

Was sind Pockenviren bzw. Orthopockenviren (OPV)??

Viren der Familie *Poxviridae* sind große behüllte Viren (ca. 140-450 nm) mit einem linearen doppelsträngigen DNS-Genom, das zwischen 130-300 kbp groß ist und für etwa 200 Gene codiert. Eine ausführliche Beschreibung von diversen Pockenviren ist auf der Internetseite unserer Vorlesung zu finden (<http://www.vetmed.uni-muenchen.de/micro/pocken.pdf>) oder auch dem von uns kürzlich im Internet veröffentlichten Artikel zu entnehmen (21.11.02, <http://www.g-f-v.org/docs/1037888881.pdf>).

Orthopockenviren repräsentieren ein Genus innerhalb der Familie der Pockenviren. Die als Krankheitserreger für den Menschen interessanten Vertreter dieses Genus sind Variola Virus, der Erreger der originären Menschenpocken; Vaccinia Virus, welches als Impfvirus verwendet zur Ausrottung der Menschenpocken führte; Affenpockenvirus, das nur in Teilen West- und Zentralafrikas endemisch ist, und das Kuhpockenvirus. Letzteres ist nur aus Europa und den östlich angrenzenden Gebieten Zentralasiens bekannt. Morphologisch gleichen sich alle OPV. Sie haben einen komplexen Aufbau, der sich als ca. 200-250 nm x 300-350 nm backsteinförmiges Partikel mit unregelmäßiger Oberflächenstruktur im Elektronenmikroskop darstellt.

OPV können über den Respirationstrakt und Verdauungstrakt aufgenommen werden. Sie werden über das lymphatische System und den Blutstrom im Körper zell-assoziiert verbreitet, eine geringe Infektiosität kann auch im Plasma gefunden werden.

OPV wachsen und produzieren einen zytopathischen Effekt in verschiedensten Zellkulturen, am besten in Zellkulturen humanen Ursprungs oder von anderen Primaten. Variola, Vaccinia Kuhpocken- und Affenpockenviren können dabei nicht unterschieden werden. Eine Methode der Wahl ist die Anzucht der Viren auf Chorioallantoismembran von 10-12 Tage alten Hühnerembryonen oder molekularbiologische Techniken (PCR).

Daten zum Erreger der originären Menschenpocken: das Variolavirus (Variola major; Variola minor [Alastrim]; Variola vera; Blattern; Smallpox)

Geschichte:

Das Virus hat jahrhundertlang tödliche Epidemien verursacht. In Europa wurde die Krankheit um 570 n. Chr. eingeschleppt. Im Mittelalter bis zum 19. Jahrhundert war die Variola aufgrund der verheerenden Seuchenzüge in Europa gefürchtet. In Deutschland starben etwa 670 000 der 24 Millionen Menschen großen Bevölkerung jährlich. Zu Beginn der Impfära forderte die letzte große Pandemie 1870-1873 etwa 100 000 Tote. Im Jahr 1967 begann ein intensives weltweites Impfprogramm gegen Pockenviren. Im Jahr 1980 wurde von der WHO die weltweite Eradikation der Variola proklamiert und diese ist seither nicht mehr vorgekommen. Der letzte natürliche Variolavirus Fall trat am 26.10.1977 in Somalia auf; zwei weitere Fälle 1978 durch eine Laborinfektion in Birmingham, England. Derzeit gibt es offiziell nur noch zwei Institute, in denen Variolavirus gelagert wird, am Center for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, USA, und im Labor VECTOR, Kolzowo, Novosibirsk, Rußland.

Infektionsverlauf:

