

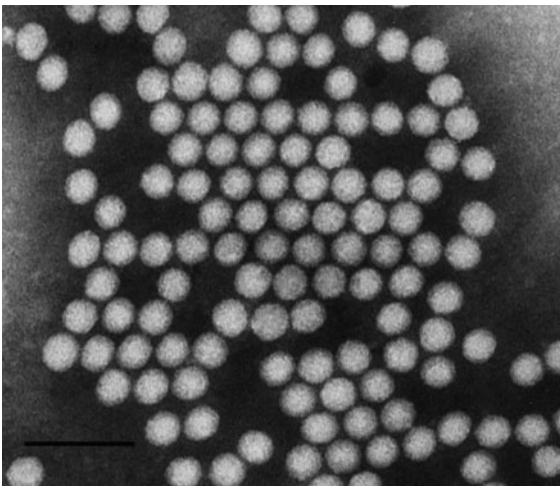
# 14

## Viren mit einzelsträngigem RNA-Genom in Plusstrangorientierung

Heute sind acht Virusfamilien bekannt, deren Vertreter eine einzelsträngige RNA in Plusstrangorientierung besitzen: Die *Picornaviridae*, *Caliciviridae*, *Astroviridae* und *Hepeviren* verfügen über Capside, die keine Hüllmembran aufweisen, wohingegen die *Flaviviridae*, *Togaviridae*, *Arteriviridae* und *Coronaviridae* durch membranumhüllte Partikel gekennzeichnet sind. Allen gemeinsam ist, dass sie ihre Genome als mRNA verwenden und davon ein oder mehrere Polyproteine synthetisieren, die im weiteren Verlauf durch virale oder auch zelluläre Proteasen in Einzelkomponenten gespalten

werden. Die Viren verfügen über eine RNA-abhängige RNA-Polymerase, welche die Plusstrang-RNA sowie die als Zwischenprodukte der Replikation auftretenden Negativstränge übersetzt; dabei gehen die neuen genomischen RNA-Moleküle aus dem zweiten Transkriptionsschritt hervor. Die Einteilung in die unterschiedlichen Familien richtet sich nach Zahl, Größe, Lage und Orientierung der Virusgene auf der RNA, nach der Anzahl der unterschiedlichen Polyproteine, die während der Infektion synthetisiert werden, und nach dem Vorhandensein einer Hüllmembran als Teil der Virionen.

### 14.1 Picornaviren



Die ersten Vertreter der Picornaviren wurden 1898 entdeckt: Friedrich Loeffler und Paul Frosch beschrieben damals den Erreger der *Maul- und Klauenseuche* als filterbares Agens und wiesen so als erste die Existenz von tierpathogenen Viren nach. 1909 veröffentlichten Karl Landsteiner und Emil Popper einen Artikel, in dem sie den Erreger der *Kinderlähmung*, einer 1840 erstmals von Jacob von Heine und später von Oskar Medin beschriebenen Erkrankung, als Virus identifizierten. Dass diese Viren in Kulturen aus menschlichen embryonalen Geweben die Entstehung eines *cytopathischen Effekts* auslösen, zeigten 1949 John F. Enders, Thomas H. Weller und Frederick C. Robbins, doch die Charakterisierung als *Poliomyelitisvirus* (Poliovirus) erfolgte erst 1955 durch Herdis von Magnus und Mitarbeiter.

1947 entdeckte Gilbert Dalldorf die *Coxsackieviren*, als er neugeborene Mäuse mit virushaltigem Material infizierte und bei den Tieren Lähmungen beobachtete. Sie sind nach dem Ort im US-Bundesstaat New York

benannt, wo sie aus einem Patienten isoliert wurden. Aufgrund unterschiedlicher Charakteristika der Lähmungen, die sie nach experimenteller Infektion in neugeborenen Mäusen verursachen, wurden sie in die Gruppen A und B unterteilt. Neben diesen fand man weitere humanpathogene Picornaviren, die im Unterschied zu den Coxsackieviren in neugeborenen Mäusen keine Lähmungserscheinungen hervorrufen, sie jedoch in einigen Tagen töten: Die *Echo-* und *Parechoviren*. Das namensgebende Kürzel „echo“ stand für einige Eigenschaften dieser Viren: *enteric*, *cytopathogenic*, *human*, *orphan virus*; der letzte Begriff weist darauf hin, dass man damals keine Erkrankung mit der Virusinfektion in Zusammenhang bringen konnte. Die von ihnen verursachten vielgestaltigen Erkrankungsbilder wie Durchfall, Hautausschläge und in seltenen Fällen auch Gehirn- und Hirnhautentzündungen wurden erst später entdeckt.

Ein anderes humanpathogenes Picornavirus wurde erst sehr spät als solches charakterisiert: Das *Hepatitis-A-Virus* als Erreger einer Form der epidemischen Leberentzündung, für das der Genusbegriff der Hepatoviren geschaffen wurde. Epidemiologisch und diagnostisch konnte die Hepatitis A schon frühzeitig von der Hepatitis B abgegrenzt werden. Der elektronenmikroskopische Nachweis des Hepatitis-A-Virus erfolgte 1973 durch Stephen M. Feinstone und Kollegen. Erst 1979 gelang Philip Provost und Maurice Hilleman die erfolgreiche Kultivierung dieses Virus, 1982 wurde es den Picornaviren zugeordnet. Neben den bisher genannten Erregern gibt es auch Vertreter der Picornaviren, die den Menschen sehr häufig befallen: Die *Rhinoviren* als Verursacher des Schnupfens.

### 14.1.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Die Familie der *Picornaviridae* umfasst eine große Anzahl von Virusgruppen und -typen (► Tabelle 14.1). Sie können beim Menschen völlig unterschiedliche, zum Teil sehr schwerwiegende Erkrankungen auslösen. Der Name *Picornaviridae* ist eine Abkürzung und weist auf zwei molekulare Eigenschaften der Virusfamilie hin: Zusammengefasst werden hier nämlich kleine (*pico* für „klein“) Viren mit einem RNA-Genom. Die Unterteilung der Picornaviren erfolgt entsprechend ihrer molekularbiologischen Charakteristika sowie der von ihnen verursachten Erkrankungen in neun Genera, nämlich *Enterovirus*, *Parechovirus*, *Hepatitis-A-Virus*, *Cardiovirus*, *Teschovirus*, *Kobuvirus*, *Rhinovirus*, *Aphthovirus* und *Erbovirus*. Die beiden Genera *Enterovirus* und *Rhinovirus* enthalten eine Vielzahl unterschiedlicher

Viruspezies und -typen, die sowohl Menschen wie Tiere infizieren. Die über 70 bekannten humanpathogenen Vertreter des Genus *Enterovirus* wurden aufgrund von jüngeren Daten, die auf Sequenzanalysen der Virusgenome beruhen, neu geordnet: Heute unterteilt man sie in fünf Spezies, nämlich die Polioviren sowie die humanen *Enteroviren A bis D*. Sie unterscheiden sich durch bestimmte molekulare Charakteristika (beispielsweise unterscheiden sich die humanen *Enteroviren A und B* von den humanen *Enteroviren C und D* durch bestimmte Sequenzelemente in der 5'-NTR) und/oder Infektionsverläufe. So sind die Polioviren den humanen *Enteroviren C* sehr ähnlich, unterscheiden sich aber von diesen durch ihre Eigenschaft, in den Infizierten die Symptome einer Poliomyelitis zu verursachen. Die Genomsequenzierungen zeigten, dass viele der unterschiedlichen Typen der Coxsackie-, *Enteroviren* und *Echoviren* durch genetische Rekombinationsereignisse unterschiedlicher *Enteroviren* entstanden sind. So ist das tierpathogene *Swine-Vesicular-Disease-Virus* eine Rekombinante aus den Genomen des humanen Coxsackievirus B5 – von diesem leitet sich der für die Strukturproteine codierende Genomteil ab – und des Echovirus 9, welches die Sequenzen für die Nichtstrukturproteine weitergab. Das *Aichivirus*, ein Vertreter des Genus *Kobuvirus*, ist als Erreger von gastrointestinalen Infektionen des Menschen vor allem auf dem asiatischen Kontinent verbreitet. Das Genus *Rhinovirus* umfasst die Spezies der humanen *Rhinoviren A und B*. Die Unterteilung beruht auf Unterschieden der Aminosäuresequenzen in den Capsidproteinen; zusätzlich wurde eine weitere Spezies, *Rhinovirus C*, vorgeschlagen. Ein Großteil der heute bekannten Typen wurde aber noch keiner dieser beiden Spezies zugeordnet. Die Genera der *Cardio-*, *Tescho-*, *Erbo-* und *Aphthoviren* enthalten vor allem tierpathogene Picornaviren, die zum Teil als Tierseuchenerreger von erheblicher Bedeutung in der Tierzucht und der Lebensmitteltechnologie sind, wie die Maul-und-Klauenseuche-Viren, die dem Genus *Aphthovirus* zugeordnet werden. Weltweit kann man bis heute sieben Serotypen unterscheiden. Der Name dieser Viren weist auf die Bläschen (*Aphthen*) hin, die im Infektionsverlauf auf den Schleimhäuten der infizierten Tiere entstehen.

Neben dieser taxonomischen Einteilung kann man die Picornaviren in zwei große Untergruppen unterteilen, deren molekulare Eigenschaften eng mit der Pathogenese verknüpft sind: nämlich in *säurestabile Erreger*, die das im Magen vorliegende saure Milieu ohne Einbußen der Infektiosität überstehen können und die deshalb – wie die *Enteroviren*, *Parechoviren*, *Hepatitis-A-Viren*, oder *Teschoviren* – den Organismus bevorzugt über den Verdauungstrakt infizieren, und in *säurelabile Typen*, deren Infektion sich

Tabelle 14.1 Charakteristische Vertreter der Picornaviren

Genus	Mensch	Tier
<b>Enterovirus</b>	<b>Poliovirus</b> (Typ 1-3) <b>humane Enteroviren A*</b> Coxsackievirus A2-8, 10, 12, 14, 16; humane Enteroviren 71, 76 <b>humane Enteroviren B*</b> Coxsackievirus A9 ; Coxsackievirus B1-6; humane Echoviren 1-7, 9, 11-21, 24-27, 29-33 humane Enteroviren 69, 73-75, 77, 78 <b>humane Enteroviren C*</b> Coxsackievirus A1, 11, 13, 15, 17-22, 24 <b>humane Enteroviren D*</b> humane Enteroviren 68, 70 humanes Enterovirus 78 humane Enteroviren, nicht klassifiziert (> 50 Typen)	<b>bovine Enteroviren*</b> bovine Enteroviren 1, 2 <b>porcine Enterovirus A*</b> porcines Enterovirus 8 <b>porcine Enterovirus B*</b> porcine Enteroviren 9, 10 Swine-Vesicular-Disease-Virus <b>Simian-Enterovirus</b> Simian-Enterovirus 1-20
<b>Parechovirus</b>	<b>humane Parechoviren 1, 2*</b> humane Echoviren 22, 23	Ljunganvirus (Nager)
<b>Hepatovirus</b>	Hepatitis-A-Virus	Hepatitis-A-Virus der Affen
<b>Cardiovirus</b>	humanes Vilyuisk-Encephalomyelitis-Virus	Theilovirus (Theilers Encephalomyelitisvirus der Maus) Encephalomyocarditisvirus der Maus (Mengovirus)
<b>Teschovirus</b>		<b>porcine Teschoviren*</b> porcine Enteroviren 1-7, 11-13
<b>Kobuvirus</b>	Aichivirus	
<b>Rhinovirus</b>	<b>humane Rhinoviren A*</b> humane Rhinoviren 1A, 1B, 2, 7, 9, 11, 15, 16, 21, 29, 36, 39, 49, 50, 58, 62, 65, 85, 89 <b>humane Rhinoviren B*</b> humane Rhinoviren 3, 14, 72 <b>humane Rhinoviren C**</b> humane Rhinoviren A2 humane Rhinoviren, nicht klassifiziert (> 80 Typen)	bovine Rhinoviren (3 Typen)
<b>Aphthovirus</b>		Maul-und-Klauenseuche-Virus (Typ O, A, C, SAT1-3, Asia 1) equines Rhinitis-A-Virus
<b>Erbovirus</b>		equines Rhinitis-B-Virus (equines Rhinovirus 2)

\* In fett gedruckten Buchstaben sind die neuen taxonomischen Bezeichnungen angegeben, darunter die alten, zum Teil noch immer gebräuchlichen Isolatnamen. \*\* Als eigene Spezies vorgeschlagen.

bevorzugt im Hals-Nasen-Rachen-Raum manifestiert, wie die Vertreter der Rhino-, Aphtho- und Erboviren.

## 14.1.2 Aufbau

### Viruspartikel

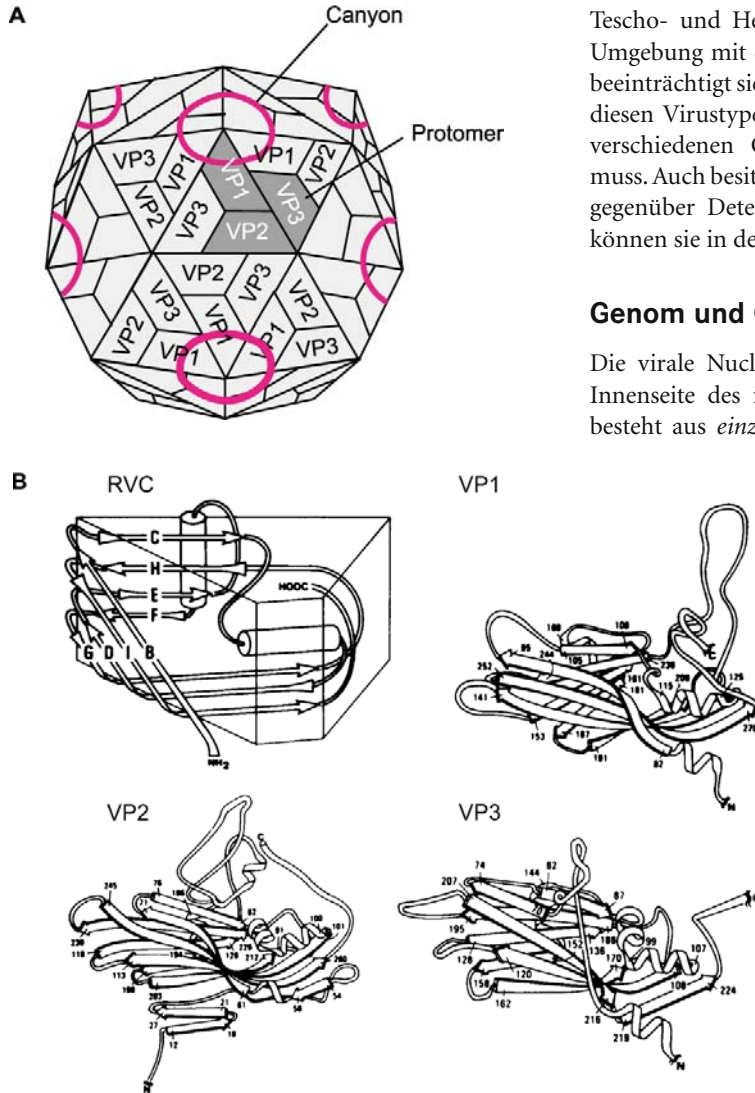
Alle Picornaviren haben einen sehr ähnlichen Aufbau: Es handelt sich um *ikosaedrische Nucleocapside* mit einem Durchmesser von circa 30 nm; sie sind nicht von

einer Membranhülle umgeben. Die Capside bestehen aus vier Virusproteinen: VP1, VP2, VP3 und VP4. Gelegentlich findet sich ein fünftes Polypeptid in unregelmäßigen Mengen; es wird als VP0 bezeichnet und stellt den Vorläufer der Komponenten VP2 und VP4 dar, die erst bei der Virusreifung durch proteolytische Spaltung entstehen. Vor allem bei den Parechoviren wird VP0 kaum gespalten, daher enthalten ihre Partikel große Mengen des Vorläufers. Da die Partikelstruktur von etlichen Picornaviren durch Röntgenbeugungsanalyse geklärt wurde, ist die Anordnung der verschiedenen viralen

Strukturproteine in den Partikeln sehr gut bekannt. Die Virionen bestehen aus je 60 Einheiten der Proteine VP1, VP2, VP3 und VP4, wobei VP4 an der Innenseite der Partikel lokalisiert und mit dem RNA-Genom assoziiert

ist. Das VP4 der Hepatoviren ist sehr klein (21 bis 23 Aminosäuren); sein Vorhandensein im Virion ist in diesem Fall nicht endgültig geklärt. VP1, VP2 und VP3 bilden die Oberflächen des Icosaeders (▶ Abbildung 14.1).

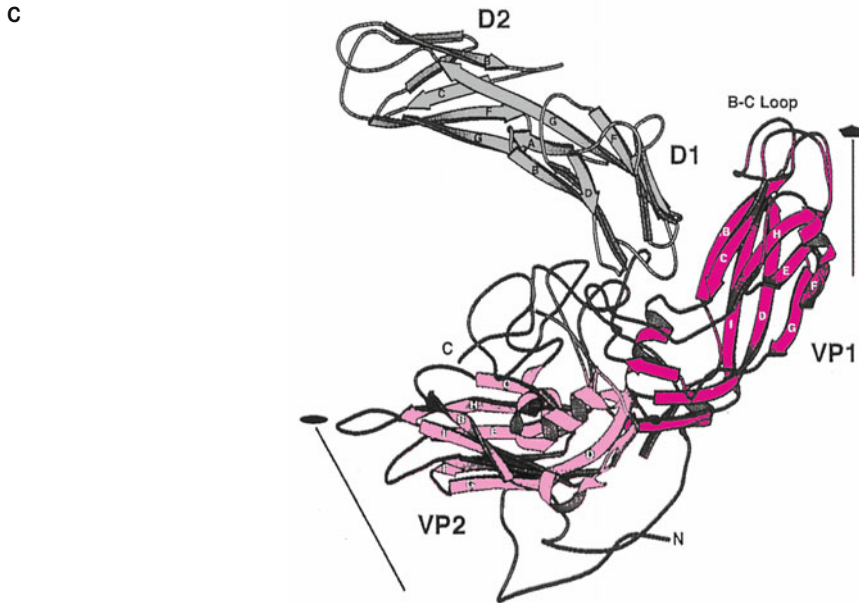
Die Virionen der Entero-, Parecho-, Koku-, Cardio-, Tescho- und Hepatoviren sind sehr stabil, eine saure Umgebung mit einem pH-Wert von drei und darunter beeinträchtigt sie nicht. Das lässt den Schluss zu, dass bei diesen Virustypen eine sehr enge Wechselwirkung der verschiedenen Capsidproteine im Partikel vorliegen muss. Auch besitzen diese Viren eine sehr hohe Resistenz gegenüber Detergenzien. Sogar als freie Viruspartikel können sie in der Umwelt relativ lange überdauern.



### Genom und Genomaufbau

Die virale Nucleinsäure ist mit Aminosäuren an der Innenseite des ikosaedrischen Partikels assoziiert. Sie besteht aus *einzelsträngiger RNA*. Das Genom ist zwi-

**14.1 A:** Aufbau eines Picornaviruspartikels. Die Lage der Capsidproteine VP1, VP2 und VP3 ist schematisch dargestellt. VP4 ist an der Innenseite des Capsids lokalisiert und nicht an der Oberfläche exponiert. Die Lage des Vorläuferprodukts für VP1, VP2 und VP3, des Protomers, ist durch den grau schattierten Bereich angedeutet. Die sogenannten Canyons, die als grabenartige Vertiefungen auf der Partikeloberfläche die Icosaederecken umgeben, sind rot angedeutet. **B:** Struktur der Capsidproteine VP1, VP2 und VP3 des Poliovirus. Mit der Bezeichnung RVC (*RNA virus capsid domain*) ist das in allen Proteinen ähnliche, keilförmige Faltungsmuster der Proteine aus acht antiparallelen  $\beta$ -Faltblättern schematisch dargestellt. Die einzelnen  $\beta$ -Faltblätter sind durch Pfeile repräsentiert; sie werden mit großen Buchstaben bezüglich ihrer Reihenfolge im Protein bezeichnet. Die  $\alpha$ -helikalen Regionen sind durch Zylinder angedeutet. Die Strukturen der Proteine VP1, VP2 und VP3 sind durch Bändermodelle dargestellt. Die Zahlen beziehen sich auf die Aminosäurepositionen, gerechnet ab dem aminoterminalen Ende des jeweiligen Capsidproteins. Die  $\alpha$ -Helices sind in diesen Fällen durch die spiralenartige Faltung der Bänder angedeutet. Um das gemeinsame Strukturmotiv besser zu erkennen, wurden die amino- und carboxyterminalen Enden der Proteine nicht in die Darstellung aufgenommen. (Aus: Rotbart, H. A. (Hrsg.) *Human Enterovirus Infections* Washington (American Society for Microbiology) 1995. S. 163).



**14.1** (Fortsetzung) **C:** Schematische Darstellung der Struktur des Canyons des humanen Rhinovirus Typ 14 und seine Wechselwirkung mit dem zellulären Rezeptor ICAM-1. Die Strukturen der Capsidproteine VP1 (rot) und VP2 (hellrot) sind als Bändermodell dargestellt, die antiparallelen  $\beta$ -Faltblätter sind durch Pfeile repräsentiert und mit Großbuchstaben bezeichnet. Als Grundlage für die Modellierung der Struktur der Rezeptordomäne D1 vom ICAM-1 (grau) wurde die Kristallstruktur der aminoterminalen Region des CD4-Moleküls verwendet, das über große Bereiche zu ICAM-1 homolog ist (nach Olson, N. H. et al. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 (1993) S. 507–511).

schen 7 212 (humanes Rhinovirus B; Typ 14) und 8 450 Basen (Maul-und-Klauenseuche-Virus) lang (► Tabelle 14.2). Die RNA besitzt *Plus-(Positiv-)Strangorientierung*, die Virusproteine können demnach ohne einen Zwischenschritt von der RNA translatiert werden. Das 3'-Ende der genomischen RNA ist *polyadenyliert*; die Sequenzfolge von etwa 60 Adenylatresten ist im Virusgenom codiert. An das 5'-Ende ist kovalent ein kleines, viruscodiertes Protein (*Vpg* = virales Protein, genomas-

soziiert) gebunden. Dieses *Vpg* ist bei Polio- und weiteren Enteroviren 22, bei Hepatitis-A- und Rhinoviren 23 Aminosäuren lang. Über die OH-Gruppe am Phenolring eines Tyrosinrestes an Position 3 ist es mit der Phosphatgruppe des Uridinrestes am 5'-Ende des Genoms verestert.

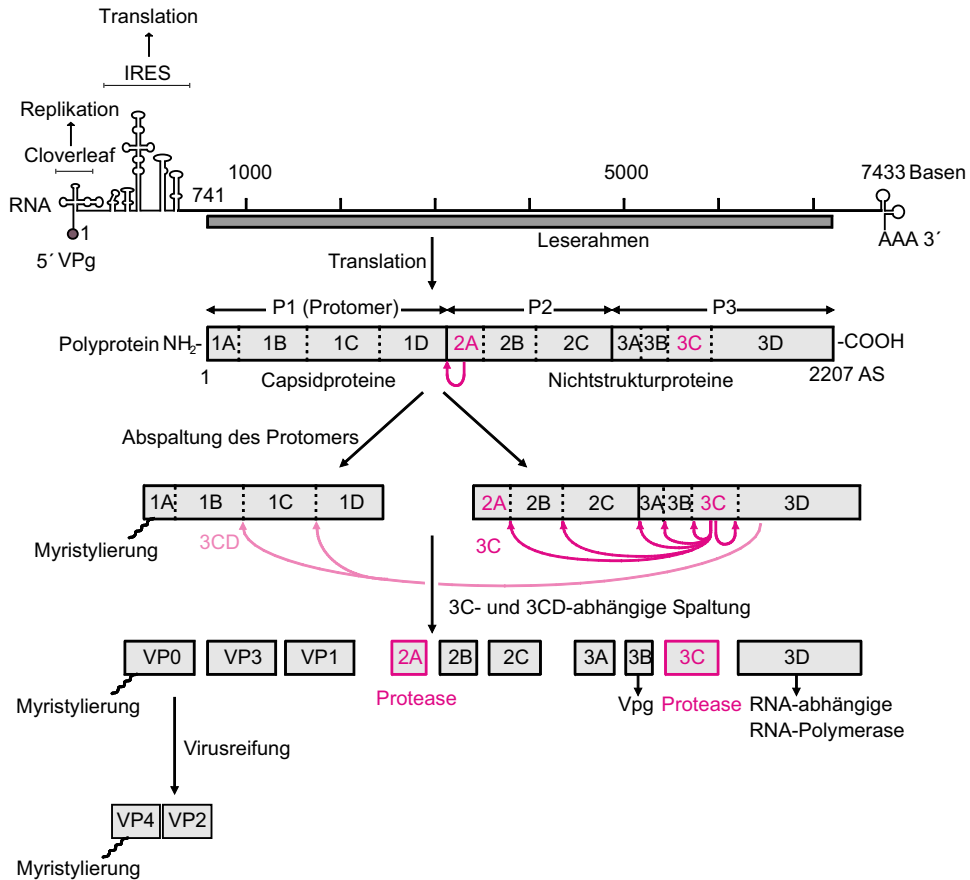
Das Genom der Picornaviren enthält einen einzigen, großen offenen Leserahmen, der für *ein Vorläuferprotein* codiert (► Abbildung 14.2). Dieses experimentell nicht

**Tabelle 14.2** Genome verschiedener Picornaviren im Vergleich

Virus	Genomlänge (Basen)	5'-NTR* (Basen)	Polyprotein (Aminosäuren)	3'-NTR* (Basen)
Poliovirus, Typ 1	7 433	740	2 207	72
humanes Enterovirus B (Coxsackievirus B3)	7 400	741	2 185	100
Hepatitis-A-Virus	7 478	733	2 227	64
Rhinovirus (Typ 14)	7 209	624	2 178	47
Maul-und-Klauenseuche-Virus	8 450	1 199°	2 332	87

\* 5'-NTR/3'-NTR = nichttranslatierter Bereich am 5'- beziehungsweise 3'-Ende des Genoms.

° enthält einen Poly(C)-Abschnitt von 100–170 Basen, je nach Virusisolat.



**14.2** Aufbau des RNA-Genoms von Picornaviren am Beispiel des Poliovirus Typ 1. Das virale RNA-Genom besitzt am 5'-Ende ein kovalent gebundenes Protein Vpg, am 3'-Ende ist es polyadenyliert. Benachbart zum Vpg befinden sich am 5'-Ende RNA-Sequenzfolgen, welche eine kleeblattähnliche Sekundärstruktur (*cloverleaf*) bilden und für die Replikation des Genoms essenziell sind. IRES bezeichnet die *internal ribosomal entry site*, diese Sequenzfolgen sind für die Bindung der Ribosomen an das virale RNA-Genom notwendig. Der einzige Leserahmen codiert für ein großes Polyprotein, das durch die Aktivität der Proteasen 2A und 3CD beziehungsweise 3C in die verschiedenen Komponenten – die Struktur- und Nichtstrukturproteine sowie die Enzyme – gespalten wird. Die Regionen der Proteasen sind rot dargestellt, die Pfeile geben die von ihnen durchgeführten Spaltungen an.

fassbare Polyprotein wird noch während seiner Synthese proteolytisch in die verschiedenen viralen Komponenten – Struktur- und Nichtstrukturproteine sowie die viralen Enzyme – gespalten. Zwischen dem Vpg-Protein am 5'-Ende des Genoms und dem Startcodon für die Translation des Vorläuferproduktes befindet sich ein nichttranslatierter Sequenzabschnitt (5'-NTR), der zwischen 412 (beim porcinen Teschovirus 1), 624 (bei Rhinoviren) und 1199 Nucleotide (beim Maul- und Klauenseuche-Virus) einnehmen kann. Diese nichtcodierenden Nucleotide liegen zu einem hohen Prozentsatz in intramolekularer Basenpaarung vor. Der Basenabschnitt am 5'-Ende besitzt also eine *ausgeprägte Sekundärstruktur* (► Abbildung 14.3). Die dem 5'-Ende direkt folgenden 88 Basen bilden eine Sekundärstruktur,

die einem Kleeblatt ähnelt; sie ist während der Genomreplikation an der Initiation neuer RNA-Plusstränge beteiligt. Der diesem *clover leaf* folgende Sequenzabschnitt hat die Aktivität einer *internal ribosomal entry site* (IRES) und erlaubt die Bindung von Ribosomen unabhängig von der 5'-Cap-Struktur, wie sie gewöhnlich am 5'-Ende eukaryotischer mRNA-Moleküle vorliegt. Mutationen in diesem Sequenzbereich können die Translatierbarkeit der RNA und die Virulenz stark beeinflussen. Zwischen dem Stoppcodon für das Polyprotein und dem Poly(A)-Anteil am 3'-Ende des Genoms befindet sich ein kurzer, ebenfalls nichttranslatierter Sequenzabschnitt, der beim Rhinovirus 47 und beim Coxsackievirus 100 Basen umfasst.



### 14.1.3 Virusproteine

#### Polyprotein

Der offene Leserahmen auf dem Picornavirusgenom codiert für ein sehr großes, durchgehendes *Polyprotein*, das bei allen Virustypen mehr als 2 100 Aminosäurereste umfasst. In seiner Sequenz sind alle Proteine und Funktionen enthalten, die das Virus für den erfolgreichen Ablauf einer Infektion benötigt. Die Anordnung der Proteine im Vorläuferprodukt ist bei allen Picornavirustypen gleich (► Abbildung 14.2). Man teilt das Polyprotein in drei Bereiche (1 bis 3) ein; die Proteine, die durch Spaltung daraus entstehen, ordnet man mit großen Buchstaben den jeweiligen Abschnitten zu. Im aminoterminalen Bereich befinden sich die Vorläufersequenzen der viralen Capsidproteine (1A bis 1D); in der Mitte des Polyproteins befinden sich die Nichtstrukturproteine 2A bis 2C, die wichtige Funktionen für die Anpassung des Virus an den Zellstoffwechsel haben. Aus den carboxyterminal orientierten Regionen 3A bis 3D werden im weiteren Verlauf die enzymatisch aktiven Komponenten und einige weitere Nichtstrukturproteine gebildet. Gewöhnlich entstehen aus dem Polyprotein elf virale Proteine. Bei Aphtho-, Erbo-, Kobu-, Tescho- und Cardioviren befindet sich am aminoterminalen Ende zusätzlich ein kurzes *Leader-Protein (L-Protein)*, das im Falle des Mengovirus 67 Aminosäuren lang ist. Beim Maul-und-Klauenseuche-Virus enthält das L-Protein 205 Reste und besitzt proteolytische Aktivität. In diesen Fällen beginnt das Polyprotein also nicht mit den Sequenzen der Strukturproteine, sondern mit dem L-Protein. Bei den meisten Picornaviren schließt sich an den Bereich der Strukturproteine im Polyprotein eine Aminosäuresequenzfolge mit *proteolytischer Aktivität (2A-Protease)* an. Die 2A-Protease entfaltet ihre Aktivität cotranslational. Bei den Entero- und Rhinoviren wird die Aminosäurekette zwischen dem Ende der Capsidproteine und dem Beginn der 2A-Protease autokatalytisch geschnitten. Der aminoterminal Teil des Vorläuferproteins wird von dem noch nicht fertig translatierten carboxyterminalen Bereich abgespalten und bildet das *Protomer*, den Vorläufer der Strukturproteine. Bei den Aphtho-, Erbo- und Cardioviren erfolgt die autokatalytische Spaltung durch die 2A-Protease nicht vor den eigenen Sequenzen, sondern im Anschluss daran; folglich enthält das entstehende Produkt das Protomer und die Protease. Bei den Hepato- und Parechoviren wirkt das 2A-Protein nicht als Protease, sondern entfaltet seine Funktion spät im Infektionszyklus bei der Bildung neuer Capside. Die Abspaltung des Strukturproteinanteils erfolgt durch die 3C-Protease am Übergang zwischen den 2A- und 2B-Abschnitten. Die Eigen-

schaften und Funktionen der Proteine, die bei den verschiedenen Picornaviren durch die Spaltung des Polyproteins entstehen, sind in ► Tabelle 14.3 zusammengefasst.

#### Strukturproteine

Das Protomer umfasst die Aminosäuren der Capsidproteine, die in der Reihenfolge 1A, 1B, 1C und 1D angeordnet sind; sie entsprechen den Strukturproteinen *VP4*, *VP2*, *VP3* und *VP1*. Am aminoterminalen Ende wird das Protomer an einem Glycinrest durch Anhängen eines *Myristinsäurerestes* durch zelluläre Enzyme modifiziert. Bei den Aphtho-, Erbo-, Kobu-, Tescho- und Cardioviren ist hierfür die vorherige Entfernung des L-Proteins notwendig, das dabei autokatalytisch selbst als Protease wirkt. Bei den anderen Picornavirustypen wird das aminoterminal Methionin abgespalten. Die Myristylierung bleibt während der nachfolgenden Spaltungen erhalten und ist auch im VP4-Protein nachweisbar. Eine Ausnahme stellt das Hepatitis-A-Virus dar: Hier fand man bisher keine Modifikation des aminoterminalen Endes des Protomers mit einem Fettsäurerest.

An der Prozessierung des Capsidvorläuferproteins zu den Einzelkomponenten VP0, VP3 und VP1 ist eine virale Protease, die *3C-Protease*, aktiv beteiligt. Dieses Enzym befindet sich in der carboxyterminal orientierten Region des Polyproteins und entfaltet seine Aktivität relativ spät. Bereits vor der Spaltung ist das Protomer in die Domänen vorgefaltet, die den vier Capsidproteinen entsprechen. Im Verlauf der Prozessierung falten sich diese jedoch weiter um, und es entstehen die Proteinstrukturen, die man in den infektiösen Viruspartikeln findet. Die Spaltung des VP0-Anteils in VP4 und VP2 erfolgt erst im Verlauf der *Virusreifung*; die hierfür nötige proteolytische Aktivität befindet sich in der carboxyterminalen Domäne des VP0-Proteins in den Sequenzen, die den VP2-Abschnitt enthalten. Ein Serinrest an Position 10 des VP2-Proteins, der sich nahe der späteren Spaltstelle VP4/VP2 befindet und in vielen Picornaviren konserviert ist, scheint dieser Domäne die Aktivität einer *Serinprotease* zu verleihen, welche die autokatalytische Spaltung vollzieht. Für die enzymatische Aktivität ist allerdings zusätzlich die enge Wechselwirkung des VP0-Proteins mit dem viralen RNA-Genom im unreifen Partikel nötig. Man vermutet, dass für die erfolgreiche proteolytische Spaltung eine Base des Genoms als Protonendonator mit den Aminosäuresequenzen zusammenwirken muss. Deshalb wird dieses Enzym erst spät, nämlich in dem genomhaltigen, von der infizierten Zelle bereits freigesetzten, aber noch unreifen Viruspartikel aktiviert. Beim Hepatitis-A-Virus unterscheidet sich die proteolytische Spaltung der

Strukturproteine: Hier entsteht ein Protomer, das zusätzlich zu den Capsidproteinen die Domäne des 2A-Anteils umfasst. Die 3C-Protease schneidet das Protomer an den Übergängen der VP2-/VP3- und der VP3-/VP1-Abschnitte, erkennt jedoch nicht die Spaltstelle

zwischen dem VP1- und dem 2A-Anteil. Dieses VP1-/2A-Protein – auch pX genannt – wird erst spät im Infektionszyklus bei Morphogenese der neuen Hepatitis-A-Viruspartikel durch eine noch nicht charakterisierte zelluläre Protease gespalten.

**Tabelle 14.3** Eigenschaften der Proteine der Picornaviren im Vergleich

Protein	Polio-virus	Cox-sackie-virus	Hepatitis-A-Virus	Rhino-virus	Maul-und-Klauen-seuche-Virus	Modifikation	Funktion
<b>Anzahl der Aminosäuren</b>							
<b>Leader</b>	-	-	-	-	205		Protease, bewirkt autokatalytisch die Abspaltung vom Protomer; induziert die Degradierung des eIF-4G
<b>VP4</b>	69	69	23	69	81	myristyliert (nicht bei Hepatitis-A-Virus)	Strukturprotein; im Partikelinneren; interagiert mit RNA
<b>VP2</b>	271	261	222	262	218		Strukturprotein
<b>VP3</b>	238	238	246	236	221		Strukturprotein
<b>VP1</b>	302	284	274	290	212		Strukturprotein
<b>2A</b>	149	147	71	145	16		1. Entero-, Rhinoviren: Protease; spaltet das Protomer vor der 2A-Domäne vom Polyprotein Aphtho-, Erbo-, Cardioviren: Protease; spaltet das Protomer nach der 2A-Domäne vom Polyprotein; bewirkt Degradierung des eIF-4G 2. Hepato-, Parechoviren: keine Protease; aktiv bei Morphogenese
<b>2B</b>	97	99	215	97	154		beeinflusst Wirtsspezifität und Immunabwehr; porenbildendes Protein
<b>2C</b>	329	329	335	330	317	NTP-Bindung	ATPase; RNA-Helicase; Initiation der RNA-Synthese; Chaperon für die Bildung von Ribonucleoproteinkomplexen?
<b>3A</b>	87	89	74	85	154		hydrophober Teil zur Verankerung des 3AB-Vorläufers in der Membran; beeinflusst Uridinylierung des Vpg
<b>3B</b>	22	22	23	23	23/24	uridinyliert	Vpg, kovalent an das 5'-Ende des Genoms gebunden
<b>3C</b>	182	183	219	182	214		Protease, führt alle Spaltungen im Polyprotein durch außer VP0 zu VP4 und VP2 sowie Protomerabspaltung
<b>3D</b>	461	462	489	460	470		RNA-abhängige RNA-Polymerase

Die Reihenfolge der aufgeführten Proteine in der Tabelle entspricht ihrer Anordnung im Polyprotein.



VP1, VP2 und VP3 bilden die Seitenflächen des ikosaedrischen, infektiösen Viruspartikels. Die Röntgenstrukturanalyse verschiedener Picornaviren ergab, dass diese Proteine sowohl untereinander, als auch bei den unterschiedlichen Virustypen ein sehr ähnliches Faltungsmuster besitzen: Sie bestehen aus *acht antiparallel angeordnete  $\beta$ -Faltblattstrukturen*, die durch Aminosäureschleifen miteinander verbunden und so angeordnet sind, dass die einzelnen Proteine einen *keilförmigen Aufbau* bekommen (► Abbildung 14.1B). Da sich diese Proteinstruktur als allgemeingültiges Faltungsmuster bei Capsidproteinen von kleinen RNA-Viren mit ikosaedrisch aufgebauten Partikeln erwies, bezeichnete man sie als *RVC-Domäne (RNA virus capsid domain)*. Die acht  $\beta$ -Faltblätter bilden die Seitenwände der konservierten, keilförmigen Proteinstruktur. Die verbindenden Proteinschleifen weisen hinsichtlich Länge und Sequenz deutliche Variabilitäten auf, was den keilähnlichen Grundaufbau jedoch nicht verändert. Die variablen Schleifenregionen enthalten die Epitope, gegen die im Verlauf der Infektion virusneutralisierende Antikörper gebildet werden. Die aminoterminalen Regionen der Capsidproteine liegen dagegen im Inneren des Partikels. Sie verbinden sich miteinander zu einem Netzwerk, das für die Stabilität verantwortlich ist. Die Tatsache, dass VP1, VP2 und VP3 eine sehr ähnliche Struktur besitzen, deutet darauf hin, dass die Gene für alle drei Proteine durch Duplikation aus einem gemeinsamen Vorläufergen entstanden sind.

Als Michael Rossmann beziehungsweise James Hogle und Mitarbeiter 1985 die Ergebnisse der Analysen der Proteinstrukturen der Rhino- und Polioviruscapside veröffentlichten, zeigten sich neben den bereits erwähnten gemeinsamen Kennzeichen der Capsidproteine weitere wichtige Strukturmerkmale, die sich durch die Faltung und Wechselwirkung der Komponenten miteinander ergeben. Auf der Oberfläche der Partikel der humanen Rhinoviren B (Typ 14) fand man eine etwa 25 Å tiefe, grabenähnliche Furche, welche die Ikosaederecken umgibt und sich aus den Strukturen und Interaktionen verschiedener Aminosäurereste der Proteine VP1, VP2 und VP3 ergibt. Diese Struktur bezeichnete Rossmann als *Canyon*, man fand ihn bei allen bisher untersuchten Picornaviren mit Ausnahme der Hepatitis-A- und der Maul-und-Klauenseuche-Viren. Die Aminosäurereste, die mit ihren funktionellen Seitengruppen die Wände des Grabens oder Canyons auskleiden, erlauben dem jeweiligen Viruspartikel die Adsorption an spezifische zelluläre Rezeptoren (► Abbildung 14.1A und 14.1C). Neutralisierende Antikörper vermögen wegen ihrer Größe und Struktur nicht in den Canyon einzudringen und so die Bindung des Virus an den zellulären Rezeptor zu verhindern. Sie binden sich

aber an Epitope, die auf der Partikeloberfläche in der Nachbarschaft der Canyoneingänge liegen, und können deshalb durch sterische Behinderung die Adsorption des Virus indirekt beeinflussen. Durch die Antikörperbindung sind die Oberflächenregionen einem Selektionsdruck ausgesetzt, der sich in einer gewissen Variabilität der exponierten Aminosäuren und der Entstehung unterschiedlicher *Varianten* äußert. Die eigentliche Adsorptionsstelle in der Vertiefung ist diesem Mechanismus dagegen nicht unterworfen, dadurch bleibt die Zellspezifität des Virustyps erhalten.

Bei der Strukturanalyse fand man unter dem Canyonboden eine kleine, höhlenähnliche Erweiterung. Sie ist durch eine Öffnung, die man als Pore bezeichnet, vom Canyonboden aus zugänglich, hat zusätzlich aber auch eine Verbindung in das Partikelinnere. Diese Tasche enthält ein sphingosinähnliches Fettsäuremolekül (*pocket factor*). Es wird im Zuge struktureller Umlagerungen der Capsidproteine nach der Bindung der Viruspartikel an den Rezeptor aus der Tasche entfernt. Hierbei geht auch das an der Capsidinnenseite lokalisierte Protein VP4 verloren. Damit verbunden ist eine Destabilisierung der Viruspartikel, welche die Ausschleusung des RNA-Genoms über die Ikosaederecken des an die Zelloberfläche gebundenen Virus in das Cytoplasma ermöglicht. Die Kenntnis der überwiegend hydrophoben Aminosäuren, welche die Höhle auskleiden, erlaubte die Entwicklung von therapeutisch aktiven Substanzen wie beispielsweise *Pleconaril*, die sich optimal einpassen (siehe Kapitel 9). Sie stabilisieren die Partikel und verhindern die Freisetzung des RNA-Genoms. Die Infektion kann so unterbunden oder zumindest eingegrenzt werden. Wie sich aber herausstellte, entwickeln die Viren sehr bald Resistenzen gegen Pleconaril.

Die Entstehung unterschiedlicher Serotypen bei gleicher Zellspezifität ist bei den Rhinoviren besonders ausgeprägt: Hier finden sich über hundert verschiedene stabile Serotypen, die sich dadurch auszeichnen, dass die gegen sie gerichteten neutralisierenden Antikörper einen stark typspezifischen Charakter haben und sich nicht an die Oberfläche von Viren eines anderen Serotyps binden können. Deshalb ist man zwar nach einem Schnupfen vor Folgeinfektionen mit demselben Rhinovirustyp geschützt, jedoch nicht vor der Infektion mit anderen Rhinoviren-Serotypen; diese führen kontinuierlich zu wiederkehrenden Erkrankungen mit Schnupfen. Bei den Enteroviren existieren nicht viele solcher verschiedener Serotypen. Im Falle des Poliovirus sind es drei, beim Hepatitis-A-Virus einer. Vermutlich hängt die hohe genetische Stabilität der Entero-, Parecho- und Hepatoviren mit der hohen Säureresistenz zusammen, die ihre Capside besitzen müssen, um das saure Milieu des Magens überleben zu können. Es gibt wohl nur wenige

Aminosäuresequenzen, die eine derartig hohe Säurestabilität verleihen, was die Variabilität stark limitiert.

## Enzyme

**Proteasen** Picornaviren besitzen Proteasen, die zu unterschiedlichen Zeiten des Infektionszyklus aktiv werden. Die *2A-Protease* ist eine Cysteinprotease, die im Polyprotein carboxyterminal benachbart zu Regionen der Strukturproteine lokalisiert ist (► Abbildung 14.2). Bei den Aphthoviren ist sie mit 16 Aminosäuren sehr kurz; beim Polio- und Rhinovirus (149 beziehungsweise 147 Aminosäuren) ist sie deutlich länger. Sie entfaltet ihre Aktivität frühzeitig während der Infektion und spaltet zwischen einem Tyrosin und einem Glycin die Protomersequenzen cotranslational vom Polyprotein ab. Die Spaltstelle liegt entweder direkt vor (Enteroviren und Rhinoviren) oder nach (Aphtho-, Erbo-, Tescho- und Cardioviren) den Sequenzen des Enzyms. Beim Hepatitis-A-Virus und bei den Parechoviren besitzt das 2A-Protein keine proteolytische Aktivität; stattdessen beeinflusst es die Bildung der Viruscapside am Ende des Replikationszyklus.

Die *2A-Protease* führt neben der Freisetzung des Protomers weitere proteolytische Spaltungen in zellulären Proteinen durch. Am bekanntesten ist der indirekte Abbau des Proteins *p220*: Die Protease spaltet einen zellulären Faktor, der dadurch als Protease aktiviert wird und zum Abbau des zellulären Translationsinitiationsfaktors eIF-4G (*p220*) beiträgt. Dieser ist Teil des *Cap-Bindungskomplex*, auch als eIF-4F-Komplex bekannt, der als weitere Komponenten das Cap-bindende Protein und den Translationsinitiationsfaktor eIF-4A enthält. Der Cap-Bindungskomplex ist generell an der Translationsinitiation eukaryotischer mRNA-Spezies beteiligt, da er mit der Cap-Gruppe am 5'-Ende der RNA interagiert und die Bindung der Ribosomen vermittelt. Durch die Spaltung des eIF-4G durch die virale *2A-Protease* wird die funktionelle Aktivität des Komplexes bei der Translation zellulärer mRNA und so die Stoffwechsellaktivität der Zelle zerstört. Man bezeichnet dies als *virus-host shutoff* (*vhs*). Bei den Aphthoviren wird die Spaltung des Faktors eIF-4G nicht durch die *2A-Protease*, sondern durch die proteolytische Aktivität des am aminoterminalen Ende des Polyproteins vorhandenen L-Proteins (205 Aminosäuren) vermittelt. Diese wird ebenfalls frühzeitig aktiv und leitet die Abspaltung des L-Proteins vom aminoterminalen Ende des Polyproteins ein. Dies führt zur Freisetzung des Protomers. Bei den anderen Picornaviren wurde dieser Vorgang bisher nicht nachgewiesen.

Die Aktivität der *3C-Protease* – sie erkennt die Aminosäurefolge Glutamin-Glycin – ist bei den Hepato-

und Parechoviren für alle proteolytischen Schritte im Vorläuferprotein verantwortlich, mittels derer die einzelnen viralen Komponenten aus dem Polyprotein heraus gespalten werden; bei den Enteroviren, Rhinoviren, Cardioviren und Aphthoviren führt die *3C-Protease* alle proteolytischen Reaktionen mit Ausnahme der Abspaltung des Protomers durch, das hier durch die *2A-Protease* erfolgt. Ausnahmen sind Prozessierung von VP0 zu VP4 und VP2 durch die enzymatische Aktivität im VP2 während der Virusreifung sowie die Spaltung des VP1-/2A-Proteins durch eine zelluläre Protease beim Hepatitis-A-Virus. Die Domäne der *3C-Protease* befindet sich im carboxyterminalen Bereich des Polyproteins und umfasst zwischen 182 Aminosäuren bei Polio- und Rhinoviren und 219 beim Hepatitis-A-Virus (► Tabelle 14.3). In einem ersten autokatalytischen Schritt wird aminoterminal vor dem *3C*-Anteil gespalten. Bereits das so entstandene Zwischenprodukt  $3CD^{Pro}$  wirkt proteolytisch. Der *3D*-Anteil der Protease  $3CD^{Pro}$  ist sogar für das Prozessieren des Protomers in die Capsidproteine essenziell, da eine effektive Spaltung zwischen VP3 und VP1 nur dann erfolgt, wenn der *3D*-Teil noch mit *3C* verbunden ist (► Abbildung 14.2). Die Spaltung in *3C* und *3D* erfolgt intermolekular in *trans*, das heißt, die aktiven *3CD*-Zwischenprodukte lagern sich zusammen und schneiden sich gegenseitig.

Auch die *3C-Protease* ist am spezifischen Abbau zellulärer Komponenten beteiligt. So scheint durch ihre direkte oder indirekte proteolytische Wirkung die RNA-Polymerase III abhängige Transkription in der Zelle – durch sie werden tRNA-Spezies und andere kleine RNA-Moleküle synthetisiert – gestört zu werden. Die Abbaureaktion richtet sich gegen den Transkriptionsfaktor TFIIC und das TATA-Box bindende Protein. Auch induziert die *3C-Protease* des Maul- und Klauenseuchevirus die Spaltung des Histons H3. Die Schnittstellen der beiden Proteasen *2A* und *3C* werden nicht nur durch die beiden Aminosäurereste definiert, zwischen welchen die Spaltung erfolgt. Sowohl Aminosäuren in der näheren Nachbarschaft als auch die Faltung der Vorläuferproteine in Sekundär- und Tertiärstrukturen sind daran beteiligt.

**RNA-abhängige RNA-Polymerase** Während des Replikationszyklus von Picornaviren wird das RNA-Positivstranggenom in ein Intermediat in Negativstrangorientierung umgeschrieben, das als Matrize für die Produktion von neuen Genomen dient (► Abschnitt 14.1.4). Unter Verwendung einer RNA-Matrize wird dabei ein komplementäres RNA-Molekül neu synthetisiert – ein Prozess, der bei der zellulären Nucleinsäuresynthese nicht vorkommt. Enzyme, die diese Reaktionen durchführen können, gibt es in der Zelle nicht. Für die

Picornaviren ist es daher essenziell, dass sie für das entsprechende Enzym selbst codieren und im Verlauf des Infektionszyklus die Aktivität einer *RNA-abhängigen RNA-Polymerase* entfalten. Das Enzym befindet sich am Carboxyterminus des Polyproteins und wird durch den Teil 3D des Vorläuferprodukts repräsentiert; das durch die proteolytischen Spaltungen entstehende Zwischenprodukt 3CD<sup>pro</sup> besitzt zwar Protease-, jedoch keine Polymeraseaktivität. Die 3D-Polymerase (3D<sup>pol</sup>) hat Längen zwischen 460 Aminosäureresten bei den Rhinoviren und 489 beim Hepatitis-A-Virus. Die Fehlerrate der RNA-abhängigen RNA-Polymerasen ist relativ hoch, wie für die 3D-Polymerase des Poliovirus gezeigt wurde. Bei der Synthese von RNA-Strängen verursacht sie durchschnittlich pro 2200 anpolymerisierte Basen einen Fehler. Das bedeutet, dass jeder neu synthetisierte RNA-Strang etwa vier Mutationen aufweist.

### Weitere Proteine

Neben den erwähnten Strukturproteinen und Enzymen befinden sich in der Sequenz des Polyproteins noch weitere Proteinkomponenten, die im Verlauf der Infektion durch die Aktivität der 3C-Protease gebildet werden (► Abbildung 14.2). Auf die sehr kleine Komponente 3B wurde schon eingegangen; sie bildet das Vpg, das kovalent mit dem 5'-Ende des Genoms verbunden ist. Im Polyprotein der Aphthoviren ist die Vpg-Sequenz dreimal wiederholt. Das direkte Vorläuferprotein für Vpg ist 3AB. Es wird vermutlich über eine hydrophobe Aminosäurefolge des 3A-Teils an intrazellulären Membranen (beispielsweise ER-Membran) verankert. Der Tyrosinrest an Position 3 des 3B-Teils wird uridinyliert. Diese Struktur bildet später den Primer für die Initiation der RNA-Stränge. Nach der Uridinylierung spaltet die 3C-Protease an der Schnittstelle zwischen 3A und 3B und das Vpg wird von der Membranverankerung gelöst. Mutationen im hydrophoben Teil des 3A-Proteins verhindern die Uridinylierung und die Synthese von RNA-Strängen.

