alle Massnahmen sind nie 100% effizient.

Für Spitäler gilt: Wasser und Essen kontrollieren, Händedesinfektion. Containment bringt nicht viel.

Rotavirus

Abschliessend hat Glass noch Rotaviren diskutiert. Sehr häufige virale Durchfallerkrankung, vor allem Kinder bis 5 Jahre. Todesfälle v. a. in Entwicklungsländern, am meisten Betroffenen der indische Subkontinent.

Aber auch in Entwicklungsländern wichtige Erkrankung, für USA ca. 20-40 Todesfälle/Jahr, 65'000 Hospitalisationen und 500'000 Arztbesuche.

Es gibt 4 verschiedene Serotypen, die Erkrankung erzeugt neutralisierende Antikörper und hinterlässt eine Immunität, allerdings nur für den Serotyp. Doch weltweit finden sich noch viel mehr Stämme, insbesondere durch Gen-Reassortment mit anderen tierischen Rotaviren, also ähnlich wie bei Influenza. Dies erschwert die Impfstoffentwicklung.

Eine tetravalente Rhesus Rotavirus-Impfung konnte 1999 in den USA eingeführt werden. (Monat 2, 4 und 6). In den ersten Monaten der Impfung trat als Komplikation bei sieben Kindern eine intestinale Invagination auf, worauf die Impfung vom Markt genommen wurde. Leider verhindert dies nun auch die Einführung des Impfstoffes in Entwicklungsländern, wo der Impfstoff Hunderttausende von Leben retten könnte (s. Diskussion in [BMJ vom 2.9.00](#)). Die Invagination kann allerdings verhindert werden, wenn die erste Dosis vor dem Alter von 90 Tagen verabreicht wird.

HPV

Peter Itin, Dermatologie Aarau: Klinische Aspekte der HPV Infektion

Itin gelang ein sehr schöner Einstieg ins Thema HPV. Er zeigte zahlreiche dermatologische Krankheitsbilder und führte diskutierte auch die wichtigsten Aspekte der Entartung.

Warzen gehören zu den häufigsten Ursachen dermatologischer Zuweisungen. Die Prävalenz von HPV-DNA in Warzen ist über 90%. Doch die verschiedenen HPV-typen sind nicht immer gleich kanzerogen. So können HPV16 in normalen Warzen nachgewiesen werden und einfache Warzen können maligne entarten.

HPV als STD

HPV ist eine hoch-prävalente STD. Vermutlich die wichtigste STD überhaupt. Buschke-Läwenstein-Tumor: typische proliferierende Warzen, bei welchen sich oft nur den Befund einer viralen Warze findet doch wenn der ganze Befund biopsiert wird, dann findet sich das Carcinom. In einer interessanten Fallserie von 21 Fällen zeigten Itin et al, den gleichen HPV-typ am Finger und anal, was auf eine ano-digitale Selbstinokulation hinweist.

HPV und Immunschwäche

Bei HIV-Positiven findet sich eine höhere Prävalenz von Warzen (29%) und Condylomata accuminata (12%). Die Verteilung der HPV-typen ist in etwa gleich bei HIV-pos. und HIV-neg. Patienten. Aber HPV-6 disseminiert viel mehr auf der Haut beim Patienten mit HIV-assoziiertem Immundefekt.

Weitere Krankheiten, die möglicherweise mit HPV assoziiert sind: Fanconi Anämie (auch HPV-Malignome gehäuft). Vermutlich existiert bei der Fanconi Anämie ein Polymorphismus des p53 Proteins. Vermutlich auch Psoriasis HPV assoziiert (beim HIV-Patient ebenfalls gehäuft).

Douglas Lowy: HPV - Pathogenese und Impfung:

Hintergrund

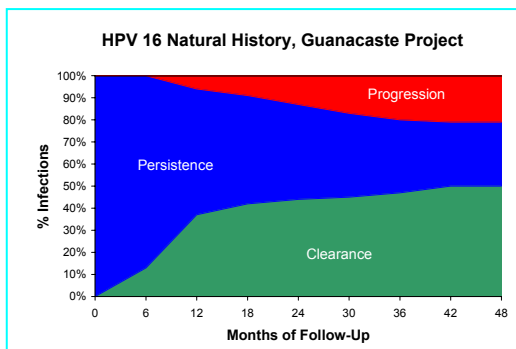
Weltweit ist das HPV-assoziierte Cervix Ca der häufigste Tumor bei Frauen. In Entwicklungsländern fehlen die Mittel für das Pap-Screening, welches die Carzinom-Inzidenz drastisch senkte.