Inkubationszeit: 12-14 Tage. Es gibt einige schwere Verlaufsformen mit Todesfolge (Variola confluens, Variola pustulosa hämorrhagica, Purpura variolosa). Die Letalität beträgt bei Variola major 20-50%, bei der milder verlaufendem Variola minor (Alastrim) bis 5%. Variola major ist eine zyklische, in mehreren Phasen verlaufende Virusallgemeinerkrankung. Nach einer Phase der Initialisierung (2-3 Tage) kommt es zu Fieber, Hals- und Kreuzschmerzen, Mattigkeit, vorübergehenden erythemartigen Hautveränderungen, die aber erregerunspezifisch sind. Im Stadium des Pockenexanthems (Eruptionsphase) kommt es nach weiteren 4-8 Tagen zur Ausbildung des typischen Exanthems an Haut und Schleimhäuten. Es treten schubweise Papeln, Bläschen und Pusteln mit zentralem Pockennabel auf. Im Stadium der Organmanifestation beobachtet man nach 8-20 Tagen das generalisierte Pockenexanthem (Krustenbildung) an der Haut und den Schleimhäuten. Begleitend treten hohes Fieber, Myocarditis, Lymphknotenschwellungen, Pneumonie sowie bakterielle Sekundärinfektionen auf. Die Pocken heilen nach 3-4 Wochen unter Narbenbildung ab.

Differenzierung:

Eine Unterscheidung des hochkontagiösen Variolavirus von anderen OPV ist auf Anhieb nicht möglich. Alle Labordiagnostik muß in dafür ausgerüsteten BSL-4 Labors unter besonderen Vorsichtsmaßnahmen durchgeführt werden. Eine postexponentielle Impfung (4-7 Tage) kann den Ausbruch der Erkrankung mildern oder verringern.

Das Impfvirus der früheren Impfstoffe: das Vacciniavirus (VV)

Geschichte und Eigenschaften:

Das VV ist die Typspezies der OPV. Vacciniaviren [lat. vacca, Kuh] wurden ursprünglich von Edward Jenner 1798 als Impfstamm gegen Menschenpocken eingeführt. Die Vermehrung des VV erfolgt im Zytoplasma infizierter Zellen unter Bildung von für OPV typischen basophilen Einschlußkörperchen (Guanieri). VV sind ausgesprochen resistent gegenüber Umwelteinflüssen und bleiben unter trockenen Bedingungen auf Trägermaterialien (Kleider, Gegenstände) jahrelang infektiös. Sie können durch direkten Kontakt und Aerosole übertragen werden. Das Virus hat ein breites Wirtsspektrum und wurde im Rahmen der Pockeneradikation als Impfstoff weltweit eingesetzt. Die Hauptbedeutung des VV liegt derzeit in seiner Verwendung als Expressionsvektor in der Molekularbiologie und bei der Entwicklung rekombinanter Impfstoffe. Hierbei ist nicht geimpften Personen besondere Vorsicht beim Umgang mit dem VV empfohlen.

Infektionsverlauf:

Inkubationszeit: 3-50 Tage. Infektionen mit dem VV verlaufen akut unter schneller Bildung von Nekrosen. Es gibt keine persistierenden Infektionen. Außer bei Immunsupprimierten, bei denen es zu ausgedehnten generalisierten und schweren Verläufen kommen kann, manifestieren sich Infektionen mit dem VV i.d.R. als lokale bläschen- bis knötchenförmige Effloreszenzen. Oft ist das mesodermale Gewebe mitbetroffen. Infektionen gehen mit lokaler Schwellung der Lymphknoten und Fieber einher. Als Folge einer akzidentiellen, durch kontaminierte Hände übertragenen Infektion kann es zur Virusvermehrung in der Kornea kommen. Daraus resultiert in 50% der Fälle eine dauernde Reduktion der Sehleistung.

Differenzierung:

Eine Indikation zur Diagnose erfolgt nur bei entsprechender Anamnese und verdächtigem Hautbefund. Für serologische Untersuchungen kann Serum eingesendet werden. VV induzieren knötchenförmige Herde ohne Hämorrhagien auf der Chorioallantoismembran von bebrüteten Hühnereiern. Genus- und Spezies-spezifischer Nachweis erfolgt mittels PCR oder Antigenfänger ELISA. Positive serologische Befunde sind nur nach Ausschluß einer früheren Pockenimpfung bzw. über den Nachweis eines mindestens 4-fachen Titeranstieges aussagekräftig. Differentialdiagnostisch muss eine VV-Infektion zu Infektionen mit anderen zoonotischen OPV unterschieden werden.

Gibt es Orthopockenviren in Deutschland?