Die Proteine 2C und 2BC sind an der RNA-Replikation beteiligt und für die Bildung von rosettenähnlichen Membranstrukturen verantwortlich, die sich vom endoplasmatischen Reticulum abschnüren. An ihnen erfolgt im Cytoplasma die Synthese der neuen RNA-Stränge. Daneben gibt es bezüglich ihrer Aktivität viele, zum Teil widersprüchliche Hinweise. Das 2B-Protein ist zwischen 97 Aminosäuren bei Polio- und Rhinoviren, 154 Aminosäuren beim Maul- und Klauenseuche-Virus und 215 Aminosäuren beim Hepatitis-A-Virus, lang. Es lagert sich in die Membran des endoplasmatischen Reticulums an, oligomerisiert und bildet Poren. Weiterhin scheint es mit der *Wirtsspezifität* der verschiedenen Viren in Ver-

bindung zu stehen. Humane Rhinoviren mit Mutationen im für 2B codierenden Genombereich können sich auch in Mauszellen vermehren. Man nimmt an, dass die veränderten 2B-Proteine mit bestimmten, für Mauszellen spezifischen Faktoren wechselwirken können, die eine RNA-Synthese in den für das Wildtypvirus nicht-permissiven Zellen erlauben. Beim Hepatitis-A-Virus greift das 2B-Protein in die durch RIG-1 vermittelten Abwehrreaktionen ein und verhindert die Phosphorylierung und folglich die Aktivierung von IRF-3 (*interferon regulatory factor 3*). Die Transkription des für IFN- $\beta$  codierenden Gens wird damit verhindert (► Kapitel 8). Bei den Enteroviren und beim Maul- und Klauenseuche-Virus fand man hingegen, dass die Aktivität der 2B- oder 2BC-Proteine den zellulären Proteintransport vom endoplasmatischen Reticulum über die Golgi-Vesikel zur Zelloberfläche hemmt. Die Konzentration der MHC-Klasse-I-Antigene auf der Oberfläche der infizierten Zellen wird hierdurch reduziert und kann der zellulären Immunantwort entgehen.

Das 2C-Protein (zwischen 317 Aminosäuren bei Aphtho-, 330 bei Rhino- und 335 bei Hepatitis-A-Viren) hat eine NTP-Bindungsstelle und ATPase-Aktivität. Es wirkt vermutlich als RNA-Helicase und scheint mit der *Initiation der RNA-Synthese* verknüpft zu sein. Mutationen in 2C führten bei Polio- und Maul- und Klauenseuche-Viren zur Resistenz gegen Benzimidazol-Derivate sowie Guanidinhydrochlorid; Substanzen, die in geringsten Konzentrationen die virale RNA-Synthese hemmen. Die Aminosäuren Phenylalanin beziehungsweise Asparagin an den Positionen 164 und 179 (oder ihr Austausch gegen Tyrosin beziehungsweise Glycin) scheinen dafür wichtig zu sein. Mutationen am NTP-Bindungsstelle sind für die Viren letal. Es gibt Hinweise, dass die 2C<sup>ATPase</sup> möglicherweise als Chaperon bei Ausbildung der Ribonucleoproteinkomplexe wirkt, die sich bei der Replikation der Virusgenome bilden müssen. Dabei könnte das 2C-Protein die koordinierte Wechselwirkung der *cloverleaf*-Struktur am 5'-Ende des Genoms mit den Sequenzen der 3'-NTR, dem Poly(A)-Anteil, dem *cre*-Element und den damit komplexierten Proteinen fördern.

## 14.1.4 Replikation

Im ersten Schritt der Infektion adsorbieren Picornaviren spezifisch an zelluläre Membranproteine. Auf viraler Seite vermitteln überwiegend die Strukturen und Aminosäuren des Canyons die Bindung. Für etliche Viren ist der zelluläre Rezeptor identifiziert und molekular gut charakterisiert; alle Picornaviren scheinen dafür bevor-



## Die Funktionen des CD155-Proteins

CD155 wird in Zellen vieler unterschiedlicher Gewebe gebildet; die membranverankerten Versionen CD155 $\alpha$  und CD155 $\delta$  sind mit Proteinen der extrazellulären Matrix, beispielsweise Vitronectin und Nectin-3 assoziiert. Zusätzlich sind CD155 $\alpha$  und CD155 $\delta$  in der Cytoplasmamembran mit  $\alpha_v$ -Integrinen komplexiert. Diese Eigenschaften charakterisieren CD155 als Zell-zu-Zell- und Zell-Matrix-Adhäsionsmolekül, das mit dem Cadherin-Adhäsionssystem Verbindungen knüpft. Die in das Cytoplasma orientierte Domäne

von CD155 $\alpha$  und CD155 $\delta$  ist mit dem Protein Tctex-1 assoziiert; dabei handelt es sich um eine Untereinheit des Motorproteinkomplexes Dynein, das in allen Neuronen, auch den Motorneuronen des Rückenmarks gebildet wird. Diese Wechselwirkung kann möglicherweise für den retrograden Transport des Poliovirus in den Neuronen in Richtung Rückenmark und Gehirn und somit bei der Pathogenese der Poliomyelitis wichtig sein.

zugt zelluläre Oberflächenproteine zu nutzen, die Mitglieder der Ig-Superfamilie sind (► Tabelle 14.4). In einigen Fällen wurden Corezeptoren identifiziert, welche die Bindung zusätzlich unterstützen oder in Assoziation mit den direkten Rezeptoren vorliegen.

Polioviren binden sich an das glycosylierte Oberflächenprotein CD155, das zur Klasse der *Immunoglobulin-superfamilie* gehört. Es verfügt über drei Ig-ähnliche Domänen: eine aminoterminal, variable V-Region, gefolgt von zwei konservierten Domänen des Typs C2. Vom CD155-Protein gibt es vier Varianten, die durch alternatives Spleißen der Transkripte entstehen: CD155 $\alpha$  und CD155 $\delta$  sind membranverankert, sie dienen den Polioviren als Rezeptoren; bei CD155 $\beta$  und CD155 $\gamma$  handelt es sich um lösliche Proteinversionen. Alle drei Serotypen des Poliovirus konkurrieren um dieselbe Adsorptionsstelle, die in der V-Domäne des Rezeptors lokalisiert ist. Die benachbarte C2-Region scheint die für die Bindung korrekte Struktur zu stabilisieren.

Über 90 Prozent der Rhinoviren (*major group*) verwenden *ICAM-Proteine* (CD54) als Rezeptoren; diese glycosylierten Zelloberflächenproteine gehören ebenfalls zur Ig-Superfamilie, sie sind für die intrazelluläre Signalübertragung bei Entzündungsvorgängen verantwortlich. Die restlichen, der *minor group* zugerechneten Rhinoviren binden sich an den (v)LDL-Rezeptor (*very low density lipoprotein receptor*), bei einigen (humane Rhinoviren 54, 89) scheint Heparansulfat für die Adsorption an die Zelloberfläche ausreichend zu sein. Für das Hepatitis-A-Virus wurden die Proteine *TIM-1* und auch *TIM-3* als zelluläre Interaktionspartner identifiziert. Die Familie der T-Zell-Immunoglobulin-Mucinproteine (TIM) stellt eine Gruppe von Rezeptorproteinen dar, die zur Ig-Superfamilie zählen und in unterschiedlichem Ausmaß auf T<sub>H</sub>1 und T<sub>H</sub>2-Zellen vorhanden sind; sie scheinen die humoralen und zellulären Immunantworten zu regulieren.

Coxsackieviren binden sich an den *Rezeptor CAR* (Coxsackie- und Adenovirus-Rezeptor), ebenfalls ein Mitglied der Ig-Superfamilie, das über einen hydrophoben Abschnitt im carboxyterminalen Teil der Aminosäurekette in der Cytoplasmamembran verankert ist und zwei extrazelluläre Ig-ähnliche Domänen aufweist. Dieses Zelloberflächenprotein, das auch die Adenoviren (► Abschnitt 19.4) als zellulären Rezeptor verwenden, ist strukturell und funktionell ähnlich zu Adhäsionsmolekülen. Die aminoterminal Domäne des CAR-Proteins passt sich in den Canyon ein, der sich auf den Capsiden der Coxsackieviren befindet. Zusätzlich zum CAR-Protein wurden einige weitere zelluläre Oberflächenproteine gefunden, die für die unterschiedlichen Coxsackievirustypen als Corezeptoren dienen können: Einige Coxsackieviren (Coxsackievirus A13, A18, A21) binden sich dabei an ICAM; Coxsackievirus A9 interagiert ebenso wie das Echovirus Typ 9 mit dem Vitronectin-Rezeptor, einem Protein, das zur Gruppe der *Integrine* (Integrin  $\alpha_v\beta_3$ ) in der Ig-Superfamilie gerechnet wird. Auch für die Echoviren Typ 1 und 8 sowie das Parechovirus Typ 1 fand man, dass sie an ein Integrin (Integrin  $\alpha_2\beta_1$ ) binden, das auch unter dem Begriff VLA-2 bekannt ist. Andere Echo-, Entero- und auch die Coxsackie-B-Viren verwenden das Oberflächenprotein CD55 (DAF, *decay accelerating factor*) als zusätzlichen Interaktionspartner. Dieses Mitglied der Ig-Superfamilie hat die Aufgabe, Zellen vor der Lyse durch das Komplementsystem zu schützen.

All diese zellulären Membranproteine werden zu unterschiedlichen Stadien der Leukocytdifferenzierung gebildet und sind an den *Adhäsions- und Erkennungsprozessen* zwischen unterschiedlichen Zelltypen beteiligt. Unter den weiteren Faktoren, die bei Coxsackievirus B3 an der Wechselwirkung zwischen Virus und Zelle beteiligt sind, ist ein Protein mit Homologie zum *Nucleolin*. Dieses Polypeptid (110 kD) ist am Transport

Tabelle 14.4 Zelluläre Rezeptoren verschiedener Picornaviren

Genus	Virus	Rezeptor	Rezeptorfamilie
Enteroviren	Poliovirus	<b>CD 155</b>	Ig-Superfamilie
	Coxsackievirus A13, 18	<b>CAR*</b>	Ig-Superfamilie
		ICAM-1	Ig-Superfamilie
	Coxsackievirus A9	<b>CAR*</b>	Ig-Superfamilie
	Coxsackievirus A2, B1, B3, B5	Integrin $\alpha_v\beta_3$	Ig-Superfamilie
		<b>CAR*</b>	Ig-Superfamilie
CD55 (DAF)**		Ig-Superfamilie	
Echovirus (Typen 1 und 8), Parechovirus (Typ 1)	<b>Integrin <math>\alpha_3\beta_1</math></b>	Ig-Superfamilie	
	Echovirus (Typen 3, 6, 7, 11–13, 21, 24, 25, 29, 30, 33), Enterovirus 70	<b>CD55 (DAF)**</b>	Ig-Superfamilie
Rhinoviren	Rhinovirus ( <i>major group</i> )	<b>ICAM-1</b>	Ig-Superfamilie
	Rhinovirus ( <i>minor group</i> )	<b>(v)LDL-Rezeptor</b>	-
	Rhinovirus 54, 89	Heparansulfat	Heparanproteoglycan
Hepatoviren	Hepatitis-A-Virus	<b>TIM-1, TIM-3***</b>	Ig-Superfamilie
Aphthoviren	Maul-und-Klauenseuche-Virus	<b>Integrine <math>\alpha_v\beta_{1/3/6}</math></b>	Ig-Superfamilie
Cardioviren	Theilers Encephalomyelitisvirus Subtyp GDVII (neurovirulent)	Heparansulfat	Heparanproteoglycan 24 kD
		<b>unbekannt</b>	Sialoglycoprotein
	Subtyp DA (niedrig neurovirulent)	$\alpha(2,3)$ -gebundene Sialylsäure	Glycoprotein

In fetter Schrift ist jeweils der in der Literatur beschriebene Hauptrezeptor angegeben, in dünner Schrift darunter die Corezeptoren.

\* CAR = Coxsackie- und Adenovirus-Rezeptor; \*\* DAF = *Decay accelerating factor*; \*\*\*TIM = *T-cell Ig- and mucin-domain-containing molecule*

von Ribosomenproteinen aus dem Kern in das Cytoplasma beteiligt und wirkt vermutlich auch an der Adsorption und Aufnahme der adenoassoziierten Viren (Typ 2) mit (► Abschnitt 20.1).

Die Erkennung zellulärer Oberflächenproteine ist aber nicht allein für die Zellspezifität der unterschiedlichen Picornaviren verantwortlich. Für eine erfolgreiche Replikation sind intrazelluläre Faktoren mit entscheidend. Dies konnte man insbesondere bei den Polioviren zeigen. Die CD155-Proteine sind auf sehr vielen verschiedenen Zellen zu finden und Polioviren adsorbieren daran. Nur in einigen dieser Zellen kann jedoch der Replikationszyklus ablaufen.

Nach der Adsorption erfolgen strukturelle Umlagerungen bei den an die Zelloberfläche gebundenen Viren. Besonders gut sind diese bei den Rhinoviren untersucht, die sich an ICAM-1 binden (► Abbildung 14.1C). Eine potenziell amphipathische  $\alpha$ -Helix in der aminoterminalen Region von VP1 wird exponiert und bekommt Kontakt zu den Lipidanteilen der Cytoplasmamembran. Hierdurch ändert sich die Konformation im Canyon, die zu einer festeren Bindung an die D1-Domäne des ICAM-1 führt. Das VP4, das an der Innen-

seite der Virionen lokalisiert und eng mit dem viralen RNA-Genom assoziiert ist, wird von den Capsiden gelöst und auch das sphingosinähnliche Molekül, der *pocket factor*, wird bei diesem Vorgang verdrängt. Das virale Genom wird durch eine zylinderähnliche Öffnung, die sich an den Ikosaederecken ausbildet, aus dem Virion durch die Cytoplasmamembran in das Zellinnere geschleust. Alternativ hierzu gibt es Daten, dass nach der Bindung an die Rezeptoren die Aufnahme der Viren über *Endocytose* erfolgt. Die hierbei gebildeten Vesikel sind reich mit *Clathrin* ausgestattet, einem zellulären Membranprotein, das sich an den Stellen der Virusanlagerung in hohen Konzentrationen ansammelt. Damit die weiteren Schritte der Replikation ablaufen können, muss das Virus aus diesen Vesikeln entlassen werden. Eine *ATP-abhängige Protonenpumpe* in der Membran bewirkt die Ansäuerung des Vesikelinners. Dieser Prozess führt zur Umlagerung des Viruscapsids, ähnlich wie zuvor beschrieben. In einem weiteren Schritt werden die VP4-Proteine und *Clathrin* abgegeben. An den Kontaktstellen zwischen den VP1-Proteinen der nun bereits umgeformten Capside und der Vesikelmembran bilden sich in der Folge kleine





## Translationsinitiation durch IRES-Sequenzen

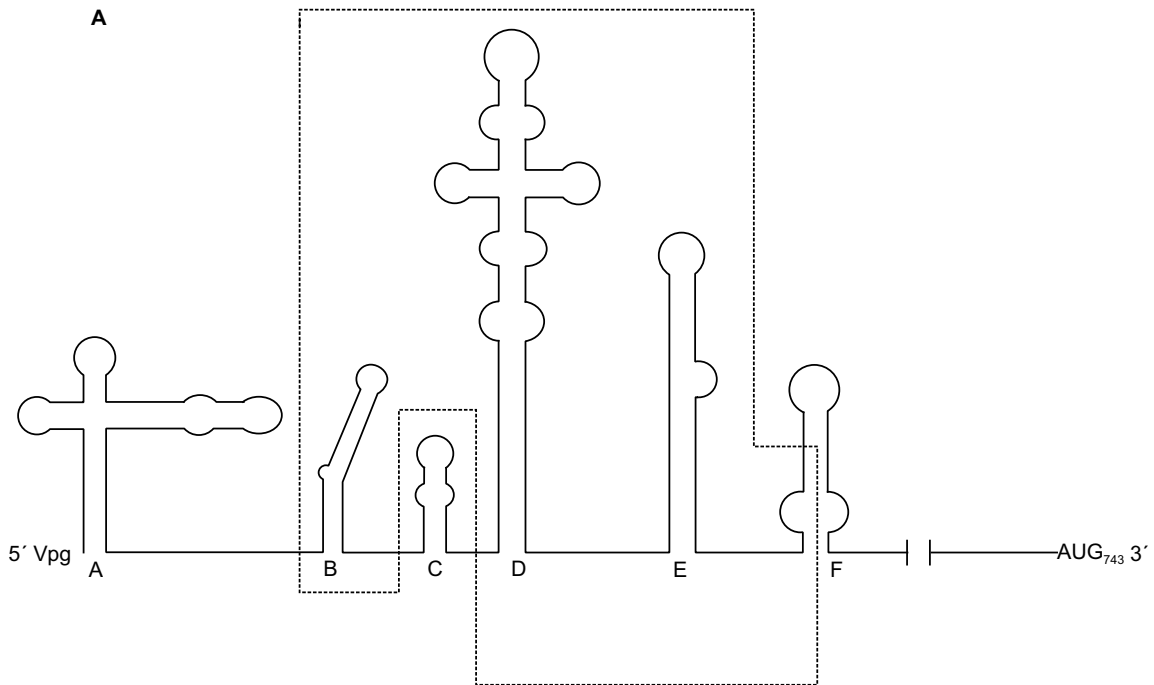
*IRES-Sequenzen*, die eine von der 5'-Cap-Struktur und dem *Cap-Bindungskomplex* unabhängige Translation eukaryotischer mRNA ermöglichen, wurden bisher im Genom der Picornaviren und in der Familie der Flaviviren bei den Pestiviren sowie beim Hepatitis-C-Virus identifiziert (Abschnitt 14.5). Man hat jedoch auch ein zelluläres Gen gefunden, dessen mRNA in der 5'-nichttranslatierten Kontrollregion

eine IRES enthält: Es codiert für das *BiP-Protein* (*immunoglobulin heavy chain binding protein*, alternative Bezeichnung: GRP-78), ein im Bereich des endoplasmatischen Reticulums und des Golgi-Apparats aktives Proteinfaltungsenzym (Chaperon), das an der Interaktion der leichten und schweren Immunglobinketten zu funktionsfähigen Antikörpern beteiligt ist.

Poren aus, durch welche die virale RNA in das Cytoplasma entlassen wird.

Da das virale Genom bereits als RNA in Positivstrangorientierung vorliegt, erfolgt im nächsten Schritt die Translation und die Bildung des Polyproteins. Die RNA besitzt keine Cap-Struktur, die gewöhnlich an den 5'-Enden zellulärer mRNA-Moleküle zu finden ist und für die korrekte Bindung der ribosomalen Unterheiten an den Translationsstartpunkt sorgt. Das Genom weist dagegen eine im Vergleich zu zellulären mRNA-Spezies ungewöhnlich lange, nichtcodierende Basenfolge von bis zu 1 199 Nucleotiden (IRES) auf, die dem Startcodon

vorgesaltet ist (► Abschnitt 14.1.2). Sie besitzt eine stark ausgeprägte, stabile Sekundärstruktur mit intramolekularen, doppelsträngigen Sequenzabschnitten (► Abbildung 14.3). Die IRES bewirkt, dass die ribosomalen Untereinheiten das Picornavirusgenom als mRNA erkennen, mit dem Startcodon interagieren und so die ersten Translationsschritte einleiten können. Es wird vermutet, dass durch die Sekundärstruktur eine dem Translationsstart direkt vorgelagerte Basenfolge stabilisiert wird, die komplementär zur 18S-rRNA der kleinen Ribosomenuntereinheit ist. Die rRNA kann so mit dem Virusgenom hybridisieren und hierüber das



**14.3 A:** Computermodell für die energetisch begünstigte Faltung der 5'-nichtcodierenden Region des Poliovirus. Die Sequenzelemente, welche die *internal ribosomal entry site* (IRES) umfassen, sind eingerahmt.

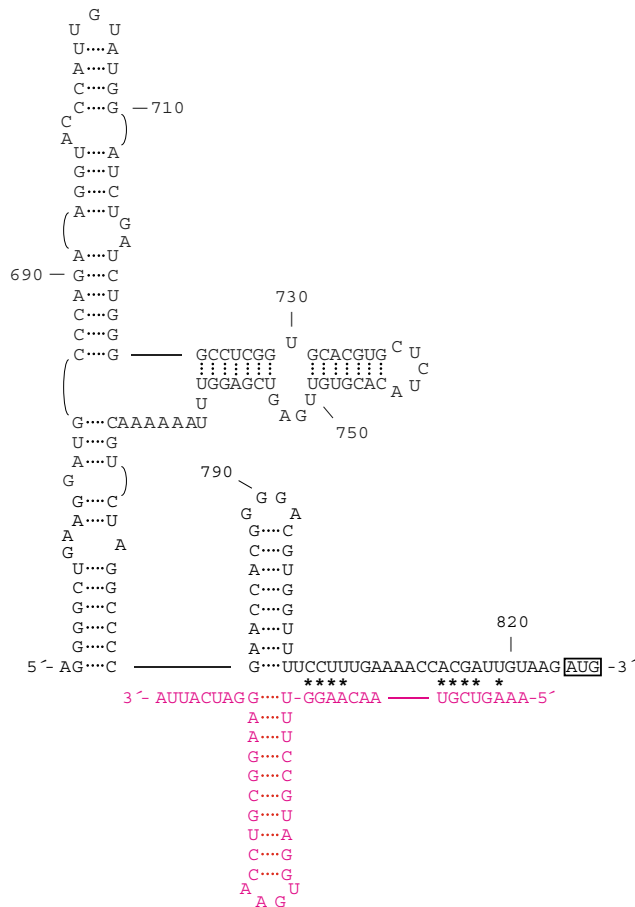


Ribosom zur korrekten Startstelle für die Proteinsynthese leiten. Zelluläre Proteine sind funktionell an der Initiation der Translation beteiligt; sie binden ebenfalls an die IRES und beeinflussen so auch die Zell- und Wirtsspezifität der verschiedenen Picornaviren. Eines ist das *La-Protein* (p52); es bindet sich normalerweise an die 3'-Enden von Transkripten, vor allem tRNAs, die von der RNA-Polymerase III gebildet werden und reguliert deren Termination. Das La-Protein induziert bei Patienten mit Lupus erythematodes und Sjögren-Syndrom eine Autoimmunreaktion. Weitere IRES-bindende Komponenten sind das Polypyrimidintrakt-Bindungsprotein PTB, das Poly(rC)-Bindungsprotein 2 PCBP2, das Poly(A)-Bindungsprotein PABP und der Faktor Umr (*upstream of N-ras*). Daneben wurden aber auch der Translationsinitiationsfaktor eIF-2 und weitere bisher nicht näher charakterisierte Proteine als Interaktionspartner für die IRES identifiziert.

Nach den initialen Schritten zur Translation des Genoms wird das durchgehende Polyprotein syntheti-

siert. Noch während der Translation wird es in die einzelnen Proteindomänen gefaltet. Bei der Mehrheit der Picornaviren – Ausnahmen sind die Hepatitis-A- und Parechoviren – erfolgen die ersten proteolytischen Spaltungen cotranslational noch während der Synthese des Polyproteins und zwar dann, wenn die Sequenzen der 2A-Protease in Aminosäuren übersetzt vorliegen. Sie wirken autokatalytisch und führen zur Abspaltung des Protomeranteils am aminoterminalen Ende. Die 3C-Beziehungsweise 3CD-Proteasen, die durch ihre Lage im carboxyterminalen Bereich des Vorläuferproteins erst zu einem späteren Zeitpunkt der Translation synthetisiert werden, sind an der Prozessierung der weiteren viralen Komponenten beteiligt. Bei den Hepatitis-A- und Parechoviren bleibt das Protomer mit der 2A-Domäne verbunden. Nach den proteolytischen Spaltungen liegen auch die RNA-abhängige RNA-Polymerase (3D<sup>pol</sup>) und das Vpg als Voraussetzung für die Replikation des Genoms in der infizierten Zelle vor. Die Synthese des Polyproteins dauert *in vitro* etwa 15 Minuten.

**B**



**14.3 (Fortsetzung) B:** Die IRES-Region des Encephalomyocarditisvirus. Dargestellt ist die durch Computeranalyse vorgeschlagene, energetisch begünstigte Sekundärstruktur der RNA-Sequenzen im 5'-Bereich des Virusgenoms. Die Zahlenangaben beziehen sich auf die jeweiligen Basenpositionen, ausgehend vom 5'-Ende des Genoms. Die Sekundärstrukturen stabilisieren in Wechselwirkung mit verschiedenen Zellproteinen eine dem Startcodon für die Translation des Polyproteins vorgelagerte Basensequenz. Diese kann mit den rot gekennzeichneten Sequenzen am 3'-Ende der 18S-rRNA der kleinen Ribosomenuntereinheit (40S) einen teilweise doppelsträngigen Bereich (gekennzeichnet durch die Sternchen) ausbilden. Die hier dargestellte Sequenz endet mit dem Startcodon (AUG) für das Polyprotein.

Für die Bildung des zum Virusgenom komplementären Negativstranges als Zwischenprodukt bei der Replikation ist die Bildung eines Primermoleküls, *Vpg-pUpU-OH*, nötig. Dieser Vorgang findet – vermittelt durch die hydrophobe Domäne des 3AB-Proteins als Vorläufer des Vpg – an den intrazellulären Membrankompartimenten statt und wird von der 3D<sup>Pol</sup> katalysiert. Als Matrize für die Uridinylierung dient eine konservierte Sequenzfolge (AAACA), die sich innerhalb des sogenannten *cre-Elements* (*cis-responsive-element*) befindet und zwar in der Schleife einer Haarnadelstruktur. Dieses *cis*-aktive Element befindet sich bei den unterschiedlichen Vertretern der Enteroviren in verschiedenen Genomregionen: Bei den Enteroviren befindet es sich in dem für das 2C-Protein codierenden Genombereich (Poliovirus Typ 1: Nucleotide 4 444 bis 4 505), bei den Rhinoviren der Spezies A in den für die 2A-Domäne codierenden Sequenzen, beim humanen Parechovirus und den Rhinoviren der Spezies B (Rhinovirus Typ 14) in den für die VP1-Proteine, bei den Rhinoviren der Spezies C in den für die VP2-Proteine codierenden Sequenzabschnitten. Beim Maul-und-Klauenseuche-Virus ist der *cre*-Element hingegen innerhalb der 5'-NTR vor den Sequenzen der IRES lokalisiert, beim Hepatitis-A-Virus wiederum in der für das 3D-Protein codierenden Region. Wird das *cre*-Element durch Mutation verändert, dann unterbleibt wegen der ausbleibenden Uridinylierung auch die Synthese der Negativstränge.

Der Vpg-pUpU-Primer assoziiert mit dem Poly(A)-Teil am 3'-Ende des Virusgenoms und bildet die Initiationsstruktur mit einem freien 3'-OH-Ende als Erkennungsstelle für die RNA-abhängige RNA-Polymerase (3D<sup>Pol</sup>), die den RNA-Gegenstrang zum Virusgenom synthetisiert (► Abbildung 14.4). Die Initiation der Negativstränge ist aber auch vom Vorhandensein einer

intakten *clover-leaf*-Sekundärstruktur am 5'-Ende der Positivstränge abhängig. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Positivstranggenome unter dem Einfluss der an die Enden gebundenen Proteine (PABP, PCB2) und der viralen 2C<sup>ATPase</sup>- sowie 3CD<sup>pro</sup> und 3D<sup>pol</sup>-Proteine eine zirkuläre Form ausbilden, an der die Negativstränge initiiert werden. Bei der Polymerisation bildet sich ein kurzlebiges Zwischenprodukt aus doppelsträngiger RNA. Das 3'-Ende des fertig synthetisierten Negativstranges bilden zwei Adenosinreste – eine ideale Struktur für die Anlagerung von Vpg-pUpU-Primermolekülen. So wird die Bildung neuer RNA-Positivstränge initiiert. Die Synthese eines RNA-Stranges dauert ungefähr 45 Sekunden. Neben der 3D<sup>Pol</sup> und den Vpg-Primern ist ein zelluläres Protein (67 kD) für den korrekten Ablauf dieses Prozesses essenziell. Zwischen fünf und acht RNA-Plusstränge können an einem RNA-Negativstrang als Zwischenprodukt in der Replikation initiiert werden. Nur zwischen fünf bis zehn Prozent der in der Zelle vorliegenden viralen RNA sind Minusstränge. Von den neu synthetisierten RNA-Strängen werden wiederum virale Polyproteine translatiert. So kann sich die Menge an Viruskomponenten in der infizierten Zelle sehr schnell vervielfältigen. Der gesamte Prozess der Polyproteinsynthese und Genomreplikation erfolgt im Cytoplasma der Zelle in Assoziation mit intrazellulären Membrankompartimenten. Auch die Polyproteine sind über die aminoterminalen Myristylierung in sie eingelagert.

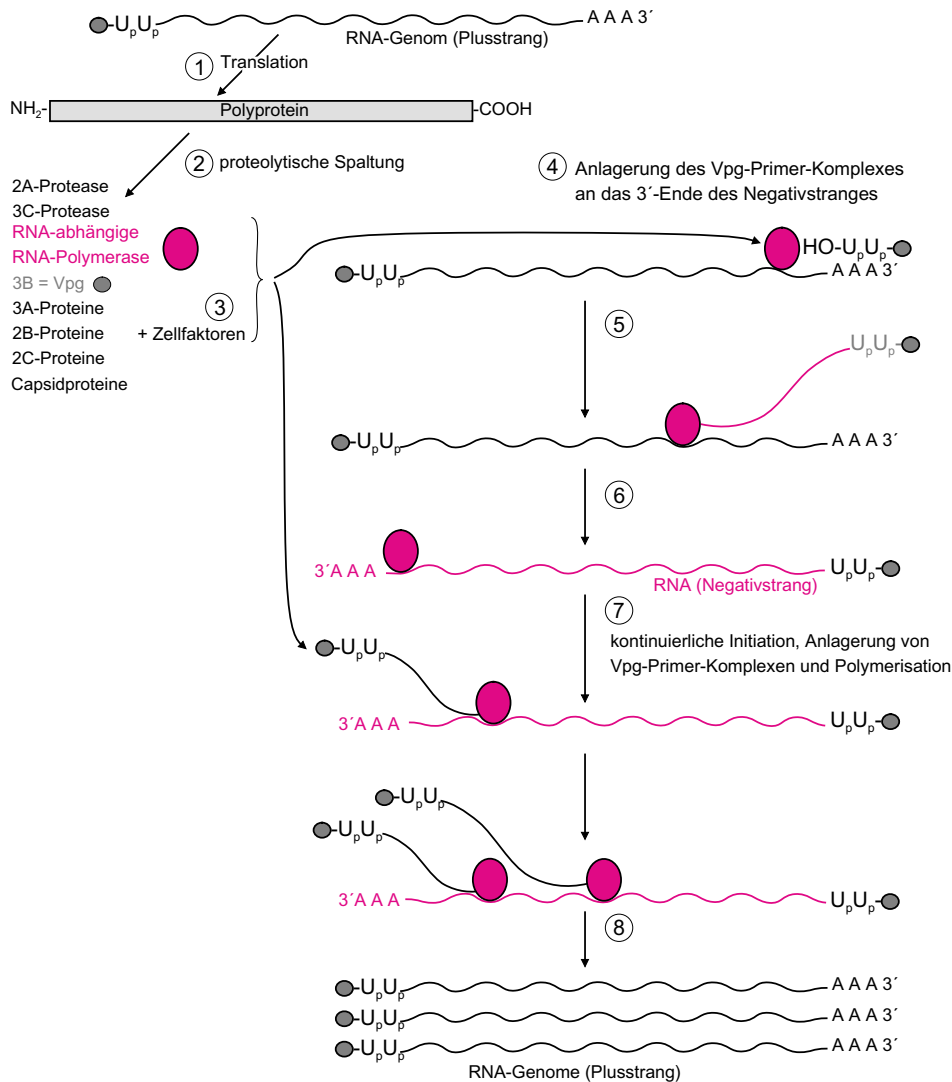
Der zelluläre Stoffwechsel wird durch die virale Replikation stark beeinflusst. Die große Zahl viraler Genomstränge, die schon kurz nach Infektion in der Zelle vorliegen und durch die IRES-Elemente eine sehr hohe Affinität für zelluläre Ribosomen aufweisen, bewirkt, dass die zelluläre Translationsmaschinerie ausschließlich mit der Synthese von Virusproteinen beschäftigt ist. Zusätzlich bewirkt die 2A-Protease der



### Funktion der 5'-Cap-Struktur

Im eukaryotischen Translationssystem bindet sich der *Cap-Bindungskomplex* an die Cap-Region, ein *methyliertes Guanidintriphosphat*, das in 5'-5'-Bindung mit dem Ende der mRNA verestert ist. Der Cap-Bindungskomplex besteht aus dem *Cap-bindenden Protein* (CBP), das mit dem 5'-Ende interagiert, den Proteinen *eIF-4A* und *eIF-4B*, die sich an die dem Startcodon vorgeschaltete Strecke von bis zu 100 Nucleotiden binden und sie in einer einzelsträngigen, gestreckten Konfiguration halten, sowie dem Faktor *eIF-3*.

Mit diesem im 5'-Bereich gebundenen Proteinkomplex interagiert die kleine Ribosomenuntereinheit zusammen mit der tRNA<sup>met</sup>, dem Initiationsfaktor eIF-2 und GTP und initiiert auf diese Weise die Translation. Das als mRNA aktive Genom der Picornaviren besitzt keine 5'-Cap-Struktur und kann deshalb die für die Ribosomeninteraktion notwendige Wechselwirkung mit den Faktoren des Cap-Bindungskomplexes nicht durchführen.



**14.4** Verlauf der Genomreplikation bei Picornaviren. Das RNA-Genom wird in einem ersten Schritt translatiert (1), dadurch entsteht ein Polyprotein, das durch die Aktivität der Proteasen 2A und 3C/3CD in die Einzelkomponenten gespalten wird (2). Während dieses Vorgangs entsteht das Vpg, das uridinyliert wird (3). Hierbei werden auch zelluläre Proteinfunktionen benötigt. Das Vpg-pUpU wird an das 3'-Ende des RNA-Genoms angelagert (4) und wirkt als Primer für die Polymerisation des RNA-Negativstranges durch die RNA-abhängige RNA-Polymerase des Virus (5), die ebenfalls bei der Proteolyse des Polyproteins entsteht. An das 3'-Ende des neu gebildeten RNA-Negativstranges werden erneut Vpg-pUpU-Komplexe angelagert (6). Sie dienen als Primer für die Synthese von RNA-Strängen (7), die nun wiederum Plusstrangorientierung besitzen (8) und sowohl als mRNA zur Proteinsynthese als auch als Virusgenome dienen.

Polio- und Rhinoviren den Abbau des p220 (eIF-4G) des *Cap-Bindungskomplexes*, der für die Translationsinitiation eukaryotischer mRNA-Spezies essenziell ist – ein zweiter Schritt zur Hemmung der zellulären Proteinsynthese. Die Proteine 2B und 3A des Poliovirus beeinflussen den Transport von zellulären Glycoproteinen und ihre Sekretion. Wie oben beschrieben, wird außerdem der TFIIC-Faktor durch die 3C<sup>Pro</sup> zerstört und hierdurch die von der RNA-Polymerase III abhängige Tran-

sription gehemmt. Schließlich wird auch die mRNA-Synthese blockiert. Hier beeinflusst offensichtlich ein noch unbekanntes virales Protein die Aktivität der zellulären RNA-Polymerase II. Diese Vorgänge sind für die Ausbildung des *virus-host shutoff*, das heißt der virusbedingten Abschaltung des Zellstoffwechsels, verantwortlich.

Liegen in der Zelle virale Proteine und RNA-Genome in ausreichender Menge vor, so werden diese Kompo-

nenten zu infektiösen Virionen zusammgebaut (*Self-Assembly*). In einem ersten Schritt wird das myristylierte, an intrazelluläre Membrankompartimente angelagerte Protomer durch die Aktivitäten der 3C<sup>Pro</sup> und 3CD<sup>Pro</sup> in VP0, VP1 und VP3 gespalten. Diese bleiben aber als Komplex miteinander verbunden und assoziieren mit vier weiteren VP0/VP1/VP3-Aggregaten zu *Pentameren* – den Vorläuferstrukturen der Ikosaederecken. Beim Hepatitis-A-Virus hat die 2A-Proteindomäne keine proteolytische Aktivität, bleibt mit dem Protomeranteil verbunden und bildet das Protein pX. Die 2A-Domäne fördert in diesem Fall die Bildung der Protomere und leitet den Morphogeneseprozess ein. Je zwölf Protomere lagern sich in einem weiteren Schritt zu Capsidvorläufern zusammen. Diese Proteinschalen schließen das RNA-Genom ein. Wie die Nucleinsäure in das Innere der Ikosaeder gelangt, ist nicht völlig geklärt. Die Sequenzen der IRES sind auch hierfür wichtig, sie verstärken die Encapsidierung der RNA. Auch sind mit diesem Prozess größere Umlagerungen in der Proteinstruktur der Capside verbunden, die sich in einem deutlich anderen Sedimentationsverhalten der Partikel äußern. Man stellt sich vor, dass das RNA-Genom entweder durch eine Öffnung in das Innere der sogenannten Procapside gelangt oder dass die Nucleinsäure sich zuerst außen an die Partikelvorläufer bindet und im Rahmen eines weiträumigen Umfaltungsvorganges in das Innere verlagert wird. Als letzter Schritt bei der Bildung infektiöser Virionen wird die Protease im VP2-Anteil des VP0 aktiviert – bedingt durch die Interaktion zwischen dem VP0 und der viralen RNA. Sie vollzieht dann die *Reifungsspaltung* zu VP2 und VP4. Im Fall des Hepatitis-A-Virus erfolgt in diesem späten Schritt auch die Spaltung des pX zu VP1 und 2A durch eine unbekannte zelluläre Protease. Die endgültige Freisetzung der Viren erfolgt durch die Veränderung der Membranpermeabilität in Verbindung mit dem infektionsbedingten Tod der Zelle. Der Replikationszyklus von der Adsorption des Virus bis zur Freisetzung der Nachkommenviren und dem Tod der Zelle dauert beim Poliovirus etwa sieben bis acht Stunden.

Die intrazellulären Vorgänge bei der Virusreplikation und apoptotische Vorgänge führen zu morphologischen Veränderungen der Zellstruktur, die sich als *cytopathischer Effekt* mikroskopisch beobachten lassen: Die Chromatinstruktur wird aufgelöst, die Nucleinsäure-Protein-Komplexe akkumulieren an der Innenseite der Kernmembran. Auch das Cytoskelett verändert sich durch strukturelle Umlagerungen der mit den Mikrotubuli assoziierten Proteine. Die infizierten Zellen runden sich ab. Im weiteren Verlauf der Replikation bilden sich im gesamten Cytoplasma Vesikel aus. Die Zellmembranen verändern ihre Permeabilität, weil vermehrt

Phosphocholin eingebaut wird, und werden schließlich durchlässig.

## 14.1.5 Humanpathogene Picornaviren

Vertreter der Picornaviren sind für verschiedene schwere Erkrankungen des Menschen verantwortlich. Hierzu zählen vor allem die Kinderlähmung und die Hepatitis A. Zunehmend beobachtet man schwere klinische Verlaufsformen jedoch auch bei Infektionen durch andere humane Enteroviren. Auf diese wird ebenso wie auf die Schnupfenviren in den folgenden Abschnitten eingegangen.

### Das Poliovirus

#### Epidemiologie und Übertragung

Die *Poliomyelitis* (Kinderlähmung) war als Erkrankung bereits 1500 Jahre vor Christi Geburt bekannt. Große Polioepidemien traten immer dann auf, wenn sich in einer Bevölkerung größere Zahlen von empfänglichen Personen angesammelt hatten, so zum Beispiel auch in den Jahren zwischen 1940 und 1950. Viele der infizierten Kinder starben, bei anderen blieben lebenslang Lähmungen zurück. Einige überlebten die Poliovirusinfektion nur durch die zeitweise Unterbringung in der *Eisernen Lunge*, die für begrenzte Zeit eine Beatmung erlaubte. Franklin D. Roosevelt, 1933 bis 1945 Präsident der USA, infizierte sich etwa 1920 als Erwachsener mit dem Virus und behielt lebenslang Defekte der Muskulatur zurück.

Ursprünglich waren die drei Typen der Poliomyelitisviren weltweit verbreitet. Sie weisen Unterschiede in den Aminosäurefolgen vor allem in den Schleifenregionen der VP1-, VP2- und VP3-Proteine auf und lassen sich serologisch unterscheiden: Typ 1 („Mahoney“ oder auch „Brunhilde“) kam relativ häufig vor und verursachte schwere, Typ 2 („Lansing“) dagegen eher leichte Erkrankungen. Infektionen mit Poliovirus Typ 3 („Leon“) verlaufen schwer. Noch 1992 registrierte man weltweit über 150 000 Fälle von Kinderlähmung. Durch das Impfprogramm der WHO gilt die Poliomyelitis heute bis auf etwa zehn Länder als ausgerottet: Am 21. Juni 2002 wurde Europa von der WHO als frei von der Poliomyelitis erklärt. Zwischenzeitlich kam es aber durch überregionale Verbreitung der Infektionen zu ernstesten Rückschlägen: In den betroffenen Ländern (beispielsweise Nigeria) war aus politischen Gründen das Impfprogramm eingestellt worden. Durch massive Riegel-



## Die Kinderlähmung – sie wurde zur Erwachsenenlähmung

Poliovirusinfektionen waren in den vergangenen Jahrhunderten weit verbreitet und erfolgten früher meist während der ersten sechs Lebensmonate unter dem Schutz placentar übertragener, mütterlicher IgG-Antikörper. Die Kinder erkrankten nicht, wenn sie in dieser frühen Lebensphase infiziert wurden, sondern entwickelten einen aktiven Immunschutz. Nur bei Kindern, die der Infektion entgingen, konnten spätere Kontakte mit dem Poliovirus – nun ohne den Schutz der mütterlichen Antikörper – zu Erkrankungen

führen. Insgesamt erkrankten weniger als ein Prozent aller seronegativen Kinder nach dem Kontakt mit dem Virus an der Poliomyelitis. Das Virus ist also wenig neuroinvasiv. Tatsächlich waren nichtparalytische Poliovirusinfektionen die häufigste Ursache für die Sommergrippe. Mit dem Anstieg des Lebensstandards wurde der Erstkontakt mit dem Poliovirus in das höhere Lebensalter verschoben, aus der Kinderlähmung wurde somit eine Erwachsenenlähmung.

impfungen ist es der WHO aber gelungen, diese Ausbreitungen wieder einzudämmen. Im Jahr 2008 wurden nur noch in sehr wenigen Ländern der Dritten Welt Infektionen mit Poliovirus Typ 1 und Typ 3 gemeldet, 98 Prozent davon in Nigeria, Indien und Pakistan. Allerdings wurden ausgehend von diesen Ländern Poliovirusinfektionen wieder in Regionen importiert, die bereits als „poliofrei“ erklärt worden waren.

Unter natürlichen Verhältnissen infizieren Polioviren nur den Menschen, lassen sich aber auf verschiedene Affenspezies übertragen und können in Schimpansengruppen – wie von Jane Goodall beschrieben – Epidemien hervorrufen. Das Poliovirus Typ 2 konnte auch an Mäuse adaptiert werden. Polioviren vermehren sich bevorzugt im lymphatischen Gewebe des Darms, den Peyerschen Plaques, und werden von infizierten Personen über den Stuhl durchschnittlich etwa fünf Wochen lang ausgeschieden. Im Anfangsstadium der Erkrankung findet man auch eine Infektion der Rachenschleimhaut und der Tonsillen, sodass in dieser Phase das Virus im Sputum und Rachenspülwasser vorhanden ist. Die Übertragung erfolgt durch Aerosole, fäkal-oral über Schmutz- und Schmierinfektionen sowie über verunreinigtes Trinkwasser und Lebensmittel.

### Klinik

Der weitaus größte Teil der Poliovirusinfektionen verläuft asymptomatisch. Nur bei wenigen Prozent kommt es im Verlauf einer Poliovirusinfektion nach einer Inkubationsperiode von ein bis zwei Wochen zu Magen- und Darmbeschwerden, denen Fieber und grippeähnliche Symptome folgen, typischerweise in Form einer Sommergrippe. Der größte Teil der Patienten erholt sich von dieser Form der *Poliomyelitis-Vorkrankheit* völlig (*abortive Polio*). Bei etwa ein bis zwei Prozent der Erkrankten entwickelt sich daran anschließend eine Erkrankungs-

form ohne Lähmungserscheinungen (*nichtparalytische Poliovirusinfektion*), bei der das Virus aber das zentrale Nervensystem infiziert und eine etwa zwei bis zehn Tage andauernde *aseptische Meningitis*, verbunden mit Muskelkrämpfen und Rückenschmerzen verursacht. Bei bis zu zwei Prozent der Erkrankten schließen sich an diese Symptome *schlaffe Lähmungen* an, da die motorischen Vorderhorn-Zellen geschädigt werden (*paralytische Poliovirusinfektion*). Hiervon verlaufen zehn Prozent letal, beispielsweise durch Atemmuskellähmungen, etwa zehn Prozent der Patienten erholen sich ohne Folgeschäden, bei 80 Prozent dieser schwer Erkrankten bleiben jedoch Lähmungen unterschiedlichen Ausmaßes als Dauerschäden zurück.

In den letzten Jahren hat man das sogenannte *Post-Polio-Syndrom* beobachtet. Die Symptome treten 15 bis 40 Jahre nach der ursprünglichen Polioerkrankung auf. Es handelt sich um eine erneut auftretende, progressive Muskelschwäche in Verbindung mit Muskel- und Gelenkschmerzen und starker Müdigkeit. Man vermutet, dass ursprünglich wenig oder auch nicht geschädigte Nervenzellen wegen der Dauerüberlastung nach Jahren absterben und so zu dem Syndrom führen können – in den USA erwartet man sehr viele Fälle dieser Spätkomplikation.

Des Weiteren kam es im Rahmen der Impfungen mit dem oralen Polio-Lebendimpfstoff (Sabin) zu Fällen von *Impf-Polio*. Das Impfvirus wird von den Geimpften vorübergehend über den Stuhl ausgeschieden und kann auf Familienmitglieder der Impflinge übertragen werden; vor allem Immunsupprimierte sind hierbei besonders gefährdet.

### Pathogenese

Nach der Übertragung infiziert das Poliovirus das lymphatische Gewebe des Gastrointestinaltrakts und ver-

mehrt sich im Lymphgewebe des Nasen- und Rachenraumes. Über den Magen wird es in den Darmtrakt weitertransportiert, infiziert dort bevorzugt die Zellen der *Peyerschen Plaques* im Dünndarm, die das lymphatische Gewebe des Darmbereichs darstellen, sowie die mesenteralen Lymphknoten. Von hier wird es über die ableitenden Lymphbahnen direkt in die Blutbahn oder in den Darm abgegeben. Das Virus infiziert aktivierte Monocyten – sie besitzen die CD155-Proteine als Rezeptoren des Poliovirus – und vermehrt sich in ihnen. Folge ist eine leichte Virämie, die einen ersten Fieberschub auslöst (Vorkrankheit). Danach breitet sich das Virus im gesamten Organismus aus und vermehrt sich im reticulohistiocytären System und in Endothelzellen; dies ist mit einer zweiten Virämie verbunden, in deren Verlauf auch die Neuronen infiziert werden können. Über sie bewegt sich die Infektion retrograd weiter zum Rückenmark und Gehirn. Vor allem die großen motorischen Vorderhornzellen und Motoneuronen werden infiziert und durch die Infektion zerstört. Die Poliomyelitis kommt durch den Befall der *grauen (polios, griech.: grau)*, das heißt zellreichen Rückenmark- und Gehirnschicht zustande. Die von den befallenen Nerven und Gehirnregionen versorgten Muskelzellen werden nicht mehr innerviert. Die Folgen sind *schlaffe Lähmungen*; dauern diese an, so kommt es zur Inaktivitätsatrophie der Muskulatur. Die zerstörten Neuronen werden im Folgenden durch Makrophagen entfernt (Neuronophagie). Noch Jahre nach der akuten Erkrankung sind die Motoneuronen atrophisch, man findet eine Neubildung von Gliazellen (Gliose) und leichte Entzündungsercheinungen. Patienten, die Lähmungen der Interkostalmuskulatur (Brustkorbmuskulatur) entwickelten, überlebten die akute Phase nur in einer „eisernen Lunge“. Die in Polioepidemiezeiten vorgenommenen Entfernungen der Tonsillen führten ebenso wie Reizungen der Muskulatur (Überanstrengung durch Bewegung, Injektionen etc.) häufig zu Atemlähmungen: Das Virus gelangte hierbei entlang der dabei geschädigten Nervenfasern von der Wunde direkt in das verlängerte Rückenmark und zerstörte dort die entsprechenden Motoneuronen.

## Immunreaktion und Diagnose

Im Verlauf einer Poliovirusinfektion werden *IgM-*, *IgA-* und *IgG-Antikörper* gegen die Capsid- und Nichtstrukturproteine gebildet. Kreuzreaktivität zwischen den drei Poliovirustypen lässt sich nur bei Verwendung hitzenaturierter Viren zeigen. Reinfektionen führen zum Wiederanstieg der Antikörperkonzentration. Immunglobuline gegen bestimmte Epitope der Strukturproteine sind neutralisierend und werden in drei separat durchzuführenden Neutralisationstesten (Poliovirus

Typ 1-3) gemessen. Polioviren können ohne Probleme in Zellkulturen (primären Affenierenzellen, HeLa- oder Verozellen) gezüchtet werden. Die Typisierung von Isolaten aus Stuhl, Rachenspülwasser oder Liquor erfolgt durch Anzucht und die sich anschließende Charakterisierung mit typspezifischen Seren im *Neutralisationstest*. Nur so kann zuverlässig die Durchseuchungsrate oder ein Titeranstieg festgestellt werden. Bei geeigneten Fragestellungen kann man alternativ die Polymerasekettenreaktion zum Virusnachweis und zur Identifizierung von Mutanten heranziehen. Meist wird dazu zunächst als Suchreaktion eine *Pan-Enterovirus-PCR* durchgeführt, die alle humanen Enteroviren erkennt.

## Therapie und Prophylaxe

Die von *Albert Sabin* entwickelte *Poliovirusvakzine* (Schluckimpfung) ist ein attenuierter Lebendimpfstoff. Pro einer Million Impfungen beobachtet man nur 0,4 bis 1,0 Impfschäden. Dieser Impfstoff verursacht die Bildung virusneutralisierender IgG- und IgA-Antikörper. Seine Wirksamkeit zeigte sich unter anderem bei der Eindämmung ablaufender Polioepidemien (*Riegelimpfung*). Durch seinen konsequenten, weltweiten Einsatz vor allem in den Entwicklungsländern hofft man, die Poliovirusinfektion in den nächsten Jahren auszurotten zu können. Bei Personen mit humoralen Immundefekten (beispielsweise Agammaglobulinämie) sowie mit medikamentösen, erblichen oder durch Infektionen verursachten Immunsuppressionen darf der Lebendimpfstoff jedoch nicht verwendet werden, da die Symptome einer Polioinfektion auftreten können (*Impfpolio*). Da das Impfvirus von den Geimpften vorübergehend über den Stuhl ausgeschieden wird, kann es auf Familienmitglieder der Impflinge übertragen werden; vor allem, Immunsupprimierte sind hierbei besonders gefährdet.

Der Lebendimpfstoff des Poliovirus Typ 1 unterscheidet sich durch 57 veränderte Nucleotide vom Wildtypvirus, die zu 21 Unterschieden in der Aminosäuresequenz führen. Die Impfviren des Poliovirus Typ 3 weisen im Vergleich zum Wildtyp zehn Mutationen auf; bezüglich der Veränderungen, die zur Abschwächung des Poliovirus Typ 2 führen, gibt es keine Daten, weil das Ausgangsvirus für den Impfstamm bis heute nicht identifiziert werden konnte. Für die Attenuierung scheinen vor allem Veränderungen der Basenfolgen im Bereich der IRES verantwortlich zu sein (Positionen 480, 481 beziehungsweise 472 in den Impfstämmen Sabin 1, 2 und 3). Sie beeinflussen die Stabilität der Sekundärstruktur der IRES und damit die Assoziation mit den Ribosomen und die Effektivität der Translation. Zusätzlich weisen die attenuierten Impfstämme aber auch



Mutationen in Genombereichen auf, welche für die Capsidproteine VP1 codieren: Die Impfpolioviren der Typen 1 und 3 weisen hier zwölf beziehungsweise zwei veränderte Aminosäurereste auf, die zur Attenuierung beitragen.