Das Cervix-Ca ist numerisch am häufigsten, praktisch 100% der Carzinome sind HPV bedingt. Anders verhält es sich bei den anderen Tumoren (s. Abbildung). Die verschiedenen

HPV-Genotypen haben unterschiedliche Dignität. Doch die Verteilung der verschiedenen HPV-Typen ist weltweit dieselbe.

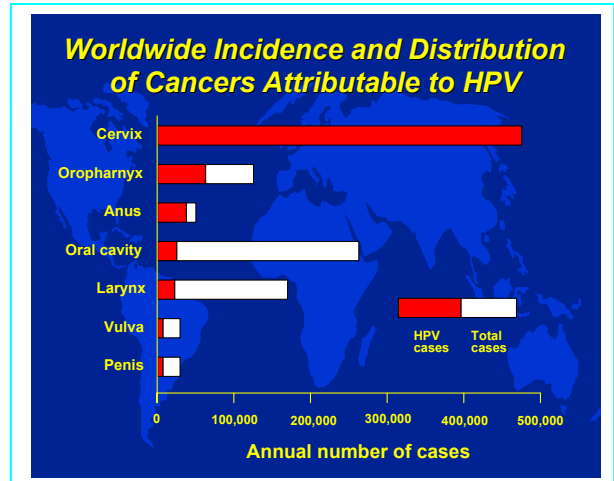
Für den HPV-16 gilt, dass dieser Typ am häufigsten im Cervix-Epithel persistiert. Er ist auch am häufigsten mit dem Cervix-Ca assoziiert. Auch die anderen onkogenen Typen persistieren besser als die non onkogenen Typen. Aber selbst sog. non-onkogene Typen können zu Progression in > CIN3 führen. Eine neuere Untersuchung im NEJM zur Häufigkeit und Onkogenizität verschiedener HPV-Typen haben wir auf <http://www.infekt.ch> vor einiger Zeit diskutiert.

Zur malignen Entartung ist die Persistenz des HPV



notwendig.

In vielen Fällen verschwindet das HPV Virus jedoch spontan. Frauen, bei denen HPV spontan verschwand, haben wieder ein gleich niedriges Risiko für ein Zervix-Ca wie Frauen mit persistierendem HPV. Werden Frauen longitudinal beobachtet, findet sich nach positivem HPV Befund bei knapp 40% eine spontanes HPV Clearing nach einem Jahr (s. Abbildung).



Die Rolle von HPV bei der malignen Entartung

HPV repliziert in den Stammzellen der Haut oder Schleimhaut. Wenn es zur Dysplasie schaltet HPV innerhalb der Zelle alle Strukturproteine ab und produziert nur noch die beiden Proteine E6 und E7 produziert. Das virale E6 Protein kann effizient die epidermale Apoptose blockieren. UV-Licht aktiviert die p53 Aktivierung, welche zur Apoptose führt. Diese p53 Aktivierung wird durch E6 blockiert. Das virale E7 Protein blockiert das wichtigste Tumorsuppression-Protein, Rb (Rb: Retinoblastom, bei diesem Tumor fehlt das Rb-Gen). Im Skin-Mouse-Modell wurde gezeigt, dass für die Tumorgenese beide Proteine E6 und E7 gemeinsam exprimiert werden müssen ([Song et al, Virology 2000](#)).

Prophylaktische Impfung

Eine therapeutische Impfung wäre am besten. Doch der erste Schritt ist im Moment die Entwicklung einer präventiven Impfung. Das Gebiet interessiert sich für L1 und L2. L1 ist das wichtigste Strukturelle Virusprotein. Dieses kann sich selbst zusammensetzen in ein virales Capsid. Neutralisierende AK bedecken das Virus (L1-Capsid).

Es existieren mindestens zwei Impfstoffe mit L1. Diese sind immunogen ohne Adjuvans. Der erste ist HPV16L1: Es handelt sich um Virus-like-proteins. Bei freiwilligen Frauen zeigte der Impfstoff eine gute Immunogenizität mit mittleren AK-Titern von 9400, und gutem Titer nach 6 Monaten (ca. 2900). Der Impftiter ist etwas gleich hoch wie die Titer, welche bei Tieren zu einer sterilisierende Immunantwort führen. Grosse Phase-3 Studien mit mehreren Tausend Frauen und mehrjähriger Beobachtungsperiode sind unterwegs (Merck HPV 16, 18, 6, 11; GSK HPV 16 und 18).