Ja. Natürlicherweise kommen in Deutschland jedoch nur Kuhpockenviren vor. Dieser Erreger wird von wildlebenden Nagetieren (die vermutlich als Virusreservoir fungieren) v.a. auf Katzen und von diesen weiter auf den Mensch übertragen. Selten kommt es zu Infektionen anderer Haustiere, wie z.B. Hund oder Pferd. Eine Infektion von Kühen mit Kuhpockenvirus ist bei uns schon seit über 20 Jahren nicht mehr beobachtet worden. Gefährdet neben den Hauskatzen sind aber auch Großkatzen in Zoologischen Gärten sowie dort gehaltene exotische Tierarten wie Nashorn, Elefant, Tapir und andere. Humane Infektionen mit Kuhpockenvirus sind i.d.R. lokal begrenzt und verlaufen gutartig. Bei immunsupprimierten Personen besteht jedoch die Gefahr von Generalisierung und schwersten Verläufen bis hin zu Todesfolge.

Grundsätzliches zu Impfungen gegen Pockenviren

Es besteht eine ausgeprägte serologische Kreuzreaktivität zwischen den OPV. Eine Vaccinia-Impfung (Pockenschutzimpfung) schützt auch vor der Infektion mit anderen OPV, aber einen zugelassenen Impfstoff gibt es derzeit nicht.

Zur Zeit der Vaccinia-Massenimpfungen wurde eine progressive lokale Impfkomplication (Vaccinia necrosum) in seltenen Fällen (5 von 6 Mio. Erstgeimpften, 1 von 1 Mio. Wiedergeimpften) v.a. bei Impfungen mit Störungen im zellulären Immunsystem beobachtet. Bei Patienten mit Eczema allergicum kann ein Eczema vaccinatum auftreten. Die postvazinale Enzephalitis ist eine seltene Impfkomplication, die je nach verwendetem Impfstamm und je nach Alter des Geimpften unterschiedlich häufig auftritt (bei Erwachsenen ca. 1-10 Fälle pro 1 Mio. Geimpfte).

Nach dem 11. September 2001 hat die Bundesregierung 6 Millionen Impfdosen des VV-Stammes Lancy aus der Schweiz gekauft. Weitere Impfstoffvorräte sollen zur etwaigen Impfung von Teilen der Bevölkerung beschafft werden. Am 14.10.2002 gab eine Sprecherin des Gesundheitsministeriums an, dass derzeit 24 Millionen Pockenschutz-Impfdosen vorhanden sind und dass diese im kommenden Frühjahr auf 35 Millionen Dosen erhöht werden sollen.

Die in der Presse dargelegten Notfallpläne (sogenannter „3-Stufenplan“) zur Massenimpfung der deutschen Bevölkerung basieren auf Berechnungen des RKI in Berlin, die konkrete Umsetzung wird derzeit in der Bund-Länder-Kommission erarbeitet. Die in Abhängigkeit von der globalen Bedrohungslage bzw. dem Auftreten von echten Menschenpocken geplante Impfung der Bevölkerung in drei Phasen (1te Phase: Seuchenmediziner, „Impfärzte“, Notfallpersonal; 2te Phase: weitere Kreise von am Krisenmanagement beteiligten Personen wie Feuerwehr, Katastrophenschutz, aber auch Bediensteten von zentralen Versorgungseinrichtungen und Politikern; 3te Phase: die restliche Bevölkerung) ist eine zentral koordinierte Umsetzung einer politischen Entscheidung. Fragen hierzu bitten wir Sie direkt an die oben genannten Institutionen und Einrichtungen zu richten, da diese Bereiche außerhalb der Aufgaben und Befugnisse unseres Konsiliarlabors liegen.

Ein neuer Impfstoff? Das Modified Vacciniavirus Ankara (MVA)