In Deutschland und in Ländern, in welchen keine Poliovirusinfektionen mehr auftreten, wird der Lebendimpfstoff seit 1999 nicht mehr eingesetzt. Das Risiko zur Ausbildung einer Impfpolio durch die attenuierten Impfviren ist hier höher als dasjenige, die Erkrankung im Rahmen einer natürlichen Polioinfektion zu erwerben. Zur Grundimmunisierung wird heute ein Impfstoff auf der Basis abgetöteter Polioviren eingesetzt, den *Jonas Salk* bereits einige Jahre vor dem Lebendimpfstoff entwickelt hatte. Inzwischen verbessert durch einen erhöhten Antigengehalt induziert er ebenfalls die Synthese von IgG-Antikörpern. Die Immunisierungsrate gegen die Poliovirustypen 1 und 2 liegt in Deutschland bei etwa 90 Prozent, gegen Poliovirus Typ 3 bei etwa 85 Prozent. Wiederauffrischungsimpfungen wurden früher im Abstand von zehn Jahren durchgeführt, sie werden heute nur noch bei Reisen in die Länder der Dritten Welt (Orient, Afrika) empfohlen.

## Die humanen Enteroviren und Parechoviren

### Epidemiologie und Übertragung

Die humanen Enteroviren werden heute in vier Spezies A – D unterteilt und repräsentieren zusammen mit den beiden Serotypen der Parechoviren – ursprünglich bekannt als Echovirus Typ 22 und 23 – eine große Zahl von Infektionserregern. Genetische Rekombinationsereignisse zwischen Vertretern der gleichen Virusspezies sind häufig und tragen zu ihrer großen Bandbreite bei. Die Viren sind weltweit verbreitet, ihre Epidemiologie ähnelt derjenigen der Polioviren. Wie diese werden sie überwiegend fäkal-oral, seltener auch durch Tröpfcheninfektion übertragen. Infektionen mit den humanen Enteroviren treten vorwiegend in der warmen Jahreszeit (Sommergrippe), in den Tropen aber ganzjährig auf. Sieben Prozent aller in den USA untersuchten Personen scheiden diese Viren aus, in den Tropen sind es bis zu 50 Prozent. Deswegen kommt es hier, vor allem in den tropischen Ländern Südasiens, immer wieder zu regionalen Epidemien, insbesondere mit Enterovirus 71. Dieser Virustyp gilt inzwischen als derjenige unter den „Nicht-Polio-Enteroviren“, dessen Infektionen am häufigsten zu Krankheitserscheinungen führen.

Coxsackieviren verursachen nur im Menschen Krankheiten; nach experimenteller Infektion von Schimpansen zeigte sich ein inapparenter Verlauf. Die

ursprüngliche Einteilung in Coxsackieviren der Subgruppe A (Serotyp 1–22, 24) und der Subgruppe B (6 Serotypen) beruhte auf Unterschieden der histopathologischen Läsionen in experimentell infizierten neugeborenen Mäusen; die Züchtung der Coxsackieviren ist heute auch *in vitro* gut möglich (Affennierenzellen, humane HeLa-oder Lungenkarzinomzellen A549).

### Klinik

Bei Infektionen mit humanen Enteroviren beträgt die Inkubationszeit bis zum Krankheitsausbruch bis zu zwei, in seltenen Fällen mehr als vier Wochen. Die Viren werden über Rachen und Darm mehrere Wochen lang ausgeschieden. Die Infektionen sind durch ein breites Spektrum unterschiedlicher klinischer Manifestationen gekennzeichnet, wobei man keine eindeutigen Korrelationen zwischen einzelnen Virustypen und einer bestimmten klinischen Manifestation findet: Unterschiedliche Virustypen können die gleichen Symptome verursachen und der gleiche Virustyp wird häufig auch mit vielen verschiedenen Krankheitsbildern assoziiert. Oft infizieren sich die Patienten gleichzeitig mit mehreren Virustypen. Daher ist es schwierig, dem einzelnen Typus bestimmte Erkrankungsbilder zuzuordnen. Meist verursachen die humanen Enteroviren *leichte, erkältungsähnliche Erkrankungen*, die mit Durchfall verbunden sein können („Sommergrippe“); viele Infektionen verlaufen asymptomatisch. Schwere Verläufe mit *neurologischen Symptomen, Meningitis, Gastroenteritis, Hand-Fuß-Mund-Krankheit, akuter hämorrhagischer Konjunktivitis, Myalgien, Myocarditis, Pleurodynie (Bornholmsche Krankheit) oder Uveitis* werden nur selten beobachtet. Patienten mit erblichen oder erworbenen Immundefekten entwickeln gehäuft *persistierende Infektionen*, die mit chronischer Enteritis, Arthritis oder auch Meningoencephalitis assoziiert sein können. Bei den schweren Infektionen mit humanen Enteroviren überwiegt das Bild der *Meningitis*, neben Herpesviren gelten Enteroviren als die häufigsten viralen Erreger für Meningitis und Enzephalitis. Coxsackieviren B, vor allem der Typ B3, gelten als Erreger von viralen *Herzmuskelerkrankungen (Perimyocarditis)*. Bei Neugeborenen verläuft diese Säuglingsmyocarditis oft tödlich. Sie tritt überwiegend dann auf, wenn die Infektion bei der Geburt erfolgt, und die Mutter noch keine Antikörper gegen das Coxsackievirus gebildet hat. Neben dieser akuten Form werden aber auch – vor allem bei Erwachsenen – chronische Verlaufsformen (*dilatative Cardiomyopathie*) diskutiert.

Einige der humanen Enteroviren und Parechoviren (Parechovirus Typ 1 und 2, Coxsackievirus B4) werden als Auslöser für *Diabetes Typ 1* diskutiert. Dieser wird gehäuft bei Patienten mit einem bestimmten HLA-Typ



## Das Ljunganvirus steht im Verdacht, intrauterinen Kindstod zu verursachen

Die humanen Parechoviren sind weit verbreitet und verursachen ähnlich wie die humanen Enteroviren Erkrankungen der Atemwege und des Magen-Darm-Trakts; schwere Verläufe werden nur selten beobachtet. Ein naher Verwandter der humanen Parechoviren ist das Ljunganvirus, das vor allem in Nordschweden in Rötelmäusen (*Clethrionomys glareolus*) endemisch ist. Diese Mäuse treten in drei- bis vierjährigen Abständen in großer Zahl auf und ziehen sich im Herbst in Scheunen und auch Wohnhäuser zurück. Die

Viren werden über Kot und Urin ausgeschieden und so auch auf den Menschen übertragen. Zoonotische Übertragungen des Ljunganvirus auf Schwangere stehen im Verdacht, in der Spätschwangerschaft intrauterinen Kindstod verursachen zu können. In einer in Schweden durchgeführten Studie konnten in der Placenta und im Gehirn der verstorbenen Feten in fast der Hälfte der untersuchten Fälle Genome des Ljunganvirus nachgewiesen werden.

(HLA-DR und -DQ) nach Infektionen mit Coxsackievirus B4 beobachtet. Ob die Infektionen mit der Auslösung der Autoimmunerkrankung in kausaler Verbindung stehen, ist jedoch umstritten.

### Pathogenese

Die Aufnahme der humanen Entero- und Parechoviren und ihre Ausbreitung im Organismus erfolgt ähnlich wie bei Polioviren. Sie werden nach anfänglicher Vermehrung im lymphatischen Gewebe des Darmes beziehungsweise des Rachens während der zweiten Virämiephase im Blut als freie Viruspartikel oder durch infizierte Lymphocyten zu den Zielorganen – Muskulatur, Haut, Meningen, Myocard, Darmepithel, zentrales Nervensystem und dem Respirationstrakt – transportiert, in denen sie sich abhängig vom Virustyp ansiedeln. Die molekularen Mechanismen, die zur Entstehung der unterschiedlichen Symptome beitragen, sind weitgehend unbekannt. In der Augenbindehaut von mit Enterovirus 70 infizierten Personen fand man neben Hyperämie, punktförmigen Blutungen (Petechien) und Hämorrhagien auch Infiltrate mononucleärer Zellen mit diffus verteilten Lymphocyten, die in auffallend große, geschwollene Lymphfollikel übergehen. Die Hornhaut kann von Epitheltrübungen betroffen sein. Schlaffe Lähmungen, die in seltenen Fällen bei Infektionen mit dem Enterovirus 70 auftreten, sind mit dem Zerfall von Motoneuronen, mit Hämorrhagien und Glioproliferation verbunden. In der Immunfluoreszenz konnten Virusproteine in der Mikroglia und in den Neuronen nachgewiesen werden.

Im Fall der Coxsackieviren ist beschrieben, dass in die infizierten Bereiche zuerst Granulocyten infiltrieren, denen mononucleäre Zellen folgen. Die infizierte Muskulatur weist fokale *Nekrosen* auf, die Zellen sind schollenartig zerfallen. Auch in Neuronen und Gliazellen des

zentralen Nervensystems treten nekrotische Areale auf. Monocyten setzen *in vitro* nach Infektion mit Coxsackievirus B3 die Cytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6 frei. Sie sind für die Ausbildung der Entzündung verantwortlich. Die mit Coxsackievirusinfektionen assoziierte chronisch-persistierende Herzmuskelentzündung ist durch ein geringes Ausmaß an infiltrierenden Zellen charakterisiert. Nur einzelne Muskelzellen zerfallen. Im Herzmuskel lässt sich Coxsackievirus-RNA nachweisen. Offenbar ist dabei das Verhältnis von RNA-Plus- zu Minussträngen auf ein Verhältnis von zwei zu eins verschoben, während gewöhnlich ein hoher Überschuss an genomischer RNA vorliegt. Es werden in diesen Fällen also relativ wenige Virusgenome produziert und auch die Menge an infektiösen Coxsackieviren ist in den persistierend infizierten Bereichen deutlich geringer. Der *Diabetes mellitus Typ 1*, den man gehäuft nach Infektionen mit Coxsackievirus B4 findet, wird vermutlich durch Autoimmunprozesse ausgelöst. Es gibt aber auch Hinweise darauf, dass Ähnlichkeiten zwischen Virusproteinen und der zellulären Glutaminsäuredecarboxylase vorhanden sind, die diese Krankheit auslösen könnten.

### Immunreaktion und Diagnose

Im Infektionsverlauf werden virustypspezifische Antikörper der Klassen IgM, IgG und IgA gegen die *viralen Strukturproteine* gebildet, die zum Teil neutralisierende Eigenschaften haben. Die IgG-vermittelte Immunreaktion wird bei Reinfektionen mit anderen Virustypen möglicherweise durch kreuzreagierende Epitope aufgefrischt. In Einzelfällen wurde für IgA-Antikörper im Magen-Darm-Trakt eine *protektive* Wirkung gefunden. Die IgM-Antwort fällt überwiegend sehr gering aus. Über den Einfluss der zellulären Immunantwort auf die Viruseliminierung ist wenig bekannt; cytotoxische T-Lymphocyten scheinen für die Elimination des Cox-

sackievirus B3 aus dem Herzmuskel verantwortlich zu sein.

Die Diagnose der Infektion mit humanen Enteroviren erfolgt durch *Virusisolierung* mit anschließender Neutralisation oder durch den *Nachweis viraler Nucleinsäure* mittels RT-PCR aus Stuhl, Urin, Rachenspülwasser, Liquor oder dem Augensekret. Antikörper können im viruspezifischen *Neutralisationstest* nachgewiesen werden. Einige der Viren besitzen hämagglutinierende Eigenschaften, die für die Diagnostik herangezogen werden können. Infolge der hohen Durchseuchung gibt es häufig Kreuzreaktionen, daher sind ELISA-Tests nur bei Erstinfektionen einsetzbar und geben keinen Aufschluss über die Art des Virus.

## Therapie und Prophylaxe

Es gibt keine Impfstoffe und Therapeutika zur Vorbeugung oder Behandlung von humanen Enterovirusinfektionen. Pleconaril, das den Uncoating-Prozess und somit die Freisetzung der Virusgenome hemmt, ist auch bei Enteroviren wirksam. Seine Effektivität bei enteroviralen Meningitiden und Encephalitiden wurde in klinischen Studien gezeigt, eine Zulassung erfolgte allerdings nicht.

## Das Hepatitis-A-Virus

### Epidemiologie und Übertragung

Das Hepatitis-A-Virus wurde 1973 durch Stephen Feinstone elektronenmikroskopisch dargestellt. 1979 isolierten es Philip Provost beziehungsweise Gert Frösner und Mitarbeiter unabhängig voneinander. Es ist weltweit verbreitet, Infektionen werden jedoch heute bevorzugt in tropischen und subtropischen Regionen und in Entwicklungsländern beobachtet. Hier erfolgt die Infektion meist im Kindesalter. Weltweit wurden sechs unterschiedliche Genotypen identifiziert: Die Genotypen I, II

und III wurden aus infizierten Menschen isoliert, die Genotypen IV und VI aus Makaken (*Macaca fascicularis*) sowie der Genotyp V aus einer Grünen Meerkatze (*Cercopithecus aethiops*). Von den humanen Genotypen wurden verschiedene antigene Varianten identifiziert, es gibt bisher aber nur einen Serotyp des Hepatitis-A-Virus. Während die Seroprävalenz vor Einführung der Impfung vor allem bei den über 50-Jährigen in Deutschland hoch war, sind heute akute Infektionen mit Hepatitis-A-Viren relativ selten; sie treten bevorzugt als Reiseerkrankung im Erwachsenenalter auf: Jährlich werden dem Robert-Koch-Institut etwa 1000 Fälle gemeldet. Man kann die Hepatitis-A-Viren (ohne Auftreten eines cytopathischen Effekts) in primären und kontinuierlichen Nierenzellkulturen Grüner Meerkatzen züchten, allerdings ist der Vermehrungszyklus sehr langsam.

Das Virus ist gegen Umwelteinflüsse sehr stabil und wird von infizierten Personen bereits während der dreibis sechswöchigen Inkubationszeit in großen Mengen über den Stuhl ausgeschieden. Die Übertragung erfolgt fäkal-oral durch *Schmutz-* und *Schmierinfektion*, über *verunreinigte Lebensmittel* und *Trinkwasser*. Daneben kann die Infektion in seltenen Fällen durch Blut und Speichel von Erkrankten in der virämischen Phase erfolgen. Bei Heimbewohnern und Drogensüchtigen, in Kindergärten, Ferienlagern oder auch in Bevölkerungsgruppen mit niedrigem, sozioökonomischem Status wird das Virus gehäuft übertragen.

### Klinik

Die Inkubationsphase bis zum Auftreten der ersten Krankheitsanzeichen beträgt drei bis sechs Wochen. Das Hauptsymptom einer Infektion mit dem Hepatitis-A-Virus ist eine *Leberentzündung* mit *Gelbsucht (Ikterus)*, die durch den Übertritt der Gallenstoffe (Bilirubin) in das Blut und ihre Ausscheidung im Urin zustande kommt. Vor allem bei Kindern ist der Verlauf aber meist inapparent, das heißt ohne Symptome. Die Symptome



### Muscheln reichern das Hepatitis-A-Virus an

Bekannt wurde die Übertragung des Hepatitis-A-Virus durch kontaminierte Muscheln. In manchen Gegenden der Welt wird das Haushaltsabwasser ungeklärt in Flüsse und Meere eingeleitet. Da in den entsprechenden Ländern die Hepatitis-A-Infektion meist gehäuft auftritt, gelangt das gegen äußere Einflüsse sehr stabile Virus so in die Umwelt.

Muscheln, die sich in der Nähe größerer Ansiedlungen im Meer befinden, also dort, wo die kontaminierten Abwässer eingeleitet werden, filtern die Viren sehr effektiv aus dem Wasser und reichern sie an. Werden solche Muscheln nicht ausreichend hoch erhitzt, so gelangt beim Verzehr das Virus in den Magen-Darm-Trakt.



### Mini-Epidemien der Hepatitis A

Aufgrund von einzelnen im Ausland erworbenen und von dort eingeschleppten Hepatitis-A-Virusinfektionen, kommt es auch in Mitteleuropa immer wieder zu meist kleineren, gelegentlich aber auch zu größeren Mini-Epidemien; letztere können mehr als 100 Personen betreffen. So hatte sich beispielsweise in einem Fall ein Metzgermeister während seines Urlaubs auf den Kanaren eine Hepatitis A zugezogen. Er infizierte in Deutschland Familienangehörige und mindestens fünf Mitarbeiter im Metzgereibetrieb. Dabei kam es in dieser Metzgerei offensichtlich auch zu Kontaminationen der Wurstwaren mit den sehr stabilen Viren. Auf diese Weise wurden über die Nahrungsmittel weitere Personen

angesteckt. Auch kleinere Krankenhäuser wurden von der Metzgerei beliefert, in denen es dann ebenfalls zu Ausbrüchen der Hepatitis A kam. Als die Infektionskette erkannt wurde, leiteten die Gesundheitsämter sofort geeignete Maßnahmen zur Eindämmung ein: Es erfolgten aktive und passive Simultanimpfungen des Metzgereipersonals und der exponierten Kundschaften, eine Impfung der Ärzte in der näheren Umgebung, eine Hochchlorierung der öffentlichen Bäder und auch die örtlichen Blutspendedienste wurden informiert, da in der virämischen Phase der Infektion Hepatitis-A-Viren auch durch Blut übertragen werden.

der Gelbsucht setzen plötzlich ein, sind mit Übelkeit, Fieber und allgemeinem Krankheitsgefühl verbunden und können mehrere Wochen anhalten; gelegentlich findet man auch fulminante Verläufe, die vor allem bei älteren Erwachsenen durch Leberzerfall tödlich enden können. Mittels der RT-PCR kann man die Genome der Hepatitis-A-Viren aber noch mehrere Wochen nach Abklingen der Symptome – bei immunsupprimierten Personen auch deutlich länger – im Stuhl nachweisen. Bei Immungesunden wurden persistierende Infektionen bisher nicht beobachtet.

### Pathogenese

Das Hepatitis-A-Virus gelangt meist durch kontaminierte Lebensmittel in den Magen-Darm-Trakt. Es gibt Hinweise, dass es im Dünndarm die Kryptozellen infiziert, bevor es sich über das Blut verbreitet und sein Hauptzielorgan, die Leber erreicht, um dort in den *Hepatocyten* zu replizieren. Als zellulärer Rezeptor wurden die Proteine TIM-1 und TIM-3 identifiziert; ein alternativer Aufnahmeweg scheint für IgA-komplexierte Viruspartikel zu bestehen, die sich an den IgA-Rezeptor auf der Hepatocytenoberfläche binden. Die Replikation des Hepatitis-A-Virus in der Leber erfolgt acht bis zehn Tage vor dem Auftreten der Symptome. Das in der Leber gebildete Virus gelangt über die Gallenwege in den Darm und wird dort ausgeschieden. Während dieser Phase ist das Virus auch im Blut vorhanden, man findet bis zu  $10^5$  Partikel pro Milliliter Blut. Bei Ausbruch der Erkrankung ist der Höhepunkt der Virusausscheidung bereits überwunden. Durch die massive Schädigung der Leberzellen kommt es zur Ausschüttung von Bilirubin und Leberenzymen (Transaminasen) in das Blut.

Im Gegensatz zu anderen Picornaviren scheinen beim Hepatitis-A-Virus die Funktionen zur Bildung des *vhs*-Effekts nicht oder nur sehr schwach ausgeprägt zu sein. Überwiegend erfolgt die Zerstörung der Leberzellen nicht durch die Virusinfektion. Dafür ist hauptsächlich die zelluläre Immunantwort des Wirtsorganismus verantwortlich: Cytotoxische  $CD8^+$ -T-Lymphozyten wurden in der Leber von Patienten mit einer akuten Hepatitis A nachgewiesen. Diese sezernieren  $IFN-\gamma$  und bewirken die Einwanderung weiterer immunologisch aktiver Zellen in die Leber. Infiltrierende mononucleäre Zellen finden sich zumeist in den Leberportalregionen. Neben den Leberzellen enthalten auch die Makrophagen der Milz und die Kupfferschen Sternzellen der Leber Virusproteine. Hierbei handelt es sich aber wahrscheinlich um passiv aufgenommene Viren. In einem späteren Stadium der Infektion findet man auch die Einwanderung von  $CD4^+$ -Lymphocyten. In seltenen Fällen kann die Hepatitis-A-Virus-Infektion eine vorübergehende Granulocytopenie und damit eine Schädigung der Knochenmarkzellen verursachen.

In den infizierten Patienten vermehrt sich das Hepatitis-A-Virus zuerst sehr langsam; auch dauert die Inkubationsphase bis zum Auftreten der ersten Symptome, die auf eine Zerstörung der Leberzellen hinweisen, mehrere Wochen. Man fand, dass die infizierten Leberzellen kaum  $IFN-\alpha$  und  $-\beta$  bilden und die Immunabwehr des Organismus deshalb verzögert aktiv wird. In den infizierten Zellen ist die Phosphorylierung und somit die Aktivierung des IRF-3 (*interferon regulatory factor 3*) unterbunden. Dies geschieht gewöhnlich über die Signalkaskaden, die über die Aktivierung des TLR-3 oder der RIG-Helicase durch doppelsträngige oder ungecappede RNA induziert werden (► Kapitel 7 und 8); der-

artige RNA-Strukturen entstehen während des Vermehrungszyklus des Hepatitis-A-Virus. Das virale Nichtstrukturprotein 2B scheint diesen Vorgang zu blockieren, dadurch unterbleibt in den infizierten Zellen auch die Synthese von IFN- $\beta$  und das Virus kann sich in der Frühphase der Infektion weitgehend unbeeinflusst vom unspezifischen Immunsystem vermehren.

### Immunreaktion und Diagnose

Während der Hepatitis-A-Virus-Infektion sind bereits zum Zeitpunkt der klinischen Erkrankung IgM-Antikörper im Serum vorhanden. IgG-Antikörper gegen die Capsid- und – in geringerem Ausmaß auch gegen die Nichtstrukturproteine – folgen und persistieren *lebenslang*. Sowohl IgM- als auch IgG-Antikörper können das Virus neutralisieren, sie sind für die Kontrolle der Virusvermehrung und für den raschen Rückgang der Virusmengen in Blut und Stuhl verantwortlich. Die neutralisierenden Antikörper richten sich gegen Domänen auf der Capsidoberfläche der Hepatitis-A-Viruspartikel. Sie bilden eine immundominante Region, an der die Aminosäuren 102 bis 114 des VP1 und 70 des VP3 beteiligt sind. Ein weiteres Epitop wurde im VP1 um die Aminosäure 221 charakterisiert. Die Diagnose erfolgt durch den Nachweis der Virusgenome im Blut und im Stuhl durch die Polymerasekettenreaktion sowie der spezifischen Antikörper im Serum: IgM weist auf eine akute, IgG auf eine abgelaufene Infektion hin. Wie bei jeder Hepatitis, bestimmt man zusätzlich die Transaminasen- und Bilirubinwerte als klinisch wichtige Marker für den Krankheitsverlauf.

### Therapie und Prophylaxe

Vakzinen auf der Basis von *in vitro* gezüchteten, *formalininaktivierten Hepatitis-A-Viren* verleihen nach zwei Impfungen sehr guten Schutz. Ob dieser lebenslang anhält oder ob später Auffrischungen notwendig sind, lässt sich noch nicht endgültig beurteilen. Tatsächlich gilt die Impfung gegen Hepatitis A aber als sehr effektiv. In den aktuellen Studien, die auf zehn bis zwölf Jahre Impfpraxis zurückblicken, konnte man schützende Antikörper in weit über 95 Prozent der Geimpften nachweisen. Mathematische Berechnungen sagen die Persistenz der durch die Impfung induzierten Antikörper für mehr als 25 Jahre in über 95 Prozent der Geimpften voraus.

Durch Gabe von virusspezifischen Immunglobulinpräparaten kann man für einen Zeitraum von etwa vier bis sechs Wochen einen *passiven Immunschutz* vermitteln. Dies wird beispielsweise als Reise-Impfprophylaxe durchgeführt, wenn der Zeitraum für die aktive Bildung

schützender Antikörper (10–14 Tage) vor Reisebeginn zu kurz ist.

Eine spezielle antivirale Therapie gibt es nicht.

## Die Rhinoviren

### Epidemiologie und Übertragung

Humane Rhinoviren infizieren nur den Menschen. Sie lassen sich aber auf einige Affenarten und Frettchen übertragen. Es gibt über 100 Serotypen; die weitere Einteilung erfolgt nach der Rezeptorbindung: 90 Vertreter der Rhinoviren (*major group*) binden sich an das ICAM-1-Molekül als zellulären Rezeptor, die restlichen Rhinoviren (*minor group*) an den LDL-Rezeptor. Die Rhinovirustypen 54 und 89 verwenden Heparansulfat für die Interaktion mit den Wirtszellen. In einer Population kommen viele Serotypen gleichzeitig vor.

Rhinovirusinfektionen treten vor allem im Frühjahr und im Herbst auf. Sie verursachen vermutlich 40 Prozent der akuten Infektionen des Respirationstraktes. Jeder Mensch macht ein bis drei Rhinovirusinfekte pro Jahr durch, deren Anzahl mit zunehmendem Alter abnimmt. Rhinovirusinfektionen bewirken eine hohe Morbidität und besitzen durch den damit verbundenen Arbeitsausfall eine große wirtschaftliche Bedeutung. Die Übertragung erfolgt meist *indirekt* über kontaminierte Hände, über Türklinken und nur selten – wenn überhaupt – durch Tröpfcheninfektion. Innerhalb von Familien, in Kindergärten und Schulen breiten sich Rhinoviren schnell aus.

### Klinik

Die Inkubationszeit beträgt *ein bis zwei Tage*. Knapp die Hälfte der Rhinovirusinfektionen verlaufen asymptomatisch: die Erkrankung beginnt mit *Niesen, Husten* und *Kratzen im Hals (grippaler Infekt)*. Fieber, Lymphknotenschwellungen und allgemeines Krankheitsgefühl fehlen. Hauptsymptome sind *Sekretausfluss* (Katarrh) und eine „verstopfte“ Nase. Das Sekret ist anfangs wässrig, später dickflüssig und gelblich. Die Symptome dauern wenige Tage bis maximal eine Woche an. Klingen die Beschwerden nicht ab, so hat sich möglicherweise durch bakterielle Überinfektion eine Nasennebenhöhlen- oder Mittelohrentzündung gebildet. Kürzlich wurden wiederholt hochvirulente Rhinovirustypen (Gruppe C) beschrieben, deren Infektion mit Erkrankungen der unteren Atemwege (zum Beispiel Lungenentzündung) einhergehen kann.



## Pathogenese

Rhinoviren gelangen über die Schleimhäute des Hals-, Nasen- und Rachenbereichs in den Körper und adsorbieren über die Strukturen des Canyons auf der Partikeloberfläche an die jeweiligen Rezeptoren im oberen Respirationstrakt. Die Replikation der Rhinoviren hat sich an die Temperatur der Nasenschleimhaut (32 °C bis 33 °C) angepasst und erfolgt sehr schnell: Bereits acht bis zehn Stunden nach der Infektion der Epithelzellen werden infektiöse Nachkommenviren durch Zellyse freigesetzt. Maximale Virustiter liegen nach zwei bis drei Tagen vor. Etwa vier Tage nach der Infektion geht die Virusausscheidung zurück. Im Rasterelektronenmikroskop sieht man, dass Zellen aus dem Flimmerepithelverband abgestoßen werden. Ursache ist die direkte zellschädigende Wirkung des Virus. Dies ist eine ideale Basis für bakterielle Überinfektionen.

Pathohistologisch beobachtet man beim Ausbruch der Erkrankung eine Hyperämie und Ödeme sowie die verstärkte Bildung eines schleimhaltigen Sekrets, das einen drei- bis fünfmal höheren Proteingehalt als normal besitzt. Das Sekret enthält eine Reihe proinflammatorischer Cytokine wie IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, und IL-11 und Chemokine wie IL-8, RANTES und MCP-1; insbesondere IL-8 bewirkt die Einwanderung von neutrophilen Granulocyten, Monocyten und dendritischen Zellen in die von der Infektion betroffenen Bereiche. Bradykinin, Lysylbradykinin und andere vasoaktive Stoffe, welche die Gefäßdurchlässigkeit erhöhen, werden wie auch der Faktor VEGF (*vascular endothelial growth factor*) vermehrt gebildet und sezerniert. Insgesamt stimuliert die Virusinfektion die Bildung von vielen Entzündungsmediatoren und erzeugt so die typischen Symptome.

Ähnlich wie bei den Hepatitis-A-Viren ist wohl auch bei der Rhinovirusinfektion die Synthese von IFN- $\beta$  gehemmt. Allerdings unterbinden Rhinoviren nicht die Phosphorylierung und Aktivierung des IRF-3, sondern hemmen nach dem Transport der phosphorylierten IRF-3 Versionen in den Zellkern die Ausbildung der funktionell transaktiv wirkenden Dimere.

## Immunreaktion und Diagnose

Fünf bis zehn Tage nach Infektion findet man IgM-, IgG- und IgA-Antikörper gegen die Virusstrukturproteine im Sekret und im Blut. IgG ist mehrere Jahre, IgA nur wenige Monate lang nachweisbar; insbesondere IgA vermittelt Schutz vor Reinfektionen, allerdings nur mit demselben Rhinovirustyp. In den meisten Personen findet man CD4<sup>+</sup>-T-Lymphocyten, die oft kreuzreaktiv Epitope verschiedener Virustypen erkennen. Über das Auftreten von cytotoxischen T-Lymphocyten ist nichts

bekannt. Die Diagnosestellung erfolgt rein klinisch. Virusnachweis und Antikörperbestimmung werden in der Routinediagnostik nicht durchgeführt.

## Therapie und Prophylaxe

Eine Impfung gegen die Rhinovirusinfektion gibt es nicht. Wegen der hohen Anzahl verschiedener Virustypen ist die Entwicklung von Vakzinen sehr schwierig. Durch Gabe von *Interferon* lässt sich eine Rhinovirusinfektion verhindern. Eine Dauertherapie verbietet sich jedoch wegen damit verbundenen Schleimhautschädigungen. *Pleconaril*, das sich in die Canyonstrukturen der Partikel einlagert, verkürzt die Infektion, induziert aber schnell die Bildung resistenter Rhinoviren, sodass die Anwendung dieser Substanzen zwecklos erscheint.

### 14.1.6 Tierpathogene Picornaviren

Eine Reihe von Picornaviren ist bei verschiedenen Tierarten beschrieben. Sie können ein breites Spektrum an Krankheiten induzieren. Von überragender wirtschaftlicher Bedeutung ist dabei das *Maul- und Klauenseuche-Virus*, das alle Klauentiere (Wiederkäuer und Schweine) infizieren kann. Differenzialdiagnostisch für die Maul- und Klauenseuche (MKS) spielt beim Schwein das *Virus der Bläschenkrankheit* (*Swine-Vesicular-Disease*, SVD) eine große Rolle. Dieses Virus, ein Vertreter der porcinen Enteroviren B, verursacht bei Schweinen eine Erkrankung, die klinisch nicht von der Maul- und Klauenseuche unterscheidbar ist. Das Swine-Vesicular-Disease-Virus ist *säurestabil* und wird überwiegend durch Fleischprodukte aus infizierten Schweinen übertragen. Es bleibt bis zu mehreren Monaten in verschiedenen, nicht erhitzten Fleischprodukten wie Rohwürsten, beispielsweise Salami, infektiös. Die Diagnose erfolgt mithilfe von Virusanzucht oder Polymerasekettenreaktion beziehungsweise auf Bestandesebene durch Antikörpernachweis.

Andere Picornaviren (verschiedene Enteroviren und das Encephalomyocarditisvirus) können beim Schwein Fruchtbarkeitsprobleme oder Allgemeinerkrankungen verursachen, sind jedoch heute relativ selten. Eine früher sehr wichtige Viruserkrankung der Schweine wird durch *porcine Teschoviren* hervorgerufen. Sie verursachen beim Schwein in seltenen Fällen eine Polioencephalitis, deren Verlauf weitgehend der Poliomyelitis des Menschen ähnelt, die durch die Polioviren verursacht wird. Ein antigenetisch sehr ähnlicher Stamm der porcinen Teschoviren, genannt *Talfanvirus*, besitzt eine erheblich geringere Virulenz. Seine Infektion verläuft in der Regel



klinisch inapparent, induziert aber eine belastbare, schützende Kreuzimmunität gegen das virulente Teschovirus. Das Talfanvirus ist weltweit in den Schweinepopulationen verbreitet. Daher werden klinische Fälle der Teschenerkrankung aufgrund der hohen Durchseuchungsrate mit dem Talfanvirus nur noch sehr selten beobachtet.

## Das Maul-und-Klauenseuche-Virus

### Epidemiologie und Übertragung

Eines der wichtigsten und wirtschaftlich relevantesten tierpathogenen Viren ist das *Maul-und-Klauenseuche-Virus*. Obwohl es in Europa seit einigen Jahrzehnten keine bedeutende Rolle mehr spielt und die Länder der Europäischen Gemeinschaft aufgrund einer konsequenten Tierseuchenbekämpfung als frei von der Maul- und Klauenseuche gelten, zeigte die Epidemie der Maul- und Klauenseuche in Großbritannien im Jahre 2001, dass die Einschleppung des Virus jederzeit möglich ist und dass es Epidemien größten Ausmaßes auslösen kann. Obwohl in Deutschland und in den anderen Ländern der EU nicht mehr gegen die Maul- und Klauenseuche geimpft wird, wird dennoch für den Seuchenfall und die dann vorgesehenen Ring- und Notimpfungen ein Grundbestand an Impfdosen vorgehalten. Die Maßnahmen zur Verhinderung der Einschleppung des Virus sowie die Herstellung, Prüfung und Bevorratung der serotypspezifischen Impfstoffe erfordern einen enormen finanziellen Aufwand. In Deutschland ist die Maul- und Klauenseuche *anzeigepflichtig*; Tierärzte und Tierbesitzer sind also verpflichtet, jeden Verdacht dieser Seuche der zuständigen Veterinärbehörde zu melden. Dieser Anzeige folgt gegebenenfalls die amtliche Anordnung der Tötung einzelner Tiere des Bestandes zur Diagnosestellung. Ist in den Tieren die Maul- und Klauenseuche amtlich festgestellt, wird die Tötung aller Klauentiere des Bestandes angeordnet und ausgedehnte epidemiologische Untersuchungen eingeleitet, um die mögliche Verschleppung des Virus vom infizierten Bestand aus zu kontrollieren. Diese Maßnahmen betreffen streng genommen nicht nur die Maul- und Klauenseuche, sondern auch Erkrankungen durch Viren, die zur Maul- und Klauenseuche ähnliche Symptome induzieren können und damit differenzialdiagnostisch abgeklärt werden müssen. Hierzu zählen das Virus der Bläschenkrankheit der Schweine (Swine-Vesicular-Disease-Virus), das Vesikulär-Stomatitis-Virus (► Abschnitt 15.1.6) und das heute getilgte Vesikulärexanthemvirus der Schweine (► Abschnitt 14.6.6).

Das Virus der Maul- und Klauenseuche ist *weltweit verbreitet* und in weiten Teilen Afrikas, Südamerikas und

Asiens, auch im asiatischen Teil der Türkei (Anatolien) mit den Serotypen O, A und Asia 1 endemisch. Von hier aus gelangt das Virus gelegentlich in den europäischen Teil der Türkei und selten auch in andere europäische Länder, wie im Jahr 1996 (Serotyp A) nach Bulgarien und in die Balkanländer, sowie in den Jahren 1996 (Serotyp O) und 2000 (Serotyp Asia 1) nach Griechenland.

Das Maul-und-Klauenseuche-Virus gilt als typischer Vertreter des Genus Aphthovirus. Es ist säurelabil und infiziert alle Klauentiere (Paarhufer). Das bedeutet für Europa, dass es *Rinder*, die kleinen Wiederkäuer *Schaf* und *Ziege* einschließlich der heimischen und exotischen *Wildwiederkäuer* (Rehe und Hirsche beziehungsweise Antilopen und Wildrinder in Zoos) sowie domestizierte und wild lebende *Schweine* und *Schweineartige* befallt.

Epidemiologisch bedeutsam ist die unterschiedliche Ausprägung der klinischen Symptomatik: Während die Maul- und Klauenseuche bei Rind und Schwein eine fiebrige Erkrankung darstellt, die mit der typischen Bildung von *Bläschen* (Aphthen) an Flotzmaul beziehungsweise Rüsselscheibe sowie am Kronsaum der Klauen einhergeht, verläuft die Infektion beim Schaf weniger auffällig und kann daher leicht übersehen werden. Da Schafe jedoch extrem empfänglich für die Infektion sind, das Virus zudem hoch kontagiös ist und von infizierten Schafen ausgeschieden wird, kann eine von der Maul- und Klauenseuche befallene Schafherde der Ausgangspunkt einer sich schnell ausbreitenden, verheerenden Epidemie sein. Epidemiologisch bedeutsam ist auch die Tatsache, dass die Viren vor allem von infizierten Schweinen, aber auch von Rindern in großen Mengen ausgeschieden werden. In einem Seuchenzug kann die Infektion dieser Tierarten daher sehr schnell zu einer drastischen Steigerung der in der Tierpopulation zirkulierenden Virusmenge führen.

Epidemiologisch wichtig ist weiterhin, dass verschiedene Serotypen des Maul-und-Klauenseuche-Virus existieren, gegen welche die infizierten Tiere keine schützende Kreuzimmunität entwickeln – ähnlich wie man es auch bei Infektionen mit den drei Serotypen der Polioviren beim Menschen findet. Neben den *sieben Serotypen O (Oise), A (Allemagne), C, Asia 1 und SAT 1 bis 3 (South African Territories)* gibt es zahlreiche Subtypen, deren Infektionen auch zum Teil eine nur geringe Kreuzimmunität induzieren. Diese antigene Vielfalt spielt eine große Rolle für die Bekämpfung der Maul- und Klauenseuche.

Das Virus wird durch *Tröpfcheninfektion* übertragen. Es ist relativ stabil und kontagiös, sodass die Infektionen bei günstigem Klima über die Luft und dabei auch über weite Entfernungen verbreitet werden. Nachgewiesen wurde dies bei einem Ausbruch der Maul- und Klauen-

seuche auf der Isle of Wight im Jahr 1981: Die Viren wurden ausgehend vom französischen Festland über den Kanal auf die Insel verschleppt. Die Entfernung betrug 250 km. Da das Virus auch mit der Milch ausgeschieden wird, ist durch Verfütterung von Milchprodukten von infizierten Rindern eine Übertragung auch auf Schweine möglich. Das Virus ist säurestabil, im Fleisch geschlachteter Tiere wird es daher nach ausreichend langer Fleischreifung inaktiviert. In unzureichend geräucherter oder gepökelten Rohwürsten bleibt es jedoch über längere Zeit infektiös. Es kann daher durch entsprechende, aus infizierten Tieren hergestellte Produkte übertragen werden.

## Klinik

Nach einer Inkubationszeit von wenigen Tagen kommt es zur Bildung der typischen *Bläschen* (Aphthen) am Flotzmaul der Rinder beziehungsweise an der Rüsselscheibe und auf der Zunge der Schweine, am Kronsaum der Klauen sowie an verschiedenen Schleimhautbereichen des Magen-Darm-Traktes, beispielsweise am Pansenpfeiler der Rinder. Die Aphthen enthalten große Virusmengen. Während beim Rind die Veränderungen am Flotzmaul und den Schleimhäuten des Magen-Darm-Traktes im Vordergrund stehen, ist bei Schweinen die Entzündung des Kronsaumes (Coronitis) das in der Regel vorherrschende Symptom. Die Morbidität ist hoch, die Mortalität hingegen gering. Das Virus kann über mehrere Wochen in einem infizierten Rind oder Schaf persistieren. In diesen Fällen werden die Viren bereits vor Auftreten der ersten klinischen Symptome ausgeschieden.

Infektionen des Menschen mit Maul- und Klauen-seuche-Viren sind außerordentlich selten, wurden jedoch vereinzelt beschrieben. Sie verlaufen in der Regel subklinisch, können sich aber ähnlich wie bei den Tieren mit Fieber und Aphthenbildung an den Schleimhäuten präsentieren.

## Pathogenese

Die Infektion erfolgt *oronasal*. Initial vermehren sich die Viren in der Schleimhaut von Maul und Zunge. Es entstehen erste kleine Aphthen (*Primäraphthen*). Die Viren werden danach über das Blut im Tier verbreitet und gelangen in alle inneren Organe. Dort replizieren sie sich mit den klassischen Symptomen wie *Blasenbildung an Epithelien* (verbunden mit Fieber, Leistungsdepression, Speichelfluss, Lahmheiten) und den typischen, nahezu pathognomonischen pathologischen Veränderungen wie Kolliquationsnekrosen der Epithelien und Fibrose. Bei jungen Rindern und Schweinen kann eine Infektion

auch den Herzmuskel betreffen und führt zu dessen Entzündung, Degeneration und Fibrose. Durch seine bindegewebige Organisation erscheint der Herzmuskel dann „gestreift“, man spricht deshalb vom *Tigerherz*. Das Virus gelangt über das Blut auch zurück in die Maulschleimhaut und führt hier zum eigentlichen Erkrankungsbild mit den typischen Aphthen (*Sekundäraphthen*).

Wichtig ist, dass das Virus im Rind persistieren kann. Man konnte im Rachenepithel experimentell infizierter Rinder das Virus isolieren (Probang-Probe). Es ist allerdings in verschiedenen unabhängigen Studien gezeigt worden, dass diese Tiere kein Virus ausscheiden und Kontakttiere nicht infiziert werden.

## Immunreaktion und Diagnose

Die Infektion hinterlässt eine *serotypspezifische Immunität*. Man vermutet, dass sie möglicherweise nicht lebenslang anhält. Die Diagnose erfolgt durch Anzucht der Viren in der Zellkultur, bevorzugt in *Babyhamster-Kidneyzellen* (BHK-Zellen) oder diversen primären und permanenten bovinen Zelllinien. Im Anschluss kann man den Serotyp der Viren mittels spezifischer Antikörper im ELISA oder mittels der Komplementbindungsreaktion bestimmen. Alternativ erfolgt die Analyse des Serotyps durch Einsatz der Polymerasekettenreaktion mit anschließender Sequenzierung der amplifizierten Abschnitte.

## Bekämpfung und Prophylaxe

Die Maul- und Klauen-seuche unterliegt in Deutschland der *Anzeigepflicht*. Jeder Verdacht auf die Erkrankung muss dem zuständigen Veterinäramt gemeldet werden. Die Bekämpfung sieht nach Diagnosestellung die Tötung und unschädliche Beseitigung aller Klauentiere des betroffenen Bestandes sowie aller seuchen- und ansteckungsverdächtigen Tiere in Nachbarbeständen vor. Es werden Sperrbezirke eingerichtet und umfangreiche Desinfektionsmaßnahmen vorgenommen. Ein Ausbruch der Maul- und Klauen-seuche in Deutschland würde nach Schätzungen der Behörden direkte und indirekte Kosten in Milliardenhöhe verursachen.

In der jüngsten Zeit wird in der Europäischen Union diese „Nichtimpf“-Politik bei hochkontagiösen Tierseuchen wie der Maul- und Klauen-seuche zunehmend kritisch diskutiert, die Vorschriften werden zunehmend gelockert. So kann die Kommission eine Impfung gegen die Maul- und Klauen-seuche grundsätzlich erlauben, und zwar sowohl in Form einer protektiven Impfung (Ringimpfung), um noch nicht infizierte Tierbestände zu schützen, als auch in Form einer Suppressivimpfung,



## Maul- und Klauenseuche in Europa

Die meisten Länder Europas und alle Länder der Europäischen Gemeinschaft waren viele Jahre frei vom Auftreten der Maul- und Klauenseuche. Dieser Status wurde im Wesentlichen durch die strikten Maßnahmen im Falle eines Seuchenausbruchs sowie eine jährliche flächendeckende Impfung aller Rinder, die am Stichtag älter als sechs Monate waren, erreicht. Die Impfung wurde im Jahr 1991 eingestellt, da das Virus in den Ländern der Europäischen Gemeinschaft eliminiert war und die Bekämpfung der Maul- und Klauenseuche dann EU-einheitlich durchgeführt wurde. Seitdem kam es bis zum Jahre 2001 nur zu vereinzelten Ausbrüchen in den EU-Ländern, so 1993 in Italien sowie 1994 und 1996 in Griechenland. Im Jahr 2001 kam es jedoch zu einem *massiven Ausbruch* der Tierseuche in England. Das Virus vom *Serotyp O1* wurde wahrscheinlich mit infiziertem Schweinefleisch aus Asien eingeführt, welches in Küchenabfällen an Schweine verfüttert wurde. Nach diesem initialen Schweineinfektionszyklus wurde das Virus hauptsächlich durch infizierte Schafe verbreitet. In den Schafen verursachte dieses Virusisolat nur milde Symptome. Bis Januar 2002 waren nahezu 10 000 Gehöfte in England betroffen, über vier Millionen Klautiere (Rinder, Schafe, Schweine, Ziegen und Hirsche) sind im Zuge seuchenhygienischer Maßnahmen getötet worden. Von England ist das Virus nur vereinzelt in andere Länder verschleppt worden; die dortigen Ausbrüche (25 in den Niederlanden, zwei in Frankreich und einer in Irland) sind durch Keulung der Bestände und zum Teil auch durch eingeleitete Ringimpfungen schnell unter Kontrolle gebracht

worden. Vom 21. Januar 2002 an galt Europa wieder als frei von der Maul- und Klauenseuche. Am 2. August 2007 jedoch traten wieder Fälle der Maul- und Klauenseuche im Süden Englands auf, das wenig später auch in umliegenden Rinderfarmen diagnostiziert wurde. Wie sich während des Ausbruchs herausstellte, handelte es sich um den MKS-Stamm BFS 1860 O<sub>1</sub> 1967 (*British Field Strain* 1860, Serotyp O, Subtyp 1, 1967 isoliert), der in unmittelbarer Nähe im staatlichen Institut für Tiergesundheit, Pirbright zum Zwecke der Vakzinierung gezüchtet wurde. Es dürfte sich also um die Freisetzung eines Laborvirus gehandelt haben, das über alte und undichte Abwassersysteme in die Umwelt gelangte. Aufgrund der schnellen Handlung der zuständigen Behörden, dem Aufstellen von Sicherheitszonen und der Keulung aller infizierten Bestände, konnte das Virus schnell eingedämmt werden.

Der Ausbruch in England 2001 hatte aufgrund der finanziellen Entschädigung für die betroffenen Landwirte sowie der verhängten Transportverbote im Inland und des Exportstopps für lebende Klautiere und deren Fleisch schwere finanzielle Auswirkungen – der Schaden des Ausbruchs belief sich auf etwa zwölf Millionen Euro – auf die britische Landwirtschaft, die bereits durch die BSE-Krise erschüttert war. Beide Ausbrüche in Großbritannien haben gezeigt, dass nach wie vor eine große Gefahr vom Virus der Maul- und Klauenseuche ausgeht und dass eine schnelle Diagnostik, eine kompromisslose Tötung aller Klautiere eines infizierten Bestandes und die konsequente Überwachung der Tiertransporte notwendig sind.

um in bereits infizierten Beständen oder Regionen die Virusausscheidung zu reduzieren; im letzteren Fall werden die geimpften Tiere später getötet. Das Hauptproblem, das sich als Folge der Impfung ergibt, ist die Identifizierung der geimpften Tiere und ihre Unterscheidung von den Infizierten. Die Entwicklung von ELISA-Systemen, welche Antikörper gegen Nichtstrukturproteine detektieren, die nur im Rahmen einer Infektion, aber nicht bei der Impfung in den Tieren gebildet werden, hat die Akzeptanz der Impfmaßnahmen wesentlich verbessert. Das Prinzip der Unterscheidung ist dabei folgendes: Im Rahmen der Replikation des Maul- und Klauenseuche-Virus im Tier werden die viralen Struktur- und Nichtstrukturproteine synthetisiert und immunologisch erkannt, die infizierten Tiere bilden folglich Antikörper gegen beide Proteingruppen. Da die Impfstoffe auf gereinigten und abgetöteten Viruspartikeln basieren, bestehen sie nur aus Strukturproteinen, sie enthalten keine Nichtstrukturproteine. Deswegen weisen mit die-

sen Vakzinen geimpfte Tiere ausschließlich Antikörper gegen die Strukturproteine auf. Kommerzielle ELISA-Systeme, welche die Nichtstrukturproteine 3A, 3B und 3C als Antigene enthalten (auch bekannt als „3ABC-ELISA“) und Antikörper gegen diese Proteine nachweisen, haben sich als sensitiv und verlässlich erwiesen, die Unterscheidung zwischen geimpften und infizierten Tieren zu treffen.

### 14.1.7 Weiterführende Literatur

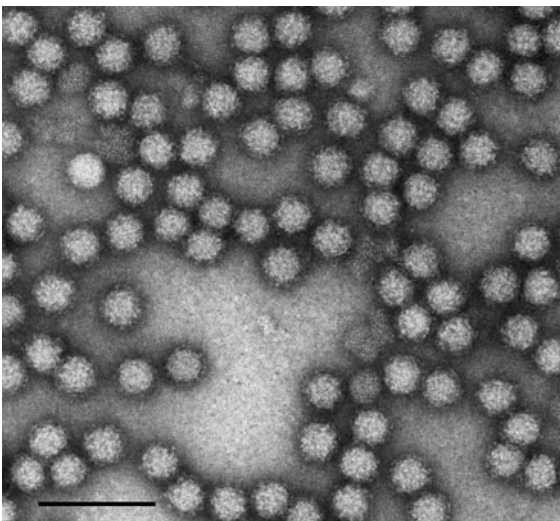
- Abzug, M. J. *The enteroviruses: an emerging infectious disease? The real, the speculative and the really speculative*. In: *Adv. Exp. Med. Biol.* 609 (2008) S. 1–15.
- Aggarwal, N.; Barnett, P. V. *Antigenic sites of foot-and-mouth disease virus (FMDV): an analysis of the specificities of anti-FMDV antibodies after vaccination of naturally susceptible host species*. In: *J. Gen. Virol.* 83 (2002) S. 775–782.