Doch selbst wenn eine sterilisierende Impfung auf dem Markt kommt, kann das PAP-Screening noch nicht aufgegeben werden. Die Impfung würde etwa gegen 60% der Carzinome schützen, zusammen mit Pap-Screen könnten 90% der Cervix-Ca verhindert

werden. Erst einer multivalenten Impfung (mind. 12 Typen) würde 96% der Cevix-Ca verhindert werden.

Das L2 Protein stimuliert gute Kreuzreagierende neutralisierende Antikörper. Doch die Immunantwort ist zu schwach und es müssten noch geeignete Adjuvantien entwickelt werden.

EBV

David Thorley-Lawson: Weshalb persistiert EBV?

David Thorley hat einen hoch interessanten, doch komplexen und sprachlich nicht immer gut verständlichen Vortrag gehalten. In seinem Referat ging er der Frage nach, wie EBV im Körper persistiert, was wichtig ist für das Verständnis der EBV-assoziierten Tumore.

Die Verbreitung von EBV

95% der Weltbevölkerung ist mit EBV infiziert. Alle B-Zellen sind empfänglich für das Virus. Der Rezeptor ist das CD21 Molekül. Normalerweise führt die Latenz in der B-Zelle nie zur malignen Entartung.

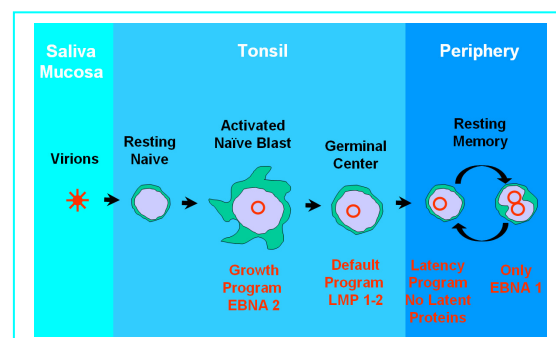
Infiziert man B-Zellen *in vitro*, so wird die Zelle immortalisiert. Das heißt, es braucht ein intaktes Immunsystem, um diesen Prozess, der *in vivo* praktisch nie vorkommt, zu verhindern. EBV wird mit verschiedenen Tumoren assoziiert, doch der ursächliche Zusammenhang ist für die meisten Tumoren unklar. Gesichert ist, dass das Epitheliale Carzinom des Pharynx durch das EBV hervorgerufen wird. Dies widerspiegelt den epithelialen Tropismus von EBV, welcher für die Primäre Infektion notwendig ist.

Doch andere Assoziationen müssen nicht unbedingt kausal sein. So findet sich z.B. bei Lupus Erythematodes (LE) eine hohe EBV-DNA Konzentration im Blut doch dasselbe findet sich auch bei Immunsupprimierten. Es dürfte eher so sein, dass der LE eine Immunsuppression verursacht welche ihrerseits dann wieder eine erhöhte Replikation von EBV zulässt.

Wie gelingt es dem EBV, im Körper zu überleben?

Bei einer EBV-Primoinfektion kann das Virus jede B-Zelle, ungeachtet ihres

Aktivierungsstadiums infizieren. Dies führt dazu, dass die Zelle vom Immunsystem als fremd erkannt und eliminiert wird (Virale Proteine auf der Oberfläche). Das EBV aktiviert nun während der Infektion das sogenannte „Growth-Program EBNA-2“. Dieses genetische Programm aktiviert die B-Zelle in den Tonsillen. Das nachfolgende „Default Program LMP1-2“ bringt die B-Zelle in das ruhende Memory-Stadium. Die Aktivierung durch das EBNA-2 Programm ist eine gefährliche Phase: hier wird die Zelle vom Immunsystem erkannt und zerstört. Weshalb macht das Virus diesen gefährlichen Schritt? Ruhende B-Zellen müssen aktiviert werden, um in einen Memory-Zustand zu gelangen. Genau das ist es, was das EBV anstrebt. Erreicht es den Zustand der resting Memory-Zelle, bleibt es in dieser latent. Es schaltet das sog. „Latency-Program“ ein. Hier werden keine viralen Proteine gebildet.