Um die Impfkomplicationen mit dem VV zu vermindern, wurden Versuche unternommen, dieses Virus zu attenuieren. Das VV Stamm Ankara wurde durch 574 kontinuierliche Passagen auf Hühnerembryofibroblasten-Kulturen aus Valo-Eiern attenuiert (1960-1974) und von Prof. Dr. Anton Mayr an unserem Institut entwickelt. Das hochattenuierte Virus wurde MVA benannt (ab Passage 530), um es so vom Ausgangsstamm (CVA) unterscheiden zu können. Es wurden 1976 in Deutschland subkutane Impfungen bei Kindern und bei 150 000 Kaukasiern durchgeführt, ohne daß Komplikationen auftraten. Der Impfstamm MVA ist ein moderner, unschädlicher und parenteraler Pockenimpfstoff. Er ist beim Mensch bereits klinisch geprüft, aber derzeit trotzdem nicht als Impfstoff zugelassen. MVA hat seine ursprüngliche Immunogenität und OPV-protective Wirkung beibehalten, besitzt aber eine stark verminderte Virulenz für Mensch und Tier. Das MVA Genom besitzt sechs große Deletionen, die in einem Verlust von 15% der genetischen Information (20kbp) im Vergleich zu CVA resultieren. Davon sind etliche Virulenz- und Wirtspektrumgene betroffen. Es erfolgt daher eine abortive Vermehrung des MVA im Menschen. MVA darf von unserem Konsiliarlabor nach der Genehmigung durch die zuständigen Behörden für das Impfen von Zootieren versendet werden. Neben der Verwendung als Impfstoff wird MVA weltweit als Vektor zur Inserierung von Fremdgenen benutzt. Es wird zudem als Vektorimpfstoff oder auch zur Bildung biologisch aktiver Proteine z.B. in der Tumorthherapie verwendet. Das MVA wird derzeit von der Firma **Bavarian Nordic** (Sitz: Martinsried bei München) klinisch geprüft (das sogenannte MVA-BN) und soll als Erstimpfung gegen Pockenviren wahrscheinlich 2005 seine Zulassung erlangen. Dabei wird MVA in Zukunft für die primäre Impfung empfohlen werden, um den schweren Impfkomplicationen des VV vorzubeugen. Eine zweite Immunisierung wird danach auch mit den „alten“ Impfstoffen, den VV durchgeführt werden.

Gibt es Therapiemöglichkeiten bei Pockenvirusinfektionen?

Vaccinia-Immunglobulin wurde früher bei überalterten Erstimpfungen und Komplikationen der Pockenschutzimpfung gegeben. Derzeit sind mehrere Substanzen für die antivirale Therapie gegen OPV in Entwicklung. Eine antivirale Therapie mit Thiosemicarbazon (Marboran) ist möglich. Cidofivir (Vistide™, viraler DNA Polymeraseinhibitor) und Derivate davon können die Replikation der Pockenviren stoppen, sollte aber nur bei generalisierten Exanthenen verwendet werden. Neue Untersuchungen aus Amerika zeigen, dass Cidovir und Derivate z.B. vor einer Aerosolinfektion von Makkaken mit Affenpocken- oder Variolaviren schützen. Außerdem wird eine vorbeugende Behandlung der Pockeneffloreszenzen mit lokaler Antibiose zur Vermeidung von bakteriellen Superinfektionen dringend empfohlen.

Wie lange hält eine Impfschutz gegen Pockenviren an?

Jeder, der gegen Pocken geimpft wurde (i. d. R. Personen älter als 30 Jahre) hat heute noch einen gewissen Impfschutz – auch vor den gefährlichsten Symptomen und Komplikationen der Variola. In Studien an 140 Vacciniavirus geimpften Menschen konnte gezeigt werden, dass die Titer neutralisierender OPV Antikörper mindestens 30 Jahre nach der Impfung noch stabil sind. Wir haben in unserem Labor bei Untersuchungen von humanen Seren von vormals geimpften Personen oft Resttiter (bis 1:512) von OPV-AK im PRNT festgestellt (unpublizierte Daten). Auch die für die belastbare Immunität bei Pockenvirusinfektionen wichtige zelluläre Immunantwort scheint nach einer länger zurückliegenden Impfung gegen Pockenviren immer noch zu bestehen. So konnte Vacciniavirus-spezifisches T-Zellgedächtnis („T-cell memory“) in Erwachsenen nachgewiesen werden, die als Kinder gegen Pockenviren geimpft wurden. Es wird angenommen, dass dieses T-Zellgedächtnis mehr als 50 Jahre auch bei Abwesenheit des Antigens besteht. Andere Untersuchungen im Tiermodell haben kürzlich gezeigt, dass Gedächtnis-T-Zellen spezifisch für ein anderes Virus (das lymphozytäre Choriomeningitisvirus, LCMV) mit ähnlichen T-Zellepitopen und nach Aktivierung des Effektorzytokins IL-15 einen Schutz vor einer Vacciniavirus Infektion geben können.