- Almond, J. W. *Poliovirus neurovirulence*. In: *The Neurosciences* 3 (1991) S. 101–108.
- Baumgarte, S.; de Souza Luna, L. K.; Grywna, K.; Panning, M.; Drexler, J. F.; Karsten, C.; Huppertz, H. I.; Drosten, C. *Prevalence, types, and RNA concentrations of human parechoviruses, including a sixth parechovirus type, in stool samples from patients with acute enteritis*. In: *J. Clin. Microbiol.* 46 (2008) S. 242–248.
- Bible, J. M.; Pantelidis, P.; Chan, P. K.; Tong, C. Y. *Genetic evolution of enterovirus 71: epidemiological and pathological implications*. In: *Rev. Med. Virol.* 17 (2007) S. 371–379.
- Chapman, N. M.; Kim, K. S. *Persistent coxsackievirus infection: enterovirus persistence in chronic myocarditis and dilated cardiomyopathy*. In: *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 323 (2008) S. 275–292.
- Coetzer, J. A. W.; Thomson, G. R.; Tustin, R. C. (Hrsg.) *Infectious Diseases of Livestock with special reference to Southern Africa*. Oxford University Press 2004.
- Cristina, J.; Costa-Mattioli, M. *Genetic variability and molecular evolution of Hepatitis-A virus*. In: *Virus Res.* 127 (2007) S. 151–157.
- Dreschers, S.; Dumitru, C. A.; Adams, C.; Gulbins, E. *The cold case: are rhinoviruses perfectly adapted pathogens?* In: *Cell. Mol. Life Sci.* 64 (2007) S. 181–191.
- Enders, J. F.; Weller, T. H.; Robbins, F. C. *Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues*. In: *Science* 190 (1949) S. 85–87.
- Fensterl, V.; Grotheer, D.; Berk, I.; Schlemminger, S.; Vallbracht, A.; Dotzauer, A. *Hepatitis-A virus suppresses RIG-I-mediated IRF-3 activation to block induction of beta interferon*. In: *J. Virol.* 79 (2005) S. 10968–10977.
- Gibbins, J. C.; Sharpe, C. E.; Wilesmith, J. W.; Mansley, L. M.; Michalopoulou, E.; Ryan, J. B. M.; Hudson, M. *Descriptive epidemiology of the 2001 foot-and-mouth disease epidemic in Great Britain: the first five months*. In: *The Veterinary Record (Vet. Rec.)* 149 (2001) S. 729–743.
- Gromeier, M.; Solecki, D.; Patel, D. D.; Wimmer, E. *Expression of the human poliovirus receptor/CD 155 gene during development of the central nervous system: Implications for the pathogenesis of poliomyelitis*. In: *Virology* 273 (2000) S. 248–257.
- Grubman, M. J.; Moraes, M. P.; Diaz-San Segundo, F.; Pena, L.; de los Santos, T. *Evading the host immune response: how foot-and-mouth disease virus has become an effective pathogen*. In: *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 53 (2008) S. 8–17.
- Hogle, J. M.; Chow, M.; Filman, D. J. *Three-dimensional structure of poliovirus at 2.9 Å resolution*. In: *Science* 229 (1985) S. 1358–1363.
- Hovi, T. *Inactivated poliovirus vaccine and the final stages of poliovirus eradication*. In: *Vaccine* 19 (2001) S. 2268–2272.
- Jang, S. K.; Pestova, T. V.; Hellen, C. U. T.; Witherell, G. W.; Wimmer, E. *Cap-independent translation of picornavirus RNAs: structure and function of the internal ribosomal entry site*. In: *Enzyme* 44 (1990) S. 292–309.
- Johansen, L. K.; Morrow, C. D. *The RNA encompassing the internal ribosomal entry site in the poliovirus 5' nontranslated region enhances the encapsidation of genomic RNA*. In: *Virology* 273 (2000) S. 391–399.
- Joki-Korpela, P.; Hyypiä, T. *Parechoviruses, a novel group of human picornaviruses*. In: *Ann. Med.* 33 (2001) S. 466–471.
- Landsteiner, K.; Popper, E. *Übertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen*. In: *Z. Immunitätsforschung Orig.* 2 (1909) S. 377–390.
- Lukashev, A. N. *Role of recombination in evolution of enteroviruses*. In: *Rev. Med. Virol.* 15 (2005) S. 157–167.
- Magnus, H. v.; Gear, J. H. S.; Paul, J. R. *A recent definition of poliomyelitis viruses*. In: *Virology* 1 (1955) S. 185–189.
- Martin, A.; Lemon, S. M. *Hepatitis-A virus: from discovery to vaccines*. In: *Hepatology* 43 (2006) S. 164–172.
- Morace, G.; Kusov, Y.; Dzagurov, G.; Beneduce, F.; Gauss-Muller, V. *The unique role of domain 2A of the Hepatitis-A virus precursor polypeptide P1-2A in viral morphogenesis*. In: *BMB Rep.* 41 (2008) S. 678–683.
- Mueller, S.; Wimmer, E.; Cello, J. *Poliovirus and poliomyelitis: a tale of guts, brains, and an accidental event*. In: *Virus Res.* 111 (2005) S. 175–193.
- Niklasson, B.; Samsioe, A.; Papadogiannakis, N.; Kawecki, A.; Hörnfeldt, B.; Saade, G. R.; Klitz, W. *Association of zoonotic Ljungan virus with intrauterine fetal deaths*. In: *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.* 79 (2007) S. 488–493.
- Niklasson, B.; Kinnunen, L.; Hörnfeldt, B.; Hörling, J.; Benemer, C.; Hedlund, K. O.; Matskova, L.; Hyypiä, T.; Winberg, G. *A new picornavirus isolated from bank voles (*Clethrionomys glareolus*)*. In: *Virology* 255 (1999) S. 86–93.
- Olson, N. H.; Kolatkar, P. R.; Oliveira, M. A.; Cheng, R. H.; Greve, J. M.; McClelland, A.; Baker, T. S.; Rossmann, M. G. *Structure of a human rhinovirus complexed with its receptor molecule*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 (1993) S. 507–511.
- Paul, A. V.; Rieder, E.; Kim, D. W.; Boom, J. H. van; Wimmer, E. *Identification of an RNA hairpin in poliovirus RNA that serves as the primary template in the in vitro uridylylation of Vpg*. In: *J. Virol.* 74 (2000) S. 10359–10370.
- Paulmann, D.; Magulski, T.; Schwarz, R.; Heitmann, L.; Flehmig, B.; Vallbracht, A.; Dotzauer, A. *Hepatitis-A virus protein 2B suppresses beta interferon (IFN) gene transcription by interfering with IFN regulatory factor 3 activation*. In: *J. Gen. Virol.* 89 (2008) S. 1593–1604.
- Racaniello, V. R. *One hundred years of poliovirus pathogenesis*. In: *Virology* 344 (2006) S. 9–16.
- Rieder, E.; Paul, A. V.; Kim, D. W.; van Boom, J. H.; Wimmer, E. *Genetic and biochemical studies of poliovirus cis-acting replication element cre in relation to Vpg uridylylation*. In: *J. Virol.* 74 (2000) S. 10371–10380.
- Rossmann, M. G. *The canyon hypothesis. Hiding the cell receptor attachment site on a viral surface from immune surveillance*. In: *J. Biol. Chem.* 264 (1989) S. 14587–14590.
- Rossmann, M. G.; Arnold, E.; Erickson, J. W.; Frankenberger, E. A.; Griffith, J. P.; Hecht, H. J.; Johnson, J.; Kamer, J.; Luo, M.; Mosser, A. G.; Rueckert, R. R.; Sherry, B.; Vriend, G. *Structure of human common cold virus and functional relationship to other picornaviruses*. In: *Nature* 317 (1985) S. 145–153.
- Rossmann, M. G.; Bella, J.; Kolatkar, P. R.; He, Y.; Wimmer, E.; Kuhn, R. J.; Baker, T. S. *Cell recognition and entry by rhinovirus and enteroviruses*. In: *Virology* 269 (2000) S. 239–247.
- Savolainen, C.; Blomqvist, S.; Hovi, T. *Human rhinoviruses*. In: *Paediatr. Respir. Rev.* 4 (2003) S. 91–98.



- Shimizu, H.; Agoh, M.; Agoh, Y.; Yoshida, H.; Yoneyama, T.; Hagiwara, A.; Miyamura, T. *Mutation in the 2C region of poliovirus responsible for altered sensitivity to benzimidazole derivatives*. In: *J. Virol.* 74 (2000) S. 4164–4154.
- Steil, B. P.; Barton, D. J. *Cis-active RNA elements (CREs) and picornavirus RNA replication*. In: *Virus Res.* 139 (2009) S. 240–252.
- Tami, C.; Silberstein, E.; Manangeeswaran, M.; Freeman, G. J.; Umetsu, S. E.; DeKruyff, R. H.; Umetsu, D. T.; Kaplan, G. G. *Immunoglobulin A (IgA) is a natural ligand of Hepatitis-A virus cellular receptor 1 (HAVCR1), and the association of IgA with HAVCR1 enhances virus-receptor interactions*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 3437–3446.
- Van der Werf, N.; Kroese, F. G.; Rozing, J.; Hillebrands, J. L. *Viral infections as potential triggers of type 1 diabetes*. In: *Diabetes Metab. Res. Rev.* 23 (2007) S. 169–183.
- Wang, C. Y.; Chang, T. Y.; Walfield, A. M.; Ye, J.; Shen, M.; Chen, S. P.; Li, M. C.; Lin, Y. L.; Jong, M. H.; Yang, P. C.; Chyr, N.; Kramer, E.; Brown, F. *Effective synthetic peptide vaccine for foot-and-mouth disease in swine*. In: *Vaccine* 20 (2002) S. 2603–2610.
- Wasley, A.; Fiore, A.; Bell, B. P. *Hepatitis-A in the era of vaccination*. In: *Epidemiol. Rev.* 28 (2006) S. 101–111.
- Wells, V. R.; Plotch, S. J.; De Stefano, J. J. *Determination of the mutation rate of poliovirus RNA-dependent RNA polymerase*. In: *Virus Res.* (2001) S. 119–132.
- Zoll, J.; Heus, H. A.; van Kuppeveld, F. J.; Melchers, W. J. *The structure-function relationship of the enterovirus 3'-UTR*. In: *Virus Res.* 139 (2009) S. 209–216.

## 14.2 Astroviren



Die Familie der *Astroviridae* ist hinsichtlich ihrer Molekularbiologie wenig untersucht. Ähnlich wie die Picorna-, Calici- und Hepeviren besitzen Astroviren ein

nichtumhülltes Capsid und ein Plusstrang-RNA-Genom. Während des Replikationszyklus synthetisieren sie eine subgenomische mRNA-Spezies, die zur Produktion der Strukturproteine dient. Der Name leitet sich vom griechischen *astron* (αστρον) ab; dies bedeutet „Stern“ und weist auf die im Elektronenmikroskop erkenntlichen sternähnlichen Formen bei einem Teil der Astroviruspartikel hin.

### 14.2.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Die Familie der *Astroviridae* wird heute in zwei Genera unterteilt, ihre Vertreter unterscheiden sich vor allem hinsichtlich ihrer Wirtsspezifität (► Tabelle 14.5): Die Viren der Gattung *Mamastrovirus* infizieren den Menschen und verschiedene Säugetiere (Schweine, Schafe, Rinder, Katzen), wohingegen die Astroviren der Vögel (Hühner, Enten, Puten) im Genus *Avastrovirus* zu finden sind. Die meisten Astroviren lassen sich weitgehend problemlos *in vitro* züchten.

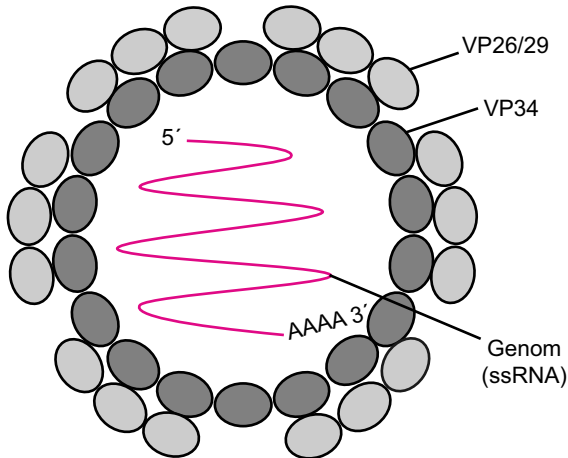
### 14.2.2 Aufbau

#### Viruspartikel

Die Vertreter der *Astroviridae* haben membranlose, sphärisch-ikosaedrische Capside, die einen Durchmesser von 28 bis 30 nm besitzen (► Abbildung 14.5). Etwa zehn Prozent der Virionen zeichnen sich auf der Capsidoberfläche durch eine Struktur aus, die einem fünf- oder sechszackigem Stern ähnelt. Die Capside werden von einem Vorläuferprotein pVP87 gebildet, das proteolytisch in die beiden Capsidproteine VP34 und VP26/29 gespalten wird. Die Prozessierung ist für die Infektiosität der Astroviren notwendig, bei Züchtung in CaCo-2 Zel-

**Tabelle 14.5** Charakteristische Vertreter der Astroviren

Genus	Mensch	Tier
Mamastrovirus	humanes Astrovirus, Typen 1–8	felines Astrovirus bovines Astrovirus, Typen 1–2 Astrovirus der Schafe porcines Astrovirus
Avastrovirus		Astrovirus der Enten Astrovirus der Puten Astrovirus der Hühner



14.5 Schematischer Aufbau eines Astroviruspartikels.

len (*human colonic carcinoma cell line*) müssen die gebildeten Viruspartikel dazu mit Trypsin behandelt werden.

### Genom und Genomaufbau

Das Genom der Astroviren besteht aus *einzelsträngiger RNA*, die in *Plusstrangorientierung* vorliegt, an den 3'-Enden *polyadenyliert* ist und eine Länge von etwa 6 800 Basen (6 771 beziehungsweise 6 813 Basen bei den humanen Astroviren, Typ 1 und 3) aufweist. Sequenzanalysen der RNA-Moleküle ergaben drei offene Leserahmen, deren Enden miteinander überlappen (► Abbildung 14.6): Die Leserahmen ORF1a und ORF1b codieren für die Nichtstrukturproteine NSP1a und NSP1ab. Eine 20 Nucleotide lange Sequenzfolge im Überlappungsbereich von ORF1a und ORF1b ist hoch konserviert: Hier bildet sich eine Haarnadelschleife aus, welche bewirkt, dass sich bei einigen der Translationsvorgänge der genomischen mRNA das ribosomale Leseraster verschiebt. Die im ORF1b codierenden Aminosäurefolgen werden so mit denen des ORF1a verbunden und es entsteht ein gemeinsames Vorläuferprotein NSP1ab beider Leserahmen. Der Leserahmen ORF2 codiert für das Vorläuferprotein pVP87 der Capsidproteine. Im 5'-Bereich der genomischen RNA befinden sich vor dem Startcodon für den offenen Leserahmen ORF1a kurze, nichttranslatierbare Sequenzfolgen von 10–20 und 45–85 Nucleotiden bei den Vertretern der Avastro- beziehungsweise der Mamastroviren. An den 3'-Genomenden findet man ebenfalls nichttranslatierbare Sequenzen (130–305 und 59–85 bei den Avastro- beziehungsweise Mamastroviren).

### 14.2.3 Virusproteine

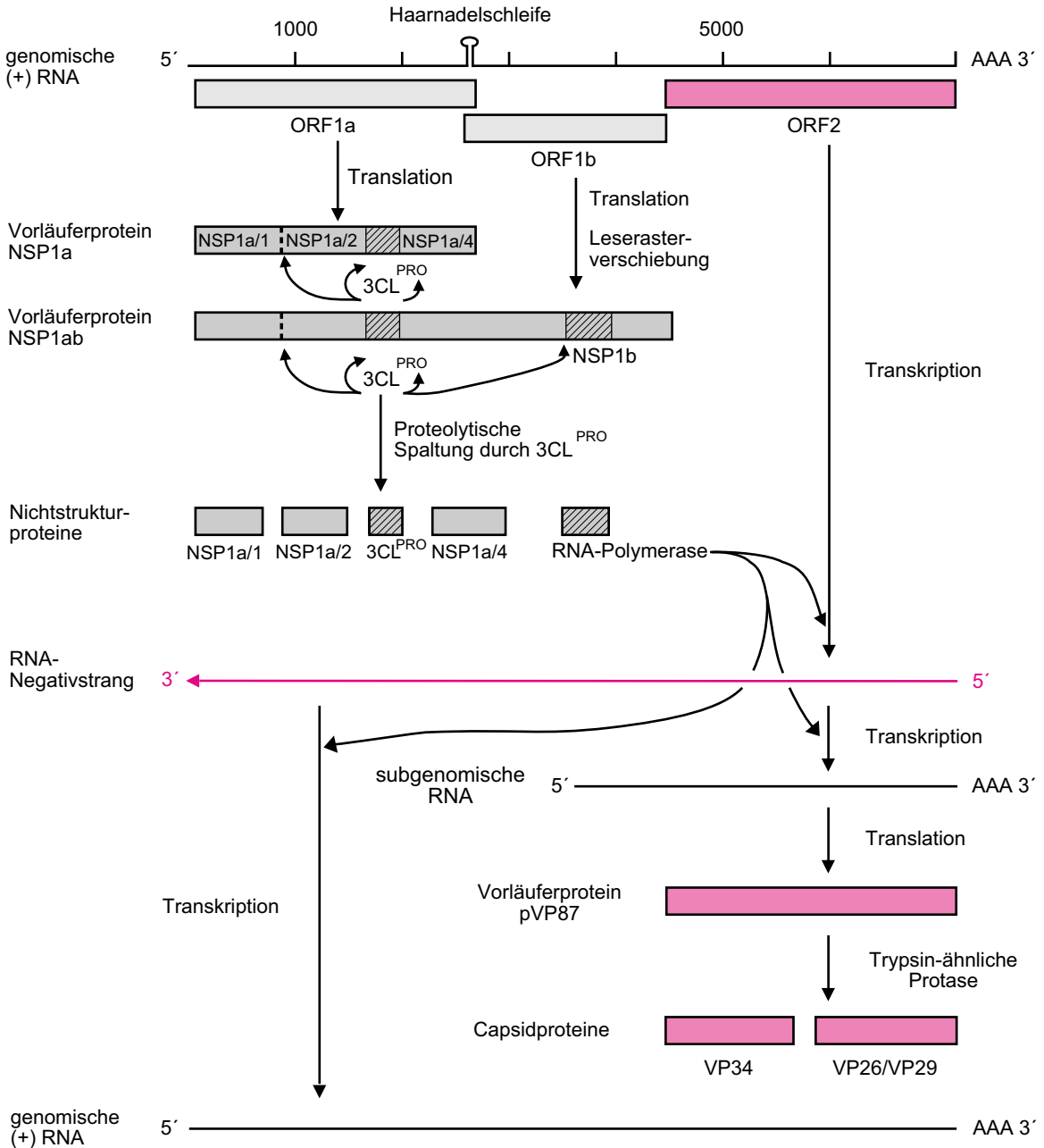
**Nichtstrukturproteine** Die Nichtstrukturproteine der Astroviren werden von den Leserahmen ORF1a und ORF1b codiert. Bei der Translation entstehen zwei Vorläuferproteine: NSP1a (103 kD) umfasst 920 Aminosäuren und codiert im Leserahmen ORF1a; NSP1ab hat ein Molekulargewicht von etwa 160 kD und ist ein gemeinsames Vorläuferprotein, das die Sequenzen des NSP1a mit denjenigen fusioniert, die vom ORF1b codiert werden. Das Vorläuferprotein NSP1a, wird posttranslational durch die Protease 3CL<sup>PRO</sup> – sie hat Ähnlichkeit zur 3C-Protease der Picornaviren (3C-ähnliche Protease) und befindet sich im zentralen Teil NSP1a/3 der Vorläuferproteine – in vermutlich vier Proteine (NSP1a/1 bis NSP1a/4) gespalten. Die RNA-abhängige RNA-Polymerase befindet sich in den Sequenzen des ORF1b. Bezüglich der Funktion der anderen Spaltprodukte gibt es nur wenige Daten (► Tabelle 14.6).

**Strukturproteine** Das Vorläuferprotein pVP87 codiert im Leserahmen ORF2 für die Capsidproteine und umfasst durchschnittlich 780 Aminosäuren; abhängig vom jeweilig untersuchten Virustyp sind Molekulargewichte von 70 bis 90 kD beschrieben. Das Vorläuferprotein lagert sich zu partikulären Strukturen zusammen und wird danach durch trypsinähnliche zelluläre Proteasen in einen konservierten, aminoterminalen (VP34) und einen carboxyterminalen Abschnitt (VP26, VP29) gespalten; letzterer variiert in seiner Größe, da sich in der Aminosäuresequenz einige zueinander benachbarte Spaltstellen für Trypsin befinden, die von den Enzymen alternativ erkannt und genutzt werden. Im carboxyterminalen Abschnitt des Vorläuferproteins pVP87 beziehungsweise seiner Spaltprodukte VP26/VP29 findet sich eine Folge saurerer Aminosäuren, die durch zelluläre Caspasen erkannt und gespalten werden. Beide proteolytischen Prozessierungen sind notwendig, damit die Viruspartikel ihre vollständige Infektiosität erhalten.

### 14.2.4 Replikation

Der Replikationszyklus der Astroviren ist kaum untersucht. Der zelluläre Rezeptor, an den sich die Viren bei der Adsorption an ihre Zielzellen binden, ist nicht bekannt. Ebenso sind die Vorgänge ungeklärt, die zur Aufnahme der Viruspartikel und zur Freisetzung der Virusgenome führen. Die Infektion bewirkt auf noch unbekannt Weise die Aktivierung des ERK-vermittelten Signalweges (*ERK = extracellular signal-regulated*





**14.6** Genomorganisation bei Astroviren. Die Genome der Astroviren enthalten drei offene Leserahmen (ORF). Die ORF1a und ORF1b überlappen an den Enden miteinander. Eine Haarnadelschleife bewirkt eine Verschiebung des ribosomalen Leserasters und ist dafür verantwortlich, dass bei der Translation die im ORF1a codierenden Aminosäuresequenzen mit denjenigen des ORF1b verbunden werden. Das bei der Translation gebildete Vorläuferprotein NSP1ab enthält neben einer Protease (3CL<sup>PRO</sup>) auch die RNA-abhängige RNA-Polymerase (NSP1b). Letztere ist für die Synthese der Negativstranggenome verantwortlich, von denen im Replikationszyklus die RNA-Genome der Nachkommenviren abgelesen werden. Der ORF2 dient der Synthese des Vorläuferpolyproteins der Strukturproteine. Es wird durch die Aktivität von trypsinähnlicher Protease gespalten.

**Tabelle 14.6** Bekannte Funktionen und Eigenschaften der Astrovirusproteine

Protein	Molekulargewicht	Codierungsort	Funktion/Eigenschaften
<b>NSP1a/1</b>	20 kD	ORF1a	?
<b>NSP1a/2</b>	23 kD	ORF1a	Hydrophob, enthält potenzielle Transmembrandomänen
<b>NSP1a/3</b>	27 kD	ORF1a	3C-ähnliche Protease 3CL <sup>PRO</sup> , Spaltung des/der Vorläuferproteine
<b>NSP1a/4</b>	26 – 35 kD	ORF1a	enthält Kerntransportsignal, im perinucleärem Bereich, assoziiert mit ER
<b>NSP1b</b>	ca. 57 kD	ORF1b	RNA-abhängige RNA-Polymerase, Transkription, Replikation
<b>pVP87</b>	70–87 kD	ORF2	Vorläuferprotein der Capsidproteine, Größe ist bei den verschiedenen Virustypen unterschiedlich, wird durch zelluläre trypsin-ähnliche Proteasen gespalten
<b>VP34</b>	34 kD	ORF2	Capsidprotein, aminoterminaler Spaltprodukt von pVP87, konserviert
<b>VP26, VP29</b>	26 bzw. 29 kD	ORF2	Capsidproteine, carboxyterminale Spaltprodukte von pVP87, variabel, die Proteine entstehen durch alternative Verwendung der Proteasespaltstellen in pVP87, Induktion neutralisierender Antikörper, Substrat zellulärer Caspasen

Die Auflistung der Proteine in der Tabelle entspricht der Anordnung der ORFs auf den Virusgenomen sowie in den Vorläuferproteinen.

*kinase*); dabei handelt es sich um einen der *mitogen-activated protein kinase* (MAPK)-Signalübertragungswege, die als Reaktion auf extrazelluläre Stresssignale induziert werden und zur Phosphorylierung der ERK1/2-Kinasen führen. In diesem aktivierten Zustand gelangen die ERK1/2-Kinasen in den Zellkern und aktivieren die Expression verschiedener zellulärer Gene, welche die Zellteilung und Differenzierung regulieren. Der Befund, dass die Aktivierung der ERK-vermittelten Signalwege für die Virusreplikation wichtig ist, ist ein Hinweis dafür, dass Astroviren bei ihrer Replikation auf sich teilende Zellen angewiesen sind.

Der initiale Schritt im Vermehrungszyklus ist die Translation der Vorläuferprodukte für die Nichtstrukturproteine NSP1a und NSP1b. Wie die Proteinsynthese dabei initiiert wird, ist unklar. Am 5'-Ende der genomischen RNA fand man kein kovalent gebundenes Protein Vpg, wie es bei den Picorna- und Caliciviren der Fall ist; die nichttranslatierbaren Sequenzfolgen scheinen auch keine IRES auszubilden (► Abschnitte 14.1, 14.3 und 14.5). Ob das Ende über eine 5'-Cap-Gruppe verfügt, ist ebenfalls unklar. Bei einem Teil der Translationsereignisse kommt es im carboxyterminalen Bereich des NSP1a zur Verschiebung des ribosomalen Leserahers, wodurch die Aminosäurefolgen des NSP1b mit dem NSP1a verbunden werden. Dieser Vorgang ähnelt der Synthese der Nichtstrukturproteine bei den Togaviren (► Abschnitt 14.6). Die gebildeten Vorläuferproteine werden autokatalytisch durch die Aktivität der 3CL<sup>PRO</sup> gespalten, wodurch die Funktionen der verschie-

denen Nichtstrukturproteine und somit auch die viralen *RNA-abhängigen RNA-Polymerasen* in der Zelle vorliegen. Durch die Aktivität der Polymerase wird die Synthese von Negativstrangkopien komplementär zum Virusgenom eingeleitet: Die Negativstränge dienen zur Synthese neuer genomischer mRNAs sowie einer subgenomischen mRNA mit einer Länge von etwa 2000 Basen; sie enthält die für die Capsidproteine codierenden Sequenzbereiche des ORF2 und dient der Synthese des Vorläuferproteins pVP87 (► Abbildung 14.6). Im Verlauf der Replikation wird in den infizierten Zellen die *Apoptose* induziert, die zum Zelltod und zur Freisetzung der Nachkommenviren führt. Welches der Virusproteine hierfür verantwortlich ist, ist nicht bekannt. Die während der Apoptose induzierte Caspaseaktivität spaltet die Capsidproteine VP26 und VP29; dies steigert die Infektiosität der von den Zellen freigesetzten Nachkommenviren.

## 14.2.5 Humanpathogene Astroviren

### Die humanen Astroviren

#### Epidemiologie und Übertragung

Infektionen mit humanen Astroviren wurden erstmals 1975 im Rahmen eines Ausbruchs infektiöser *Gastroenteritis* in einer Geburtsklinik in England beschrieben. Danach zeigte sich, dass Astroviren weltweit verbreitet

sind und nach den Caliciviren die zweithäufigste Ursache für nicht bakterielle Durchfallerkrankungen sind (siehe Abschnitt 14.3). Bisher fand man acht Serotypen der humanen Astroviren, der Serotyp 1 überwiegt. Astrovirusinfektionen werden bevorzugt bei Kindern im Alter von weniger als zwei Jahren nachgewiesen, aber auch in älteren Personen und immunsupprimierten Patienten. Die Virusausscheidung über den Stuhl dauert ein bis zwei Wochen an, bei Immunsupprimierten auch deutlich länger. Die Übertragung erfolgt fäkal-oral.

## Klinik

Die Inkubationszeit ist kurz und beträgt üblicherweise zwei bis drei Tage. In einigen Fällen verlaufen die Astrovirusinfektionen asymptomatisch; in der Regel verursachen sie Gastroenteritiden mit Durchfällen, gelegentlich auch mit Erbrechen; selten findet man dabei Muskel- und Gliederschmerzen. Die Erkrankung ist leicht und selbst limitierend; sie dauert üblicherweise drei bis vier Tage. Bei immunsupprimierten Patienten verlaufen die Infektionen schwerer und prolongierter.

## Pathogenese

Astroviren infizieren die Enterocyten im Dünndarm und vermehren sich in ihnen. Histologisch finden sich nur wenige Hinweise auf Zellerstörungen und Entzündungen. Die relativ geringe Entzündungsaktivität kann mit der Eigenschaft der viralen Capsidproteine verbunden sein, sich an die Komplementkomponente C1q zu binden und die Aktivierung der klassischen Komplementkaskade und somit eine der Abwehrreaktionen des unspezifischen Immunsystems zu hemmen (► Kapitel 7). Die Capsidproteine scheinen noch eine weitere Funktion auszuüben, welche die Pathogenese der Astrovirusinfektionen bestimmt: Sie bewirken die Erhöhung der Durchlässigkeit des Dünndarmepithels. Dabei werden die Interaktionen des *tight-junction* Proteins Occludin und des zellulären Actinskeletts gestört. Dieser Vorgang ist nicht von einer aktiven Virusreplikation abhängig, er trägt vermutlich zum Durchfallgeschehen bei.

## Immunreaktion und Diagnose

Astrovirusinfektionen können durch den Nachweis der Virusproteine im *Antigen-capture*-ELISA, den elektronenmikroskopischen Nachweis von Viruspartikeln in Stuhlproben oder durch die Amplifikation von viraler RNA durch die Polymerasekettenreaktion diagnostiziert werden. Während der Infektion sind zunächst IgM-, später IgG- und IgA-Antikörper gegen die Virusstruk-

turproteine in ELISA-Tests nachweisbar. Die Konzentration der Antikörper sinkt nach der Erkrankung bald wieder ab. Ebenso wie die Virusanzucht in der Zellkultur spielen serologische Methoden zum Nachweis spezifischer Antikörper keine Rolle in der Diagnostik. Über die zelluläre Immunität ist nichts bekannt.

## Prophylaxe und Therapie

Die besten Maßnahmen zur Vermeidung von Infektionen mit den humanen Astroviren sind Hygiene und Desinfektion. Chemotherapie oder Impfstoffe existieren nicht. Diagnostizierte Astrovirusinfektionen sind meldepflichtig.

### 14.2.6 Tierpathogene Astroviren

## Die Astroviren des Geflügels

### Epidemiologie und Übertragung

Astrovirusinfektionen sind beim Geflügel häufig; meist existieren mehrere voneinander unterscheidbare Serotypen. Beim Huhn ist das *aviäre Nephritisvirus* weit verbreitet. Es verursacht geringe Wachstumsstörungen, die auf Herdenbasis auffällig werden können. Die Erreger werden über den Kot der infizierten Tiere ausgeschieden und übertragen.

## Klinik

Ähnlich wie die Astroviren des Menschen und der Säugetiere verursachen die Astroviren des Geflügels häufig subklinische Infektionen und milde Erkrankungen. Beide Serotypen des *Astrovirus der Pute* verursachen eine Gastroenteritis und sind mit dem *Poultry Enteritis Mortality Syndrome* (PEMS) assoziiert. Diese Viren replizieren sich in den Zellen des Darmepithels sowie in einer Reihe anderer Gewebe, unter anderem im Thymus, der Bursa fabricii, der Milz und den Nieren. Das *aviäre Nephritisvirus* infiziert Nierenepithelzellen und kann eine interstitielle Nephritis verursachen. Das *Astrovirus der Ente* wird mit Hepatitiden in Verbindung gebracht; bei experimentellen Übertragungen fand man eine Mortalitätsrate von über 50 Prozent.

## Pathogenese

Die Pathogenese der Astrovirusinfektionen beim Geflügel ist kaum untersucht. Im Unterschied zu den Infektionen bei Säugetieren und Menschen vermehren sich die Erreger nicht ausschließlich in den Zellen des Darm-



## Die Astroviren der Säugetiere sind tiermedizinisch nicht relevant

Astroviren der Säugetiere wurden bisher aus Schweinen, Rindern, Schafen, Rothirschen, Katzen und Nerzen isoliert; alle lassen sich *in vitro* vermehren. Sie unterscheiden sich genetisch um bis zu 40 Prozent, wobei die Viren, die einzelne Tierarten infizieren, bei der phylogenetischen Untersuchung eigene Cluster bilden. Dies deutet auf eine strenge Wirtsspezifität hin. Eine Ausnahme hiervon bildet das feline Astrovirus: Es ist relativ nah mit den humanen

Astroviren verwandt und Teil dieses Clusters. Ähnlich wie bei humanen Astroviren muss auch bei der *in vitro* Züchtung des feline Astrovirus das Kulturmedium mit Trypsin versetzt werden, um eine Infektion zu ermöglichen. In allen Fällen wurden nur milde oder subklinische Infektionen beschrieben, die Viren sind für diese Tierarten ohne klinische Bedeutung.

epithels, sondern auch in verschiedenen anderen Geweben; als Folge findet man eine größere Bandbreite unterschiedlicher Erkrankungen.

### Immunreaktion und Diagnostik

Die aviären Astroviren lassen sich grundsätzlich in Zellkultur vermehren. Die Diagnostik kann über den Nachweis viraler RNA-Genome mittels der Polymerasekettenreaktion erfolgen.

### Prophylaxe und Therapie

Eine antivirale Therapie oder Immunprophylaxe gibt es nicht.

*key: comparison with related viruses.* In: *Virus Res.* 91 (2003) S. 195–201.

Krishna, N. K. *Identification of structural domains involved in astrovirus capsid biology.* In: *Viral Immunol.* 18 (2005) S. 17–26.

Krishna, N. K.; Cunnion, K. M. *Human astrovirus coat protein: a novel C1 inhibitor.* In: *Adv. Exp. Med. Biol.* 632 (2008) S. 237–251.

Moser, L. A.; Schultz-Cherry, S. *Pathogenesis of astrovirus infection.* In: *Viral Immunol.* 18 (2005) S. 4–10.

Moser, L. A.; Carter, M.; Schultz-Cherry, S. *Astrovirus increases epithelial barrier permeability independently of viral replication.* In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 11937–11945.

Moser, L. A.; Schultz-Cherry, S. *Suppression of astrovirus replication by an ERK1/2 inhibitor.* In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 7475–7482.

Walter, J. E.; Mitchell, D. K. *Astrovirus infection in children.* In: *Curr. Opin. Infect. Dis.* 16 (2003) S. 247–253.

## 14.2.7 Weiterführende Literatur

Appleton, H.; Higgins, P. G. Letter: *Viruses and gastroenteritis in infants.* In: *Lancet* 1, 7919 (1975) S. 1297.

Bonaparte, R. S.; Hair, P. S.; Banthia, D.; Marshall, D. M.; Cunnion, K. M.; Krishna, N. K. *Human astrovirus coat protein inhibits serum complement activation via C1, the first component of the classical pathway.* In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 817–827.

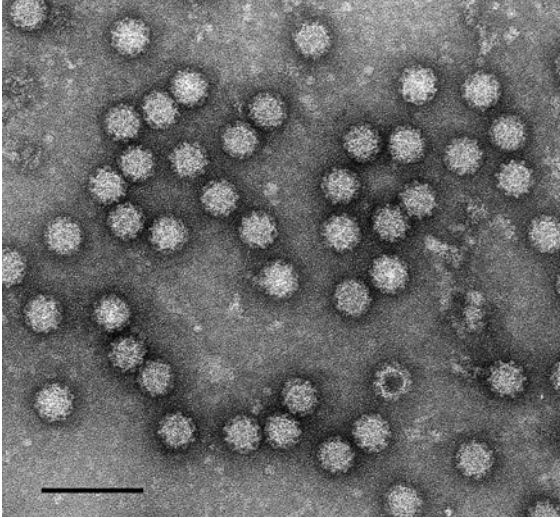
Geigenmüller, U.; Chew, T.; Ginzton, N.; Matsui S. M. *Processing of nonstructural protein 1a of human astrovirus.* In: *J. Virol.* 76 (2002) S. 2003–2008.

Guix, S.; Caballero, S.; Bosch, A.; Pintó, R. M. *Human astrovirus C-terminal nsP1a protein is involved in RNA replication.* In: *Virology* 333 (2005) S. 124–131.

Guix, S.; Caballero, S.; Bosch, A.; Pintó, R. M. *C-terminal nsP1a protein of human astrovirus colocalizes with the endoplasmic Retikulum and viral RNA.* In: *J. Virol.* 78 (2004) S. 13627–13636.

Jonassen, C. M.; Jonassen, T. TØ.; Sveen, T. M.; Grinde, B. *Complete genomic sequences of astroviruses from sheep and tur-*

## 14.3 Caliciviren



Die Familie der *Caliciviridae* ist hinsichtlich ihrer Molekularbiologie wenig untersucht. Ihr Name leitet sich von dem griechischen Wort *kalyx* für „Kelch“ ab und weist auf die tassenförmig vertieften Strukturen der Ikosaderseitenflächen hin, die in elektronenmikroskopischen Aufnahmen sichtbar sind. Ähnlich wie die Picornaviren besitzen auch die Caliciviren ein *nichtumhülltes Capsid* und ein *Plusstrang-RNA-Genom*. Im Unterschied

zu ihnen wird jedoch während des Replikationszyklus eine *subgenomische mRNA-Spezies* synthetisiert. In dieser Eigenschaft ähneln sie den Astro-, Hepe- und Togaviren.

### 14.3.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Die Familie der *Caliciviridae* wird heute in vier Genera unterteilt, die sich vor allem im Genomaufbau unterscheiden. (► Tabelle 14.7): Die Genera *Vesivirus* und *Lagovirus* umfassen nur tierpathogene Erreger. Bei den *Vesiviren* ist das *feline Calicivirus* als Erreger des Katzenschnupfens weit verbreitet. Unter den Vertretern der Gattung *Lagovirus* sticht das *Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche* (RHDV) hervor, weil es vor Jahrzehnten zur Bekämpfung der Kaninchenplage auf dem australischen Kontinent eingesetzt wurde. Humanpathogene Viren, die beim Menschen Durchfallerkrankungen verursachen, sind den Gattungen *Norovirus* und *Sapovirus* zugeordnet. Ihre Vertreter zeichnen sich durch erhebliche Sequenzunterschiede ihrer Erbinformation aus und werden in jeweils fünf Genogruppen (GI bis GV) eingeordnet, die wiederum eine Vielzahl unterschiedlicher Genotypen enthalten; sie haben häufig Bezeichnungen, die auf den Ort ihrer erstmaligen Isolierung deuten. Die den Genogruppen GI, GII und GIV

**Tabelle 14.7** Charakteristische Vertreter der Caliciviren

Genus	Mensch	Tier
Vesivirus		Vesikulärexanthemvirus der Schweine San-Miguel-Sealion-Virus felines Calicivirus
Lagovirus		Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche (Rabbit-Haemorrhagic-Disease-Virus) European-Brown-Hare-Syndrome-Virus
Norovirus	Norovirus; Genogruppen I, II, IV Norwalkvirus Southamptonvirus Mexicovirus Desert-Shield-Virus	Norovirus, Genogruppe III (Rinder) Norovirus, Genogruppe V (Mäuse) Porcine-Enteric-Calicivirus Jenavirus Newbury Agent canines Norovirus
Sapovirus	Sapovirus, Genogruppen I, II, IV, V Sapporovirus Parkville-Virus Manchester-Human-Calicivirus	Sapovirus, Genogruppe III (Schweine)
Valovirus*		St-Valérien-Virus

\* Als neue Gattung vorgeschlagen.



zugeordneten Norovirustypen infizieren den Menschen, die der Genogruppen III und V findet man in Rindern beziehungsweise in Mäusen. Die Sapoviren infizieren überwiegend den Menschen, nur die Vertreter der Genogruppe III wurden aus Schweinen isoliert. Ebenfalls aus Schweinen wurden kürzlich in Kanada weitere Vertreter der Caliciviren isoliert. Diese St-Valérien-Viren lassen sich keiner der bisher anerkannten Gattungen zuordnen; für sie wurde das neue Genus Valovirus vorgeschlagen. Die Züchtung in der Zellkultur ist bisher nur bei einigen Caliciviren möglich. So lassen sich das feline Calicivirus und das San-Miguel-Sealion-Virus weitgehend problemlos kultivieren, während die Replikation des Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche nur in primären Hepatocyten gelingt. Für die Noro- und Sapoviren ist bisher kein Zellkultursystem beschrieben.

### 14.3.2 Aufbau

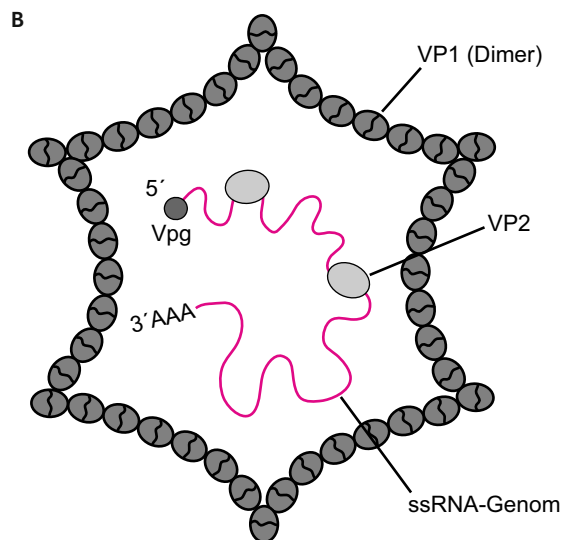
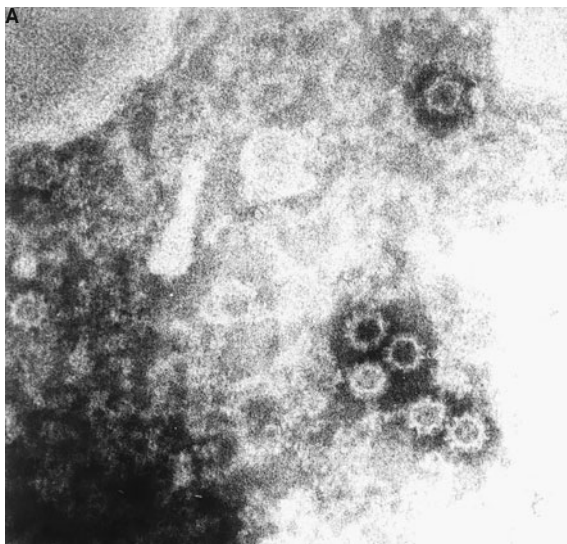
#### Viruspartikel

Die Vertreter der *Caliciviridae* haben *membranlose, sphärisch-ikosaedrische Capside*, die einen Durchmesser von 34 bis 39 nm besitzen und an den Seitenflächen Eindellungen aufweisen (► Abbildung 14.7). Sie bestehen aus 90 Einheiten des als Dimer vorliegenden Proteins VP1, das bei den Noroviren ein Molekulargewicht von etwa 60 kD besitzt. Die Partikel enthalten ein bis zwei Moleküle eines weiteren Proteins VP2 (23 kD bei Noroviren), das mit dem RNA-Genom assoziiert ist, sowie

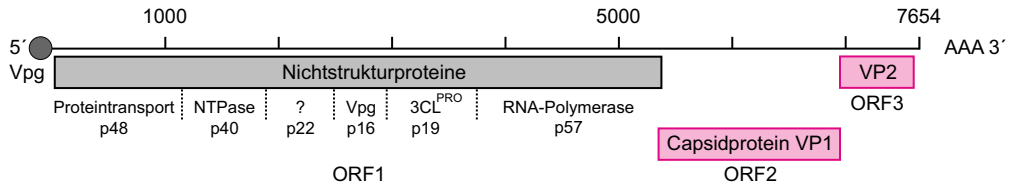
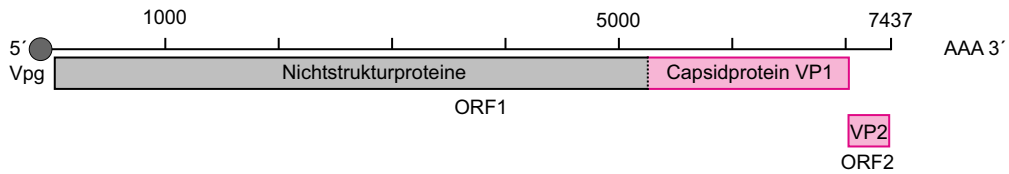
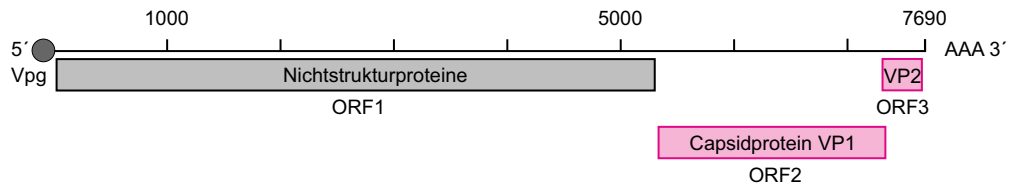
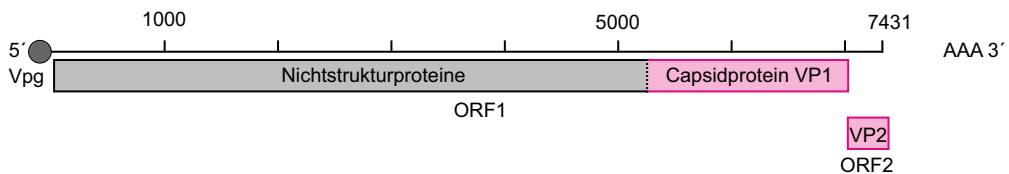
das kovalent mit dem 5'-Ende des Genoms verbundene Protein Vpg.

#### Genom und Genomaufbau

Das Genom der Caliciviren besteht aus *einzelsträngiger RNA*, die in *Plusstrangorientierung* vorliegt, an den 3'-Enden polyadenyliert ist und eine Länge von 7000 bis 8000 Basen (7338–7708 Basen bei den Noroviren, 7437 beim Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche, 7690 Basen beim feline Calicivirus, 7431–7490 bei den Sapoviren) aufweist. An die 5'-Enden der RNA ist kovalent ein virales Protein (15 kD) gebunden, das dem Vpg der Picornaviren entspricht (► Abschnitt 14.1). Im 5'-Bereich der genomischen RNA befinden sich vor dem Startcodon für den offenen Leserahmen ORF1 kurze, nichttranslatierbare Sequenzfolgen von 10–14 Nucleotiden. Sequenzanalysen der genomischen RNA-Moleküle ergaben zwei oder drei offene Leserahmen bei den Sapo- und Lagoviren beziehungsweise den Noro- und Vesiviren; ihre Enden überlappen teilweise miteinander (► Abbildung 14.8). Der in der 5'-orientierten Hälfte der Virusgenome gelegene offene Leserahmen 1 (ORF1) codiert grundsätzlich für das Vorläuferprodukt der Nichtstrukturproteine. Der Leserahmen ORF2 in der 3'-orientierten RNA-Hälfte dient der Synthese des Capsidproteins VP1; bei den Sapoviren ist der für das VP1 codierende Leserahmen mit dem ORF1 direkt verbunden. Ein weiterer Leserahmen ORF3 (bei den Sapoviren ORF2) ist für die Synthese des Proteins VP2 verantwortlich.



**14.7 A:** Elektronenmikroskopische Darstellung eines Calicivirions am Beispiel von rekombinant hergestellten, leeren Capsiden des feline Calicivirions (FCV). **B:** Schematische Darstellung des Partikelbaus eines Calicivirions.

**A Norovirus****B Lagovirus****C Vesivirus****D Sapovirus**

**14.8** Genomorganisation bei Caliciviren. **A:** Norovirus (Norwalk-Virus). **B:** Lagovirus (*Rabbit-Haemorrhagic-Disease-Virus*, RHDV). **C:** Vesivirus (felines Calicivirus, FCV). **D:** Sapovirus (Sapporovirus). Die mRNA-Genome der Caliciviren sind am 5'-Ende mit einem kovalent gebundenen Protein (Vpg) modifiziert und am 3'-Ende polyadenyliert, sie werden im Cytoplasma der Zelle translatiert. Die Anordnung der offenen Leserahmen unterscheidet sich bei den Vertretern der unterschiedlichen Gattungen: Bei den Noro- und Vesiviren findet man drei offene Leserahmen (ORF). ORF1 und ORF2 sind voneinander getrennt und für die Synthese des Vorläuferpolyproteins der Nichtstrukturproteine verantwortlich. Es wird durch die Aktivität einer Serinprotease (3CL<sup>PRO</sup>) autokatalytisch gespalten, wodurch neben der Protease 3CL<sup>PRO</sup> auch das Vpg-Protein, eine NTPase (Helicase), die RNA-abhängige RNA-Polymerase und zwei weitere Nichtstrukturproteine (p48, p22 bei Noroviren) entstehen. Die Vorläuferprodukte für die Nichtstrukturproteine der Lago-, Vesi- und Sapoviren enthalten entsprechende Proteinfunktionen, die aber im Detail kaum untersucht sind. Die RNA-Polymerase ist für die Synthese der Negativstrangenome verantwortlich, von denen im Replikationszyklus die RNA-Genome der Nachkommenviren abgelesen werden. Das Capsidprotein VP1 codiert im ORF2, im ORF3 finden sich die Sequenzen des VP2-Proteins, das mit dem RNA-Genom assoziiert ist. Bei den Lagoviren und Sapoviren sind die Leserahmen für den Vorläufer der Nichtstrukturproteine mit demjenigen für das Capsidprotein VP1 im selben Leseraster miteinander verbunden. Der kleine ORF2 codiert hier für die Synthese des VP2-Proteins.

### 14.3.3 Virusproteine

**Nichtstrukturproteine** Die Nichtstrukturproteine der Caliciviren werden als ein Vorläuferprotein von etwa 180 bis 190 kD gebildet, das posttranslational durch die Aktivität einer Protease 3CL<sup>PRO</sup> (3C-ähnliche Protease) mit Ähnlichkeit zur 3C-Protease der Picornaviren in die einzelnen Komponenten gespalten wird (► Abschnitt 14.1). Die Anordnung der einzelnen Komponenten ist bei allen Caliciviren ähnlich: Am aminoterminalen Ende findet man eine bezüglich ihrer Länge variable Sequenzfolge für ein Nichtstrukturprotein (p48 bei Noroviren), das über eine carboxyterminale Transmembrandomäne verfügt und mit den Golgivesikeln assoziiert vorliegt; es interagiert mit dem zellulären Protein VAP-A (*vesicle-associated membrane protein-associated protein A*), das die SNARE-vermittelte Fusion intrazellulärer Vesikel reguliert; die Funktion des viralen Proteins ist nicht endgültig geklärt. Im Vorläuferprotein folgen den p48-Sequenzen diejenigen einer NTPase mit Ähnlichkeit zum 2C-Protein der Picornaviren, möglicherweise wirkt es als Helicase. Der Sequenzabschnitt für das kovalent mit dem 5'-Ende des Virusgenoms verbundene Vpg ist von denen der NTPase durch einen Aminosäureabschnitt (Cp22) unbekannter Funktion getrennt; er ist von vielen hydrophoben Aminosäureresten geprägt und bewirkt – ähnlich wie das 3A-Protein der Picornaviren – mögli-

cherweise eine Interaktion des Vorläuferproteins mit intrazellulären Membrankompartimenten. Diesem Abschnitt folgen die Domänen der Protease 3CL<sup>PRO</sup> und der RNA-abhängigen RNA-Polymerase (► Tabelle 14.8).

**Strukturproteine** Die Sequenzen für die *Capsidproteine* VP1 befinden sich bei den Vertretern der Sapo- und Lagoviren fusioniert mit dem carboxyterminalen Ende der RNA-abhängigen RNA-Polymerase und werden von diesem durch die Aktivität der 3CL<sup>PRO</sup> abgespalten. Bei den Vesi- und Noroviren codieren die VP1-Proteine in einem separaten Leserahmen (ORF2). Die Vesiviren weisen eine Besonderheit auf: Hier wird das Capsidprotein VP1 zunächst als Vorläuferprotein (73–78 kD) synthetisiert, das durch die 3CL<sup>PRO</sup> weiter in das VP1 (60–62 kD) der reifen Viruspartikel prozessiert wird. Dabei wird eine *Leader-Sequenz* von 128 Aminosäuren am aminoterminalen Ende entfernt, ihre Funktion ist unbekannt. Werden die VP1-Proteine mit gentechnologischen Methoden in eukaryotischen Expressionssystemen exprimiert, assoziieren sie in einem Self-Assembly-Prozess zu virusähnlichen Partikeln. Ein weiteres *Strukturprotein* VP2 codiert in einem separaten Leserahmen (ORF2 bei den Sapo- und Lagoviren; ORF3 bei den Noro- und Vesiviren). Es enthält viele basische Aminosäuren und ist in einigen wenigen Kopien mit dem RNA-Genom assoziiert.

**Tabelle 14.8** Bekannte Funktionen und Eigenschaften der Calicivirusproteine

Protein	Norovirus	Sapovirus	Felines Calicivirus	RHDV*	Funktion
<b>Nichtstrukturprotein</b>	37–48 kD	32 kD	32 kD	? kD	assoziiert mit Golgivesikeln, beeinflusst intrazellulären Proteintransport
<b>Nichtstrukturprotein</b>	40–41 kD	35 kD	36–38 kD	37 kD	NTPase, Helicase? notwendig bei Transkription und Replikation
<b>Nichtstrukturprotein</b>	20–22 kD	32 kD	30 kD	29 kD	Funktion unbekannt, membranassoziiert?
<b>Vpg</b>	16 kD	14 kD	15,5 kD	13 kD	kovalent am 5'-Ende der RNA gebunden, Translationsinitiation
<b>Protease, 3CL<sup>PRO</sup></b>	19 kD	14 kD	30 kD	15 kD	3C-ähnliche Protease, Spaltung des/der Vorläuferproteine
<b>RNA-Polymerase</b>	57 kD	57 kD	50 kD	58 kD	RNA-abhängige RNA-Polymerase, Transkription, Replikation
<b>Capsidprotein VP1</b>	68 kD (ORF2)	60–62 kD (ORF1)	60–65 kD (ORF2)	60 kD (ORF1)	Strukturprotein, Dimer, <i>major capsid protein</i>
<b>Strukturprotein VP2</b>	23–29 kD (ORF3)	23–29 kD (ORF2)	12 kD (ORF3)	10 kD (ORF2)	Strukturprotein, RNA-Bindung

\* RHDV: Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche. Die Auflistung der Proteine in der Tabelle entspricht der Anordnung der ORFs auf den Virusgenomen sowie in den Vorläuferproteinen.