Bei einer EBV-Primoinfektion kann das Virus jede B-Zelle, ungeachtet ihres Aktivierungsstadiums infizieren. Dies führt dazu, dass die Zelle vom Immunsystem als fremd erkannt und eliminiert wird (Virale Proteine auf der Oberfläche). Das EBV aktiviert nun während der Infektion das sogenannte „Growth-Program EBNA-2“. Dieses genetische Programm aktiviert die B-Zelle in den Tonsillen. Das nachfolgende „Default Program LMP1-2“ bringt die B-Zelle in das ruhende Memory-Stadium. Die Aktivierung durch das EBNA-2 Programm ist eine gefährliche Phase: hier wird die Zelle vom Immunsystem erkannt und zerstört. Weshalb macht das Virus diesen gefährlichen Schritt? Ruhende B-Zellen müssen aktiviert werden, um in einen Memory-Zustand zu gelangen. Genau das ist es, was das EBV anstrebt. Erreicht es den Zustand der resting Memory-Zelle, bleibt es in dieser latent. Es schaltet das sog. „Latency-Program“ ein. Hier werden keine viralen Proteine gebildet.

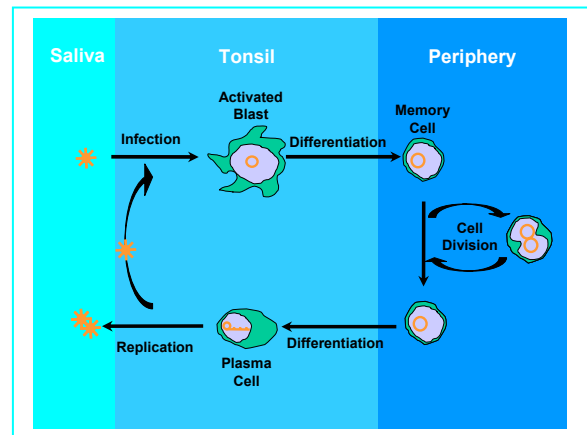
In der ruhenden Memory-Zelle ist das Virus in der Form von extrachromosomaler DNA vorhanden. Diese Zellen produzieren kein virales Protein. Teilt sich die Zelle, muss auch die

virale DNA in der Zelle repliziert werden. Das Virus schaltet dazu sein EBNA-1 Programm ein, produziert jedoch keine anderen viralen Proteine.

Mit anderen Worten: Wenn eine B-Zelle mit EBV normal infiziert ist, dann programmiert EBV die Zelle so, dass sie in den ruhenden Memory-Zustand versetzt wird. Wenn nun (selten) einmal etwas schief geht mit dieser Transformation, dann kann es vorkommen, dass eine Zelle, wie in der Zellkultur, immortalisiert wird.

Aktivierung in vivo

Eine Memory Zelle kann im Organismus auch wieder aktiviert werden. Die Ursache ist ein externer Stimulus, es hat also nichts mit dem EBV zu tun. Die Aktivierung der B-Zelle kann dann wiederum eine kurzfristige Aktivierung des EBV verursachen. Damit ergeben sich für EBV kurzfristige Phasen der Virämie. In diesen Phasen ist die infizierte Person auch wieder infektiös und scheidet das Virus im Speichel aus.



Es stellt sich die Frage, weshalb EBV dann nicht sukzessive alle Memory-B-Zellen infiziert. Es stellt sich offenbar ein Gleichgewicht ein. Viele infizierte Zellen werden primär eliminiert. Nur relativ wenige Memory Zellen überleben die Immunantwort und können rechtzeitig in den Memory-Status abtauchen. Thorely hat dies quantitativ gemessen und fand diesbezüglich eine grosse Variabilität, zwischen 35 und 500 infizierte Zellen pro 10^7 B-Zellen. Doch es stellt sich bei jedem Infizierten ein individuelles Gleichgewicht ein, welches über Jahre stabil bleibt.

Die Situation weist somit viele interessante Übereinstimmungen mit HIV auf. Das Virus macht eine schwere Primäraffektion. In dieser Phase kommt es zur massiven Zerstörung von Lymphocyten. In der Folge erreicht das Virus – hier sind die Rezepte grundsätzlich verschieden – einen Zustand der Latenz. Bei HIV ist diese nur kurz, und die meisten Zellen werden wieder aktiviert. Bei EBV ist diese Phase lang. Doch auch EBV muss wieder aktiviert werden, um seinen Infektionszyklus abzuschliessen.