Macht es Sinn, einen AK-Titer gegen Pockenviren aus früheren Impfungen bestimmen zu lassen?

Nein, zumeist nicht.

Meistens kann nur noch ein geringer OPV-AK-Titer nachgewiesen werden, der wenig Aussage über den bestehenden Immunschutz zulässt. Details siehe oben.

Wo können Pockenvirus-AK-Titer von ehemals geimpften Personen trotzdem nachgewiesen werden?

Die Diagnose von Orthopockenviren bei Menschen und Tieren erfolgt in unserem Labor einerseits durch direkten Nachweis der Erreger und andererseits durch indirekte Nachweise, d.h. mit serologischen Methoden.

Seren von Patienten (Mensch, Tier) werden in einem Plaquereduktionsneutralisationstest oder mit einem Kompetitions-ELISA zum Nachweis von Orthopockenvirus-AK untersucht.

Tab. I: Diagnostische Untersuchungen und Preisliste für Untersuchungen durch das Konsiliarlabor für Pockenviren.

Methode	Preis	Dauer
Plaquereduktionsneutralisationstest	34.-€	- 3 Wochen
Kompetitiver OPV ELISA	21.-€	-4 Tage

Die Kosten werden nicht von Krankenkassen übernommen!

Einzusendendes Material (grundsätzlich nur nach telefonischer Beratung und Rücksprache):

Mindestens 1,5 ml Serum oder 10 ml Vollblut

Anfragen an:

Dr. Sandra Eßbauer

Konsiliarlabor für Pockenviren

WHO-Collaborating center for comparative virology

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin

Veterinärstr. 13

D-80539 München

Tel. 089-2180-2028 (mit Anrufbeantworter, bitte Name, Institution, Rückrufel. bzw. –fax hinterlassen)

Fax 089-2180-2597

Was sind Kamelpockenviren (CMPV)?

Das Kamelpockenvirus (CMPV), ein Orthopockenvirus, verursacht schwere Pockenexantheme v.a. bei juvenilen Kamelen (*Camelus dromedarius*, *C. bactrianus*). Manchmal sind die Pockenläsionen auch in inneren Organen, wie Lunge, Pharynx, Trachea, Herz, Leber und Dünndarm zu finden. Ausbrüche werden v.a. aus Afrika und Südwest-Asien, in Ländern, in denen Kamele als Last- und Milchvieh dienen, gemeldet. CMPV haben ein enges Wirtsspektrum und können mittels verschiedener biologischer und molekularbiologischer Methoden von anderen Orthopockenviren unterschieden werden. Das CMPV ist nach dem heutigen Stand der Wissenschaft für den Menschen gesundheitlich unbedenklich. In Hautgeschabselproben von erkrankten Menschen und auch potentiell exponierten Personen (u.a. Tierpfleger, Kamelhändler und Tierärzten) konnte in unserem Labor kein Pockenvirus nachgewiesen werden. Desgleichen verliefen Untersuchungen zum Nachweis von CMPV-Antikörper negativ.

Das CMPV und das Variolavirus haben eine nahe genetische Verwandtschaft. Die aus der genannten genetischen Ähnlichkeit des CMPV mit dem Variolavirus postulierte Möglichkeit aus dem für Menschen ungefährlichen tierischen Pockenvirus durch genetische Methoden ein krankheitserzeugendes Virus zu konstruieren, ist wissenschaftlich möglich, aber sehr unwahrscheinlich. Es wird spekuliert, daß das CMPV und Variolavirus vor etwa 7000 Jahren von einem gemeinsamen Vorfahr, einem möglichen Nagetiervirus (Kuhpockenvirus) entstanden sind.

Unser Institut hat bereits vor Jahren einen wirksamen Impfstoff entwickelt, der bei Kamelen vorbeugend sehr gut wirksam und für Menschen ungefährlich ist. Diese Impfstoff (Ducapox) wird kommerziell von einem südafrikanischen pharmazeutischen Unternehmen international vertrieben.