### 14.3.4 Replikation

Die Noro- und die Sapoviren verwenden die Kohlenhydratstrukturen der *ABH- und Lewis-Blutgruppenantigene* als zelluläre Rezeptoren, wobei sich die verschiedenen Virustypen an unterschiedliche Versionen dieser Histoblutgruppen-Antigene (HBGA) binden. Dabei handelt es sich um komplexe Zuckerstrukturen, die auf den Oberflächen der Erythrocyten und der Epithelzellen in der Schleimhaut des Respirations- und Gastrointestinaltrakts vorhanden sind. Beim feline Calicivirus sind endständige, in  $\alpha(2,6)$ -glycosidischer Bindung verknüpfte Sialylsäurereste als zelluläre Rezeptoren beschrieben, die als Modifikation mit dem feline JAM-A (*junction adhesion molecule A*) verbunden sind; hierbei handelt es sich um ein Mitglied der Ig-Superfamilie. Die Viruspartikel werden vermutlich durch rezeptorvermittelte Endocytose aufgenommen. Über die Vorgänge, die zur Freisetzung der Virusgenome aus den Endosomen und den Capsiden führen, ist nichts bekannt.

Der initiale Schritt im Vermehrungszyklus ist die Translation der Nichtstrukturproteine bei den Vesi- und Noroviren beziehungsweise des Fusionprodukts der Nichtstruktur- und Capsidproteine bei den Lago- und Sapoviren unter Verwendung des Plusstrang-RNA-Genoms als mRNA. Das Virusgenom verfügt an seinem 5'-Ende weder über eine 5'-Cap-Gruppe noch über eine IRES-Struktur, welche bei zellulärer Transkription oder den Genomen der Picnaviren die Bindung der Ribosomen vermitteln (siehe Abschnitt 14.1). Die Caliciviren haben einen alternativen Mechanismus zur Translationsinitiation entwickelt, der durch das mit den 5'-Enden verbundene Protein Vpg vermittelt wird: Das Vpg wechselwirkt mit dem Translationsinitiationsfaktor eIF-3, welches eine Komponente der 40S Ribosomen-Untereinheit ist. Die Bindung von Vpg an eIF-3 bewirkt, dass sich die kleine Ribosomenuntereinheit an die 5'-Enden der Genome anlagert. Dies induziert im Folgenden vermutlich, dass auch die große Ribosomenuntereinheit gebunden und die Translation des ORF1 von nächst gelegenen Startcodon aus begonnen wird. Die gebildeten Vorläuferproteine werden autokatalytisch durch die Aktivität der 3CL<sup>PRO</sup> gespalten, wodurch die Funktionen der verschiedenen Nichtstrukturproteine und somit auch der viralen *RNA-abhängigen RNA-Polymerase* in der Zelle vorliegen.

Durch die Aktivität der viralen RNA-abhängigen RNA-Polymerase wird die Synthese von Negativstrangkopien komplementär zum Virusgenom eingeleitet: Die Negativstränge dienen als Matrize neuer Vpg-geprimter genomischer RNAs und – ebenfalls Vpg-geprimter – subgenomischer RNAs mit einer Länge von 2 400 bis

2 700 Basen. Letztere enthalten bei den Lago- und Sapoviren die für die VP2-Proteine codierenden Sequenzbereiche – dieser Prozess ähnelt den Replikationsvorgängen der Astroviren (► Abschnitt 14.2). Bei den Noro- und Vesiviren sind die subgenomischen mRNAs bicistronisch, von ihnen werden die VP1- und VP2-Proteine translatiert. Die Initiation der Translation des VP2-Proteins erfolgt in einem ungewöhnlichen Vorgang: Die Ribosomen bleiben nach Beendigung der Translation der VP1-Sequenzen an die subgenomische mRNA gebunden, und es erfolgt im darauffolgenden Schritt die Reinitiation der Translation mit der Synthese der Strukturproteine VP2. Die Capsidproteine VP1 interagieren zu Vorstrukturen der Viruspartikel, in welche die virale RNA eingelagert wird. Interessanterweise wird, wie beim Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche – nicht jedoch beim feline Calicivirus – gezeigt, in einigen Virionen auch die subgenomische RNA verpackt.

### 14.3.5 Humanpathogene Caliciviren

#### Die Noro- und Sapoviren

#### Epidemiologie und Übertragung

Infektionen mit Noro- und Sapoviren sind weltweit verbreitet. Von beiden Viren existieren mehrere Genogruppen mit Varianten, die für den Menschen pathogen sind und in verschiedene Genotypen unterteilt werden können. Dies ist ein Hinweis dafür, dass die Caliciviren durch die hohe Fehlerrate der RNA-abhängigen RNA-Polymerase einer erheblichen Mutationsrate unterworfen sind, die zu der großen Variabilität der Erreger beiträgt. Die Infektionen verursachen *Gastroenteritiden*, die mit starkem Durchfall und Erbrechen einhergehen. Die Einführung der Meldepflicht zeigte, dass Noro- und Sapoviren für die meisten Darminfektionen in Deutschland verantwortlich sind: Derzeit werden pro Jahr mehr als 200 000 Fälle gemeldet. Die Erreger werden durch die infizierten Personen über Stuhl und Erbrochenes ausgeschieden. Die Virusausscheidung dauert einige Tage länger als die Symptome, deshalb sollte der Arbeitsplatz erst zwei Tage nach Sistieren des Durchfalls wieder aufgesucht werden. Bei Immunsupprimierten kann der Stuhl Wochen bis Monate infektiös bleiben. Dies bereitet sehr große logistische Probleme im Krankenhausbetrieb, da die Patienten nicht verlegt werden können, solange das Virus im Stuhl nachweisbar ist. Die nicht membranumhüllten Partikel der Caliciviren haben eine sehr hohe Umweltresistenz; dies muss bei der Wahl geeigneter Desinfektionsmittel berücksichtigt werden. Weit weniger als 100 Viruspartikel sind ausreichend, um eine Infektion zu induzieren. Deswegen werden die Erreger fäkal-oral



## Animale Noroviren und das Risiko der zoonotischen Übertragung

Verschiedene Tierarten werden durch Noroviren infiziert, insbesondere existieren viele Isolate aus Rindern und Schweinen; jüngst wurden Norovirusinfektionen aber auch in Hunden gefunden. Die Noroviren verursachen in den Tieren in aller Regel keine oder nur sehr milde Krankheiten. Noroviren der Genogruppe II kann man aus Schweinen und Menschen isolieren, wohingegen Viren der Genogruppe III nur in Rindern festgestellt wurden. Bisher galt die Möglichkeit der direkten Übertragung von Tieren auf den Menschen als unwahrscheinlich, weil sich die animalen Norovirusisolate genetisch deutlich von den humanen unterscheiden. Die Isolierung eines humanen Genotyp-II/4-Virus aus

Schweinen und auch aus Schweinefleisch zeigte jedoch, dass diese Einschätzung möglicherweise nicht allgemeingültig ist. Neben einer direkten Übertragung eines Norovirus von Schweinen auf Menschen ist auch die genetische Rekombination zwischen humanen und animalen Noroviren im Tier grundsätzlich vorstellbar. Zwar wurde diese noch nicht direkt gezeigt, aber die Tatsache, dass humane Noroviren im Schwein und Rind replizieren können, und der Nachweis von genetischen Rekombinationen über die Genogruppen hinaus, lässt dieses Szenario nicht unmöglich erscheinen.

als Schmierinfektion – aber auch durch kontaminiertes Trinkwasser oder verunreinigte Lebensmittel – sehr leicht übertragen und treten epidemisch in Gemeinschaftseinrichtungen wie Schulen, Heimen oder auch auf Kreuzfahrtschiffen auf, in denen viele Menschen auf engem Raum zusammenleben. Besonders betroffen sind Altenheime und vor allem Krankenhäuser, in denen zudem eine hohe Fluktuation von Patienten, Pflegepersonal und Besuchern herrscht. Bei derartigen Ausbrüchen wird die Infektion auch häufig über infiziertes Personal weitergegeben. Während die Sapoviren vornehmlich bei gastrointestinalen Krankheiten von Kindern auffällig sind und bisher nicht als Lebensmittelkeime nachgewiesen wurden, stellen die Noroviren auch eine Ursache einer viralen Lebensmittelinfektion („Lebensmittelvergiftung“) dar; daher sind für Küchenpersonal strenge Verhaltensregeln vorgeschrieben. In jüngerer Zeit wurden Noroviren auch aus dem Kot von Kälbern und Schweinen nachgewiesen. Dies weist auf ein zoonotisches Potenzial dieser Virusgruppe hin, das aber bisher nicht nachgewiesen wurde.

### Klinik

Die Inkubationszeit ist sehr kurz und beträgt üblicherweise ein bis zwei Tage. Die Noro- und Sapovirusinfektionen verursachen kurze, ein bis drei Tage andauernde, aber sehr heftige Gastroenteritiden mit Erbrechen und Durchfällen. Schwere Allgemeinsymptome und Fieber fehlen. Die Infektion ist selbst limitierend und hinterlässt keine bleibenden Schäden. Bei immunsupprimierten Patienten verlaufen die Infektionen protrahierter und das infektiöse Virus wird wesentlich länger ausgeschieden. Bei älteren Patienten kann es durch den mas-

siven Flüssigkeitsverlust auch zu bedrohlichen Zuständen kommen.

### Pathogenese

Noro- und Sapoviren infizieren reife Enterocyten im Darm und zerstören sie. Als zelluläre Rezeptormoleküle nutzen sie Kohlenhydratstrukturen, die in ABO- und Lewis-Blutgruppenantigenen vorkommen und auf den Oberflächen der Enterocyten vorhanden sind. Personen, die dem Typ *sekretornegativ* angehören, da ihnen die genetische Information für das Enzym  $\alpha(1,2)$ -Fucosyltransferase fehlt, gelten als resistent. Die Zuckerstrukturen kommen nicht nur zellgebunden, sondern auch in löslicher Form – so auch in der Muttermilch – vor. Gestillte Kinder von sekretorpositiven Müttern nehmen die Zuckermoleküle über die Milch auf und sind damit in dieser Lebensphase vor Infektionen mit Noro- und Sapoviren zumindest teilgeschützt, da die Zuckermoleküle im Darm der Kinder die Erreger komplexieren und so die Infektion der Enterocyten verhindern.

### Immunreaktion und Diagnose

Noro- und Sapovirusinfektionen werden durch Nachweis von Viruspartikeln im Antigen-ELISA oder von Nucleinsäure mittels RT-PCR aus Stuhlmaterial diagnostiziert. Der Nachweis von Viruspartikeln in Stuhlproben durch Elektronenmikroskopie spielt diagnostisch keine Rolle. Auch serologischen Untersuchungen zum Nachweis virusspezifischer Antikörper kommt keine diagnostische Wertigkeit zu. Über die zelluläre Immunität ist nichts bekannt.





## Genetische Unterschiede in den Blutgruppenantigenen vermitteln Resistenz gegenüber Virusinfektionen

Eine Blutgruppe ist von der individuellen Zusammensetzung der Glycolipide oder -proteine auf der Oberfläche der Erythrocyten und anderer Körperzellen abhängig. Beim Menschen gibt es eine Vielzahl verschiedener Blutgruppensysteme; die sogenannten Histoblutgruppenantigene können drei Familien zugeordnet werden, nämlich den Lewis-, Sekretor- und ABO-Familien. So kommt beispielsweise beim ABO-System als gemeinsames Merkmal aller Blutgruppen und als zentrales Zuckermolekül der Kohlenhydratstrukturen *N-Acetylglucosamin* auf den Zelloberflächen vor. Damit verknüpft sind Galactose-Einheiten, welche Fucosereste tragen. Zusammen bilden sie die Grundstruktur aller Blutgruppen und repräsentieren die Blutgruppe 0. Sind an die Galactose zusätzlich noch ein oder zwei Moleküle des *N-Acetylgalactosamin* gebunden, dann stellen diese Kohlenhydratstrukturen die Blutgruppen A beziehungsweise B dar. Die Biosynthese der Blutgruppenantigene ist von einer Reihe von Enzymen abhängig, die genetischen Variationen unterliegen. Nutzen Viren die Kohlenhydratstrukturen der

Blutgruppensysteme als Rezeptormoleküle, dann ist die Empfänglichkeit für die Infektion ebenfalls genetisch determiniert. So zeigte sich, dass Personen mit genetischen Defekten der  $\alpha(1,2)$ -Fucosyltransferase die Kohlenhydratgruppen, die für die Bindung der Noro- und Sapoviren an die Zelloberfläche notwendig sind, nicht bilden. Diese „Nicht-Sekretor“-Phänotypen können von bestimmten Typen der Noro- und Sapoviren daher nicht infiziert werden, sie sind resistent. Da die Noroviren aber sehr häufig mutieren und als Folge davon auch ihre Rezeptorvorlieben verändern können, muss davon ausgegangen werden, dass diese Resistenz nicht für alle Virustypen gilt. Ähnliche genetisch bedingte Resistenzen kennt man auch von der Parvovirus B19-Infektion: Dieses Virus bindet sich an das Blutgruppenantigen P, ein Glycosphingilipid. Personen, welche nicht über genetische Information für die Enzyme verfügen, die für die Synthese der entsprechenden Kohlenhydratstrukturen notwendig sind, können sich nicht mit diesen Parvoviren infizieren (► Abschnitt 20.5).

## Prophylaxe und Therapie

Die beste Maßnahme zur Vermeidung von Infektionen mit den humanpathogenen Caliciviren ist die konsequente Einhaltung von persönlichen und allgemeinen Hygienemaßnahmen. Dazu gehören Desinfektion unter Einsatz entsprechend geeigneter Mittel, die strikte Isolierung und Nichtverlegung von infizierten Patienten im Krankenhaus und die Sauberhaltung von Anlagen zur Produktion von Lebensmitteln und zur Wasserversorgung. Im Extremfall müssen ganze Stationen in Krankenhäusern beziehungsweise auch ein Krankenhaus ganz für die Patientenaufnahme geschlossen werden. Kreuzfahrtschiffe werden kurzzeitig unter Quarantäne gestellt. Chemotherapie oder Impfstoffe existieren nicht.

Studien zeigten, dass das Vesikulärexanthemvirus mit dem *San-Miguel-Sealion-Virus* nahe verwandt ist; es hat daher wahrscheinlich einen marinen Ursprung. Von letzterem kann man verschiedene Serotypen unterscheiden. Es weist ein enorm breites Wirtsspektrum auf, das verschiedene Säugetiere sowie Reptilien, Amphibien, sogar Fische und Nematoden umfasst. *In vitro* ist es auch in humanen Zelllinien kultivierbar. Das Vesikulärexanthemvirus verursachte zwischen 1930 und 1950 in den USA eine Erkrankung bei Schweinen, die differenzialdiagnostisch von der Maul- und Klauenseuche nicht zu unterscheiden war. In Säugetieren findet man Blasenbildung an der Haut, insbesondere an den Gliedmaßen (Kronsaum beziehungsweise Flossen) sowie an der Maulschleimhaut. Der letzte Ausbruch wurde in den USA im Jahre 1952 festgestellt; seitdem gilt das Virus als getilgt.

### 14.3.6 Tierpathogene Caliciviren

Die wichtigsten tierpathogenen Caliciviren verursachen in ihren Wirten Krankheitsbilder, die sich deutlich von denen der humanpathogenen Viren unterscheiden. Das *Vesikulärexanthemvirus der Schweine* ist der Prototyp des Genus *Vesivirus*. Retrospektive genetische Untersu-

## Das feline Calicivirus

### Epidemiologie und Übertragung

Das feline Calicivirus besitzt eine große Bedeutung als Tierpathogen, es ist der Erreger des *Katzenschnupfens*. Es wird durch *direkten Kontakt* und über Sekrete aus dem

Respirationstrakt übertragen. Viele der infizierten Katzen entwickeln den Status persistierend infizierter Virusträger, die das Virus über Wochen oder Monate ausscheiden können. Die verschiedenen feline Caliciviren sind antigenetisch nicht einheitlich, und obwohl man formal keine Serotypen unterscheiden kann, gibt es eine Vielzahl von Isolaten, deren Infektionen keine oder eine nicht schützende, unvollständige Kreuzimmunität induzieren. Die Variabilität ist innerhalb des Capsidproteins vor allem auf eine kleine Domäne von etwa 100 Aminosäuren, die hypervariable Region E, beschränkt. Hier unterscheiden sich die Isolate auf der Nucleinsäureebene um bis zu 70 Prozent.

Seit kurzem kann man feline Caliciviren aus Katzen mit einem neuen Krankheitsbild isolieren. Die Katzen zeigen Ödeme an Kopf und Hals, Ulzera an Nase, Ohren und Pfoten, sowie gelegentlich Ikterus. Diese Isolate bezeichnete man als *hochvirulente systemische feline Caliciviren* – eine unglückliche Bezeichnung, da jede Infektion mit feline Caliciviren systemisch verläuft und die hämorrhagische Komponente des Krankheitsbildes selten ist; insbesondere weisen die neuen Isolate auch keinerlei Ähnlichkeiten mit dem Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche auf. Interessant ist, dass diese hochvirulenten Isolate aus geimpften Beständen überwiegend älterer Katzen stammen. Genetisch lassen sie sich nicht in einer Gruppe fassen; sie zeigen eine ähnliche Heterogenität wie die anderen feline Caliciviren. Ein genetischer Marker für diese hochvirulenten Stämme wurde bisher nicht gefunden.

## Klinik

Das Virus verursacht eine akute *respiratorische Erkrankung* bei Katzen, die mit Rhinitis und Ulcera der Maulschleimhaut einhergeht. Selten findet man auch eine Polyarthrit. Vor allem Katzenwelpen in den ersten Lebensmonaten erkranken. Bei älteren Katzen, die an einer chronischen Entzündung der Maulschleimhaut (Stomatitis) leiden, wird das feline Calicivirus ebenfalls sehr häufig nachgewiesen. Eine ätiologische Bedeutung des Virus bei diesem Krankheitsbild ist jedoch nicht gesichert.

## Pathogenese

Im Rahmen der Infektion kommt es zu einer Virämie, in deren Verlauf auch die Synovialzellen der Gelenke infiziert werden. Die Tonsillen stellen einen Ort der Viruspersistenz dar. Dieses Virus repliziert sich in feline Zellkulturen und ist daher relativ gut untersucht.

## Immunreaktion und Diagnose

Die infizierten Katzen entwickeln eine IgG-Antwort gegen die Capsidproteine, die in ELISA- und Western-Blot-Tests nachgewiesen werden können. Die Diagnose der akuten Infektion erfolgt durch Anzucht des Virus in Zellkultur oder durch den Nachweis viraler Genome mittels der Polymerasekettenreaktion.

## Bekämpfung und Prophylaxe

Gegen den Katzenschnupfen sind Vakzinen auf der Basis attenuierter Lebendviren und abgetöteter Viren verfügbar, Hauskatzen werden routinemäßig damit geimpft. Wegen der hohen antigenen Variabilität sind die Impfstoffe aber nur eingeschränkt wirksam.

## Das Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche (Rabbit-Haemorrhagic-Disease-Virus)

### Epidemiologie und Übertragung

Um 1985 trat eine scheinbar neue, schwere, seuchenartig verlaufende Krankheit bei Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) in China auf. Die als *hämorrhagische Kaninchenseuche* bezeichnete Krankheit breitete sich rasch weltweit aus und ist durch schwere hämorrhagische Symptome und fulminante Hepatitiden gekennzeichnet. Als ätiologische Agenzien wurden zunächst Parvoviren angenommen, schnell jedoch wurde das Calicivirus als wahrer ursächlicher Erreger beschrieben. Der Ursprung des Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche in China ist jedoch nicht endgültig geklärt. Retrospektive serologische Untersuchungen zeigten, dass die Erreger schon um 1950 in Kaninchen in Großbritannien verbreitet waren, ohne dass zu dieser Zeit eine tödliche Kaninchenseuche aufgefallen wäre. Mittlerweile sind alle Kaninchenbestände durchseucht, und die anfangs hohe Mortalität ist sehr stark gesunken. Die Virulenz des Virus scheint sich schnell im Kaninchen abzuschwächen – wie nicht zuletzt auch die „Feldstudie“ in Australien und Neuseeland zeigte (siehe Exkurs). Tierseuchenrechtliche Maßnahmen sind daher aufgehoben worden. Neben *direktem Kontakt* der Tiere und *Koprophagie* (Kotfressen) spielt bei der Übertragung die passive Verschleppung des Virus durch Arthropoden eine Rolle. Das Virus gilt als wirtsspezifisch, es lässt sich nicht in der Zellkultur propagieren. Ein ähnliches, aber eigenständiges Virus, das *European-Brown-Hare-Syndrome-Virus*, verursacht eine Erkrankung beim Europäischen Feldhasen (*Lepus europaeus*). Dieses Virus ist nicht auf das Hauskaninchen übertragbar.



## Hämorrhagische Kaninchenseuche

Zweifelhafte Popularität hat das Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche gewonnen, als es 1996 unter dem Namen „*rabbit calicivirus*“ zur biologischen Bekämpfung der Kaninchenpopulationen auf dem australischen Kontinent freigesetzt wurde. Kontrovers wurde und wird diskutiert, ob andere Arten der einzigartigen Fauna Australiens durch dieses Virus gefährdet werden könnten. Auf der anderen Seite hatte auch die gewaltige Kaninchenplage erhebliche Auswirkungen auf die Flora und damit verbunden auch auf die Fauna Australiens. Der Einsatz des Virus führte in einigen

Gegenden Australiens zum Rückgang der Kaninchenpopulationen um über 60 Prozent, in anderen Gegenden hatte es keinen Einfluss. Farmer verschleppten das Virus über große Strecken des Kontinents, auch blühte ein reger Handel mit infizierten Kaninchen. Das Virus wurde zudem illegal nach Neuseeland eingeführt und dort verbreitet. Wie zu erwarten, wurden sowohl in Australien wie in Neuseeland nach kurzer Zeit gesunde Kaninchen gefunden, in denen infektiöses Virus nachweisbar war. Dies ist ein untrügliches Zeichen für die Attenuierung des Virus an seinen Wirt.

## Klinik

Das Virus verursacht eine schwere Erkrankung in Kaninchen ab einem Alter von etwa acht Wochen. Vorher lassen sich die Welpen unabhängig vom Vorliegen mütterlicher Antikörper nicht infizieren. Die Krankheit verläuft in der Regel fulminant, die Tiere verenden innerhalb von Stunden nach der Infektion. Bei protrahierten Verläufen bluten die Tiere von allen Schleimhäuten. Eine Genesung ist die Ausnahme.

## Pathogenese

Das Virus hat einen Tropismus für *Hepatocyten* und verursacht dort eine lytische Infektion, in deren Verlauf es zu massiven Lebernekrosen kommt.

## Immunreaktion und Diagnose

Wegen des fulminanten Verlaufs der Infektion bildet sich in den Tieren keine Immunantwort aus, eine serologische Diagnosestellung erübrigt sich in aller Regel. Subklinisch infizierte Tiere können durch den Nachweis spezifischer Antikörper in ELISA-Tests identifiziert werden. Virusgenome lassen sich durch RT-PCR in der Leber, im Blut und im Kot nachweisen. Der elektronenmikroskopische Nachweis der Viruspartikel in der Leber ist ebenfalls möglich und gebräuchlich. Da das Virus nicht in Zellkultur repliziert, ist eine Virusisolierung nicht möglich.

## Bekämpfung und Prophylaxe

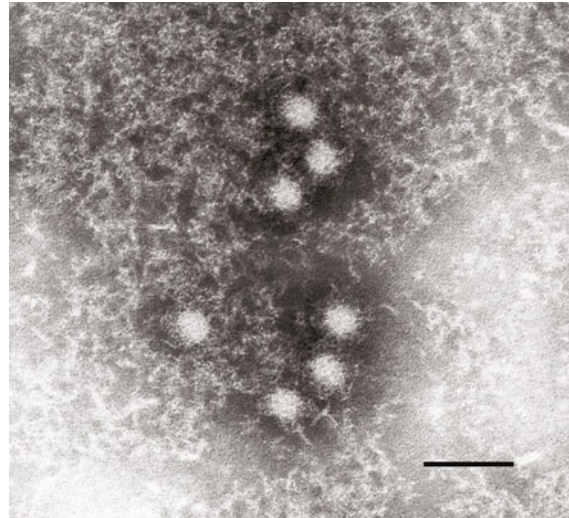
Für Kaninchen in Nutztierhaltung ist eine inaktivierte Vollvirusvakzine verfügbar, die aus der Leber infizierter Kaninchen gewonnen wird.

## 14.3.7 Weiterführende Literatur

- Bhella, D.; Gatherer, D.; Chaudhry, Y.; Pink, R.; Goodfellow, I. G. *Structural insights into calicivirus attachment and uncoating*. In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 8051–8058.
- Cao, S.; Lou, Z.; Tan, M.; Chen, Y.; Liu, Y.; Zhang, Z.; Zhang, X. C.; Jiang, X.; Li, X.; Rao, Z. *Structural basis for the recognition of blood group trisaccharides by norovirus*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 5949–5957.
- Chen, R.; Neill, J. D.; Estes, M. K.; Prasad, B. V. *X-ray structure of a native calicivirus: structural insights into antigenic diversity and host specificity*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103 (2006) S. 8048–8053.
- Clarke, I. N.; Lambden, P. R. *The molecular biology of caliciviruses*. In: *J. Gen. Virol.* 78 (2001) S. 291–301.
- Daughenbaugh, K. F.; Fraser, C. S.; Hershey, J. W.; Hardy, M. E. *The genome-linked protein VPg of the Norwalk virus binds eIF3, suggesting its role in translation initiation complex recruitment*. In: *EMBO J.* 22 (2003) S. 2852–2859.
- Estes, M. K.; Prasad, B. V.; Atmar, R. L. *Noroviruses everywhere: has something changed?* In: *Curr. Opin. Infect. Dis.* 19 (2006) S. 467–474.
- Geissler, K.; Schneider, K.; Fleuchaus, A.; Parrish, C. R.; Sutter, G.; Truyen, U. *Feline calicivirus capsid protein expression and capsid assembly in cultured feline cells*. In: *J. Virol.* 73 (1999) S. 834–838.
- Geissler, K.; Schneider, K.; Platzer, G.; Truyen, B.; Kaaden, O.-R.; Truyen, U. *Genetic and antigenic heterogeneity among feline calicivirus isolates from distinct disease cluster*. In: *Virus Res.* 48 (1997) S. 193–206.
- Hansman, G. S.; Oka, T.; Katayama, K.; Takeda, N. *Human sapoviruses: genetic diversity, recombination, and classification*. In: *Rev. Med. Virol.* 17 (2007) S. 133–141.
- Jiang, X.; Huang, P.; Zhong, W.; Tan, M.; Farkas, T.; Morrow, A. L.; Newburg, D. S.; Ruiz-Palacios, G. M.; Pickering, L. K. *Human milk contains elements that block binding of noroviruses to human histo-blood group antigens in saliva*. In: *J. Infect. Dis.* 190 (2004) S. 1850–1859.

- Koch, J.; Schneider, T.; Stark, K.; Schreier, E. *Norovirus infections in Germany*. In: *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 49 (2006) S. 296–309.
- Koopmans, M. *Progress in understanding norovirus epidemiology*. In: *Curr. Opin. Infect. Dis.* 21 (2008) S. 544–552.
- L'Homme, Y.; Sansregret, R.; Plante-Fortier, E.; Lamontagne, A. M.; Ouardani, M.; Lacroix, G.; Simard, C. *Genomic characterization of swine caliciviruses representing a new genus of Caliciviridae*. In: *Virus Genes* 39 (2009) S. 66–75.
- Martella, V.; Lorusso, E.; Decaro, N.; Elia, G.; Radogna, A.; D'Abbramo, M.; Desario, C.; Cavalli, A.; Corrente, M.; Camero, M.; Germinario, C. A.; Bányai, K.; Di Martino, B.; Marsilio, F.; Carmichael, L.E.; Buonavoglia, C. *Detection and molecular characterization of a canine norovirus*. In: *Emerg. Infect. Dis.* 14 (2008) S. 1306–1308.
- McCormick, C. J.; Salim, O.; Lambden, P. R.; Clarke, I. N. *Translational termination re-initiation between ORF1 and ORF2 enables capsid expression in a bovine norovirus without the need for production of viral sub-genomic RNA*. In: *J. Virol.* 2008
- Oka, T.; Yamamoto, M.; Katayama, K.; Hansman, G. S.; Ogawa, S.; Miyamura, T.; Takeda, N. *Identification of the cleavage sites of sapovirus open reading frame 1 polyprotein*. In: *J. Gen. Virol.* 87 (2006) S. 3329–3338.
- Ossiboff, R. J.; Parker, J. S. *Identification of regions and residues in feline junctional adhesion molecule required for feline calicivirus binding and infection*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 13608–13621.
- Radford, A. D.; Gaskell, R. M.; Hart, C. A. *Human norovirus infection and the lessons from animal caliciviruses*. In: *Curr. Opin. Infect. Dis.* 17 (2004) S. 471–478.
- Robel, I.; Gebhardt, J.; Mesters, J. R.; Gorbalenya, A.; Coutard, B.; Canard, B.; Hilgenfeld, R.; Rohayem, J. *Functional characterization of the cleavage specificity of the sapovirus chymotrypsin-like protease*. In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 8085–8093.
- Rockx, B. H.; Vennema, H.; Hoebe, C. J.; Duizer, E.; Koopmans, M. P. *Association of histo-blood group antigens and susceptibility to norovirus infections*. In: *J. Infect. Dis.* 191 (2005) S. 749–754.
- Scipioni, A.; Mauroy, A.; Vinjé, J.; Thiry, E. *Animal noroviruses*. In: *The Veterinary Journal* 178 (2008) S. 32–45.
- Sosnovtsev, S.; Green, K. Y. *RNA transcripts derived from a cloned full-length copy of the feline calicivirus genome do not require VpG for infectivity*. In: *Virology* 210 (2000) S. 383–390.
- Tan, M.; Jiang, X. *Norovirus-host interaction: implications for disease control and prevention*. In: *Expert. Rev. Mol. Med.* 9 (2007) S. 1–22.
- Tan, M.; Jiang, X. *Norovirus and its histo-blood group antigen receptors: an answer to a historical puzzle*. In: *Trends Microbiol.* 13 (2005) S. 285–293.
- Wirblich, C.; Thiel, H.; Meyers, G. *Genetic map of the calicivirus rabbit hemorrhagic disease virus as deduced from in vitro translation studies*. In: *J. Virol.* 70 (1996) S. 7974–7983.

## 14.4 Hepeviren



Die *Hepatitis-E-Viren* zählten lange zu den „NonA-/NonB-Hepatitisviren“, aufgrund von elektronenmikroskopischen Analysen ordnete man sie dann den *Caliciviridae* zu, weil man strukturelle Ähnlichkeiten fand. Die weiteren Untersuchungen zum Replikationszyklus und zur Genomstruktur wiesen jedoch so deutliche Unterschiede auf, dass man die Hepatitis-E-Viren heute in eine eigene Familie, die *Hepeviridae* eingliedert. Der Familienname ist von der Bezeichnung der bislang einzigen Vertreter, nämlich der Hepatitis-E-Viren abgeleitet.

### 14.4.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Die Hepatitis-E-Viren werden der Gattung *Hepevirus* zugerechnet (► Tabelle 14.9). Die serotypisch einheitlichen Hepatitis-E-Viren gliedern sich in vier Genotypen: Die Genotypen 1 und 2 fand man bisher nur in Menschen, die Genotypen 3 und 4 stellen die Hepatitis-E-Viren des Schweines dar, sie sind nahe verwandt mit den Genotypen 1 und 2 und infizieren auch den Menschen. Die Hepatitis-E-Virusinfektion des Menschen ist wohl eine *klassische Zoonose*, bei der die Erreger von Schweinen auf Menschen übertragen werden. Daneben existiert eine Variante der Hepatitis-E-Viren, die sich – soweit bekannt – ausschließlich in Hühnern und anderen Vögeln replizieren kann.

**Tabelle 14.9** Charakteristische Vertreter der Hepeviren

Genus	Mensch	Tier
Hepevirus	Hepatitis-E-Virus	Hepatitis-E-Virus der Schweine Hepatitis-E-Virus der Hühner

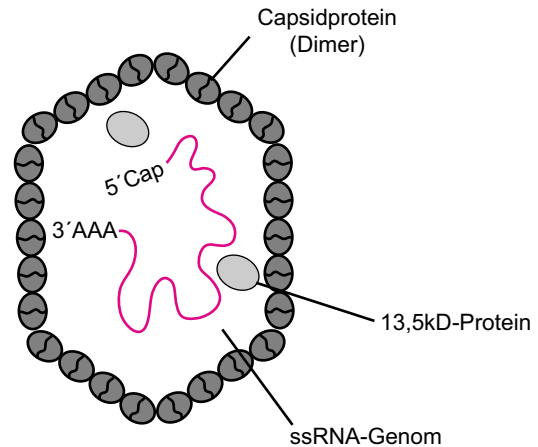
## 14.4.2 Aufbau

### Viruspartikel

Die Hepatitis-E-Viren haben *hüllmembranlose, ikosaedrische Capside* mit einem Durchmesser von 32 bis 34 nm, in ihrem elektronenmikroskopischen Bild ähneln sie den Caliciviren (► Abbildung 14.9). Sie bestehen aus 180 Einheiten eines Capsidproteins mit einem Molekulargewicht von 76 kD. Zusätzlich enthalten die Partikel unregelmäßige Mengen eines kleinen, löslichen Proteins von 14,5 kD, dessen Ursprung nicht geklärt ist. Möglicherweise handelt es sich um ein Spaltprodukt des Capsidproteins.

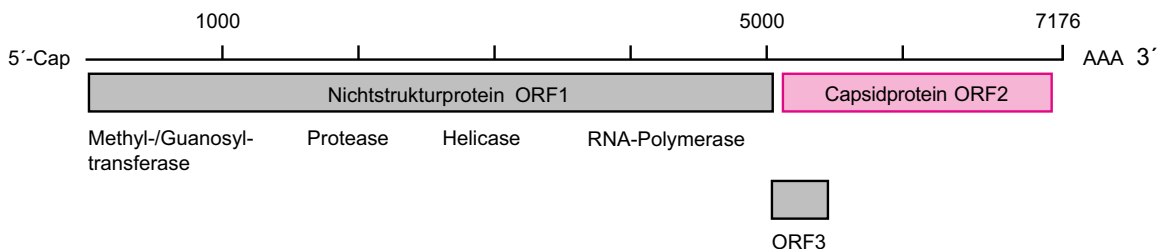
### Genom und Genomaufbau

Das Genom der Hepeviren besteht aus *einzelsträngiger RNA*, die in *Plusstrangorientierung* vorliegt und in Abhängigkeit von den unterschiedlichen Genotypen eine Länge von 7 194 bis 7 232 Basen aufweist. Die 5'-Enden sind mit einer *Cap-Struktur* versehen, die 3'-Enden sind *polyadenyliert*. An den 5'-und 3'-Enden der genomischen RNA befinden sich kurze, wohl nicht-codierende Sequenzfolgen (► Abbildung 14.10). Sequenzanalysen der RNA-Moleküle ergaben *drei offene*



**14.9** Schematische Darstellung des Partikelbaus eines Hepatitis-E-Virus.

*Leserahmen*, die an den Enden teilweise miteinander überlappen. In der 5'-orientierten Hälfte wird im ORF1 ein Vorläuferprodukt für die Nichtstrukturproteine codiert. Der zweite Leserahmen (ORF2) dient der Synthese des Capsidproteins. Ein weiterer Leserahmen (ORF3) codiert für ein kleines Protein pORF3 von 112 bis 123 Aminosäuren Länge; es ist für die Infektiosität der Hepatitis-E-Viren wichtig. Dieser Leserahmen überlappt bei den meisten Isolaten mit dem des ORF1. Eine Ausnahme stellen die chinesischen Isolate der Hepatitis-E-Viren (Genotyp 4) dar, bei welchen das Ende des für das Vorläuferprodukt der Nichtstrukturproteine codierenden Bereichs vom Beginn des ORF3 durch 28 Basen voneinander getrennt sind.



**14.10** Genomorganisation der Hepeviren. Das mRNA-Genom ist am 5'-Ende gecappt und am 3'-Ende polyadenyliert, es wird im Cytoplasma der Zelle translatiert. Es enthält drei offene Leserahmen: ORF1 codiert für ein Nichtstrukturpolyprotein und enthält die Domänen einer Methyltransferase, einer Protease, einer RNA-Helicase und einer RNA-abhängigen RNA-Polymerase. Die Protease spaltet das Vorläuferprotein in die verschiedenen Teilstücke. Die RNA-abhängige RNA-Polymerase ist für die Synthese der Antigene und der neuen viralen RNA-Genome verantwortlich. Im ORF2 ist das Capsidprotein codiert, der Leserahmen ORF3 codiert für ein 13,5 kD großes Nichtstrukturprotein.



### 14.4.3 Virusproteine

Das Vorläuferprotein der Nichtstrukturproteine (186 kD) umfasst 1692 bis 1709 Aminosäuren und enthält im aminoterminalen Bereich die Domänen einer *Methyl- und Guanosyltransferase* (► Abbildung 14.10). Sie wird für die Modifikation der genomischen und subgenomischen RNAs durch eine 5'-Cap-Struktur benötigt. Ihr folgen eine *Protease*, welche das Vorläuferprotein in die einzelnen funktionellen Einheiten und eine *RNA-abhängige RNA-Polymerase* spaltet (► Tabelle 14.10). Die Protease gleicht einer *Cysteinprotease* des Papaintyps. Ob sie für alle Spaltungen im Vorläuferprotein verantwortlich ist und an welchen Stellen sie genau schneidet, ist nicht endgültig geklärt.

Die Sequenzen für das Capsidprotein befinden sich bei den Hepatitis-E-Viren in einem separaten Leserahmen (ORF2). Beim Vergleich der verschiedenen Genotypen weist dieser den höchsten Konservierungsgrad auf. Das Protein hat im Allgemeinen eine Länge von 660 Aminosäuren (etwa 72 bis 76 kD), am aminoterminalen Ende findet man eine signalpeptidähnliche Sequenz, der eine Signalase-Spaltstelle folgt; es bildet Homodimere. Man fand, dass es sowohl in glycosylierter wie in nicht glycosylierter Form im Cytoplasma der infizierten Zellen vorliegt. Es wird vermutlich in Anbindung an die Membran des endoplasmatischen Reticulum syntheti-

sert und in das ER-Lumen eingeschleust. Dabei wird das Signalpeptid abgespalten und die Aminosäurekette mit Zuckergruppen modifiziert. Im Anschluss daran scheint ein Rücktransport der Capsidproteine in das Cytoplasma stattzufinden.

Der Leserahmen ORF3 codiert für ein kleines phosphoryliertes Protein pORF3. Seine Funktion ist nicht endgültig geklärt. In *two-hybrid*-Analysen stellte sich heraus, dass es mit Capsidproteinen interagiert und die Phosphorylierung der Aminosäure Serin an Position 80 des pORF3 für diese Wechselwirkung notwendig ist. Auch zeigte sich eine Bindung an Bikunin, einem kunitztypartigen Inhibitor der Serinproteasen sowie an Hemopexin, ein Glycoprotein im Blutplasma, das zur Gruppe der Akutphaseproteine zählt (► Kapitel 7). Inwieweit diese *in vitro* Befunde bei der Vermehrung der Hepatitis-E-Viren eine Rolle spielen ist unklar. Neue Daten weisen auf die Wechselwirkung des pORF3 mit dem Dyneinprotein der Mikrotubuli hin. Daneben wurde gezeigt, dass das pORF3 in den Endosomen lokalisiert ist und dort den Transport von Proteinen zum Kompartiment der späten Endosomen behindert, so auch denjenigen des Rezeptors für den epidermalen Wachstumsfaktors (EGFR, *epidermal growth factor receptor*). Da dies auch den Transport der phosphorylierten Stat3-Proteine vom Cytoplasma in den Zellkern stört und somit die Einleitung der unspezifischen Immunreaktionen behindert (► Kapitel 7 und 8), kön-

**Tabelle 14.10** Funktion und Eigenschaften der Proteine der Hepeviren

Protein	Größe (kD)	Eigenschaften	Funktion
<b>Capsidprotein</b>	76	Dimer; Signalpeptid wird abgespalten; teilweise glycosyliert	Capsidprotein
<b>Capsidprotein</b>	14,5	?	Lösliches Protein in Virionen, Spaltprodukt des 76 kD Capsidproteins?
<b>Methyl-/Guanosyltransferase</b>	110	?*	Capping der RNA-Genome und der subgenomischen RNA
<b>Protease</b>	?*	Homologie zu Cysteinproteasen	Spaltung des Vorläuferproduktes der Nichtstrukturproteine
<b>RNA-Helicase</b>	?*	NTP-Bindung	Lösung von RNA-Sekundärstrukturen Replikation
<b>RNA-abhängige RNA-Polymerase</b>	?*	?*	RNA-Replikation Synthese subgenomischer RNA
<b>pORF3</b>	13,5	phosphoryliert; Homodimer	mit Cytoskelett assoziiert

\* Wegen des Fehlens eines geeigneten Zellkultursystems zur Züchtung der Hepatitis-E-Viren gibt es zur Größe und Modifikation insbesondere der Nichtstrukturproteine keine Daten.

nen diese sich nicht richtig entfalten. Durch die Unterdrückung der frühen Immunabwehr könnte es dem Virus gelingen, sich ungestört zu vermehren.

#### 14.4.4 Replikation

Der erste Schritt im Vermehrungszyklus der Hepeviren ist die Translation der Nichtstrukturproteine unter Verwendung des Plusstrang-RNA-Genoms als mRNA. Das gebildete Vorläuferprotein wird vermutlich in Analogie zu anderen Positivstrang-RNA-Viren autokatalytisch durch die Protease gespalten, wodurch die Funktionen der viralen *RNA-abhängigen RNA-Polymerase*, der *RNA-Helicase* und der *Methyl-/Guanosyltransferase* in der Zelle vorliegen. Sie sind an der Bildung der Minusstränge beteiligt, die bei Verwendung des Virusgenoms als Matrize synthetisiert werden – ein Vorgang, der wie alle weiteren in Assoziation mit den Membranen des endoplasmatischen Reticulums abläuft. Die Minusstränge dienen dann als Matrize für die Synthese neuer Virusgenome. Daneben hat man in den infizierten Zellen zwei subgenomische RNAs mit Längen von 2,0 kB und 3,7 kB gefunden, die von dem Minusstrang transkribiert werden: Die bicistronische, 2,0 kB lange subgenomische RNA überspannt die Bereiche der zum 3'-Ende des Genoms orientierten Leserahmen ORF2 und ORF3, sie dient zur Translation der Capsidproteine und des pORF3 (► Abbildung 14.10). Ob die 3,7 kB umfassende subgenomische RNA eine entsprechende Funktion hat, ist unklar. Die Capsidproteine interagieren zu Vorstrukturen der Viruspartikel, in welche die virale RNA eingelagert wird. Die Freisetzung der neu gebildeten Viren erfolgt von der Oberfläche der infizierten Zellen.

#### 14.4.5 Human- und tierpathogene Vertreter der Hepeviren

##### Die Hepatitis-E-Viren

##### Epidemiologie und Übertragung

1955 trat in Neu-Delhi eine Hepatitisepidemie auf, die *fäkal-oral* durch *kontaminiertes Trinkwasser* übertragen wurde und an der 29 000 Menschen erkrankten. Weitere Ausbrüche beobachtete man in Mittelamerika, Afrika, Hinterindien, China und im Süden der ehemaligen UdSSR, vereinzelt entwickelten auch Patienten in Nichtendemiegebieten, so auch in mitteleuropäischen Ländern, ähnliche Formen einer infektiösen Leberent-

zündung. Ursprünglich hatte man aufgrund der Übertragungsweise gedacht, dass Hepatitis-A-Viren die Erkrankungen ausgelöst hätten. Erst retrospektiv ließen sich alle als Hepatitis-E-Virus-Epidemien identifizieren. Nach ihrer erstmaligen Isolierung durch Mikhail S. Balayan – er hatte sich selbst mit erregerehaltigem Material infiziert – erfolgte die molekulare Charakterisierung der Hepatitis-E-Viren 1988 durch Daniel W. Bradley und Mitarbeiter. Sie konnten aus Stuhlproben Viruspartikel isolieren, die mit Seren von Rekonvaleszenten eine positive Reaktion zeigten und nach oraler Verfütterung bei Makaken eine Hepatitis E erzeugten. Später zeigte sich, dass die Viren auch auf andere Primaten und auch auf Tierspezies wie Ratten, Schafe und Rinder übertragen werden können. 1997 wurden erstmals aus Schweinen Hepatitis-E-Viren isoliert. Diese sind – wie in nachfolgenden Untersuchungen gezeigt – weltweit in den Wild- und Hausschweinpopulationen verbreitet. Man geht davon aus, dass die nicht mehr säugenden heranwachsenden Jungtiere hauptsächlich fäkal-oral infiziert werden. Mindestens 50 Prozent aller Tiere, die älter als sechs Wochen sind, weisen Antikörper gegen die Viren auf.

Die Hepatitis-E-Viren scheinen bereits lange in der menschlichen Bevölkerung verbreitet zu sein. Fast 90 Prozent der Erwachsenen in Ägypten haben Hepatitis-E-spezifische Antikörper, in Indien sind es etwa 40 Prozent, in den USA zwischen vier Prozent in den Süd- und Ostküstenstaaten und bis zu über 30 Prozent im Mittleren Westen; in Deutschland liegt die Seroprävalenz bei etwa vier Prozent, in Südwestfrankreich bei etwa 16 Prozent. Die verschiedenen Genotypen kommen in unterschiedlichen geographischen Regionen vor: Viren des Genotyps 1 sind in Asien und Nordafrika verbreitet, den Genotyp 2 fand man bei Hepatitis-E-Epidemien in Mittelamerika und Zentralafrika, den Genotyp 3 hingegen in verschiedenen europäischen Ländern, in Nord- und Südamerika und Japan; Viren des Genotyps 4 werden vor allem in China, Taiwan, Japan und Vietnam nachgewiesen. Während man Hepatitis-E-Viren der Genotypen 1 und 2 bisher in Menschen fand, infizieren Viren der Genotypen 3 und 4 sowohl Menschen wie Schweine; ihre regionale Verbreitung in Menschen und Schweinen ist daher auch deckungsgleich. In fünf Prozent der Blutproben von Wildschweinen in Deutschland wurde virale RNA von Hepatitis-E-Viren des Genotyps 3 nachgewiesen. In den Niederlanden fand man in fast sieben Prozent der kommerziell erhältlichen Schweinelebern Genome von Hepatitis-E-Viren/Genotyp 3; wurden Proben davon in Schweine inokuliert, entwickelten diese eine akute Infektion – ein Hinweis, dass die Leberproben infektiöse Hepatitis-E-Viren enthielten. Bis heute können die Erreger nicht gut *in vitro* gezüchtet

werden. Sie besitzen auch nicht die hohe Partikelstabilität, wie man sie bei Hepatitis-A-Viren kennt (► Abschnitt 14.1). Neben der üblicherweise beobachteten fäkal-oralen Übertragung (über kontaminiertes Trinkwasser) und der vermuteten zoonotischen Weitergabe wird das Hepatitis-E-Virus auch direkt von Mensch zu Mensch durch Tröpfchen- und Schmierinfektion verbreitet.

## Klinik

In Schweinen verursachen Infektionen mit den Hepatitis-E-Viren offensichtlich keine klinischen Symptome. Beim Menschen scheint die Schwere der Erkrankung mit der Menge von Hepatitis-E-Viren, die bei Kontakt übertragen wurden, in direktem Zusammenhang zu stehen. Bei sehr niedrigen Mengen verlaufen die Infektionen – vor allem bei Kindern – häufig asymptomatisch. Nach einer durchschnittlichen Inkubationszeit von sechs bis sieben Wochen treten *grippeähnliche Symptome, Übelkeit, Erbrechen, Fieber, Juckreiz, Gelenk- und Kopfschmerzen* auf, die mit einem hohen Anstieg der Leberenzymwerte einhergehen. Die sich im Krankheitsverlauf entwickelnde intrahepatische *cholestatische Gelbsucht*, die durch Leberzellzerfall und den Rückstau von Gallenflüssigkeit verursacht wird, kann mehrere Wochen andauern (heller Stuhl, dunkler Urin, gelbe Augen). Die Mortalitätsrate ist mit ein bis vier Prozent deutlich höher als bei Infektionen mit dem Hepatitis-A-Virus (► Abschnitt 14.1). Auffällig ist insbesondere die hohe Rate von Todesfällen bei akut infizierten Schwangeren, die vor allem in Indien beobachtet wird; sie liegt bei etwa 20 Prozent. Neben der Mutter kann

aber auch das ungeborene Kind betroffen sein. Chronisch-persistierende Infektionen können in immunsupprimierten Patienten etabliert werden; in Empfängern von Organtransplantaten (Leber, Niere, Bauchspeicheldrüse) wurden chronische Hepatitiden und die Entwicklung von Leberzirrhose berichtet, die offensichtlich mit persistierenden Hepatitis-E-Virusinfektionen in Verbindung standen.

## Pathogenese

Das Hepatitis-E-Virus gelangt überwiegend über kontaminierte Lebensmittel in den Organismus und siedelt sich in den Leberzellen an. Wie es dorthin gelangt und an welchen zellulären Rezeptor es sich bindet, ist unbekannt. Von der Leber wird das Virus in das Blut und über die Gallengänge in den Darm ausgeschieden. Ähnlich wie bei der Hepatitis A ist die Ausscheidung infektiöser Hepatitis-E-Viren und die Virämie vor dem Auftreten der Symptome am höchsten. Pathohistologisch ist die Hepatitis E durch *Zellnekrosen* und *-degenerationen* in der Leber gekennzeichnet, man findet sie auch bei der ansonsten asymptomatischen Infektion im Schwein. In den intratubulären Infiltraten lassen sich einwandernde Granulocyten nachweisen, wohingegen sich im Portalgebiet mehr Lympho- als Granulocyten befinden.

## Immunreaktion und Diagnose

Im Verlauf der Infektion werden zunächst IgM- und dann IgG-Antikörper gegen das Capsidprotein gebildet, die in ELISA- oder Western-Blot-Tests nachgewiesen werden können. Die Diagnose frischer Virusinfektionen



### Das aviäre Hepatitis-E-Virus

Das aviäre Hepatitis-E-Virus wurde ursprünglich in den USA in Geweben eines Huhns nachgewiesen, welches an dem HS-Syndrom (Hepatitis-Splenomegalie-Syndrom) erkrankt war. Es zeigte sich, dass dieses Virus ausschließlich Hühner infiziert und weltweit im Geflügel verbreitet ist. In den Geflügelbeständen findet man eine hohe Seroprävalenz von etwa 30 Prozent. Das HS-Syndrom ist durch eine erhöhte Mortalität in der Herde gekennzeichnet, die erkrankten Tiere haben eine Vergrößerung der Leber und Milz, sowie eine Ovaratrophy. Histologisch können in den veränderten Lebern Blutungen sowie ausgedehnte oder multifokale Nekrosen nachgewiesen werden.

Es gibt keinen Hinweis, dass aviäre Hepatitis-E-Viren auf den Menschen übertragbar sind. Die Genomorganisation ist identisch zu derjenigen der humanen und porcinen Isolate; die Sequenzhomologie ist jedoch mit etwa 50 bis 60 Prozent relativ gering. Ähnlich wie die humanen und porcinen Hepeviren ist auch das aviäre Hepatitis-E-Virus in Zellkultur nicht propagierbar. Bei Vergleich der Genomsequenzen verschiedener Isolate von aviären Hepatitis-E-Viren fällt eine deutliche ausgeprägte genetische Heterogenität auf: Die Sequenzidentität zwischen einigen Isolaten beträgt nur 70 Prozent.

erfolgt durch den Nachweis von IgM-Antikörpern gegen die Capsidproteine und viraler RNA im Serum oder Stuhl durch die Polymerasekettenreaktion.