Zusammengefasst: Das EBV persistiert im Körper, indem es sich eine Nische im Körper sucht, wo es vom Immunsystem nicht erkannt wird. Diese Nische ist die Memory-B-Zelle. Um aber seinen eigenen Lebenszyklus wieder abzuschliessen (Infektion anderer Zellen/Personen) muss es wieder aktiviert werden. Dabei nutzt das Virus die B-Zell-Biologie, die Aktivierung der B-Zelle durch fremde Antigene.

Sars

Albert Osterhaus: Tiere als Reservoir für Infektionen

Osterhaus aus Rotterdam hielt ein faszinierendes Feuerwerk eines Referates über die Interaktion zwischen Mensch und Tier und dem dabei resultierenden Austausch von Infektionserregern.

Emerging Infectious Diseases als Regelmechanismus

Entwicklungsgeschichtlich sind „Emerging infectious diseases“ (EID), also neue oder erneut auftretende Infektionen vielleicht immer schon aufgetreten. Das Auftreten solcher Infektionen wird immer durch eine Veränderung gewisser Lebensumstände verursacht. Die Infektionen selbst führen dann jeweils wieder zu einer Veränderung einer Population.

Osterhaus postuliert, dass alle Lebewesen in einem ständigen Gleichgewicht leben und dass Viruserreger eine ganz wichtige Rolle bei der Erhaltung dieses Gleichgewichtes haben. So kommt es immer wieder zur Infektion von Menschen und Tieren, sodass eine Spezies regelmässig dezimiert wird. Letztmals ereilte dieses Schicksal den Menschen 1918, als die Influenza 1% der menschlichen Bevölkerung dahinraffte.

Bis vor 200 Jahren hat sich die menschliche Population zahlenmässig kaum wesentlich verändert. Erst in den letzten 200 Jahren kam es zur Bevölkerungsexplosion. Parallel dazu haben sich die hygienischen Verhältnisse verändert und der Mensch begann, sich durch Impfungen vor Infektionen zu schützen. Dieser gezielte Schutz vor den „regulierenden“ Infektionen hat der Menschheit erst zur Bevölkerungsexplosion verholfen.

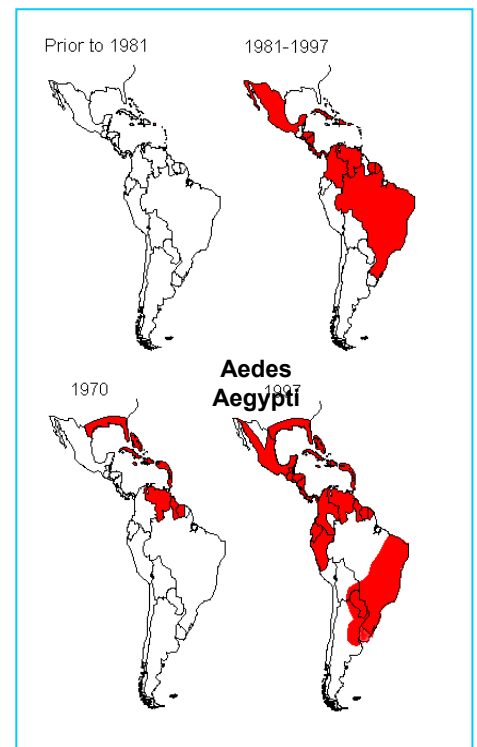
EIDs werden grundsätzlich durch äussere Faktoren begünstigt. Diese Faktoren sind:

- Gesellschaftliche Faktoren
 - Verhalten, Mobilität, Demographie
 - Umwelt, Populationsdichte, Landflucht
- Technologie:
 - Medizinisch (Transfusionen, Xenotransplantation, Impfung)
 - Lebensmittelproduktion (BSI etc.)
- Ökologie
 - Tierkontakte, Landwirtschaft, Fischerei
 - Umweltverschmutzung, Globale Erwärmung
- Virus
 - Mutation, Rekombination, Reassortment
- Bioterrorism (nicht Inhalt dieses Vortrages)

Als Beispiel beginnt Osterhaus mit der Ausbreitung der *Aedes aegypti* in Mittel- und Südamerika. Zwischen 1980 und 1997 kam es mit der Ausbreitung dieser Mückenarten (Abbildung oben) auch gleichzeitig zur Ausbreitung der Dengue-Gebiete in diesen Ländern (Abbildung unten).

Als weitere Beispiele nennt O. Lentiviren (HIV-1 und HIV-2), West-Nile (vermutlich Übertragung durch Mücken), Hantavirus (verbreitung durch Nagerkontakte USA-Südstaaten 1994: Vorstellung prädominant, dass Virus durch Mücken transportiert wurde).

BSE: 1 Mio Rinder in GB infiziert, aktuell ca. 140 nvCJD, nur durch eine Veränderung der Fütterungsverhältnisse bei Rindern aufgetreten. Zahlreiche Vorschläge zur Prävention, doch die wichtigste Maßnahme war die Unterbrechung der Fütterungskette.



Influenza: wahrscheinlich die wichtigste EID

Von allen Krankheiten, die heute durch die Medien diskutiert werden ist vermutlich die Influenza die wichtigste überhaupt. Heute sind 15 Hämagglutinin-Typen und 9 Neuraminidase-Typen bekannt. Alle in Wasservögeln und Zugvögeln. Diese Tiere hinterlassen ihren Kot und somit einen Teppich von allen möglichen Viren auf der ganzen Welt. Das Influenza-Virus kann auf Pferde, Wassertiere, Schweine, und Hühner übertragen werden. Osterhaus verwendet das Bild eines Virusreservoirs, welches ständig über unsere Köpfe fliegt.

Influenza Viren müssen sich an den neuen Wirt anpassen. Die effizienteste Methode dazu ist das Reassortment. Die Viren bringe neue Gene von Vögeln auf den Zwischenwirt, z.B. das Schwein und bilden dort durch Kombination mit Genen vom Schwein (Reassortment) ein neues Virus. Dieses ist dann besser an das Säugetier adaptiert. Doch die Übertragung kann auch direkt von den Vögeln auf den Menschen erfolgen.

Während der sogenannten Vogelgrippe 1995 kam es gleichzeitig zu einem Outbreak von Hühner-Grippe in HongKong. Als Osterhaus im Nature publizieren wollte, dass sich das Vogelgrippe-virus auf den Menschen übertragen liess, wurde die Arbeit von Nature primär abgelehnt und erst wieder in einer Revision zugelassen, als neue Fälle bestätigt wurden. Effektiv war das „Chickenvirus“ direkt auf den Menschen übertragen worden.

In den folgenden Jahren hat Osterhaus ein ganz raffiniertes Repositorium angelegt. Er hat von Hobbyornithologen, welche Zugvögel beringen, für wenig Geld Stuhlproben von Zugvögeln abstreichen lassen. Mit dieser Methode hat das Labor insgesamt 123 Influenza-Species von 8700 Stuhlproben isoliert: Praktisch alle bekannten HA und NA konnten isoliert werden und zusätzlich noch zwei neue HA (#16 und #17) und ein neues NA, (#10). Die häufigsten Vogelarten waren Enten. Wenn dieses fliegende Virusreservoir also immer über unseren Köpfen schwebt, dann müssen wir uns fragen, ob es eigentlich schlau sei, dass man Hühner in Freilandhaltung herumgehen lässt. In Holland alleine „leben“ insgesamt 100 Millionen Batteriehühner doch immer mehr Freilandhühner. 1998 waren es 350 Millionen Tiere in Holland. Tatsächlich ist 2003, praktisch gleichzeitig mit dem Auftreten von Sars, ein Outbreak von H7N1 in einigen Hühnerfarmen aufgetreten ([www.infekt.ch berichtete darüber](http://www.infekt.ch/berichtete_darueber)). Die Hühner erkrankten selbst an der Grippe, die bereits 1999 in Italien zahlreiche Hühnerfarmen betraf. Doch der Ausbruch in Holland 2003 war speziell, indem fast 100 Menschen infiziert wurden und ein Veterinär an den Folgen der Grippe verstarb. Der NL-Outbreak war offenbar ein neues Virus, nicht das italienische.