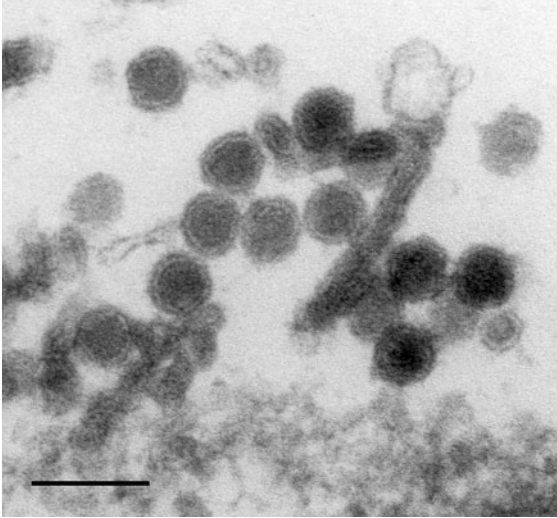
## Therapie und Prophylaxe

In den Endemiegebieten ist die beste Maßnahme zur Vermeidung von Infektionen die Sauberhaltung von Wasserversorgungsanlagen. Ein Impfstoff auf Basis rekombinant in Insektenzellkulturen produzierter Capsidproteine zeigte in klinischen Studien einen sehr guten Schutz und kaum Nebenwirkungen; diese Vakzine sind aber kommerziell noch nicht erhältlich. Eine antivirale Chemotherapie existiert nicht.

### 14.4.7 Weiterführende Literatur

- Bouwknegt, M.; Lodder-Verschuur, F.; van der Poel, W. H.; Rutjes, S. A.; de Roda Husman, A. M. *Hepatitis-E virus RNA in commercial porcine livers in The Netherlands*. In: *J. Food Prot.* 70 (2007) S. 2889–2895.
- Bradley, D. W.; Balayan, M. S. *Viruses of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis*. In: *Lancet* 1 (1988) S. 819.
- Chandra, V.; Kar-Roy, A.; Kumari, S.; Mayor, S.; Jameel, S. The Hepatitis-E virus ORF3 protein modulates epidermal growth factor receptor trafficking, STAT3 translocation, and the acute-phase response. In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 7100–7110.
- Chandra, V.; Taneja, S.; Kalia, M.; Jameel, S. *Molecular biology and pathogenesis of Hepatitis-E virus*. In: *J. Biosci.* 33 (2008) S. 451–464.
- Choo, Q. L.; Kuo, G.; Weiner, A. J.; Overby, L. R.; Bradley, D. W.; Houghton, M. *Isolation of a cDNA clone from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome*. In: *Science* 244 (1989) S. 359–362.
- Guu, T. S.; Liu, Z.; Ye, Q.; Mata, D. A.; Li K.; Yin, C.; Zhang, J.; Tao, Y. J. *Structure of the Hepatitis-E virus-like particle suggests mechanisms for virus assembly and receptor binding*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106 (2009) S. 12992–12997.
- Haagsma, E. B.; van den Berg, A. P.; Porte, R. J.; Benne, C. A.; Vennema, H.; Reimerink, J.H.; Koopmans, M. P. *Chronic Hepatitis-E virus infection in liver transplant recipients*. In: *Liver Transpl.* 14 (2008) S. 547–553.
- Kaci, S.; Nöckler, K.; John, R. *Detection of Hepatitis-E virus in archived German wild boar serum samples*. In: *Vet. Microbiol.* 128 (2008) S. 380–385.
- Kamar, N.; Selves, J.; Mansuy, J. M.; Ouezani, L.; Péron, J. M.; Guitard, J.; Cointault, O.; Esposito, L.; Abravanel, F.; Danjoux, M.; Durand, D.; Vinel, J. P.; Izopet, J.; Rostaing, L. *Hepatitis-E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients*. In: *N. Engl. J. Med.* 358 (2008) S. 811–817.
- Kannan, H.; Fan, S.; Patel, D.; Bossis, I.; Zhang, Y. J. *The Hepatitis-E virus open reading frame 3 product interacts with microtubules and interferes with their dynamics*. In: *J. Virol.* 83 (2009) S. 6375–6382.
- Li, S.; Tang, X.; Seetharaman, J.; Yang, C.; Gu, Y.; Zhang, J.; Du, H.; Shih, J. W.; Hew, C. L.; Sivaraman, J.; Xia, N. *Dimerization of Hepatitis-E virus capsid protein E2s domain is essential for virus-host interaction*. In: *PLoS Pathog.* 5 (2009) e1000537.
- Mansuy, J. M.; Legrand-Abravanel, F.; Calot, J. P.; Peron, J. M.; Alric, L.; Agudo, S.; Rech, H.; Destruel, F.; Izopet, J. *High prevalence of anti-Hepatitis-E virus antibodies in blood donors from South West France*. In: *J. Med. Virol.* 80 (2008) S. 289–293.
- Meng, X. J. *Hepatitis-E virus: Animal reservoirs and zoonotic risk*. In: *Vet. Microbiol.* (2009)
- Meng, X. J.; Halbur, P. G.; Haynes, J. S.; Tsavera, T. S.; Bruna, J. D.; Royer, R. L.; Purcell, R. H.; Emerson, S. U. *Experimental infection of pigs with the newly identified swine hepatitis virus (swine HEV), but not with human strains of HEV*. In: *Archives of Virology* 143 (1998) S. 1405–1415.
- Meng, X. J.; Halbur, P. G.; Shapiro, M. S.; Govindarajan, S.; Bruna, J. D.; Mushahwar, I. K.; Purcell, R. H.; Emerson, S. U. *Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine Hepatitis-E virus*. In: *J. Virol.* 72 (1998) S. 9714–9721.
- Purcell, R. H.; Emerson, S. U. *Hepatitis-E: an emerging awareness of an old disease*. In: *J. Hepatol.* 48 (2008) S. 494–503.
- Shrestha, M. P.; Scott, R. M.; Joshi, D. M.; Mammen, M. P. Jr.; Thapa, G. B.; Thapa, N.; Myint, K. S.; Fourneau, M.; Kuschner, R. A.; Shrestha, S. K.; David, M. P.; Seriwatana, J.; Vaughn, D. W.; Safary, A.; Endy, T. P.; Innis, B. L. *Safety and efficacy of a recombinant Hepatitis-E vaccine*. In: *N. Engl. J. Med.* 356 (2007) S. 895–903.
- Surjit, M.; Jameel, S.; Lal, S. K. *Cytoplasmic localization of the ORF2 protein of Hepatitis-E virus is dependent on its ability to undergo retrotranslocation from the endoplasmic reticulum*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 3339–3345.
- Tygal, S.; Jameel, S.; Lal, S. K. *Self-association and mapping of the interaction domain of Hepatitis-E-virus ORF3 protein*. In: *J. Virol.* 75 (2001) S. 2493–2498.
- Wang, Y.; Zhang, H.; Ling, R.; Li, H.; Harrison, T. J. *The complete sequence of Hepatitis-E virus genotype 4 reveals an alternative strategy for translation of openreading frames 2 and 3*. In: *J. Gen. Virol.* 81 (2000) S. 1675–1686.
- Worm, H. C.; Schlauder, G. G.; Wurzer, H.; Mushahwar, I. K. *Identification of a novel variant of Hepatitis-E virus in Austria: sequence, phylogenetic and serological analysis*. In: *J. Gen. Virol.* 81 (2000) S. 2885–2890.

## 14.5 Flaviviren



Die Flaviviren nutzen ähnlich wie die Picornaviren eine einzelsträngige mRNA als Genom und translatieren sie in ein Vorläuferprotein, das sowohl die Struktur- wie Nichtstrukturproteine umfasst; wie bei den Picornaviren werden keine subgenomischen mRNAs produziert. Die Flaviviren unterscheiden sich von den Picorna-, Astro-, Calici- und Hepeviren jedoch durch eine Hüll-

membran, welche die Capside umgibt und virale Oberflächenproteine enthält.

### 14.5.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Die Familie der *Flaviviridae* umfasst über 70 verschiedene Virustypen, die drei Gattungen zugeordnet werden (► Tabelle 14.11): Zum Genus *Flavivirus* gehört das Gelbfiebertvirus; es war das erste Virus, für das ein an Insekten (*Aedes* spp.) gebundener Übertragungsweg nachgewiesen wurde. Die durch das Virus verursachte Gelbsucht war namensgebend für die Familie und Gattung (*flavus*, lat.: gelb). Außer diesem gibt es im Genus *Flavivirus* eine Reihe von weiteren humanpathogenen Erregern, die durch Arthropoden (Insekten und Spinnentiere) übertragen werden. Die Dengueviren, die ebenfalls durch *Aedes* spp. übertragen werden, sowie die Japanese-Encephalitis-, St.-Louis-Encephalitis- und West-Nile-Viren (übertragen durch *Culex*-Mücken) verursachen vor allem in tropischen Ländern fieberhafte Infekte, *hämorrhagische* oder *neurologische Erkrankungen* und *Encephalitiden*. In Mitteleuropa ist der Erreger der *Frühsommer-Meningoencephalitis (FSME)* als ein Vertreter der durch Zeckenbisse übertragenen Encephalitiden (*tick-borne encephalitis*, TBE) in bestimmten

**Tabelle 14.11** Charakteristische Vertreter der Flaviviren

Genus	Vektor – Überträger	Mensch	Tier
Flavivirus	Stechmücken	Gelbfiebertvirus Denguevirus Typ 1-4 West-Nile-Virus Japanese-Encephalitis-Virus St.-Louis-Encephalitis-Virus	Gelbfiebertvirus (Affe) Wesselsbronvirus (Schaf, Rind) West-Nile-Virus
	Zecken	Tick-borne-Encephalitis-Virus (Frühsommer-Meningoencephalitis-Virus) Kyasanur-Forest-Disease-Virus Omsk-Haemorrhagic-Fever-Virus	Tick-borne-Encephalitis-Virus (Frühsommer-Meningoencephalitis-Virus) Kyasanur-Forest-Disease-Virus Omsk-Haemorrhagic-Fever-Virus Louping-III-Virus Jutiapavirus (Baumwollratte) Rio-Bravo-Virus (Fledermaus)
Pestivirus	-		Classical-Swine-Fever-Virus (klassische Schweinepest) Virus der bovinen Virusdiarrhoe (Mucosal Disease) Border-Disease-Virus der Schafe
Hepacivirus	-	Hepatitis-C-Virus	
nicht klassifiziert	-	Hepatitis-G-Virus (GB-Virus)	





## Arboviren

Viren, die durch Insekten oder Spinnentiere übertragen werden, bezeichnet man auch als *Arboviren* (*arthropod-borne viruses*). Sie kommen vor allem in den tropischen und subtropischen Klimazonen vor. Voraussetzung für die Übertragung von Viren durch Arthropoden ist, dass diese bestimmte Organe der Überträger, etwa die Epithelzellen

des Darmes und der Speicheldrüsen, infizieren können. Die alleinige Aufnahme von virushaltigem Blut durch Mücken oder Zecken genügt nicht: Die Viren müssen sowohl in Arthropoden- als auch in Säugetierzellen einen produktiven Infektionszyklus durchführen können.

Regionen endemisch verbreitet. Einige andere Flaviviren infizieren dagegen nur Säugetiere; sie werden vermutlich direkt von Tier zu Tier übertragen (das Rio-Bravo-Virus infiziert ausschließlich Fledermäuse, das Jutiapavirus Nagetiere).

Das zweite Genus umfasst die *Pestiviren*, die schwere Tierseuchen, wie die *klassische Schweinepest* hervorrufen. Diese Viren werden nicht durch Arthropoden übertragen.

Aufgrund seiner molekularbiologischen Charakteristika wurde das *Hepatitis-C-Virus* als eigenes Genus (Hepacivirus) in die Familie der Flaviviridae eingeordnet. Es wird vor allem durch kontaminiertes Blut übertragen und erzeugt beim Menschen eine meist chronische Infektion mit Leberentzündung; als Spätfolgen verursacht es Leberzirrhosen und primäre Leberzellkarzinome. Dem Hepatitis-C-Virus ähnelt das 1995 von Scott Muerhoff aus einem an einer Leberentzündung erkrankten Patienten isolierte *Hepatitis-G-Virus*, bekannt auch als *GB-Virus*. Das Virus ist weit verbreitet, entgegen ersten Vermutungen verursachen die Infektionen mit dem Hepatitis-G-Virus jedoch keine Hepatitis. Da die Aminosäuresequenz seines Polyproteins nur zu etwa 28 Prozent zum Hepatitis-C-Virus beziehungswei-

se zu 20 Prozent zum Gelbfieberevirus homolog ist, wird es vermutlich in ein eigenes, neues Genus der Flaviviridae eingeordnet werden. Über die Molekularbiologie und die Pathogenese dieses Virus gibt es bislang nur sehr wenige Daten.

## 14.5.2 Aufbau

### Viruspartikel

Die infektiösen Viren haben einen Durchmesser von 40 bis 50 nm. Die sphärischen Capside, die nur aus einem viralen Protein (*C-Protein*) bestehen, sind von einer Hüllmembran umgeben, in die bei den Vertretern des Genus Flavivirus zwei virale Oberflächenproteine, bezeichnet mit den Abkürzungen M und E, eingelagert sind (► Abbildung 14.11). Das *M-Protein* ist mit einem Molekulargewicht von 7 bis 8 kD relativ klein, das *E-Protein* ist spezifisch für den Virustyp; pro Partikel findet man 90 E-Proteindimere. Dem Hepatitis-C-Virus und den Pestiviren fehlt das M-Protein. Neben dem Hauptglycoprotein E2 (gp70) findet man hier ein kleineres glycosyliertes Oberflächenprotein E1 (gp33). Im

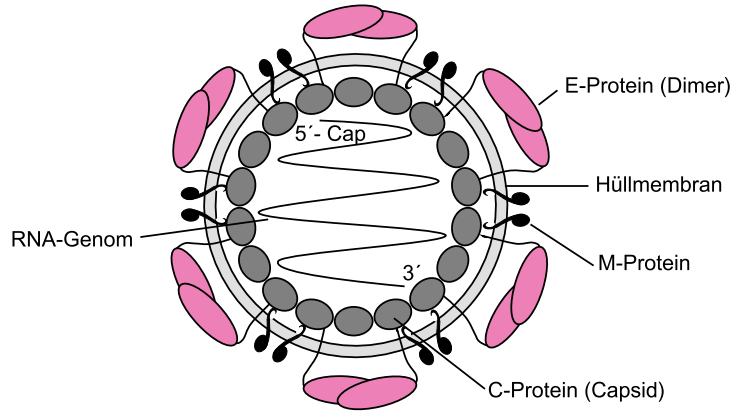


## NonA-NonB-Hepatitisviren

Die Hepatitis-C-Viren wurden bis zu ihrer molekularen Identifizierung 1989 zu den sogenannten *NonA-NonB-Hepatitisviren* gerechnet. Zu den NonA-NonB-Hepatitisviren gehörten alle Erreger einer Leberentzündung, die durch die Diagnostik für Hepatitis-A- und Hepatitis-B-Viren nicht erfasst werden konnten. Auch nach der Charakterisierung der Hepatitis-C- und Hepatitis-E-Viren (letztere wurden 1988 charakterisiert und in die Familie der Hepeviridae ein-

geordnet; ► Abschnitt 14.4) zählen dazu einige weitere, heute noch nicht bekannte Viren. So gibt es für die Existenz eines Hepatitis-F-Virus bislang nur indirekte Belege. Es war lange unklar, ob man das Hepatitis-C-Virus in die Familien Flavi- oder Togaviridae eingliedern sollte. Die genauere Kenntnis der molekularbiologischen Eigenschaften erlaubte es, das Hepatitis-C-Virus als eigenes Genus, Hepacivirus, in die Familie der Flaviviridae aufzunehmen.

**14.11** Aufbau eines Flaviviruspartikels (FSME-Virus). Das ikosaedrische Capsid wird von den C-Proteinen gebildet. Mit den Proteindomänen an der Capsidinnenseite ist das RNA-Genom assoziiert. Umgeben ist das Capsid von einer Hüllmembran, in welche die als Homodimere vorliegenden E-Proteine und die M-Proteine eingelagert sind.



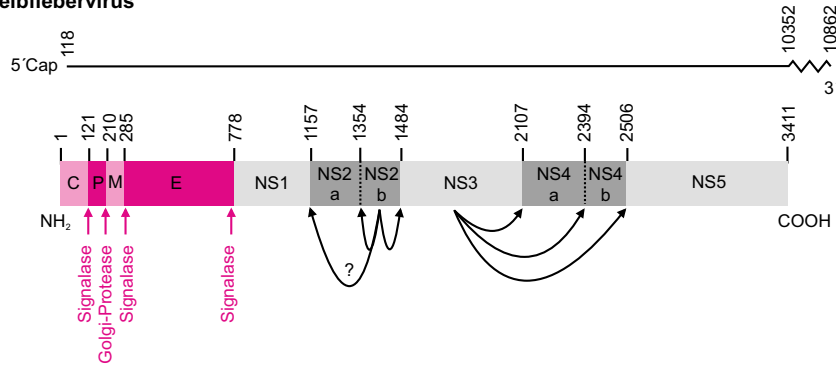
Inneren der Capside ist das RNA-Genom lokalisiert, das mit dem stark basischen C-Protein in enger Wechselwirkung vorliegt.

**Genom und Genomaufbau**

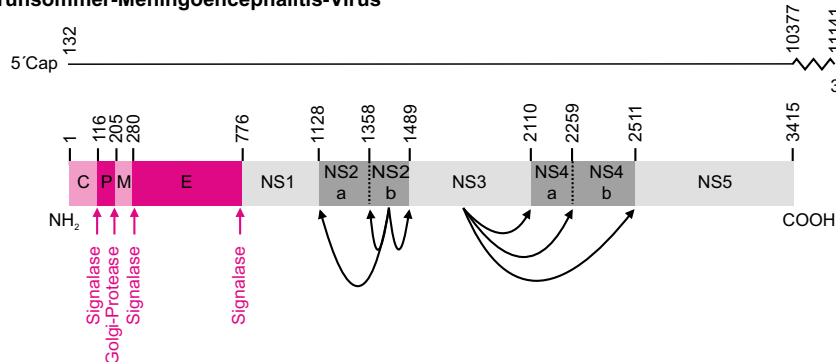
Das Genom besteht aus einzelsträngiger RNA und hat eine Länge von ungefähr 9 100 bis 12 000 Basen (10 862 beim Gelbfieberevirus, Impfvirus 17D; 10 664 bis 10 723

bei den Dengueviren, 11 141 beim FSME-Virus/Stamm Neudörf; 9 340 bis 9 589 bei Hepatitis-C-Viren; 9 143 bis 9 493 bei Hepatitis-G-Viren; 12 308 bis 12 573 beim Virus der bovinen Virusdiarrhoe; 12 297 beim Classical-Swine-Fever-Virus). Die RNA liegt in Plusstrangorientierung vor und besitzt einen großen Leserahmen, der beim Gelbfieberevirus eine Länge von 10 233 Basen hat (▶ Abbildung 14.12). Ähnlich wie bei den Picornaviren wird von ihm ein einziges gemeinsames *Vorläuferpoly-*

**A Gelbfieberevirus**

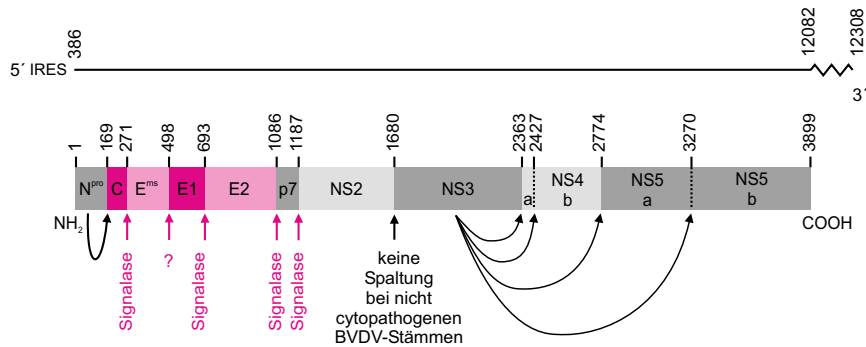


**B Frühsommer-Meningoencephalitis-Virus**

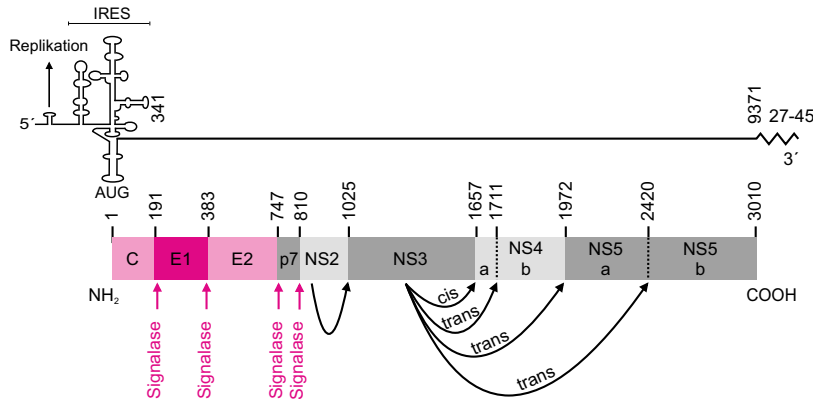


**14.12** Genomorganisation der Flaviviren. **A:** Gelbfieberevirus, Impfstamm 17D. **B:** FSME-Virus, Stamm Neudörf.

## C Virus der bovinen Virusdiarrhoe



## D Hepatitis-C-Virus



**14.12** (Fortsetzung) **C:** Virus der bovinen Virusdiarrhoe (BVDV) Stamm SD-1, nicht cytopathogen. **D:** Hepatitis-C-Virus. Beim Hepatitis-C-Virus und bei den Pestiviren (BVDV) befindet sich in der nichttranslatierten Region am 5'-Ende eine IRES (*internal ribosomal entry site*), bei den Vertretern des Genus Flavivirus (Gelbfiebervirus und Frühsommer-Meningoencephalitis-Virus) ist das 5'-Ende des Genoms durch eine Cap-Gruppe modifiziert. Die Genome der Flaviviren besitzen einen durchgehenden offenen Leserahmen. Er codiert für ein Polyprotein, das proteolytisch in die verschiedenen Proteinkomponenten gespalten wird (Strukturproteine in Farbe). Verantwortlich sind hierfür sowohl Enzyme, die als Teil des Polyproteins autokatalytisch wirken und aktiviert werden, als auch zelluläre Proteasen/Signalasen. Die Zahlenangaben beziehen sich auf die Aminosäurepositionen im Polyprotein, an welchen die jeweiligen Spaltungen erfolgen.

*protein* synthetisiert und im Infektionsverlauf in die einzelnen Komponenten gespalten. Die RNA der Flaviviren weist am 5'-Ende eine *Cap-Struktur* auf. Der Leserahmen wird an den 5'- und 3'-Enden von nichttranslatierten Nucleotidfolgen flankiert, die im Falle des Gelbfiebervirus 118 beziehungsweise 511 Basen lang sind. Das 3'-Ende selbst ist nicht polyadenyliert. Es finden sich jedoch in diesem Bereich adenosinreiche Basenfolgen variabler Länge.

Die Genome der Pesti- und Hepaciviren haben im Unterschied zu denen der Vertreter der Gattung Flavivirus am 5'-Ende des Genoms keine Cap-Gruppe, sondern – ähnlich wie die Picornaviren – eine *IRES-Struktur*. Diese vermittelt die Bindung der Ribosomenuntereinheiten und die Initiation der Translation des Polyproteins (► Abschnitt 14.1.4). Beim Hepatitis-C-Virus ist deshalb die nichttranslatierte Region am 5'-

Ende der Genome mit etwa 340 Basen deutlich länger als bei den Flaviviren. Am 3'-Ende des Hepatitis-C-Virusgenoms befindet sich eine kurze Folge von Uridin- und Adenosinresten. Ähnlich wie auch die nichttranslatierten Sequenzen im 3'-Bereich der anderen Flaviviren haben sie während der Genomreplikation wichtige Funktionen bei der Initiation der RNA-Negativstränge.

### 14.5.3 Virusproteine

#### Polyprotein

Das Polyprotein umfasst beim Gelbfiebervirus insgesamt 3411 Aminosäuren (3412 beim FSME-Virus); die Sequenzen der Strukturproteine befinden sich im aminoterminalen Drittel in folgender Reihenfolge: Capsid-

protein, virale Membranproteine PrM (als Vorläuferprodukt des M-Proteins) und E (► Abbildung 14.12 und Tabelle 14.12); daran schließen sich die Sequenzfolgen der Nichtstrukturproteine NS1 bis NS5 an.

Beim Hepatitis-C-Virus sind die Proteine anders angeordnet: In seinem durchschnittlich 3000 Aminosäuren umfassenden Polyprotein fehlen die Sequenzen des PrM-Proteins. Im Anschluss an das Capsidprotein ist das *E1-Protein* lokalisiert, ein glycosyliertes Membranprotein mit einem Molekulargewicht von circa 33 kD. Daran schließen sich die Aminosäurefolgen eines zweiten Glycoproteins (*E2*, gp68–72) und eines kleinen Proteins (p7) an. NS1 ist als Gen beziehungsweise Protein beim Hepatitis-C-Virus nicht vorhanden (► Abbildung 14.12). An die Proteinabschnitte C-E1-E2-p7 schließen sich die Nichtstrukturproteine NS2 bis NS5B an. ► Tabelle 14.12 gibt eine vergleichende Zusammenfassung der Eigenschaften der Proteine.

Wie bei den Hepaciviren fehlen auch in den Polyproteinen der Pestiviren die Sequenzen der NS1-Proteine; auch sie verfügen über zwei glycosylierte Membranproteine E1 und E2, ihren Sequenzen folgen denen des Proteins p7. Darüber hinaus haben die Polyproteine der Pestiviren einige zusätzliche Besonderheiten: Abweichend von den Flavi- und Hepaciviren codieren die Genome für ein *Nichtstrukturprotein N<sup>Pro</sup>* am 5'-Ende des Virusgenoms; es ist im Polyprotein vor den Domänen der Strukturproteine lokalisiert (► Abbildung 14.11). Im Anschluss an die Sequenzen, welche für die Synthese des Capsidproteins C verantwortlich sind, findet sich die Information zur Produktion einer *RNase (E<sup>rns</sup>)*, die Teil der Viruspartikel ist und auch von den Zellen sezerniert wird.

Die Prozessierung des Strukturproteinanteils des Vorläuferprodukts in die einzelnen, funktionell aktiven Bestandteile der C-, PrM und E-Proteine (Flaviviren), der C-, E1-, E2- und p7-Proteine (Hepaciviren) beziehungsweise der C- *E<sup>rns</sup>*-, E1-, E2- und p7-Proteine (Pestiviren) erfolgt durch die zelluläre, mit der Membran des endoplasmatischen Reticulums assoziierte *Signalase*. Im zellulären Stoffwechsel entfernt diese Protease die Signaleptide von den aminoterminalen Enden der am endoplasmatischen Reticulum translatierten Proteine. N<sup>Pro</sup> der Pestiviren ist eine autokatalytisch wirkende Protease, die sich cotranslational vom Vorläuferprotein abspaltet. Für alle weiteren Prozessierungen sind im wesentlichen virale Proteasen verantwortlich: Zwischen den NS2- und NS3-Anteilen schneidet die im NS2B-Protein verankerte proteolytische Aktivität. Beim Hepatitis-C-Virus und bei den nichtcytopathogenen Stämmen des Virus der bovinen Virusdiarrhoe ist dafür eine proteolytische Aktivität verantwortlich, die sich in der aminoterminalen Domäne des NS3-Proteins befindet,

aber nur im Fusionsprodukt aus den NS2- und NS3-Proteinen ihre Aktivität entfaltet. Das NS3-Protein selbst wirkt als Serinprotease und führt alle weiteren Spaltungen durch, beim Hepatitis-C-Virus benötigt sie hierfür das NS4A-Protein als Cofaktor.

## Strukturproteine

Das *C-Protein* bildet das Capsid. Es enthält eine hohe Anzahl von basischen Aminosäuren, die im Partikel mit dem RNA-Genom zum Nucleocapsid interagieren. Das carboxyterminale Ende des C-Proteins ist stark hydrophob. Es vermittelt die Interaktion des Polyproteins mit der Membran des endoplasmatischen Reticulums und induziert die Spaltung durch die Signalase zwischen den C- und PrM- (Flaviviren) beziehungsweise C- und E1- (Hepaciviren) sowie C- und E<sup>rns</sup>-Abschnitten (Pestiviren). Eine Besonderheit findet man beim Virus der bovinen Virusdiarrhoe (BVDV): Es sind Mutanten beschrieben, denen der für das Capsidprotein codierende Genomabschnitt vollständig fehlt, die aber dennoch die Morphologie eines Flavivirus aufweisen. Das C-Protein ist bei diesen Viren demnach für die Bildung infektiöser Partikel nicht essenziell. Die Funktionen des C-Proteins werden in diesem Fall vom NS3-Protein übernommen: Es interagiert mit dem RNA-Genom und den E-Proteinen.

Das an Asparaginresten glycosylierte *PrM-Protein* ist der Vorläufer des sehr kleinen, in der Virusmembran verankerten, nicht glycosylierten M-Proteins. Mit einem Molekulargewicht von etwa 19 kD beim Gelbfieberevirus und 24–27 kD bei den durch Zeckenbiss übertragenen Flaviviren ist das PrM- deutlich größer als das M-Protein in den infektiösen Partikeln. Spät in der Virusmorphogenese wird der aminoternale Anteil des PrM-Proteins während der Passage durch den Golgi-Apparat durch die zelluläre Protease Furin abgespalten. Diese Spaltung ist für die Infektiosität der Viruspartikel essenziell, sie induziert die *fusogenen Eigenschaften* des E-Proteins zur Verschmelzung der Endosomen- mit der Virusmembran nach der Aufnahme der Viren in das Zellinnere.

In der Virushülle findet man desweiteren 90 Dimere des glycosylierten *E-Proteins*. Die Struktur des E-Proteins der FSME-Viren wurde 1995 durch Félix A. Rey und Kollegen mittels Röntgenbeugung aufgeklärt. Im Vergleich zu anderen, in ihrer Struktur bekannten viralen Oberflächenproteinen (Hämagglutinin der Influenzaviren; ► Abschnitt 16.3) besitzt das E-Protein einen ungewöhnlichen Aufbau: Es ist über eine hydrophobe Aminosäurefolge im carboxyterminalen Bereich mit der Membran verankert, liegt ihr flach auf und bestimmt aufgrund der durch die Proteinfaltung bedingten Krüm-

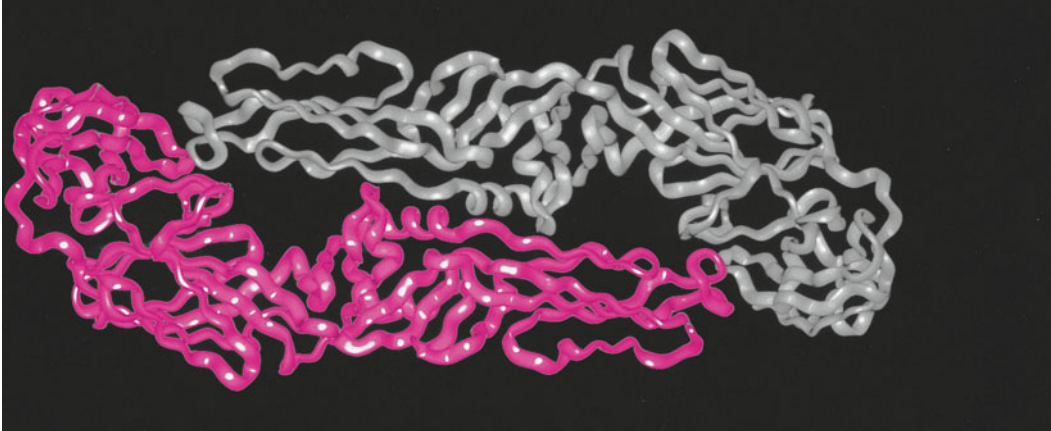
Tabelle 14.12 Vergleich und Funktion der flavivirus-spezifischen Proteine

Protein	Gelbfieber-virus	FSME-Virus	Hepatitis-C-Virus	Virus der bovinen Virusdiarrhoe (BVDV)	Funktion
<b>N<sup>pro</sup></b>	–	–	–	23 kD	Protease; spaltet sich autokatalytisch vom Vorläuferprotein ab; bewirkt Ubiquitylierung und Abbau des IRF3
<b>C</b>	12–14 kD	13–16 kD	22 kD	14 kD	Capsidprotein; Interaktion mit RNA-Genom
<b>PrM/M</b>	18–19 kD/ 7–9 kD	24–27 kD/ 7–8 kD	–	–	Membranprotein; Spaltung durch Furin-Protease
<b>E</b>	51–59 kD	50–60 kD	–	–	Membranprotein; glycosyliert; neutralisierende Antikörper; Hämagglutinin; Adsorption
<b>E<sup>ns</sup></b>	–	–	–	44–48 kD	RNase; sezerniert; glycosyliert
<b>E1</b>	–	–	31–35 kD	25–33 kD	Membranprotein; glycosyliert
<b>E2</b>	–	–	70–72 kD	53–55 kD	Membranprotein; glycosyliert
<b>p7</b>	–	–	7 kD	7 kD	Ionenkanal?; hydrophob
<b>NS1</b>	19–25 kD	39–41 kD	–	–	hochkonserviert; glycosyliert; zellmembranassoziiert; sezerniert; kein Bestandteil der Viruspartikel
<b>NS2A</b>	20–24 kD	20 kD	–	–	assoziiert mit ER-Membran; Morphogenese
<b>NS2B</b>	14 kD	14 kD	–	–	Zn <sup>2+</sup> -Metalloproteinase; assoziiert mit NS3-Protease (FSME-Viren und ähnliche)
<b>NS2</b>	–	–	21–23 kD	38–54 kD	Zn <sup>2+</sup> -bindend
<b>NS2/3</b>	–	–	90–95 kD	120–125 kD	Zn <sup>2+</sup> -bindend; wirkt autokatalytisch als Protease und bewirkt Spaltung in NS2 und NS3 beim Hepatitis-C-Virus sowie bei pathogenen BVDV-Stämmen
<b>NS3</b>	68–70 kD	70 kD	70 kD	75–80 kD	Serinprotease; bewirkt Spaltung der Nichtstrukturproteine im Polyprotein; dsRNA-Helicase
<b>NS4A</b>	16 kD	16 kD	8–10 kD	7–10 kD	hydrophob; assoziiert mit ER-Membran; hemmt bei Flaviviren die IFN- $\alpha$ /IFN- $\beta$ vermittelte Signalübertragung NS4A von Hepatitis-C-Virus und BVDV bildet Heterodimer mit NS3-Protease
<b>NS4B</b>	26 kD	27 kD	27 kD	30 kD	hydrophob; assoziiert mit ER-Membran
<b>NS5</b>	103–104 kD	100 kD*	–	–	Methyltransferase; RNA-abhängige RNA-Polymerase
<b>NS5A</b>	–	–	56–58 kD	58–70 kD	phosphoryliert; membranverankert; Virusmorphogenese
<b>NS5B</b>	–	–	68–70 kD	75–78 kD	RNA-abhängige RNA-Polymerase

\* hochkonserviert, an Virusreplikation beteiligt.

Die in der Tabelle angegebene Reihenfolge der Proteine entspricht ihrer Anordnung im Polyprotein.





**14.13** Struktur des E-Proteins des FSME-Virus, dargestellt in einem Bändermodell. Die Abbildung zeigt eine Aufsicht auf den homodimeren Proteinkomplex (das Protein liegt hier also auf der Virusoberfläche). Die carboxyterminale Domäne, welche die Transmembranregion enthält, wurde durch proteolytischen Verdau entfernt (mit freundlicher Genehmigung von Franz X. Heinz, Universität Wien).

mung die Größe des Partikels (► Abbildung 14.13). Das E-Protein vermittelt die Adsorption des Virus an die Zellen und induziert nach Aufnahme der Partikel durch rezeptorvermittelte Endocytose bei niedrigem pH-Wert die Fusion von Virus- und Endosomenmembran. Außerdem ist es für die hämagglutinierenden Eigenschaften der Flaviviren verantwortlich. Im Verlauf der Infektion werden gegen das E-Protein virusneutralisierende Antikörper induziert. Sie schützen vor einer Neuinfektion mit dem gleichen Virustyp.

Die glycosylierten *E1*- und *E2*-Proteine der Hepatitis-C-Viren weisen Sequenzhomologien mit den entsprechenden Proteinen der Pestiviren auf. Die *E1*-Proteine sind nicht kovalent mit den *E2*-Proteinen assoziiert und über carboxyterminal orientierte hydrophobe Aminosäurefolgen in der Membran verankert. Im carboxyterminalen Bereich des *E2*-Proteins hat man eine hoch variable Region gefunden, in der sich die verschiedenen Serotypen des Hepatitis-C-Virus, aber auch einzelne Virusisolate unterscheiden.

Bei den Pestiviren wurde ein weiteres Hüllprotein charakterisiert und als  $E^{ns}$ -Protein (*envelope protein, RNase secreted*) bezeichnet. Es ist Teil der Virionen, besitzt *dsRNase-Aktivität*, wird von virusinfizierten Zellen sezerniert und induziert die Bildung neutralisierender Antikörper. Die Funktion dieses Proteins im viralen Replikationszyklus ist nicht endgültig geklärt. Beim Virus der bovinen Virusdiarrhoe stellte sich heraus, dass das Protein  $E^{ns}$  durch seine Fähigkeit zum Abbau doppelsträngiger RNA den immunologischen Abwehrmaßnahmen entgegenwirkt, die durch dsRNA ausgelöst werden. Hierzu zählen unter anderem die Aktivierung der tolllike-Rezeptoren 3 (TLR3), wodurch die Produktion von IFN- $\alpha$  und IFN- $\beta$  eingeleitet wird (► Kapitel 7 und 8).

### Nichtstrukturproteine

Das *NS1-Protein* der Flaviviren ist mit der Zellmembran assoziiert. Bei Infektion von Säugetier-, nicht jedoch von Insektenzellen findet man eine lösliche Form der NS1-



### Zahlreiche Viren sind in der Lage, Erythrocyten zu agglutinieren

Sehr viele Viren können über die entsprechenden Aktivitäten ihrer Oberflächenproteine eine Hämagglutination hervorrufen. Man versteht darunter die virusinduzierte Verklumpung und Aggregation von roten Blutkörperchen. Vor der Einführung von hochspezifischen ELISA- und PCR-Tests

zum Nachweis von viralen Infektionen war der *Hämagglutinationstest* beziehungsweise *Hämagglutinationshemmtest* eine sehr wichtige diagnostische Methode (► Kapitel 13). In seltenen Fällen wird er auch heute noch eingesetzt.

Proteine, die von den Zellen sezerniert wird. Es gibt Hinweise, dass das membrangebundene NS1-Protein als Dimer, die sezernierte Form dagegen als Hexamer vorliegt. NS1-spezifische Antikörper scheinen bei einigen Flaviviren die antikörpervermittelte Lyse der infizierten Zellen einzuleiten und so protektiv zu wirken. Die Funktion des Proteins während des Infektionszyklus ist unklar. Es ist möglicherweise an der Replikation der Virusgenome sowie am intrazellulären Transport der viralen Strukturproteine und an der Virusfreisetzung beteiligt. Für das NS1-Protein der West-Nile-Viren fand sich kürzlich eine immunmodulatorische Funktion: Es hemmt die durch toll-like-Rezeptor 3 (TLR3) vermittelte Signalkaskade, indem es den Transport von IRF-3 (*interferon regulatory factor 3*) und NF $\kappa$ B in den Zellkern verhindert. Als Folge wird die Produktion von IFN- $\beta$  und proinflammatorischer Cytokine wie IL-6 unterbunden. Desweiteren bindet bei dem West-Nile-Virus sowohl die lösliche wie die mit der Zellmembran assoziierte Version des NS1-Proteins den Proteinfaktor H – einen Regulator der Komplementaktivierung. Dies führt zu einer verringerten Anlagerung der C3-Komponente und des Membranangriffskomplexes (C5b bis C9; ► Kapitel 7).

Das 7K-Protein der Hepatitis-C- und Pestiviren ist ein kleines hydrophobes Protein; man vermutet, dass es membranverankert vorliegt und möglicherweise die Funktion eines Ionenkanalproteins hat.

Das NS2-Protein wird bei den Flaviviren in die Anteile NS2A und NS2B gespalten. Zur Funktion von NS2A gibt es wenige Daten. Es ist mit der Membran des endoplasmatischen Reticulums assoziiert und spielt bei der Morphogenese der Flaviviren eine wichtige Rolle. Auch scheint es die interferonvermittelte antivirale Immunantwort zu hemmen. Das NS2B-Protein der Flaviviren ist ein essenzieller Cofaktor der NS3-Protease. Beim Hepatitis-C-Virus bildet der NS2-Teil in Fusion mit NS3 die katalytische Domäne einer Zn<sup>2+</sup>-abhängigen Protease, die zwischen NS2 und NS3 spaltet.

Das NS3-Protein aller Flaviviren ist *bifunktional*: Die aminoterminale Region besitzt die Aktivität einer Serinprotease und ist für alle Spaltungen in den Regionen des Polyproteins verantwortlich, die der NS3-Domäne folgen. In der carboxyterminalen Region befinden sich NTP-Bindungsstellen und eine *Helicaseaktivität*. Letztere ist ein Mitglied der Helicase-Superfamilie *DexH/D-Box* und für die Entwindung der stark strukturierten doppelsträngigen RNA-Intermediate sowohl bei der Genomreplikation als auch bei der Translation und Synthese des Polyproteins notwendig. Die NS3-Protease der Flaviviren ist ein *Heterodimer* bestehend aus NS2B und NS3. Beim Hepatitis-C-Virus interagiert das NS3-Protein über seine aminoterminale Region, welche das

aktive Zentrum der Serinprotease enthält, mit dem NS4A-Protein und bildet so ein Heterodimer, das über die hydrophoben Domänen im NS4A in der ER-Membran verankert ist.

Beim Hepatitis-C-Virus hat das *NS4A-Protein* wohl vor allem die Funktion, mit der NS3-Protease zu interagieren. Das NS3-Protein wird so an die Membranen des endoplasmatischen Reticulums gebunden und bleibt Teil des Replikationskomplexes. Bei den Flaviviren ist das NS4A-Protein ebenfalls mit der ER-Membran, nicht aber mit dem NS3-Protein assoziiert. Es trägt zur Umordnung der Membranen des endoplasmatischen Reticulums bei und inhibiert zusätzlich die durch IFN- $\alpha$ /IFN- $\beta$  vermittelten Signalübertragungswege, dabei hemmt es die Phosphorylierung der Stat-1 und Stat-2 Proteine.

Über die Funktion der membranverankerten *NS4B-Proteine* ist wenig bekannt. Beim Hepatitis-C-Virus induziert es die Ausbildung spezieller intrazellulärer Membrankompartimente, an denen die Replikation der Virusgenome stattfindet. Im Falle der Vertreter des Genus *Flavivirus* gibt es Hinweise, dass die NS4B-Proteine, ähnlich wie die NS4A-Proteine, die interferonvermittelte Immunabwehr behindern; diese Daten sind allerdings umstritten.

Das *NS5-Protein* der Flaviviren ist ein multifunktionelles Protein: Die aminoterminale Domäne hat die Aktivität einer *Methyltransferase*, die beim 5'-Capping der RNA-Genome benötigt wird. Da die Replikation und Virusvermehrung im Cytoplasma der infizierten Zellen abläuft, können die Viren nicht auf die entsprechenden zellulären Enzyme zurückgreifen, die im Zellkern lokalisiert sind. Zusätzlich hat die aminoterminale NS5-Domäne auch die Funktion eines *Antagonisten der Interferonwirkung*: Sie blockiert die IFN-stimulierten Jak-/Stat-Signalübertragungswege und verhindert die Expression der IFN-stimulierten Gene. Die carboxyterminale Domäne des NS5-Proteins stellt die Aktivität der *RNA-abhängigen RNA-Polymerase*. Das NS5-Protein der Hepatitis-C- und der Pestiviren wird durch die NS3-Protease in die Teile NS5A und NS5B gespalten. Die *NS5B-Proteine* sind die *RNA-abhängigen RNA-Polymerasen* und essenziell für die Replikation des RNA-Genoms. Das *NS5A-Protein* ist phosphoryliert, membranverankert und RNA-bindend. Die carboxyterminale Domäne von NS5A hat wichtige Funktionen bei der Virusmorphogenese: Sie bewirkt, dass sich die C-Proteine an den intrazellulären Membrankompartimenten ansammeln. Deletiert man die carboxyterminale NS5A-Domäne, dann unterbleibt die Bildung infektiöser Nachkommen-viren.

Die Nichtstrukturproteine der Pestiviren weisen einige Besonderheiten auf: Sie sind beim Virus der bovi-

nen Virusdiarrhoe für die Ausbildung unterschiedlicher Biotypen verantwortlich und spielen eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Mucosal Disease (► Abschnitt 14.5.6). Einzigartig ist das bereits erwähnte N<sup>pro</sup>-Protein, das als Protease wirkt und die erste Domäne des Polyproteins darstellt. Es bewirkt autokatalytisch seine Abspaltung vom Vorläuferprotein. Das Protein N<sup>pro</sup> hat daneben aber eine weitere Funktion, die für die Pathogenese der Pestivirusinfektionen wichtig ist. Sowohl bei Classical-Swine-Fever-Virus wie beim Virus der bovinen Virusdiarrhoe stellte sich heraus, dass sich N<sup>pro</sup> an den Faktor IRF-3 (*interferon regulatory factor*) bindet, und diese Wechselwirkung die Ubiquitinylierung und den Abbau des IRF-3 über die Proteasomen einleitet. Dadurch bilden die infizierten Zellen nur sehr wenig IFN- $\beta$  (► Kapitel 7 und 8).

#### 14.5.4 Replikation

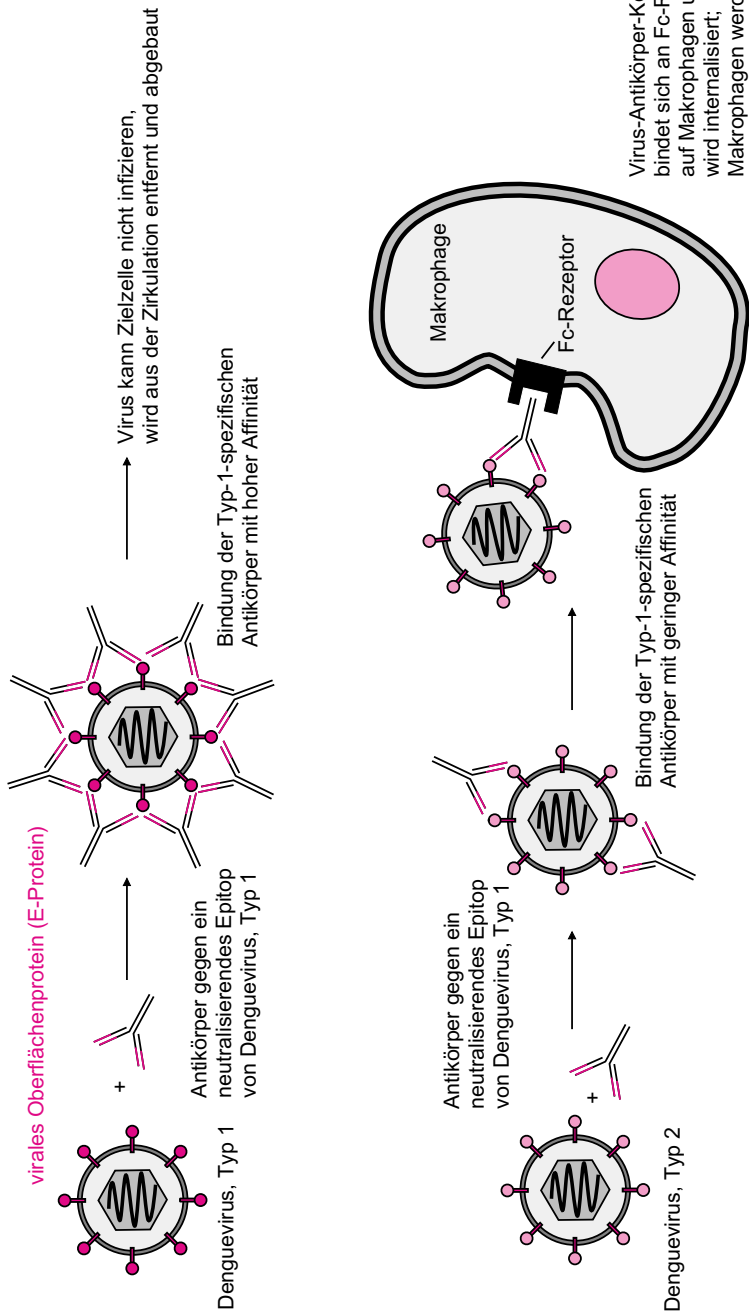
Die zellulären Rezeptoren sind für viele Flaviviren bekannt. Beim Hepatitis-C-Virus fand man, dass die Rezeptorbindung ein sehr komplexer und vielschichtiger Prozess ist. Das initiale Andocken an die Zelle erfordert Glycosaminoglycane und LDL-Rezeptoren. Daran schließen sich nacheinander Interaktionen der viralen E2-Proteine mit mindestens drei Eintrittsfaktoren an, nämlich dem *scavenger* Rezeptor Klasse B Typ 1 (SR-B1; *human scavenger receptor class B type 1*), dem Tetraspannin CD81 und das *tight-junction* Protein Claudin-1. Das E2-Protein bindet sich an das CD81 (25 kD), ein Mitglied der *Tetraspanninsuperfamilie*, welche die Cytoplasmamembran mit vier Transmembranregionen durchspannen und dabei zwei extrazelluläre Domänen ausbilden. Die CD81-Proteine haben funktionelle Aktivitäten bei der Zelladhäsion, -aktivierung und -motilität sowie bei Signalübertragungswegen; man findet sie auf der Oberfläche vieler Zelltypen, so auch auf Hepatocysten und B-Lymphocysten, die beide von Hepatitis-C-Viren infiziert werden können. Die E2-Proteine binden sich auch an SR-B1, ein 87 kD-Protein auf der Oberfläche vieler unterschiedlicher Zelltypen, das Funktionen im Fettstoffwechsel der Zellen ausübt. Serumproteine, wie beispielsweise die HDL-Lipoproteine, sind Liganden für den Rezeptor SR-B1 und verstärken die Infektiosität der Hepatitis-C-Viren, möglicherweise weil sie Komplexe mit den E1-/E2-Proteinen auf der Virusoberfläche bilden und die Interaktion mit dem SR-B1-Rezeptor vermitteln. Ein ähnlicher Bindungsmechanismus wurde für LDL-Lipoproteine vorgeschlagen: Es wird vermutet, dass auch diese Serumproteine an die Viruspartikel bin-

den und die Wechselwirkung mit dem LDL-Rezeptor vermitteln können.

Dengueviren und auch die Frühsommer-Meningoencephalitisviren binden sich mit niedriger Affinität an Heparansulfat; für das West-Nile-Virus sind Integrine (Integrin  $\alpha_v\beta_3$ ) als Interaktionspartner beschrieben. Neben der direkten Wechselwirkung der viralen Membranproteine mit definierten Zelloberflächenkomponenten wurde für die Dengueviren ein zweiter Weg der Bindung und Aufnahme beschrieben: Er ist abhängig von der Anwesenheit subneutralisierender Konzentrationen virustypspezifischer Antikörper oder von kreuzreagierenden Immunglobulinen, die typübergreifend die Virusgruppe erkennen. Von Dengueviren gibt es vier verschiedene Serotypen. Die typspezifischen Antikörper binden sich nur an Epitope, die spezifisch für den jeweiligen Serotyp sind. Daneben gibt es jedoch vor allem im E-Protein der Dengueviren Domänen, die allen vier Serotypen gemeinsam sind. Gegen diese konservierten Regionen sind virustypübergreifende kreuzreagierende Antikörper gerichtet, die meist nicht neutralisierend sind. Werden Viren *in vitro* mit diesen kreuzreagierenden oder mit geringen Konzentrationen von typspezifischen Antikörpern gemischt, die sich an die Partikeloberfläche binden, kann über den Fc-Teil der Immunglobuline die Interaktion mit Fc-Rezeptoren auf Makrophagen und Monocyten vermittelt und so die Virusaufnahme und damit die Infektion eingeleitet werden (► Abbildung 14.14). Man spricht in diesem Zusammenhang auch von *infektionsverstärkenden Antikörpern* oder *antibody (immune) enhancement*.

Nach der Adsorption an die Zelloberfläche gelangt das Virus durch Endocytose in die Zelle (► Abbildung 14.15). Es liegt in einem Membranvesikel im Cytoplasma vor und muss aus diesem entlassen werden. Hierzu wird das Innere der Endosomen über eine *ATP-abhängige H<sup>+</sup>-Ionenpumpe* angesäuert, die Bestandteil der Vesikelmembran ist. Die Endosomenmembran verschmilzt mit der des Virus. An dieser *Membranfusion* sind die E- beziehungsweise E1-Proteine aktiv beteiligt. Die dimeren E-Proteine ändern dabei ihre Struktur und bilden trimere Intermediate aus, bei denen die fusogene Domäne exponiert wird und ihre Aktivität entfalten kann. Das Capsid gelangt so in das Cytoplasma; über die Mechanismen bei der Freisetzung der Nucleinsäure ist wenig bekannt.

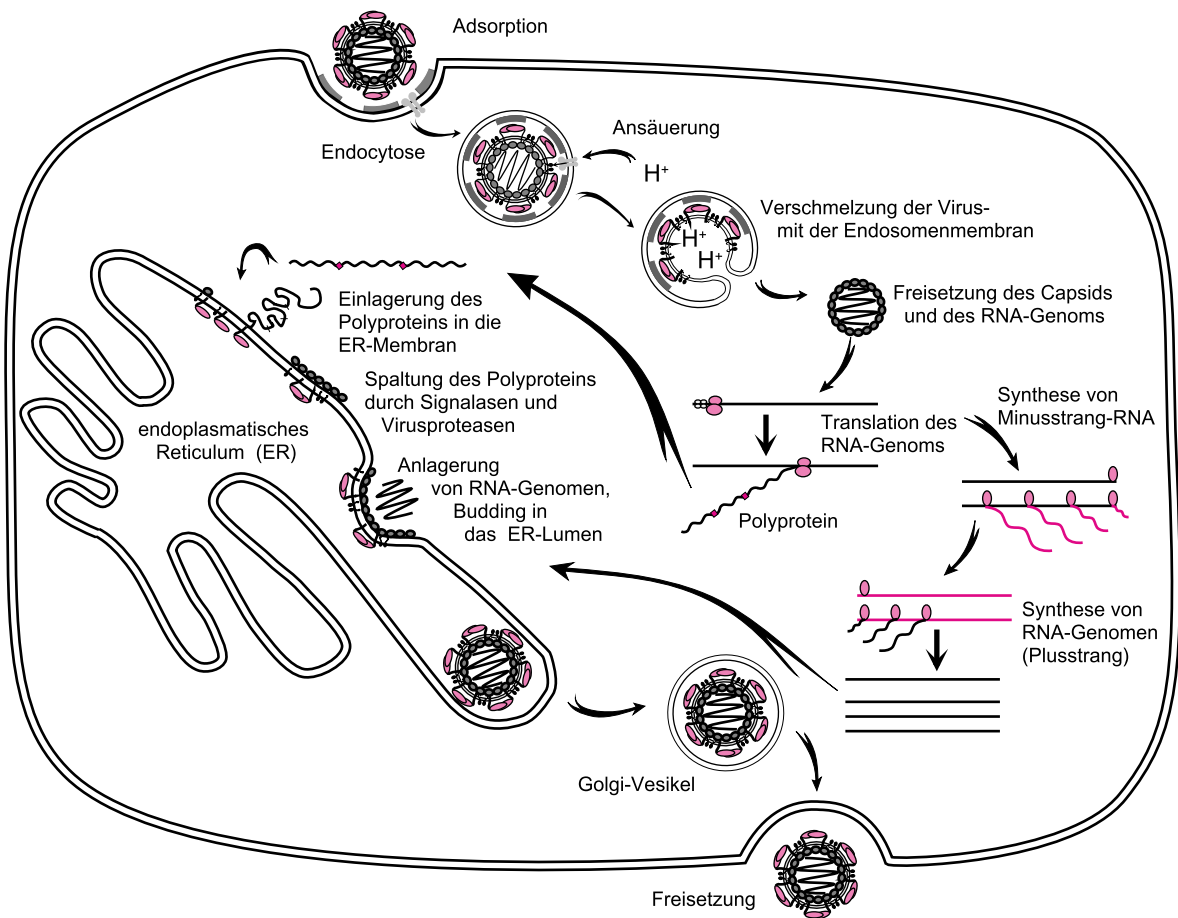
In den nächsten Schritten interagiert das 5'-Ende des Genoms mit zellulären Ribosomenuntereinheiten. Bei den Flaviviren ist hierfür die *5'-Cap-Struktur* verantwortlich, die sich an Komponenten des *Cap-Binding-Komplex* bindet und die Interaktion mit den Ribosomen vermittelt. Im Falle des Hepatitis-C-Virus und der Pestiviren ist die im nichttranslatierbaren Teil des 5'-Endes



**14.14** Die Funktionsweise infektionsverstärkender Antikörper. Nach einer Infektion mit einem bestimmten Subtyp der Dengueviren, zum Beispiel Denguevirus Typ 1, liegen für diesen Subtyp spezifische Antikörper im Organismus vor. Sie können sich bei Reinfektionen mit dem gleichen Virussubtyp an die Partikel binden und das Virus neutralisieren. Erfolgt jedoch in der Folge eine Infektion mit einem anderen Denguevirus-Subtyp, beispielsweise Denguevirus Typ 2, dann binden sich zwar aufgrund der ähnlichen Aminosäuresequenzen beider Virustypen die Antikörper auch an die Oberfläche des Denguevirus Typ 2, können dieses aber nicht neutralisieren. Die Virus-Antikörper-Komplexe binden sich über den Fc-Teil der Immunglobuline an Fc-Rezeptoren in der Membran von Makrophagen. Dies bewirkt die Internalisierung des Komplexes und so die Infektion der Makrophagen.

lokalisierte *IRES-Sequenz* für die Bindung der Ribosomen verantwortlich. Liegt nach begonnener Translation das C-Protein im aminoterminalen Bereich des Polyproteins vor, so stoppt die Elongation der Aminosäurekette kurzzeitig: Die hydrophobe Domäne im carboxyterminalen Bereich des C-Proteins wirkt als Signalpeptid. Sie interagiert mit dem *signal recognition particle* – ein Komplex aus zellulären Polypeptiden und der 5S-RNA, das den Transport des Translationskomplexes an die Membran des endoplasmatischen Reticulums bewirkt.

Dort wird die wachsende Aminosäurekette durch die Membran des endoplasmatischen Reticulums geschleust, wobei die Transmembrandomänen in den PrM- und E-Proteinen das Polyprotein cotranslational in der Lipidschicht verankern (▶ Abbildung 14.15). Die Signalasen führen die Prozessierungen zwischen den C-, PrM-, E- und NS1-Anteilen durch. Für die weiteren Spaltungen des Polyproteins sind die NS2B/NS3- (Flaviviren) beziehungsweise NS3/NS4A-Proteasen (Hepatitis-C- und Pestiviren) verantwortlich (▶ Abbildung 14.12). Die



**14.15** Verlauf der Infektion einer Zelle mit dem FSME-Virus. (Der Zellkern ist der Übersichtlichkeit halber hier nicht eingezeichnet.) Das Virus adsorbiert an einen noch unbekanntem Rezeptor der Cytoplasmamembran und wird über Endocytose von der Zelle aufgenommen. Die Ansäuerung des Endosomeninneren bewirkt die Fusion der Endosomen- mit der Virusmembran, wodurch das Capsid in das Cytoplasma gelangt. Das Virusgenom entspricht einer mRNA. Es wird in ein Polyprotein translatiert. Bedingt durch signalpeptidähnliche Proteindomänen wird das Polyprotein in die Membran des endoplasmatischen Reticulums eingelagert. Alle weiteren Schritte im Infektionszyklus verlaufen daher in räumlicher Nähe zu diesem Zellkompartiment. Die mit dem endoplasmatischen Reticulum assoziierte Signalase spaltet das Vorläuferprotein im Bereich der Strukturproteine C, PrM und E. Alle anderen Spaltungen im Anteil der Nichtstrukturproteine werden durch das NS3-Protein durchgeführt, das zusammen mit dem NS2B als Protease wirkt. So entsteht mit dem Protein NS5 die RNA-abhängige RNA-Polymerase, die das virale Plusstranggenom in einen RNA-Negativstrang umschreibt; dieser dient seinerseits wieder als Matrize für die Synthese neuer Virusgenome. Diese lagern sich an die Regionen der Membran des endoplasmatischen Reticulums an, welche hohe Konzentrationen der Virusstrukturproteine enthalten. Es kommt zum Budding der Viruspartikel in das Lumen des endoplasmatischen Reticulums, die im weiteren Verlauf über die Golgi-Vesikel zur Zelloberfläche transportiert und freigesetzt werden.



meisten der Nichtstrukturproteine verfügen über hydrophobe Domänen, welche zu ihrer Verankerung in der Membran des endoplasmatischen Reticulums beitragen. Das garantiert, dass die Synthese des Polyproteins, seine Prozessierung und auch die sich anschließenden Schritte der Replikation in Assoziation mit diesem intrazellulären Membrankompartiment ablaufen.

Liegen mit den NS5- beziehungsweise NS5B-Proteinen die RNA-abhängigen RNA-Polymerasen im Cytoplasma vor, katalysieren sie das Umschreiben des Positivstranggenoms in den Minusstrang, der wiederum als Matrize für die Bildung von Plussträngen dient; beim Hepatitis-C-Virus ist dabei die Haarnadelschleife in der nichttranslatierbaren Region am 5'-Ende des RNA-Genoms essenziell (► Abbildung 14.12C). Sie scheint eine ähnliche Funktion zu haben wie die *Cloverleaf*-Struktur im Genom der Picornaviren (► Abschnitt 14.1). Die neu gebildeten Plusstränge finden sowohl als genomische RNA als auch als mRNA für die Synthese weiterer Polyproteine Verwendung. Im Großen und Ganzen ähnelt der Mechanismus dem der Picornavirusreplikation. Bei den Flaviviren versieht die NS5-Methyltransferase das 5'-Ende der Positivstränge mit einer Cap-Struktur. Da die Replikation ausschließlich im Cytoplasma der Zelle erfolgt und zelluläre Capping-Enzyme hier nicht vorhanden sind, besitzen die Flaviviren hierfür eigene enzymatische Aktivitäten.

Die Morphogenese zu infektiösen Partikeln erfolgt bei den Flaviviren an der Membran des endoplasmatischen Reticulums. Analoge Vorgänge vermutet man beim Hepatitis-C-Virus. Die C-, PrM und E-Komponenten – beziehungsweise die E1- und E2-Polypeptide beim Hepatitis-C-Virus sowie bei den Pestiviren – werden im Verlauf der Translation in die Lipidschicht eingelagert und bilden hier Regionen mit einer hohen Konzentration an viralen Proteinen. Die membranassoziierten C-Proteine interagieren sowohl mit den carboxyterminalen Domänen der E-Proteine, möglicherweise auch mit denen der NS2A-Proteine, als auch über die basischen Aminosäuren mit den RNA-Genomen. Die Membran stülpt sich in das Lumen des endoplasmatischen Reticulums aus und bildet so den initialen Budding-Komplex, der sich schließlich abschnürt. In dieser Phase der Virusmorphogenese sind die Viruspartikel noch nicht infektiös: Die E-Proteine liegen als heterodimerer Komplex mit den PrM-Polypeptiden vor. Während des folgenden Transports durch den Golgi-Apparat werden die Membranproteine glycosyliert und das PrM- wird durch die Furinprotease zum M-Protein prozessiert; dies bewirkt, dass sich die E-Proteine aus den Komplexen mit den PrM-Proteinen lösen und miteinander Dimere bilden: Die unreifen, nicht infektiösen Viruspartikel werden dadurch zu reifen Virionen. Die

Golgi-Vesikel fusionieren schließlich mit der Cytoplasmamembran und setzen ihren Inhalt mit den infektiösen Viruspartikeln an der Zelloberfläche frei. Der Ablauf des Replikationszyklus eines Flavivirus ist in ► Abbildung 14.15 dargestellt.

## 14.5.5 Humanpathogene Flaviviren

Die humanpathogenen Vertreter der Gattung Flaviviren werden durch Stiche von Mücken oder Bisse von Zecken auf Menschen übertragen. Die durch Zecken übertragenen Viren sind in Europa und Asien verbreitet und infizieren als natürliche Wirte überwiegend Nagetiere; in Mitteleuropa zählt hierzu das Frühsommer-Meningoencephalitis-Virus (FSME-Virus). Die durch Mückenstiche übertragenen Viren kann man in zwei Gruppen unterteilen: Mücken der Gattung *Aedes* spp. stechen bevorzugt Säugetiere; die durch sie übertragenen Viren, wie beispielsweise die Erreger des Gelbfiebers oder des Denguefiebers beziehungsweise des Dengue-Schock-Syndroms, verursachen im Menschen fieberhafte Erkrankungen, die mit Hämorrhagien verbunden sein können. *Culex*-Mücken bevorzugen Vögel als Wirte; die von ihnen übertragenen Viren wie die Erreger des West-Nile-Fiebers, der St-Louis- und der Japanischen Encephalitis verursachen im Menschen neurologische Erkrankungen wie Meningitiden oder Encephalitiden. Die Hepatitis-C- und Hepatitis-G-Viren werden vor allem durch kontaminiertes Blut oder andere Körperflüssigkeiten, welche die Erreger enthalten, übertragen; eine an Arthropoden gebundene Übertragung ist bei diesen Infektionen nicht bekannt. Da man bei Infektionen durch die Hepatitis-G-Viren bislang keine Erkrankungen beobachtet hat, wird auf sie im folgenden Abschnitt nicht im Detail eingegangen.

## Das Gelbfiebervirus

### Epidemiologie und Übertragung

Das *Gelbfiebervirus* wird durch Stechmücken des Genus *Aedes* spp. übertragen. Die ersten historisch gesicherten Fälle traten 1648 in Mexiko auf. Wahrscheinlich war das Virus jedoch ursprünglich nur auf dem afrikanischen Kontinent verbreitet. Der Sklavenhandel zwischen Afrika und Nord- beziehungsweise Südamerika durch die spanischen und englischen Eroberer führte während des 17. und 18. Jahrhunderts zum Import der Mücken-Viruskombination und damit zur epidemischen Ausbreitung der Gelbfieberekrankung in den tropischen Regionen Amerikas. Das Gelbfieber trat vor allem in den



## Die Entstehung von Gelbfieberepidemien

Das Gelbfiebervirus kann unter natürlichen Bedingungen zwei Zyklen durchlaufen: das *Dschungel-* oder *Savannengelbfieber* und das *urbane Gelbfieber*. Beim ersten sind Mücken der Arten *Aedes africanus* und *A. haemagogus* an der Übertragung beteiligt. Sie brüten in Wasseransammlungen in Baumhöhlen, Pfützen oder Erdlöchern. Die Insektenweibchen geben das Virus vertikal an ihre Nachkommen weiter. Man weiß, dass auch Affen als Zwischenwirte bei der Aufrechterhaltung der Infektionskette des Dschungel- oder Savannengelbfiebers eine Rolle spielen. So erkrankten und starben die Neuweltaffen Südamerikas an der Infek-

tion, während die Altweltaffen Afrikas, die sich offensichtlich im Laufe ihrer Evolution gut an das Virus angepasst haben, meist nur subklinisch infiziert werden. Auf Menschen, die sich in diesen Regionen aufhalten, können die Viren als Seitenglieder der Infektionskette übertragen werden und sporadische Erkrankungen verursachen. Durch infizierte Personen kann das Gelbfiebervirus dann in die Städte getragen werden. Hier ist die Mückenart *Aedes aegypti* verbreitet, die das Virus aufnimmt, überträgt und zu seiner epidemischen Verbreitung führt.

Küstenstädten Afrikas, Amerikas, aber auch Südeuropas auf und war eine der großen Seuchen der Menschheit, die Tausende von Toten forderte. So hat es beim Bau des Panamakanals über 100 000 Todesfälle durch die Gelbfieberinfektion gegeben. Er konnte erst fertig gestellt werden, nachdem die Mücken als Überträger der Infektion ausgerottet waren. Bereits 1881 hatte der kubanische Arzt Carlos Finlay vermutet, dass die Erkrankung durch Insekten übertragen wird, was Walter Reed schließlich 1900 bewies. 1902 wurde das Gelbfiebervirus als ursächlicher Erreger des epidemischen Gelbfiebers identifiziert, 1929 wurde es auf Affen übertragen und damit der Weg für die weitere Erforschung bereitet.

Heute ist Gelbfieber endemisch in den Regionen Afrikas südlich der Sahara – überwiegend in den Tropenwäldern Westafrikas – und in Südamerika verbreitet. Die Gelbfieberviren können sich in den verschiedenen *Aedes*-Arten, die unterschiedlich gut an die Umweltbedingungen im Dschungel, in den Savannen und den Städten angepasst sind, unterschiedlich gut vermehren. In den asiatischen Ländern ist die Erkrankung bisher nicht aufgetreten. Man vermutet, dass die dort verbreiteten *Aedes*-Arten für das Virus wenig empfänglich sind und deswegen schlechte Übertragungsvektoren darstellen. Andererseits könnten Kreuzimmunitäten mit den in asiatischen Ländern weit verbreiteten Dengueviren das Auftreten apparenter Gelbfiebererkrankungen verhindern. Auch erscheint es denkbar, dass die Menschen in Afrika früher durch die vielen verschiedenen von Insekten übertragenen Virusinfektionen eine breite kreuzreaktive Immunität entwickelt hatten, die größere Gelbfieberepidemien in der Bevölkerung verhinderte: Es erkrankten nur nichtimmune Europäer. Durch die fortschreitende Urbanisierung haben sich in den letzten Jahrzehnten die Lebensbedingungen in Afrika stark

verändert, sodass das Gelbfieber inzwischen häufig beobachtet wird. In den vergangenen Jahren wurde aus Nigeria über epidemische Ausbrüche der Gelbfiebererkrankung mit mehr als 100 000 Fällen berichtet. Die Zahl der jährlich in Südamerika offiziell gemeldeten Erkrankungen liegt bei etwa 2 000. Vermutlich ist die Dunkelziffer sehr hoch.

Das Gelbfiebervirus ist genetisch sehr stabil; es existiert nur ein Serotyp. Während der Erkrankung ist es mehrere Tage lang im Blut der infizierten Personen vorhanden. Werden sie in dieser Zeit von einer Mücke gestochen, so nimmt diese den Erreger zusammen mit dem Blut auf. Das Virus vermehrt sich im Darmepithel, den Körper- und Speicheldrüsenzellen der Insekten. Dieser Vorgang dauert ungefähr eine Woche und wird als *extrinsische Inkubationsperiode* bezeichnet. Danach kann die Mücke das Gelbfiebervirus im Speichelsekret durch neue Stiche übertragen.

## Klinik

Gewöhnlich zeigen sich drei bis sechs Tage nach dem Mückenstich als erste Symptome Fieber, Übelkeit, Kopf- und Muskelschmerzen – in dieser Phase der Infektion ist der Erkrankte virämisch. Nach kurzzeitiger Besserung können bei einem Teil der Patienten die Symptome mit Wiederanstieg des Fiebers, Erbrechen von Blut als Anzeichen der Hämorrhagie, Dehydratation, Blutdruckabfall, Bauchschmerzen und Anzeichen von Nierenversagen verstärkt auftreten. In dieser Erkrankungsphase entwickeln die Patienten aufgrund der Zerstörung der Leberzellen und des damit verbundenen Anstiegs des Bilirubins die Anzeichen der *Gelbsucht*. Das Virus ist dann nicht mehr im Blut vorhanden. Die Hälfte der Patienten, die in diese zweite Phase eintreten, stirbt zwi-

schen dem siebten bis zehnten Tag durch Nieren- und Leberversagen, Schock und Delirium. Häufiger als diese fulminanten Gelbfiebererkrankungen sind subklinische oder abortive Formen der Infektion, bei denen die Symptome in einer deutlich abgeschwächten Form oder auch gar nicht auftreten. Insgesamt beträgt die Letalität der Gelbfieberinfektion aber 20 bis 50 Prozent.

## Pathogenese

Nachdem das Gelbfiebervirus durch den Mückenstich in den Blutkreislauf gelangt ist, infiziert es Endothelzellen, Lymphocyten und bevorzugt *Makrophagen* sowie *Monocyten* in der Umgebung der Einstichstelle. Sie transportieren die Viren über die Lymphbahnen in die Lymphknoten und lymphatischen Gewebe, wo sie auf weitere infizierbare Zielzellen treffen. Während der virämischen Phase vermehrt sich das Virus sehr stark und befällt im weiteren Verlauf die Makrophagen in der Leber (Kupffersche Sternzellen), die aufgrund der Virusvermehrung absterben. Die in der Leber vorhandenen Viren befallen und zerstören die *Hepatocyten*. Dies hat einen starken Anstieg der Transaminasekonzentration im Blut zur Folge. Infizierte Makrophagen können in seltenen Fällen das Gelbfiebervirus in das Gehirn transportieren, wo es eine Encephalitis hervorrufen kann. Die Hämorrhagien, die sich in der symptomatischen Infektionsphase als innere Blutungen in der Niere, im Gehirn und anderen Organen äußern, sind darauf zurückzuführen, dass durch die Infektion und die damit verbundene Zerstörung der Leberzellen *verringerte Mengen an Blutgerinnungsfaktoren* gebildet werden.

## Immunreaktion und Diagnose

Das Gelbfiebervirus lässt sich leicht *in vitro* in menschlichen (HeLa-, KB-Zelllinien) und Affennierenzellen (Vero-Zellen) züchten. Die Vermehrung ist auch in embryonalen Hühner- und Entenzellen und in kontinuierlich wachsenden Linien aus Nagetieren möglich. IgM- und IgG-Antikörper gegen die E- und M-Proteine können etwa ein bis zwei Wochen nach der Infektion (das bedeutet fünf bis sieben Tage nach Beginn der Symptome) in ELISA-, Immunoblot, Immunfluoreszenz- und Virusneutralisationstests nachgewiesen werden. Neben diesen serologischen Methoden ist der Nachweis der Virusgenome mittels der RT-PCR im Blut Methode der Wahl in den frühen Infektionsphasen. Neutralisierende Antikörper persistieren lebenslang und vermitteln einen dauerhaften Schutz vor einer Reinfektion. NS1-spezifische Antikörper können während der Replikationsphase die antikörperabhängige Lyse der infizierten Zellen induzieren und so einen wichtigen Beitrag zur Kontrolle



### Die Attenuierung des Wildtyp- zum Impfvirus war nie reproduzierbar

Die Isolierung des Impfstammes 17D des Gelbfiebervirus durch den aus Südafrika stammenden Mikrobiologen Max Theiler am Rockefeller-Institut war ein glückliches Zufallsereignis: Bei Züchtung des Wildtypvirus in bebrüteten Hühnereiern konnte dieser attenuierte Stamm zwischen der 89. und 114. Passage gewonnen werden. Versuche, diesen Vorgang zu reproduzieren, waren bisher nicht erfolgreich.

der Infektion und der Eliminierung des Virus aus dem Organismus leisten. Inwieweit das zelluläre Immunsystem durch die Induktion von cytotoxischen T-Lymphocyten hierbei eine Rolle spielt, ist ungeklärt.

## Therapie und Prophylaxe

Durch kontinuierliche Züchtung des Gelbfiebervirus in bebrüteten Hühnereiern gelang Max Theiler 1937 die Züchtung eines *attenuierten Gelbfiebervirus* (Stamm 17D), das beim Menschen keine Symptome auslöst. Theiler wurde für diese erstmalige Entwicklung eines Lebendimpfstoffes 1951 der Nobelpreis für Medizin verliehen. Die molekulare Basis der Attenuierung ist nicht bekannt. Insgesamt finden sich im Vergleich zum Wildtypgenom 68 veränderte Nucleotide, die 32 veränderte Aminosäuren in den viralen Proteinen zur Folge haben. Die meisten der Mutationen befinden sich in dem für das E-Protein codierenden Bereich, sodass man vermutet, dass das Impfvirus sich weniger gut an die Rezeptoren auf den Leberzellen binden und diese infizieren kann, daher weniger Virus gebildet wird und die Infektion langsamer und deshalb abgeschwächt verläuft. Im Blut der Geimpften werden etwa drei bis fünf Tage nach Inokulation niedrige Viruskonzentrationen gefunden, die Virämie dauert ein bis zwei Tage. Die erste Immunantwort ist bei 95 Prozent der Geimpften zehn Tage nach der Vakzinierung nachweisbar. Zur Aufrechterhaltung des Schutzes sind Wiederholungsimpfungen in zehnjährigen Abständen nötig. Rückmutationen zum Wildtyp wurden nie beobachtet, sodass der Gelbfieberimpfstoff als eine weltweit sehr erfolgreiche, sichere Vakzine gilt. Millionen Menschen wurden inzwischen geimpft. Damit war eine deutliche Eindämmung und Reduzierung der Gelbfieberinfektionen in den tropischen Ländern verbunden; über große Epidemien wird heute nur noch sehr selten berichtet. Der attenuierte Gelbfieber-

impfstoff wird weltweit unter der Kontrolle der WHO (in Deutschland im Robert-Koch-Institut in Berlin) hergestellt und vertrieben. Er darf nur in staatlich zugelassenen Impfstellen verabreicht werden. Die Gelbfieberimpfung ist in vielen Ländern für Reisende in oder aus Gelbfieberendemiegebieten Pflicht.

Neben der Impfung der Bevölkerung vor allem in den Endemieeregionen besteht eine weitere wichtige Maßnahme zur Eindämmung der Infektion in der Bekämpfung der Mückenarten, die bei der Übertragung des Virus eine entscheidende Rolle spielen. Insektizide sind hierbei ebenso wichtig wie die Trockenlegung der Brutstätten für die Mückenlarven.

## Das Denguevirus

### Epidemiologie und Übertragung

Das *Denguefieber* ist als menschliche Erkrankung seit über 200 Jahren bekannt und wurde wegen der überaus starken Gelenk- und Muskelschmerzen früher als „Knochenbruchfieber“ oder „Dandy-Fieber“ bezeichnet. Die ersten Berichte über ein epidemisches Auftreten stammen aus Indonesien und Ägypten. Auch in Nordamerika (Philadelphia) gab es 1780 eine Denguefieberepidemie. Weitere Ausbrüche wurden in der Folge regelmäßig in fast allen tropischen und subtropischen Regionen beobachtet. 1903 isolierte der Beiruter Arzt Harris Graham aus dem Blut von Erkrankten einen filtrierbaren Erreger. Thomas L. Bancroft, ein australischer Arzt und Botaniker, zeigte 1906 seine Übertragbarkeit durch *Aedes aegypti*. 1944 identifizierten Albert Sabin und R. Walter Schlesinger die Dengueviren als Krankheitserreger, indem sie Blut von infizierten Soldaten auf Mäuse übertrugen. Inzwischen sind vier verschiedene Serotypen der Dengueviren bekannt. Ähnlich wie bei der Gelbfieberinfektion gibt es städtische und ländliche Formen des Denguefiebers. Die Verbreitung von letzterer erfolgt durch *A. albopictus* und *A. scutellaris*, als natürliche Wirte gelten nichtmenschliche Primaten in den Tropenwäldern Südasiens und Südamerikas. *A. aegypti* ist vor allem an der Ausbreitung und Übertragung der Infektion in den Städten beteiligt. Man fand, dass nicht alle Stämme der Mücken *A. aegypti* Dengueviren übertragen können. Verantwortlich hierfür sind genetische Variationen der Mücken, welche in ihren Darmepithelzellen das Rezeptorprotein R67/R64 mit einem Molekulargewicht von 67 kD nicht produzieren. Diese Mückenstämme (zum Beispiel IBO-11) sind nicht permissiv für Denguevirusinfektionen, sie können die Erreger folglich auch nicht übertragen.

Die Verbreitung der Mücken auf dem asiatischen Kontinent, insbesondere während des zweiten Weltkriegs

und die sich daran anschließende Urbanisierung der Bevölkerung, führten zu einer dramatischen Zunahme der Denguefiebererkrankungen im asiatischen Raum. Da zu dieser Zeit auch der Reiseverkehr stark zunahm, wurden die infizierten Mücken mit Flugzeugen vom pazifischen Raum nach Mittel- und Südamerika sowie in die USA importiert. Auch gelangte *A. albopictus* beispielsweise mit alten Autoreifen, in denen sich Wasser angesammelt hatte, in die USA. Heute infizieren Dengueviren jährlich etwa 50 Millionen Menschen weltweit; es handelt sich somit um die häufigste durch Insekten übertragene Virusinfektion des Menschen, die in den meisten Städten der tropischen Länder endemisch ist. In drei- bis fünfjährigen Abständen brechen Epidemien aus. Jährlich erkranken Millionen von Personen am Denguefieber und Hunderttausende an dem damit verbundenen *hämorrhagischen Fieber* und dem *Dengue-Schock-Syndrom*. Ob sich einzelne Denguevirusisolate in ihrer *Virulenz* unterscheiden und die Schwere der Erkrankung dadurch bestimmt wird, ist unklar. Möglicherweise könnten derartige Unterschiede aber das zum Teil epidemisch gehäuft auftretende hämorrhagische Denguefieber auch bei Personen erklären, die sich zum ersten Mal mit Dengueviren infiziert haben.

### Klinik

Die Inkubationszeit bis zum Auftreten der Symptome des *Denguefiebers* beträgt drei bis sieben Tage. Dengueviren verursachen unterschiedliche Ausprägungen einer Erkrankung. Vor allem bei kleinen Kindern handelt es sich um eine fieberhafte Erkrankung ohne spezifische Symptome. Ältere Kinder und Erwachsene entwickeln hingegen das klassische Erkrankungsbild mit Fieber, Hautausschlag, Gelenk- und Muskelschmerzen. Damit verbunden sind Lichtsensibilität und Lymphknotenschwellungen, petechiale Blutungen in den Schleimhäuten des Mund-, Nasen- und Gastrointestinalbereichs sowie Thrombo- und Lymphopenien. Die Symptome dauern etwa drei bis sieben Tage an, der Großteil der Patienten erholt sich ohne Folgeprobleme.

Beim *hämorrhagischen Denguefieber* kommen zusätzlich zu den bereits beschriebenen Symptomen eine erhöhte Gefäßdurchlässigkeit und vermehrte innere Blutungen hinzu. Blutplasma tritt aus den Gefäßen in die umgebenden Gewebe aus und führt zu Ödemen, vor allem im Abdomen und um den Brustbereich. Das *Dengue-Schock-Syndrom* stellt sich bei den Patienten mit hämorrhagischem Denguefieber ein, bei denen die Gefäßdurchlässigkeit und Blutungen weiter ansteigen. Die kritische Phase tritt dann ein, wenn die Körpertemperatur plötzlich auf normale Werte oder darunter (Hypothermie) absinkt und sich Kreislaufversagen, Blu-

tungen im Gastrointestinaltrakt und neurologische Beschwerden einstellen. In diesen Fällen kann es zu Schockzuständen kommen, die sich durch den Austritt von Blutplasma in die Körperhöhlen äußern. Etwa 50 Prozent der Patienten mit Dengue-Schock-Syndrom sterben.

Die Weltgesundheitsorganisation WHO hat strikte Kriterien für die Diagnose des hämorrhagischen Denguefiebers und des Dengue-Schock-Syndroms aufgestellt: Dazu gehören hohes Fieber, hämorrhagische Symptome, das Anschwellen der Leber und Kreislaufversagen. Die Erkrankung wurde abhängig von der Schwere des Verlaufs in vier Stadien eingeteilt: Stadien I und II entsprechen dem hämorrhagischen Denguefieber, Stadien III und IV dem Dengue-Schock-Syndrom.

## Pathogenese

Dengueviren gelangen durch den Stich einer infizierten Mücke in den Organismus und befallen die *Makrophagen*, die sich in der lokalen Umgebung befinden. Diese bringen das Virus über die Lymphbahnen zu den Lymphknoten, wo die Viren weitere Zielzellen vorfinden und sich in ihnen replizieren. Nach dieser Phase ist der Patient *virämisch*, und es lassen sich  $10^8$  bis  $10^9$  infektiöse Partikel pro Milliliter Blut nachweisen. Die Virämie dauert durchschnittlich vier bis fünf Tage an. Neben den Makrophagen sind *Endothelzellen* und möglicherweise auch *Knochenmarkzellen* infizierbar. Außerdem konnte das Virus auch in anderen Organen wie Leber, Lunge, Nieren und im Gastrointestinaltrakt nachgewiesen werden. Inwieweit es sich in diesen Geweben repliziert, ist jedoch unklar. Die pathologischen Veränderungen in den Geweben ähneln denjenigen, die man bei Infektionen mit dem Gelbfiebertypus beobachtet.

Das hämorrhagische Denguefieber und das Dengue-Schock-Syndrom sind durch die erhöhte *Durchlässigkeit der Blutkapillarwände* gekennzeichnet. Für die Ausbildung dieser schweren Erkrankungsform werden *immunpathogenetische Mechanismen* verantwortlich gemacht. Die vier Denguevirus-Serotypen weisen bei Vergleich der Aminosäuresequenzen ihrer E-Proteine 63 bis 68 Prozent Homologie auf; zwischen unterschiedlichen Varianten eines Denguevirus-Serotyps beträgt die Homologie dagegen über 90 Prozent. Die schweren Erkrankungen treten vor allem dann auf, wenn die Patienten zum zweiten Mal mit Dengueviren infiziert werden, jedoch nun mit einem anderen Serotyp als bei der Erstinfektion. Diese Patienten besitzen aufgrund der Primärinfektion dengueviruspezifische Antikörper, die teilweise mit den anderen Serotypen *kreuzreagieren*. Sie können sich an das E-Protein auf der Virusoberfläche

binden. Aufgrund einer geringen Affinität, bedingt durch die Unterschiede in der Aminosäuresequenz der Epitope, wirken sie aber nicht neutralisierend, sondern vermitteln den mit Antikörpern komplexierten Viren über *Interaktion mit Fc-Rezeptoren* auf Monocyten und Makrophagen eine bevorzugte, effizientere Aufnahme durch die Zellen; die kreuzreagierenden IgG-Moleküle wirken somit *infektionsverstärkend* (► Abbildung 14.14). Sie tragen entscheidend zur Auslösung des hämorrhagischen Denguefiebers beziehungsweise des Dengue-Schock-Syndroms bei.

Die Bindung sowohl der mit Antikörpern komplexierten wie der freien Dengueviren an die Makrophagenoberfläche vermittelt die Interaktion der Virusproteine mit dem Protein CLEC5A (*C-type lectin domain family 5, member A*, auch bekannt als *myeloid DAP12-associating lectin*, MDL-1). Dieses Oberflächenprotein fungiert nicht als Rezeptor für die Interaktion mit dem Denguevirus, ist aber an diesem Vorgang beteiligt. Folge ist die Einleitung einer Signalkaskade mit der Freisetzung einer großen Menge proinflammatorischer Cytokine. Blockiert man im Mausmodellsystem die Wechselwirkung zwischen Virus und dem CLEC5A durch CLEC5A-spezifische Antikörper, dann unterbleibt die Cytokinfreisetzung und auch die Erhöhung der Gefäßdurchlässigkeit wird verhindert.

Inwieweit die verschiedenen Aktivitäten der Nichtstrukturproteine zur Unterdrückung der IFN- $\alpha$  und - $\beta$  vermittelten Abwehrstrategien *in vivo* die Pathogenese der Erkrankung beeinflussen, ist unklar. Dies gilt auch für die *in vitro* gefundene Eigenschaft der Dengueviren, in infizierten Zellen die Expression der MHC-Klasse-I-Antigene zu verstärken. Die höhere Konzentration der MHC-Klasse-I-Proteine zusammen mit einer erhöhten Bindung der für NK-Zellen inhibitorisch wirkenden Rezeptoren führen dazu, dass die infizierten Zellen der durch NK-Zellen vermittelten Lyse entgehen können.

## Immunreaktion und Diagnose

IgM-Antikörper gegen die viralen E-Proteine werden ab dem fünften Tag nach der *Erstinfektion* mit Denguevirus in ELISA-Tests, Immunoblot und indirekten Immunofluoreszenz-Tests gefunden und bleiben über einen Zeitraum von zwei bis drei Monaten nachweisbar. IgG-Antikörper folgen, erreichen ihre maximale Konzentration etwa zwei bis drei Wochen nach der Infektion und persistieren wahrscheinlich lebenslang. Ein großer Prozentsatz der bei der Erstinfektion gebildeten Antikörper gegen das E-Protein ist nicht neutralisierend, aber kreuzreagierend mit anderen Serotypen der Dengueviren; nur ein relativ kleiner Anteil der IgG-Moleküle ist typspezifisch und wirkt neutralisierend. Neben der



humoralen Immunantwort sind vermutlich auch *cytotoxische T-Lymphocyten* für die Eliminierung des Virus aus dem Organismus wichtig. Bei verschiedenen Personen wurden cytotoxische T-Lymphocyten nachgewiesen, die denguevirusinfizierte Zellen lysieren konnten.

Bei *Zweitinfektionen* mit anderen Denguevirus-Serotypen ist die IgM-Antwort nur kurzfristig. Da jedoch bereits IgG-Antikörper gegen gruppenspezifische Epitope des E-Proteins vorliegen, wird ihre Synthese sehr schnell induziert und die IgG-Antikörper erreichen mehr als das zehnfache der Konzentrationen, die während der Erstinfektion nachweisbar waren.

Da die dengueviruspezifischen Antikörper mit anderen Flaviviren kreuzreagieren, ist insbesondere in Ländern, in denen viele verschiedene Vertreter dieser Viren endemisch sind, die Diagnose einer akuten Infektion über den Antikörpernachweis schwierig. Eindeutige Aussagen können daher meist nur durch einen Virusneutralisations-Test, den Nachweis viraler RNA mittels Polymerasekettenreaktion oder durch die *Isolierung der Viren* aus dem Blut Infizierter – Dengueviren lassen sich *in vitro* in verschiedenen kontinuierlichen Zelllinien (Vero- oder Babyhamster-Kidney-Zellen) vermehren – getroffen werden.

## Therapie und Prophylaxe

Bisher sind weder Impfstoffe zur Vorbeugung der Denguevirusinfektion noch geeignete antivirale Therapeutika verfügbar. Die Immunpathogenese durch infektionsverstärkende Antikörper, die mit dem hämorrhagischen Denguefieber und dem Dengue-Schock-Syndrom in Verbindung steht, gestaltet die Entwicklung geeigneter Vakzinen als sehr schwierig. Man hat allerdings inzwischen in Thailand mit finanzieller Unterstützung der Rockefeller-Stiftung attenuierte Viren für alle vier Serotypen entwickelt; sie sind als Lebendimpfstoff in klinischer Erprobung. Daneben steht die Bekämpfung der Mücken als Überträger der Infektion und ihrer Brutstätten im Vordergrund.

## Das Frühsommer-Meningoencephalitis-Virus (FSME-Virus)

### Epidemiologie und Übertragung

Die durch Zecken übertragenen Encephalitisviren lassen sich nach ihrer geographischen Verbreitung in zwei Gruppen einteilen: Die *östlichen zeckenübertragenen Encephalitisviren* findet man bevorzugt im asiatischen Teil Russlands und den Ländern der ehemaligen Sowjetunion, die *westlichen Subtypen* in den Ländern Zentral- und Osteuropas – insbesondere im europäischen Teil

Russlands – und in Skandinavien. Letztere sind auch als die Subtypen RSSEV (*Russian-Spring-Summer-Encephalitis-Virus*) und CEEV (*Central-European-Encephalitis-Virus*) des TBEV (*Tick-Borne-Encephalitis-Virus*) in der Literatur beschrieben. Verwandte Virustypen gibt es auch in Indien (*Kyasanur-Forest-Disease-Virus*). Das FSME-Virus ist der einzige Vertreter aus der Gruppe der zentraleuropäischen Encephalitisviren, der in *Mitteleuropa* verbreitet ist. Eng mit ihm verwandt ist das *Louping-III-Virus*, das Schafe in Großbritannien infiziert und dabei eine Encephalomyelitis verursachen kann; Erkrankungen beim Menschen mit dem Louping-III-Virus wurden nur in Einzelfällen beschrieben.

Endemisch tritt das FSME-Virus vor allem in Österreich (Kärnten) und Süddeutschland (Donaugebiet, Schwarzwald), in Slowenien, Kroatien, Ungarn, Tschechien, Slowakei, Polen, Litauen, Lettland, Estland und Rußland auf. In Deutschland liegt die Durchseuchung der Zecken in den FSME-Endemiegebieten bei 0,5 Prozent; sie kann in FSME-Risikogebieten bis zu drei Prozent erreichen. Das FSME-Virus wird durch Zeckenbisse, vor allem durch die Spezies *Ixodes ricinus*, des Gemeinen Holzbocks, übertragen, die in Wäldern und Auengebieten vorkommt. Befallene Zecken übertragen das Virus unmittelbar beim Saugakt, da die FSME-Viren in den Speicheldrüsen akkumulieren. Meist streift man die Zecken von Gräsern und Büschen im Vorbeigehen ab. Es ist ein Irrglaube, dass sich die Zecken von Bäumen auf die Opfer herabstürzen. Das FSME-Virus kann zur Aktivitätszeit der Zecken – vor allem in den Monaten von April bis September/Oktober – auf Menschen und Nagetiere übertragen werden. Innerhalb der Zeckenpopulation kann es auch transovariell auf die Nachkommen weitergegeben werden. Ein seltenerer Infektionsweg für den Menschen ist die Übertragung des FSME-Virus über Frischmilch und daraus hergestellte, nicht erhitzte Rohmilchprodukte, insbesondere von Schaf und Ziege. Diese Tiere können durch Zecken infiziert werden und geben das Virus in die Milch ab. Das Reservoir für FSME-Viren sind jedoch kleine Nagetiere. Die Infektion des Menschen ist eine Sackgasse, da sie die Weiterverbreitung des FSME-Virus unterbricht.

### Klinik

Im Vergleich zur Infektion mit osteuropäischen Typen der Encephalitisviren verläuft die Infektion mit dem mitteleuropäischen FSME-Virus relativ mild. 70 bis 90 Prozent der Fälle bleiben inapparent, die anderen 10 bis 30 Prozent der Infizierten entwickeln eine zumeist leichte Erkrankung ohne Folgeschäden. Zwischen dem Kontakt mit dem Virus und dem Auftreten der ersten Symptome vergehen ein bis zwei Wochen. Die ersten

Krankheitsanzeichen sind *grippeähnliche Symptome* wie *Fieber, Kopfschmerzen, Übelkeit* und *Lichtsensibilität*. Sie dauern etwa eine Woche. Während dieser Zeit können Viren aus dem Blut isoliert werden. Danach bessert sich das Befinden in der Mehrzahl der Fälle ganz oder, bei etwa zehn Prozent der Patienten, nur vorübergehend für etwa eine Woche. Die zweite Phase kann von einer milden Form der *Meningitis* (Entzündung der Hirn- oder Rückenmarkshäute; etwa 55 Prozent der Fälle) bis zu schweren Formen der *Meningoencephalitis* (Entzündung der Hirnhäute und des Gehirns; 35 Prozent der Fälle) mit Zittern, Schwindel, veränderter Wahrnehmung und Lähmungserscheinungen reichen. Bei Involvierung des Rückenmarks spricht man auch von einer *Meningomyelitis* (5 Prozent) oder *Meningomyeloencephalitis* (5 Prozent). Die Todesrate liegt bei etwa einem Prozent der Patienten mit schweren klinischen Verläufen. Rund 7 Prozent der Überlebenden der zweiten Infektionsphase haben neurologische Folgeerscheinungen wie Lähmungen, Sprachstörungen oder epileptische Anfälle.

## Pathogenese

Nach der Inokulation durch den Zeckenbiss infiziert das FSME-Virus an der Bissstelle vorhandene *Endothelzellen* und *Makrophagen* und wird durch sie zu den Lymphknoten transportiert, wo es geeignete Zielzellen für weitere Vermehrungszyklen findet. Aus dem lymphatischen System gelangen die Viren ins Blut. Hierdurch werden sie im Körper verbreitet und siedeln sich in den Zellen des reticulohistocytären Systems an, wo sie sich vermehren. Infizierte Makrophagen transportieren das Virus in das zentrale Nervensystem. Neben einer Spezifität für die Infektion von Lymphocyten hat das FSME-Virus einen ausgeprägten *Neurotropismus*. Durch die Infektion schwillt das Gehirn ödematös an und es treten lokal begrenzte Blutungen auf. Histopathologisch lassen sich entzündliche Veränderungen in der Umgebung der Blutgefäße, neuronale Degenerationen und Nekrosen im Bereich des Hirnstammes, der basalen Ganglien, des Rückenmarks sowie der Groß- und Kleinhirnrinde erkennen. Besonders empfindlich für die Infektion sind die vorderen motorischen Rückenmarkszellen im Bereich der Halswirbelsäule. Das erklärt auch die Lähmungserscheinungen, die bei myelitischen Verläufen bevorzugt in den oberen Extremitäten auftreten.

Das E-Protein des FSME-Virus scheint der entscheidende Parameter für die Virulenz der unterschiedlichen Virusisolate zu sein: Die Veränderung einer Aminosäure (Tyrosin an Position 384 zu Histidin) kann die Virulenz der Infektion entscheidend beeinflussen. Neben virus-spezifischen Merkmalen können aber auch genetische Unterschiede der infizierten Wirte die Ausprägung der

Erkrankung und ihre Schwere mit beeinflussen: Eine Studie in Litauen beschreibt, dass schwere mit Encephalitis verbundene Infektionen statistisch gehäuft bei Patienten mit genetischen Defekten im Gen für den Chemokinrezeptor CCR5 auftreten.

## Immunreaktion und Diagnose

Das FSME-Virus lässt sich in *bebrüteten Hühnereiern*, in *embryonalen Hühnerzellkulturen* oder auch Säugerzelllinien vermehren. Die Isolierung aus Patienten ist aber sehr schwierig. Die Diagnose der akuten Infektion erfolgt durch den Nachweis von virus-spezifischen IgM-Antikörpern in ELISA-Tests aus Blut und/oder Liquor. Der Nachweis der viralen Genome durch die Polymerasekettenreaktion ist aus Blut und vor allem Liquor möglich, gelingt im späteren Verlauf der Infektion aber meist nicht mehr. Während der Infektion werden IgG-Antikörper gebildet, die virusneutralisierend sind und lebenslang nachweisbar bleiben.

## Therapie und Prophylaxe

Es gibt einen Totimpfstoff, der aus gereinigten und durch Formalinbehandlung *inaktivierten Viruspartikeln* hergestellt wird, die beispielsweise in primären embryonalen Hühnerzellen gezüchtet werden. Die Vakzine enthält meist als Adjuvans Aluminiumhydroxid. Sie zeigt eine sehr gute Serokonversionsrate und Schutzwirkung nach der Grundimmunisierung (drei Impfungen), die drei bis fünf Jahre anhält. Danach ist eine Auffrischungsimpfung in regelmäßigen Abständen erforderlich. Geimpft werden bevorzugt Personen in Hochendemiegebieten sowie Bevölkerungsgruppen, die sich aus beruflichen oder sonstigen Gründen viel in Wäldern und Wiesen aufhalten und ein hohes Risiko haben, von Zecken gebissen zu werden. Die früher durchgeführte post-expositionelle passive Immunisierung wird nicht mehr empfohlen, nachdem sich bei Kindern gezeigt hatte, dass diese den Infektionsverlauf sogar negativ beeinflusst. Eine post-expositionelle aktive Impfung innerhalb von drei bis vier Tagen nach einem nachweislichen Zeckenbiss wird derzeit diskutiert. Wirksame antivirale Mittel bei symptomatischen FSME-Infektionen stehen nicht zur Verfügung.

## Das Hepatitis-C-Virus

### Epidemiologie und Übertragung

Das Hepatitis-C-Virus wurde lange Zeit den sogenannten *NonA-/NonB-Hepatitisviren* zugeordnet. 1989 gelang es dann Daniel W. Bradley, das Genom dieser Viren



## Die Identifizierung des Hepatitis-C-Virus

Die Identifizierung und Charakterisierung des Hepatitis-C-Virus erfolgte mit molekularbiologischen Methoden. Man ging von dem Blut eines experimentell mit Patientenblut infizierten Schimpansen aus und isolierte daraus die RNA. Von der RNA stellte man cDNA-Klone her. Die darin codierten Proteine wurden exprimiert. Unter ihnen versuchte man solche zu identifizieren, die mit Seren von Patienten mit chronischer NonA-/NonB-Hepatitis reagierten. Der ent-

sprechende DNA-Klon wurde sequenziert. Nun konnte man Oligonucleotide herstellen und die RNA-Genome im Blut des Schimpansen durch Polymerasekettenreaktion amplifizieren und schließlich vollständig sequenzieren. Im letzten Schritt stellte man dann monoklonale Antikörper gegen die viralen Proteine her, die auch eine Identifizierung der Viruspartikel erlaubten.

zu charakterisieren. Heute sind sechs Genotypen des Hepatitis-C-Virus aus verschiedenen geographischen Regionen bekannt; ihre Nucleinsäuresequenzen sind zu 31 bis 34 Prozent unterschiedlich. Die Genotypen unterteilt man wiederum in verschiedene Subtypen. In Europa findet man den Genotyp 1b am häufigsten, gefolgt von 2a, 3b, 2c und 3a; in Nordamerika hingegen ist der Genotyp 1a am häufigsten verbreitet, gefolgt von 1b. Die Genotypen 4 und 5 wurden bisher nur in Afrika gefunden, der Genotyp 6 hingegen in einigen Regionen Asiens (China, Korea). Weltweit schätzt man die Zahl der Personen, die chronisch mit dem Hepatitis-C-Virus infiziert sind, auf knapp 200 Millionen. In Deutschland liegt die Prävalenz zwischen 0,5 und 0,6 Prozent, das sind etwa 400 000 bis 600 000 Infizierte.

Das Hepatitis-C-Virus kommt, soweit bekannt, nur beim Menschen vor und wurde vor der Einführung geeigneter Testverfahren meist durch *Bluttransfusionen* oder *Blutprodukte* übertragen. Das Restrisiko, sich heute durch Erhalt einer positiven Blutkonserve zu infizieren, beträgt 1:100 000. Bis zu 70 Prozent aller Neuinfektionen mit dem Hepatitis-C-Virus treten nun bei *Drogenabhängigen* auf und werden durch das *gemeinsame Benutzen von Spritzen* verursacht. Weitere Übertragungsmöglichkeiten sind in seltenen Fällen *Sexualverkehr* sowie *Haushaltskontakte* mit infizierten Patienten bei mangelhaften hygienischen Verhältnissen. Das Krankenhauspersonal ist durch Verletzungen mit Kanülen gefährdet. Bei etwa 30 Prozent der Erkrankungsfälle kennt man die Infektionsquelle allerdings nicht. Das Virus kann während der Schwangerschaft oder bei Geburt von der Mutter auf das Kind übertragen werden. Allerdings wird eine Hepatitis-C-Virus-Infektion der werdenden Mutter nicht als Indikation für einen Kaiserschnitt angesehen.

## Klinik

Nach einer durchschnittlichen Inkubationsperiode von sechs bis acht Wochen tritt eine im Allgemeinen leicht verlaufende Leberentzündung auf. Etwa 75 Prozent der Infektionen verlaufen inapparent, schwere Verläufe sind selten. Akute Infektionen mit klinischer Symptomatik haben aber eine bessere Ausheilungsprognose. Bei bis zu 80 Prozent aller Infizierten entstehen *chronisch-persistierende* oder *chronisch-reaktivierende* Hepatitiden. Im Blut dieser Patienten kann man Virus-RNA mit den heutigen ultrasensitiven PCR-Methoden persistierend nachweisen. Die chronischen Infektionen sind durch erhöhte Transaminasespiegel gekennzeichnet, die aber unduellieren und auch zeitweise normal sein können. Je aktiver die Infektion ist, desto höher sind aber die Werte. Nur wenige Patienten, die eine chronische Infektion etabliert haben, zeigen eine spontane Eliminierung des Erregers; dies findet man jährlich bei nur 0,5 bis 0,74 Prozent der Patienten. In zehn bis zwanzig Prozent der chronischen Fälle entsteht über die Jahre eine *Zirrhose*, bei etwa vier Prozent von diesen im Lauf von Jahrzehnten ein *primäres Leberzellkarzinom*. Eine gleichzeitige Infektion mit dem humanen Immundefizienzvirus fördert die Entstehung der Zirrhose. Weitere Komplikationen sind *Periarteriitis nodosa*, membranproliferative *Glomerulonephritis* und das *idiopathische Sjögren-Syndrom*. Dies ist durch zirkulierende gemischte Kryoglobuline (mixed cryoglobulins, MCs) bedingt, die als eine Folge der Expansion von B-Zell-Klonen angesehen werden, die pathogen wirkendes IgM mit Rheumafaktor-Aktivität produzieren.