Das Ganze begann mit einigen Fällen von Conjunctivitis bei Menschen. Praktisch alle Conjunctivitis-Fälle hatten die Sequenz wie die erkrankten Hühner. Beim Mann, der starb, fanden sich zahlreiche Mutationen, die neu waren. Im Moment wird noch untersucht, ob diese durch reverse mutationen aufgetreten sein könnten (Fourchier et al, PNAS 2004)

Influenza B virus

Influenza A Viren findet man bei Mensch und Tier. Influenza C nur beim Tier. Bisher war die Lehrmeinung, dass Influenza B nur beim Menschen zu einer Krankheit führt. 1998 kam es zum Massensterben unter Robben in der Nordsee. Das Team um Osterhaus konnte nachweisen, dass diese Tiere an einer Influenza B verstorben waren. Weiter noch konnten sie zeigen dass die Tiere vor 1995 keine Antikörper gegen Influenza B hatten, nach dem Ausbruch jedoch fanden sich Antikörper bei 2% ([Osterhaus Science 2000](#)). Effektiv handelte es sich um das gleiche Virus wie dasjenige Influenza B Virus, welches 4 Jahre zuvor bei den Menschen zur Grippe führte. Also eine Dokumentation einer Mensch→Tier Übertragung.

D.E. Low: Epidemiology and Clinical Aspects of Sars: The Toronto Experience

Dr. Low ist Mediziner und Chef des Mikrobiologie-Labors am Mount Sinai Hospital in Toronto, dort wo die ersten Sars Fälle in Toronto auftraten. Dr. Low erzählte wie in einem Krimi von den Ereignissen rund um Sars. Das wichtigste beim Umgang mit der neuen Krankheit war wohl die Bereitschaft und Fähigkeit des Teams, mit Improvisationen rasch auf die neuen Verhältnisse zu reagieren. Nichts war vorbereitet, man musste einfach innert Stunden und Tagen handeln.

Was besonders beeindruckte: die grösste Bedrohung für das Spitalpersonal war eine psychologische: von 45 Spitalmitarbeitern, die an Sars erkrankt sind, sind 6 Monate später erst 4 Personen wieder bei der Arbeit. Die andern leiden immer noch unter den folgen des psychologischen Stresses, den sie im Zusammenhang mit der Epidemie erlebten. Die Canadische Bevölkerung war auch stark betroffen von der ausgrenzenden Haltung der USA: Canadier wurden an der Grenze fast wie Terroristen behandelt (s. Comic).

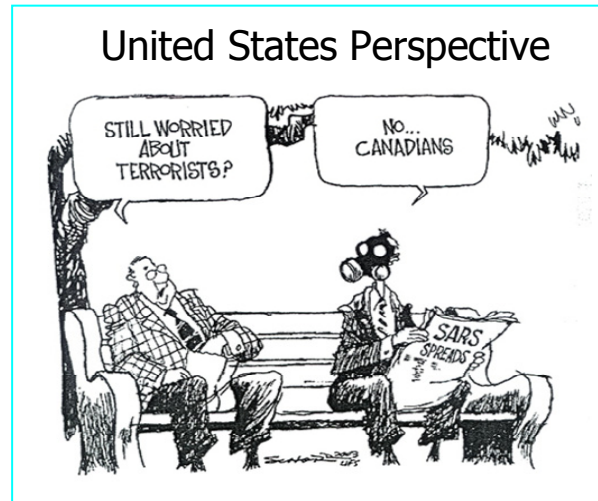
Dass gerade Toronto von Sars betroffen wurde, ist kein Zufall. Gut die Hälfte der Menschen in Toronto sind nicht Canadier, es gibt in der Stadt vier verschiedene China-Towns.

Sars hat eine hohe Mortalität (verglichen mit Influenza etwa 100x), etwa so wie Pocken. Der Unterschied zu Pocken ist, dass man Pocken erkennen kann, Sars nicht. Dies war das Hauptproblem. Eine Sars-Diagnose war klinisch schwierig zu stellen.

Low fasste die wichtigsten Massnahmen der spitalhygienischen Kontrolle von Sars zusammen:

- nur ins Pat. Zimmer wenn nötig
- so kurz wie nötig
- Patienten müssen identifiziert werden (entscheidend!)
- Quarantäne vermutlich sinnvoll.

Wenn Vorsichtsmassnahmen eingeführt sind, gibt es praktisch keine Übertragung. Eine Übertragung kommt praktisch nur im Spital vor ([Lau et al, EmergInfectDis 2003](#)). Wichtig ist auch das Anpassen der Maske („fit-testing“).



St. Gallen, P. Vernazza, 11. Jan. 2004 (update 2.2.04)