## Pathogenese

Das Virus gelangt vorwiegend durch kontaminiertes Blut oder Blutprodukte direkt in den Kreislauf, wird



## Das Hepatitis-G-Virus

Das Hepatitis-G-Virus wurde ursprünglich von Friedrich Deinhard isoliert. 1967 inokulierte er Krallaffen mit dem Serum eines an Hepatitis erkrankten Chirurgen (G. Barker, entsprechend seiner Initialen wird das Virus auch gelegentlich GB-Virus genannt) und konnte aus den infizierten Affen ein Virus isolieren. 1995 wurde das Genom dieses Virus von Scott Muerhoff und Mitarbeitern sequenziert, aufgrund der Anordnung seiner Gene ordnete man es in die Familie der Flaviviren ein. Da man am 5'-Ende des RNA-Genoms eine IRES-Sequenz identifizierte und Gene für zwei Glycoproteine (E1 und E2) vorhanden sind, ist es wohl mit dem Hepatitis-C-Virus verwandt. In der Folge konnte man Infektionen mit diesem Erreger, den man als Hepatitis-G-Virus bezeichnete, in vielen Menschen nachweisen, die auf die Infektion mit der Bildung spezifischer Antikörper reagierten. Es konnten inzwischen verschiedene Subtypen der Hepatitis-G-

Viren identifiziert werden. Die anfängliche Vermutung, dass Hepatitis-G-Viren beim Menschen eine Leberentzündung verursachen, hat sich nicht bestätigt. Wegen des hohen Durchsechungsgrades – bis zu vier Prozent der Blutspender erwiesen sich als virämisch – haben sich diese Viren gelegentlich auch aus Hepatitis-Patienten isolieren lassen. Sowohl die akuten als auch die persistierenden Infektionen verlaufen offensichtlich asymptomatisch. Es gibt sogar Hinweise, dass bei Patienten, die mit dem humanen Immundefizienzvirus und gleichzeitig mit dem Hepatitis-G-Virus infiziert sind, die HIV-Infektion einen abgeschwächten Verlauf zeigt. Dafür verantwortlich sollen die Eigenschaften des E2-Proteins der Hepatitis-G-Viren sein, welche – möglicherweise auf der Basis ähnlicher Epitope mit der Folge von kreuzreagierenden Immunreaktionen – den Replikationszyklus der humanen Immundefizienzviren hemmen.

über infizierte Makrophagen zur Leber transportiert und infiziert hier die *Hepatocyten*. Die Folge ist eine *Leberentzündung mit Zellnekrosen*. Bei der Hepatitis C scheint vor allem ein durch die Immunreaktion verursachter Zellschaden vorzuliegen. Das Virus selbst ist nur wenig cytopathogen, wie bei der kontinuierlichen Replikation des gesamten Virusgenoms in verschiedenen Zelltypen *in vitro* gezeigt werden konnte. Interferon- $\alpha$  wird von den Leberzellen produziert und sezerniert. Elektronenmikroskopisch beobachtete man im Cytoplasma der infizierten Leberzellen tubuläre Strukturen. Über die Details der Pathogenese der akuten Infektion ist wenig bekannt. Bei der chronischen Infektion bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe aus, die sich in den Glomerula der Nieren ablagern können. Man macht sie für die membranproliferative Glomerulonephritis bei diesen Patienten verantwortlich.

Das Hepatitis-C-Virus hat eine hohe Mutationsrate und verändert sich im Verlauf der Infektion im Patienten. Ständig bilden sich neue *Quasispezies*. Die Basenveränderungen entstehen bei der Replikation mit einer Wahrscheinlichkeit von  $2 \times 10^{-3}$ . Sie sind darauf zurückzuführen, dass die RNA-abhängige RNA-Polymerase des Virus, anders als zelluläre DNA-Polymerasen, die Lesegenauigkeit nicht überprüfen kann. Die Einteilung der Genotypen und Subtypen des Hepatitis-C-Virus beruhte ursprünglich auf der Sequenz des NS5-Gens. Variationen finden sich jedoch in allen Bereichen. Die nichttranslatierte Region der IRES am 5'-Ende des Genoms ist am stärksten konserviert. Die Mutationen in

den viralen Genen sind nicht einheitlich verteilt. Es gibt hypervariable und variable Regionen sowie relativ konstante Sequenzen. Die hypervariablen Regionen liegen im aminoterminalen Bereich des E2-Proteins zwischen den Aminosäuren 1 bis 27 und 90 bis 97. Sie werden durch Antikörper erkannt und sind so einem starken immunologischen Selektionsdruck ausgesetzt. Im Verlauf einer chronischen Infektion verändert das Virus beide Epitope so, dass die Antikörper sie nicht mehr erkennen. In ähnlicher Weise findet man auch, dass sich durch die Mutationen die Epitope verändern, die von cytotoxischen T-Lymphocyten erkannt werden. Vermutlich entstehen durch diesen immunologischen Selektionsdruck Virusvarianten, die eine chronische Infektion herbeiführen können. Zusätzlich hat man in den Nichtstrukturproteinen der Flaviviren etliche Aktivitäten gefunden, die es den Erregern – so auch den Hepatitis-C-Viren – ermöglichen, die Abwehrstrategien der unspezifischen Immunabwehr zu unterlaufen (► Abschnitt 14.5.3). Im Fall der Hepatitis-C-Viren wurde zusätzlich entdeckt, dass die NS3/4A-Protease die zellulären Faktoren Cardif (*CARD adaptor inducing interferon  $\beta$* ) und TRIF (*Toll-interleukin-1 receptor domain containing adaptor*) spaltet, welche die IRFs (*interferon regulatory factor*) aktivieren und die Synthese von IFN- $\alpha$  und - $\beta$  einleiten. Das Protein NS5A hemmt *in vitro* die Proteinkinase PKR, die durch IFN- $\alpha$  aktiviert wird und die Translation hemmt. Ob dieser Mechanismus zur Aufhebung der Interferonwirkung auch *in vivo* stattfindet, ist allerdings – wie auch in den anderen genannten

Beispielen – nicht gezeigt. Auch weiß man nicht, ob bestimmte Mutationen für die Virulenz der verschiedenen Quasispezies wichtig sind. Einige der Subtypen scheinen sich in ihrer Empfindlichkeit für Interferon- $\alpha$  zu unterscheiden, wobei die Genotypen 1 und 4 sich als besonders resistent erweisen.

**Primäres Leberzellkarzinom** Auf welche Weise das Hepatitis-C-Virus die Krebsentstehung fördert, ist nicht endgültig geklärt. Die Zeitspanne zwischen der Infektion und der Ausbildung eines primären Leberzellkarzinoms beträgt etwa 20 bis 40 Jahre. Ausgangspunkt ist die chronische Infektion in Jugendlichen und Erwachsenen. Es wird vermutet, dass für die Entstehung der Karzinome die über Jahre andauernden Entzündungsprozesse in der Leber verantwortlich sind. Durch die Infiltration mit immunologisch aktiven Zellen und die von diesen sezernierten Cytokine kommt es zur Zerstörung von Leberzellen – wobei die Schädigung der Zellen durch bestimmte Cofaktoren, wie beispielsweise Alkoholkonsum, verstärkt wird. In Einzelfällen können bei diesen Vorgängen Mutationen im Zellgenom stattfinden, die dann die Zellen zur kontinuierlichen Proliferation veranlassen und zur Entstehung des Leberzellkarzinoms beitragen. Auch gibt es Hinweise, dass bestimmte Sequenzen des C-Proteins mit dem zellulären Ras-Protein wechselwirken und dass hierdurch die Transformation eingeleitet wird.

Die perinatale Übertragung des Virus von infizierten Müttern auf die neugeborenen Kinder spielt im Gegensatz zu den mit Hepatitis-B-Virus assoziierten Karzinomen beim Hepatitis-C-Virus nur eine geringe Rolle (► Abschnitt 19.1). Doppelinfektionen mit Hepatitis-B- und Hepatitis-C-Virus kommen in Japan bei bis zu 18 Prozent der primären Leberzellkarzinome vor. Gleichzeitige Infektionen von Hepatitis-B-, Hepatitis-C- und Hepatitis-D-Viren bewirken eine Verkürzung der Inkubationszeit bis zum Auftreten des Karzinoms.

## Immunreaktion und Diagnose

Für die Diagnose einer Hepatitis-C-Infektion können erhöhte *Transaminasenwerte* wegweisend sein, wobei diese keine nähere Zuordnung der Erreger erlaubt. Den wichtigsten Ansatz zur Diagnose einer Hepatitis-C-Virus-Infektion stellen ELISA-Tests dar, die als Suchtests eingesetzt werden. Sind diese positiv, kann auf eine frische, chronische oder abgelaufene HCV-Infektion geschlossen werden. Eine weitere serologische Differenzierung ist nicht möglich. Infolge der hohen Sensitivität dieser Suchtests wurden Immunoblot- oder analoge Verfahren als Bestätigungstest eingeführt, um unspezifische Ergebnisse auszuschließen. Mittlerweile verwendet

man den quantitativen Nachweis der viralen RNA-Genome mittels RT-PCR als Bestätigungstest, zumal dieser sofort die Höhe der Viruslast liefert. Als Material wird Serum oder Plasma verwendet, Leberbiopsien hingegen nur in Ausnahmefällen. Zusätzlich wird über Polymerasekettenreaktion und meist über Hybridisierungstests der Genotyp bestimmt, da dieser für die Länge der Therapiedauer entscheidend ist. Da die Phase, in der man eine akute Hepatitis-C-Infektion serologisch nicht eindeutig diagnostizieren kann, mehrere Monate beträgt, werden automatisierte Tests zum Nachweis der viralen C-Proteine eingeführt, um diese zu verkürzen.

Bei ELISA-Tests oder im Immuno-Blot setzt man rekombinante Virusproteine zum Nachweis spezifischer Antikörper ein. Bei der akuten Infektion findet man IgM-Antikörper gegen das NS4- und das C-Protein. Da diese jedoch persistieren können beziehungsweise mit dem Niveau der Leberschädigung und auch mit dem Genotyp korrelieren, sind IgM-Tests diagnostisch ohne größeren Wert. Auch das ist ein Hinweis darauf, dass bei der chronischen Infektion virale Genexpression und Proteinsynthese ständig erfolgen. IgG-Antikörper gegen das C-Protein lassen sich wenige Tage bis Wochen nach dem Beginn der Symptome nachweisen, solche gegen die Nichtstrukturproteine (NS3, NS4, NS5) erst später. Immunglobuline gegen die Membranproteine E1 und E2 entdeckt man nur bei etwa zehn Prozent der akuten Infektionen. Es ist unbekannt, ob diese Antikörper nicht gebildet oder aufgrund der Variabilität der Aminosäuresequenz und der mangelnden Empfindlichkeit der Testsysteme nicht erfasst werden. Cytotoxische T-Lymphocyten kann man nach ihrer Stimulierung durch Peptide, die von Virusproteinen abgeleitet sind, im Blut der Patienten nachweisen.

## Therapie und Prophylaxe

Einen Impfstoff gegen das Hepatitis-C-Virus gibt es nicht, wohl aufgrund der Quasispezies-Problematik. Die Anwendung von Interferon- $\alpha$ , vor allem die Verwendung von Interferon- $\alpha$ -Präparaten mit Depotwirkung (pegyliertes Interferon), in Kombination mit Ribavirin hat sich für die Behandlung der chronischen Infektionen bewährt. Bei Therapiebeginn in der akuten Infektionsphase erreicht man mit Interferon- $\alpha$  alleine Heilungsraten über 90 Prozent. In vielen Fällen führt die Therapie der chronischen Infektion zur deutlichen Absenkung der Viruslast im peripheren Blut, es ist dort auch mit ultrasensitiven Methoden nicht mehr nachweisbar. Es gibt jedoch sehr viele Therapieversager; insbesondere Infektionen mit den Genotypen 1 und 4 erweisen sich als weitgehend resistent. Deshalb werden mit den Genotypen 1 und 4 infizierte Patienten derzeit



für 48 Wochen behandelt, wobei nach der zwölften Woche auf Therapieerfolg getestet wird (entsprechende Abnahme der Viruslast in der quantitativen PCR). Erfolgt dieses Ansprechen nicht, wird die Therapie abgebrochen. Bei Vorliegen einer Infektion mit den anderen Genotypen werden die Patienten dagegen 24 Wochen lang behandelt. Als neue Medikamente kommen Hemmstoffe der viralen Protease NS3, beispielsweise *Boceprevir*, eine von Peptiden abgeleitete Substanz, derzeit in den klinischen Einsatz. Trotz dieser Fortschritte in der medikamentösen Therapie sind die Folgen der chronischen Hepatitis-C-Virusinfektionen für etwa 20 Prozent aller Lebertransplantationen verantwortlich.

### 14.5.6 Human- und tierpathogene Flaviviren

#### Das West-Nile-Virus

Ein Virus mit zoonotischem Potenzial ist das *West-Nile-Virus*, das ursprünglich nur in der Alten Welt (asiatische und afrikanische Länder, Rumänien) weit verbreitet war. Seit 1999 ist es auch auf dem amerikanischen Kontinent aufgetreten und hat sich in den Folgejahren auf dem ganzen nordamerikanischen Kontinent ausgebreitet. Das West-Nile-Virus reiht sich in den *Japanese-Encephalitis-Complex* ein, zu dem die *Japanese-Encephalitis*-, *St. Louis-Encephalitis*-, *Murray-Valley*- und *Kunjin-Viren* gehören. Letztere sind auf dem australischen Kontinent verbreitet.

#### Epidemiologie und Übertragung

Das West-Nile-Virus wird von ornithophilen Mückenarten, insbesondere von *Culex univittatus* und *C. pipiens*, zwischen Vögeln übertragen. Vermutlich weisen verschiedene Vogelarten erhebliche Unterschiede in der Empfänglichkeit für Infektionen mit dem West-Nile-Virus auf: Rabenvögel scheinen besonders empfänglich zu sein. Es wurde gezeigt, dass der Erreger zumindest unter Laborbedingungen auch unter den Mücken direkt weitergegeben werden kann, wenn zwei Mücken (eine infizierte und eine nicht infizierte) gleichzeitig Blut desselben Vogels saugen. Daneben kann das Virus aber auch über Aerosole unter den Vögeln weitergeben werden. Das Virus vermehrt sich in den für die Infektion empfänglichen Vögeln und liegt im Blut in Konzentrationen vor, die eine Übertragung durch Mücken erlauben. Durch sie wird das Virus gelegentlich auch auf andere Wirte, wie Pferde und auch Menschen übertragen. Ob die Vögel eine persistierende Infektion etablieren kön-

nen, ist unbekannt. Die intra- und interkontinentale Verbreitung des Virus erfolgt durch infizierte Zugvögel. Mit dem West-Nile-Virus infizierte Menschen können den Erreger über Blut- und Organspenden sowie über die Muttermilch übertragen.

#### Klinik

**Mensch** Nach einer Inkubationszeit von drei Tagen bis zwei Wochen entwickeln die Patienten *grippeähnliche Symptome* mit Fieber, Kopf-, Rücken-, Gelenk-, und Muskelschmerzen. Übelkeit, Durchfall und generelle Lymphknotenschwellungen werden in einigen Fällen zusätzlich beobachtet, vor allem bei Kindern findet man auch Anzeichen eines Hautausschlags. Bei schweren Verläufen, die man gehäuft bei älteren Patienten findet, schließen sich an diese Erkrankungsphase Leber- und Herzmuskelentzündungen sowie *Encephalitiden* an. Etwa fünf bis zehn Prozent der Patienten mit neurologischen Symptomen versterben.

**Tiere** Die Infektion der Vögel verläuft systemisch und resultiert auch in einer *Encephalomyelitis*, extraneuronale Läsionen sind sehr häufig. So findet man Myocarditiden, Muskeldegenerationen, und lymphozytäre Infiltrationen in verschiedensten Organen, wie Pankreas, Lunge und Leber. Eine Atrophie der Bursa fabricii ist ebenfalls häufig. Daneben sind klinisch inapparente Infektionen typisch. Unter den Vögeln gibt es große Unterschiede in der Empfänglichkeit. Raben- und Greifvögel gelten als hochempfänglich und weisen häufig schwere Krankheitsbilder auf; Monitoringprogramme sollten also vor allem diese Vögel einschließen.

Obwohl in den USA eine große Zahl von Pferden infiziert ist, ist die klinisch inapparente Infektion auch in dieser Spezies die Regel. Infektionsversuche mit West-Nile-Virus-infizierten Moskitos führten nur bei etwa zehn Prozent der exponierten und infizierten Pferde zu klinischen Symptomen. Beim Pferd findet man infolge einer Poliomeningoencephalitis im Unterschied zu den Infektionen bei Vögeln fast ausschließlich neurologische Symptome, andere Manifestationen werden praktisch nicht beobachtet.

#### Pathogenese

Bei der Infektion des Menschen gelangt das West-Nile-Virus durch den Mückenstich in die Blutbahn und bindet sich an Integrine (Integrin  $\alpha_v\beta_3$ ) auf der Oberfläche von Monocyten, Makrophagen und Endothelzellen und breitet sich so im Organismus aus; daneben ist auch die Wechselwirkung mit den Proteinen ICAM-3 und DC-SIGN beschrieben. Zu den Details der Pathogenese gibt



## Der Rezeptor CCR5: Freund oder Feind bei Virusinfektionen?

Der Chemokinrezeptor CCR5 sorgte vor einigen Jahren für großes Aufsehen: Man identifizierte ihn als einen Corezeptor, an den sich das Humane Immundefizienzvirus an die Oberfläche von Monocyten und Makrophagen bindet und die Infektion einleitet (► Kapitel 18.1). Die Wichtigkeit wurde zusätzlich durch den Befund unterstrichen, dass Personen mit genetischen Defekten des CCR5-Gens nicht mit dem Humanen Immundefizienzvirus infiziert werden und

weitgehend resistent sind. Diese Daten bilden die Grundlage für die Entwicklung neuer Therapeutika (Maravivoc), welche die Interaktion zwischen dem Humanen Immundefizienzvirus und dem CCR5-Protein auf der Zelloberfläche blockieren und die Infektion damit verhindern sollen. Der Einsatz dieser Hemmstoffe könnte jedoch die Empfänglichkeit für die Entwicklung schwerer Infektionen mit dem West-Nile- und dem FSME-Virus drastisch erhöhen.

es nur wenige Daten. Ähnlich wie bei den FSME- gilt auch bei den West-Nile-Viren, dass Patienten mit genetischen Defekten des *Chemokinrezeptors CCR5* ein erhöhtes Risiko haben, neurologische Symptome und somit schwere Erkrankungen infolge der Infektion zu entwickeln. Möglicherweise sind dieser Rezeptor und seine Wechselwirkung mit den Liganden für die Regulierung der Einwanderung von Makrophagen und T-Lymphocysten in das infizierte Gewebe verantwortlich.

### Immunreaktion und Diagnose

Die Diagnose erfolgt über RT-PCR, durch Züchtung des Erregers im Hühnerei oder in der Zellkultur mit anschließender Virusisolierung. Das Virus agglutiniert Gänseerythrocyten und kann daher im Hämagglutinations- und Hämagglutinationshemmtest nachgewiesen werden. IgM- und IgG-Antikörper gegen die viralen Strukturproteine kann man im ELISA nachweisen.

### Bekämpfung und Prophylaxe

Eine Immunprophylaxe ist bisher noch nicht verfügbar. In den Großstädten werden Wasseransammlungen zur Reduktion der Mücken zahlen mit Pestiziden behandelt. Der Wert dieser Maßnahme ist allerdings sehr umstritten. Aufgrund der Todesfälle werden in den USA Blutspenden auf das Vorhandensein des West-Nile-Virus untersucht.

## 14.5.7 Tierpathogene Flaviviren

Die tierpathogenen Flaviviren lassen sich in zwei Gruppen einteilen: Die Vertreter der einen Gruppe werden von Arthropoden übertragen (West-Nile-Virus, Lou-

ping-Ill-Virus und FSME-Virus), die Infektionen durch Viren der zweiten Gruppe erfolgen unabhängig von Arthropoden (Pestiviren). Wirtschaftlich bedeutend als Tierpathogene sind die Pestiviren, vor allem das *Virus der klassischen Schweinepest* und das *Virus der bovinen Virusdiarrhoe*. Das *West-Nile-Virus* kann fatale Infektionen beim Menschen verursachen (► Abschnitt 14.5.6). Das *FSME-Virus* kann in sehr seltenen Fällen auch Tierarten wie Hunde oder Wiederkäuer infizieren und in diesen Krankheitsbilder verursachen, die denjenigen der menschlichen Infektion gleichen (► Abschnitt 14.5.5). Die Verbreitung des *Louping-Ill-Virus* ist auf Großbritannien beschränkt. Es ähnelt dem FSME-Virus und wird wie dieses durch Zecken übertragen. Es verursacht bei Schafen eine Encephalitis. Menschen können – wenn auch außerordentlich selten – mit diesem Virus infiziert werden und erkranken. Aufgrund der geringen Bedeutung dieser Viren wird hier auf eine weitergehende Beschreibung verzichtet.

### Das Virus der klassischen Schweinepest (Classical-Swine-Fever-Virus)

Im Genus *Pestivirus* findet man eine Reihe tierpathogener Flaviviren, die wirtschaftlich bedeutsame Infektionskrankheiten beim Schwein und bei Wiederkäuern hervorrufen.

Hierzu zählt in erster Linie das *Classical-Swine-Fever-Virus* (CSFV), dessen Infektionen bei Schweinen die *klassische* („europäische“) *Schweinepest* verursachen. Diese ist von einer ähnlichen Erkrankung, der afrikanischen Schweinepest, klinisch nicht zu unterscheiden. Letztere wird durch das *African-Swine-Fever-Virus*, ein DNA-Virus aus der neuen Familie der Asfarviridae, hervorgerufen (► Abschnitt 19.7).



## Das West-Nile-Virus als „Neues Virus“ auf dem amerikanischen Kontinent

Im Jahr 1999 hat das West-Nile-Virus in New York eine Reihe von tödlichen Enzephalitiden beim Menschen verursacht. Dies erregte damals insbesondere auch deswegen großes Aufsehen, weil das Virus als klassischer Erreger der Alten Welt auf dem amerikanischen Kontinent und im Stadtbereich von New York zuvor völlig unbekannt war. Das West-Nile-Virus infiziert gewöhnlich Vögel (Singvögel, Krähen), die das Reservoir für die Erreger darstellen. Sie können es offensichtlich über weite Strecken transportieren. Durch Stiche von Mückenarten der Gattung *Culex* kann es auf Pferde und Menschen übertragen werden. Das Virus breitete sich in nur einem Jahr über den gesamten Osten der Vereinigten Staaten aus. In den Jahren nach 1999 wurden von Erkrankungen und Todesfällen durch Infektionen mit dem West-Nile-Virus vor allem in den Oststaaten der USA berichtet. Bereits im Jahr 2002 hatte sich der Erreger in über 39 Staaten verbreitet und es wurden 4 156 Infektionen bei Menschen dokumentiert, von denen 248 verstarben. Die Todesfälle betrafen vor allem Personen höheren Alters (das Durchschnittsalter der Verstorbenen beträgt 79 Jahre). Des Weiteren sind in diesem Zeitraum über 3 400 bestätigte Fälle der Infektion bei Pferden erfasst worden, die ein ähnliches Krankheitsbild entwickeln wie der Mensch.

Den Höhepunkt erreichte die Infektionswelle 2003, als in allen Staaten der USA bei fast 10 000 Patienten eine West-Nile-Virusinfektion diagnostiziert wurde. Seitdem werden flächendeckend verendete Vögel, insbesondere die hoch empfänglichen Krähen, darauf untersucht, ob sie mit den West-Nile-Viren infiziert sind. In den Folgejahren sanken die Werte auf 3 000 bis 4 000 Infizierte jährlich. Zur Risikominimierung wird eine sehr intensive und kostspielige Überwachung betrieben, die fünf Ebenen einschließt: Mücken, Sentinel-Hühnerherden, erkrankte Vögel, erkrankte andere Tiere und Menschen. Aufgrund der Infektionswelle und des Risikos der Übertragung der Infektion durch kontaminierte Blutspenden werden ab dem Jahr 2003 alle Blutspenden in den USA auf das Vorhandensein des West-Nile-Virus mittels Polymerasekettenreaktion getestet; zusammen mit dem Rückgang der Zahl an Neuinfektionen sanken auch die Nachweiszahlen des West-Nile-Virus in Blutspenden von 818 im Jahr 2003 auf unter 200 im Jahr 2008 ab. In europäischen Blutspendern ist das West-Nile-Virus wesentlich seltener nachweisbar; in Deutschland fand man es mit einer Antikörperprävalenz von nur 0,03 Prozent ohne Nachweis viraler RNA in Blutspenden.

## Epidemiologie und Übertragung

Das Bild der klassischen Schweinepest ist durch *schwere allgemeine* sowie *hämorrhagische Erkrankungssymptome* gekennzeichnet. Neben dieser schweren Verlaufsform treten sehr häufig – heutzutage beinahe ausschließlich – klinisch atypisch verlaufende Infektionen auf, die nur wenig eindeutige und zum Teil milde Symptome zeigen. Dies erschwert die schnelle klinische Verdachtsdiagnose und kann angesichts der hohen Kontagiosität des Virus zur schnellen Ausbreitung der Seuche beitragen.

Die Übertragung erfolgt vor allem durch *direkten Tierkontakt*, insbesondere durch Zukauf von Schweinen in Mastbetriebe, die eine subklinische persistierende Infektion aufweisen oder nur abgeschwächte Symptome zeigen. Mit Erregern *kontaminiertes Tierfutter* ist ein weiterer häufiger Weg zur Einschleppung der Viren. Meist erfolgt dies durch Küchenabfälle, die das Fleisch infizierter Tiere enthalten. Deshalb ist das Verfüttern von Küchenabfällen an Schweine strikt verboten. In jüngster Zeit sind Schweinepestausbüche aufgetreten, bei welchen die Viren durch Wildschweine übertragen wurden. Auch hier spielte der direkte Kontakt (Weidemit Wildschweinen) oder das Verfüttern von Wild-

schweinfleisch (schweinehaltende Jäger und Wilderer) die entscheidende Rolle.

Epidemiologisch von besonderer Bedeutung sind Ferkel, die nach intrauteriner Übertragung ausgehend von infizierten Mutterschweinen persistierende Infektionen entwickeln und die Erreger im Blut haben. Diese Tiere scheiden die Viren permanent aus (Dauerausscheider) und können dabei über mehrere Monate asymptomatisch bleiben. Sie entwickeln aber schließlich klinische Symptome und werden nicht älter als 16 Monate.

## Klinik

Die klassische Schweinepest ist durch ein perakutes bis akutes Krankheitsbild gekennzeichnet, welches von *respiratorischen* oder *gastrointestinalen Störungen* begleitet werden kann. Auch zentralnervöse Symptome wie Zittern, Lähmungen und Krämpfe sind beschrieben worden. In der Herde kann die Morbidität bis zu 100 Prozent betragen. Die atypischen oder chronischen Infektionen verlaufen weniger dramatisch und können daher leicht übersehen werden. Bei tragenden Sauen kann es zu Aborten oder zum Absetzen mumifizierter oder lebensschwacher Ferkel kommen.



## Bekämpfung der Schweinepest in der EU

Die Länder der Europäischen Gemeinschaft bekämpfen wirtschaftlich bedeutsame Tierseuchen gemeinsam und erlassen für alle Mitgliedsländer bindende Vorschriften. Dazu gehören auch die Maßnahmen zur Tilgung der klassischen Schweinepest. Eine Infektion kann auf Herdenebene einfach und schnell durch Antikörpernachweis bestätigt werden. Eine Impfung ist nicht gestattet, da sie eine einfache serologische Erkennung infizierter Schweineherden unmöglich machen würde. Aufgrund der hohen Kontagiosität der Viren werden daher bei einem Ausbruch der klassischen Schweinepest alle Tiere eines betroffenen Bestandes getötet, die Kadaver unschädlich beseitigt sowie in umfassenden epidemiologischen Erhebungen mögliche Tierbewegungen aus diesem Bestand verfolgt und ansteckungsverdächtige Tiere unter amtstierärztliche Beob-

achtung und Quarantäne gestellt. Dieser teure Weg der Sanierung ist außerordentlich effektiv und letztendlich kostengünstiger als eine Impfung, die nur kurzfristig einzelne Schweine eines Betriebes rettet, aber eine Beschränkung des Handels mit Schweinen innerhalb und außerhalb der Europäischen Gemeinschaft nach sich ziehen würde. Ein eingeschränkter Handel hätte enorme wirtschaftliche Einbußen zur Folge. Die Tötung großer Tierzahlen, insbesondere die Tötung von nichtinfizierten Tieren ist jedoch auch unter ethischen Aspekten zu diskutieren. Hier wird auf EU-Ebene über eine Reversion der Nicht-Impfpolitik nachgedacht, wodurch die Impfung nichtinfizierter Bestände im Seuchenfall erlaubt wäre. Problematisch ist dabei allerdings zurzeit die Vermarktung des Fleisches geimpfter Tiere, das international nicht abgenommen wird.

## Pathogenese

Infektionen mit dem Erreger der klassischen Schweinepest erfolgen meist durch orale Übertragung. Die Viren replizieren zuerst in den Tonsillen und gelangen von dort im Rahmen einer Virämie in nahezu alle Endothelzellen und lymphatische Organe einschließlich des Knochenmarks. Die Virusreplikation ist mit erheblichen Zellzerstörungen verbunden, die sich in multiplen Blutungen, einer massiven Lymphopenie und Thrombocytopenie sowie einer Verbrauchskoagulopathie äußert. Charakteristisch sind *multiple Milzinfarkte* und eine massive *Atrophie der lymphatischen Organe*, die mit zunehmender Krankheitsdauer fortschreitet. Häufig entsteht auch eine Encephalitis. Wichtig ist, dass die Viren intrauterin übertragen werden können. Je nach Trächtigkeitsstadium zum Zeitpunkt der Infektion kommt es zum Umrauschen, zum Abort oder zur Geburt missgebildeter Ferkel. Lebend geborene Ferkel infizierter Sauen etablieren, ähnlich wie Kälber bei der BVDV-Infektion der Rinder, eine persistierende Virämie. Sie scheiden die Erreger kontinuierlich aus und spielen epidemiologisch eine große Rolle.

## Immunreaktion und Diagnose

Die Diagnose der klassischen Schweinepest wird nach Anzeige durch das Veterinäramt eingeleitet. Sie ist durch den Nachweis von Antikörpern im ELISA oder Neutralisationstest möglich. Wichtig ist dabei die Unterscheidung von Antikörpern gegen das Virus der bovinen

Virusdiarrhoe (BVDV), das ebenfalls Schweine infizieren kann, in diesen aber keine Krankheit induziert und nicht tierseuchenrechtlich geregelt wird. Die Differenzierung erfordert die parallele Titration der Seren in Tests, die Proteine des BVD- beziehungsweise des Classical-Swine-Fever-Virus als Antigene enthalten. Wichtiger ist jedoch der direkte Virusnachweis, der durch Isolierung der Erreger in permanenten Schweinenierenzellkulturen und ihre Charakterisierung, serologisch durch monoklonale Antikörper in Immunfluoreszenztests – gegebenenfalls in der Durchflusszytometrie – oder genetisch mittels Polymerasekettenreaktion, erfolgen kann.

## Bekämpfung und Prophylaxe

Bei Auftreten der klassischen Schweinepest werden alle Schweine eines Betriebs gekeult und umfangreiche epidemiologische Untersuchungen durchgeführt, um die Verbreitung des Virus zu bestimmen.

In jüngster Zeit sind gentechnologisch produzierte Vakzinen gegen die Schweinepest entwickelt worden. Sie enthalten das Glycoprotein E2, welches mittels rekombinanter Baculoviren produziert wird. Diese Markervakzinen induzieren eine Immunreaktion ausschließlich gegen das E2-Protein, die eine Unterscheidung der geimpften von den mit dem Wildtypvirus infizierten Schweinen ermöglicht. Für eine Notimpfung sind sie jedoch wenig geeignet, da ein belastbarer Schutz erst nach einigen Tagen nach Impfung ausgebildet ist.

Interessanterweise ist seit längerem eine außerordentlich wirksame Lebendvakzine verfügbar, die auch in

Deutschland viele Jahre lang eingesetzt wurde. Sie beruht auf einem Virus, das in zahlreichen Passagen in Kaninchen attenuiert wurde (C-Stamm, „lapinisiertes Virus“). Dieses Virus wird heute nur noch zur oralen Immunisierung von Wildschweinen eingesetzt und dafür im Wald ausgelegt. Für eine Impfung in den gut kontrollierbaren Schweinebeständen kommt es aber nicht mehr in Frage, da der Handel von Fleisch geimpfter Tiere mit Auflagen verbunden ist, und dies ökonomisch (zurzeit) nicht interessant ist.

## Das Virus der bovinen Virusdiarrhoe (BVDV)

### Epidemiologie und Übertragung

Das *Virus der bovinen Virusdiarrhoe* (BVDV) ist ein wirtschaftlich bedeutender tierpathogener Infektionserreger. Seit Jahren wird die Diskussion geführt, ob es korrekter ist, von zwei eigenständigen Pestiviren zu sprechen, nämlich von BVDV-1 und BVDV-2, oder sie als Genotypen einer Virusspezies zu verstehen. Sie verursachen zwar das gleiche Krankheitsbild, lassen sich aber durch ihre Genomsequenzen und die in den Rindern gebildete Antikörperantwort unterscheiden. Das Virus wird über den Kot und über Schleimhautsekrete ausgeschieden und oral aufgenommen.

### Klinik

Beim adulten Tier verursacht BVDV eine subklinische Infektion oder leichte, selbstlimitierende Durchfallerkrankungen. Selten werden perakute hämorrhagische Syndrome beobachtet. Ob hierfür bestimmte Stämme oder Biotypen des BVDV verantwortlich sind, wird diskutiert. Nach der Infektion bildet das Tier eine lebenslange Immunität aus. Den eigentlichen wirtschaftlichen Schaden verursacht das Virus, wenn empfängliche, das heißt immunologisch nicht geschützte, tragende Kühe infiziert werden. Je nach Zeitpunkt der Infektion kommt es zu Aborten, Missbildungen oder zur Geburt persistierend infizierter, virämischer Kälber. Diese können die für die betroffenen Tiere tödliche Erkrankung der *Mucosal Disease* entwickeln.

Die *Mucosal Disease* ist eine generalisierte Erkrankung der chronisch infizierten Rinder. Dabei vermehrt sich das Virus lytisch in den Zellen aller Schleimhäute und Endothelien. Es kommt zu dem schweren Krankheitsbild eines *hämorrhagischen Fiebers*, das ausnahmslos tödlich endet. Es finden sich Blutungen in allen Schleimhäuten und das Virus ist in nahezu jedem Organ nachweisbar.

### Pathogenese

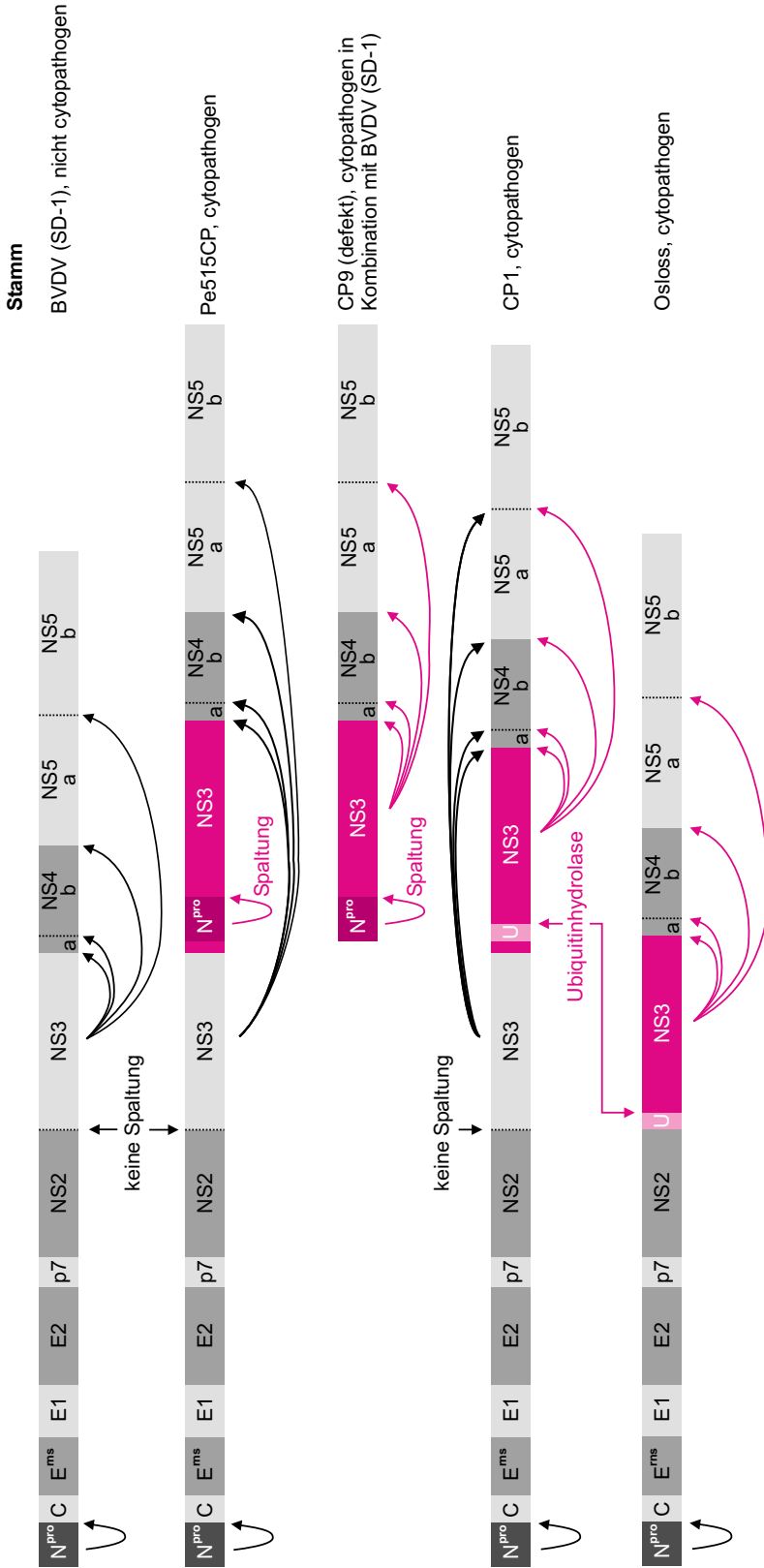
Die Viruspersistenz beruht auf einer BVDV-typspezifischen zentralen *Immuntoleranz*, die sich im Verlauf der Infektion im Embryo gegen einen nicht cytopathogenen Biotyp etabliert. Das Kalb ist vollkommen immunkompetent gegen andere Virusinfektionen, sogar gegen BVDV-Infektionen mit einem serologisch unterscheidbaren Virustyp. Während der BVDV-Persistenz kommt es zu Veränderungen im Virusgenom, die ein Virus mit einem neuen Biotyp entstehen lassen. Dieses *cytopathogene (cp-)Virus* verursacht dann das letale Krankheitsbild der *Mucosal Disease*.

Die molekularen Grundlagen für die Entstehung des cp-Virus liegen in genetischen Veränderungen, die zur unterschiedlichen Prozessierung des Nichtstrukturproteins NS3 führen. Während dieses beim nicht cytopathogenen BVDV als NS2-NS3-Fusionsprotein vorliegt, findet man bei den korrespondierenden cp-Viren NS3-Proteine ohne NS2-Fusionsanteil. Die veränderte Prozessierung erfolgt, wenn zelluläre Genomsequenzen im Bereich der für das NS2-Protein codierenden Abschnitte in das Virusgenom integriert werden. Dieser Vorgang verändert das Muster der proteolytischen Spaltvorgänge im Vorläuferprotein. Man konnte zeigen, dass eine Reihe von zellulären Genen durch homologe RNA-Rekombination in das Virusgenom integriert wurden (► Abbildung 14.16). Neben der Integration von zellulären Gensequenzen, beispielsweise von ubiquitincodierenden Abschnitten sind auch Rearrangements oder Deletionen viraler Genomabschnitte beschrieben worden. Alle diese Vorgänge führen dazu, dass durch die zelluläre Ubiquitinhydrolase beziehungsweise die virale Protease N<sup>Pro</sup> freie NS3-Proteine als Spaltprodukte aus dem Vorläuferprotein gebildet werden (► Abbildung 14.16). Die Mechanismen der damit verbundenen Virulenz sind jedoch unklar, insbesondere auch deshalb, weil das Classical-Swine-Fever-Virus und ein weiteres Pestivirus, nämlich das *Border-Disease-Virus* der Schafe, im Infektionsverlauf freie NS3-Proteine produzieren, ohne jedoch die Ausbildung schwerer Symptome zu induzieren, wie sie bei der *Mucosal Disease* entstehen.

### Immunreaktion und Diagnose

Die Diagnose der BVDV-Infektion erfolgt in der Regel durch Isolierung des Virus in der Zellkultur, durch Polymerasekettenreaktion oder durch Nachweis von BVDV-Antigen in peripheren Blutlymphocyten mittels Immunfluoreszenz (Durchflusscytometrie) oder ELISA-Tests. Maternale Antikörper können diese Testverfahren stören, sodass ihr Einsatz erst etwa ab dem 6. Lebensmonat verlässliche Ergebnisse bringt. Deswegen ist





**14.16** Rekombinationsereignisse im Genom des Virus der bovinen Virusdiarrhoe (BVDV). In den nicht cytopathogenen Stämmen (BVDV SD-1) findet keine Spaltung zwischen den Proteinen NS2 und NS3 statt, beide bleiben miteinander verbunden und wirken als Protease zur Spaltung des Nichtstrukturproteinanteils des Vorläuferproteins. Bei cytopathogenen Stämmen findet man verschiedene Rekombinationen mit zellulären Nucleinsäuresequenzen. Hier werden in die Virus-RNA-Genome Ubiquitinsequenzen (U) vor die NS3-Abschnitte integriert (Stämme CP1 und Osloss). Die Spaltung und Freisetzung der NS3-Proteine erfolgt dabei mittels der zellulären Ubiquitinhydrolase. Alternativ findet man bei den cytopathogenen Stämmen Rekombinationsvorgänge, welche die N<sup>pro</sup>-Sequenzen aminoterminal zu den NS3-Abschnitten umlagern. Die proteolytische Aktivität von N<sup>pro</sup> führt dann zur autokatalytischen Spaltung und zur Bildung eines NS3-Proteins zusätzlich zum NS2-NS3-Fusionsprodukt (Stamm Pe515CP). Desweiteren existieren defekte Virusgenome, denen der Strukturprotein- und der NS2-NS3-Anteil fehlt, die aber ähnlich wie Pe515CP die Sequenzen der N<sup>pro</sup> den NS3-Abschnitten vorgelagert haben (Stamm CP9). Diese defekten Viren wirken pathogen, wenn sie in den Tieren in Kombination mit nichtcytopathogenen, infektiösen Stämmen (SD-1) auftreten.

heute der Nachweis des Virusproteins E<sup>7NS</sup> im Serum üblich. Es wird von der virusinfizierten Zelle sezerniert. Maternale Antikörper gegen das E<sup>7NS</sup> sind kaum in den Kälbern vorhanden, sodass mittels des E<sup>7NS</sup>-Nachweises in ELISA-Tests die Infektion schon ab dem 20. Lebens- tag möglich ist.

Die Infektion hinterlässt eine lang andauernde, wahr- scheinlich lebenslange Immunität.

## Bekämpfung und Prophylaxe

Ziel ist, die Geburt von Kälbern mit persistierender Virämie zu vermeiden. Dies ist grundsätzlich durch zwei Maßnahmen möglich: Alle weiblichen Nachzuchttiere werden vor der Geschlechtsreife geimpft. Dies verhin- dert, dass die Tiere während der Trächtigkeit für eine Virusinfektion empfänglich sind und es zu einer trans- placentaren Übertragung des Virus und letztlich zum Heranwachsen neuer Kälber mit persistierenden Infek- tionen kommt. Die andere Maßnahme ist die frühe Identifizierung von Tieren mit persistierender Virämie und ihre Eliminierung aus der Herde. Dies ist nur durch den individellen Virusnachweis möglich. Die serologi- sche Untersuchung repräsentativer Proben von Jung- tieren eines zu untersuchenden Bestandes („Jungtier- fenster“) gibt jedoch gute Anhaltspunkte auf das Vorhandensein von persistierenden Virusträgern. Auf- grund der bundesweiten Bekämpfung ist die Zahl der persistierenden infizierten Rinder rückläufig. Man geht davon aus, dass heute weit weniger als ein Prozent aller Rinder eine persistierende BVDV-Infektion aufweist.

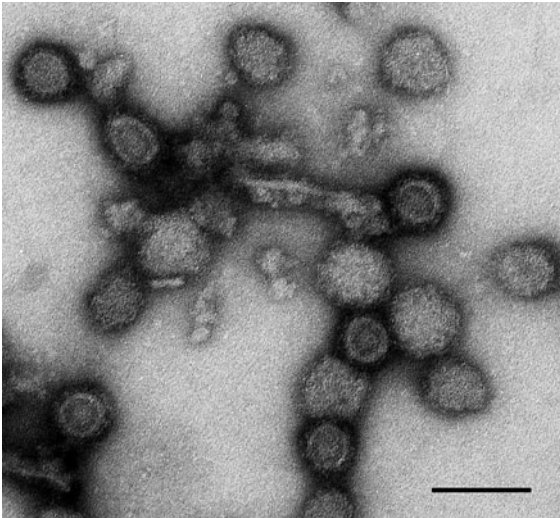
Eine Reihe von Impfstoffen ist verfügbar. Sie enthal- ten entweder attenuierte, vermehrungsfähige oder inak- tivierte Viren. Letztere sind in der Regel nicht in der Lage, die intrauterine Übertragung des Virus zu verhin- dern. Die Lebendimpfstoffe basieren jedoch auf einem cytopathogenen BVDV-Stamm, der nach Impfung eines Tieres mit persistierender Infektion sofort oder nach Rekombination mit dem Impfstamm die Mucosal Dis- ease auslöst; diese Impfstoffe sind daher problembehaf- tet. Außerdem kann durch Impfung eines tragenden Muttertieres mit dem Lebendvirusimpfstoff ein Kalb mit persistierender Virämie erzeugt werden. Die Ent- wicklung potenter inaktivierter Vakzinen, die verlässlich eine intrauterine Übertragung verhindern und gegen die bekannten Genotypen des BVDV schützen, ist daher wünschenswert.

## 14.5.7 Weiterführende Literatur

- Appel, N.; Zayas, M.; Miller, S.; Krijnse-Locker, J.; Schaller, T.; Friebe, P.; Kallis, S.; Engel, U.; Bartenschlager, R. *Essential role of domain III of nonstructural protein 5A for hepatitis C virus infectious particle assembly*. In: *PLoS Pathog.* 28 (2008) e1000035.
- Bartenschlager, R.; Miller, S. *Molecular aspects of Dengue virus replication*. In: *Future Microbiol.* 3 (2008) S. 155–165.
- Bartenschlager, R.; Ahlborn-Laake, L.; Yasargil, K.; Mous, J.; Jacobson, H. *Substrate determinants for cleavage in cis and trans by hepatitis C virus NS3 proteinase*. In: *J. Virol.* 69 (1995) S. 98–205.
- Bartenschlager, R.; Lohmann, V. *Replication of hepatitis-C-virus*. In: *J. Gen. Virol.* 81 (2000) S. 1631–1648.
- Bauhofer, O.; Summerfield, A.; Sakoda, Y.; Tratschin, J. D.; Hofmann, M. A.; Ruggli, N. *Classical swine fever virus Npro inter- acts with interferon regulatory factor 3 and induces its pro- teasomal degradation*. In: *J. Virol.* 81(2007) S. 3087–3096.
- Becher, P.; Orlich, M.; Thiel, H.-J. *RNA recombination between persisting pestivirus and a vaccine strain: generation of cyto- pathogenic virus and induction of lethal disease*. In: *J. Virol.* 75 (2001) S. 6256–6264.
- Berman, K.; Kwo, P. Y. *Boceprevir, an NS3 protease inhibitor of HCV*. In: *Clin. Liver Dis.* 13 (2009) S. 429–39.
- Chen, Z.; Rijnbrand, R.; Jangra, R. K.; Devaraj, S. G.; Qu, L.; Ma, Y.; Lemon, S. M.; Li, K. *Ubiquitination and proteasomal degradation of interferon regulatory factor-3 induced by Npro from a cytopathic bovine viral diarrhea virus*. In: *Viro- logy* 366 (2007) S. 277–292.
- Chen, S. T.; Lin, Y. L.; Huang, M. T.; Wu, M. F.; Cheng, S. C.; Lei, H. Y.; Lee, C. K.; Chiou, T. W.; Wong, C. H.; Hsieh, S. L. *CLEC5A is critical for dengue-virus-induced lethal disease*. In: *Nature* 453 (2008) S. 672–676.
- Chu, J. J.; Ng, M. L. *Interaction of West Nile virus with alpha v beta 3 integrin mediates virus entry into cells*. In: *J. Biol. Chem.* 279 (2004) S. 54533–54541.
- Esteban, J. I.; Sauleda, S.; Quer, J. *The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe*. In: *J. Hepatol.* 48 (2008) S.148–162.
- Glass, W. G.; Lim, J. K.; Cholera, R.; Pletnev, A. G.; Gao, J. L.; Murphy, P. M. *Chemokine receptor CCR5 promotes leuko- cyte trafficking to the brain and survival in West Nile virus infection*. In: *J. Exp. Med.* 202 (2005) S. 1087–1098.
- Glass, W. G.; McDermott, D. H.; Lim, J. K.; Lekhong, S.; Yu, S. F.; Frank, W. A.; Pape, J.; Cheshier, R. C.; Murphy, P. M. *CCR5 deficiency increases risk of symptomatic West Nile virus infection*. In: *J. Exp. Med.* 203 (2006) S. 35–40.
- Gould, E. A.; Solomon, T. *Pathogenic flaviviruses*. In: *Lancet* 371 (2008) S. 500–509.
- Chung, K. M.; Liszewski, M. K.; Nybakken, G.; Davis, A. E.; Townsend, R. R.; Fremont, D. H.; Atkinson, J. P.; Diamond, M. S. *West Nile virus nonstructural protein NS1 inhibits com- plement activation by binding the regulatory protein factor H*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103 (2006) S. 19111–19116.
- Guzman, M. G.; Kouri, G. *Dengue: An update*. In: *Lancet Infect. Dis.* 2 (2002) S. 33–42.

- Harrison, S. C. *Viral membrane fusion*. In: *Nat. Struct. Mol. Biol.* 15 (2008) S. 690–698.
- Henchal, E. A.; Putnak, J. R. *The Dengue viruses*. In: *Clin. Microbiol. Rev.* 376 (1990) S. 376–396.
- Hershkovitz, O.; Zilka, A.; Bar-Ilan, A.; Abutbul, S.; Davidson, A.; Mazzon, M.; Kümmerer, B. M.; Monsoengo, A.; Jacobs, M.; Porgador, A. *Dengue virus replicon expressing the nonstructural proteins suffices to enhance membrane expression of HLA class I and inhibit lysis by human NK cells*. In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 7666–7676.
- Iqbal, M.; Poole, E.; Goodbourn, S.; McCauley, J. W. *Role for bovine viral diarrhoea virus Erns glycoprotein in the control of activation of beta interferon by double-stranded RNA*. In: *J. Virol.* 78 (2004) S. 136–145.
- Kroschewski, H.; Allison, S. L.; Heinz, F. X.; Mandl, C. W. *Role of heparan sulfate for attachment and entry of tick-borne encephalitis virus*. In: *Virology* 308 (2003) S. 92–100.
- Jung, S.; Eichenmüller, M.; Donhauser, N.; Neipel, F.; Engel, A. M.; Hess, G.; Fleckenstein, B.; Reil, H. *HIV entry inhibition by the envelope 2 glycoprotein of GB virus C*. In: *AIDS* 21 (2007) S. 645–647.
- Kindberg, E.; Mickiene, A.; Ax, C.; Akerlind, B.; Vene, S.; Lindquist, L.; Lundkvist, A.; Svensson, L. *A deletion in the chemokine receptor 5 (CCR5) gene is associated with tickborne encephalitis*. In: *J. Infect. Dis.* 197 (2008) S. 266–269.
- Lai, C.Y.; Tsai, W. Y.; Lin, S. R.; Kao, C. L.; Hu, H. P.; King, C. C.; Wu, H. C.; Chang, G. J.; Wang, W. K. *Antibodies to envelope glycoprotein of dengue virus during the natural course of infection are predominantly cross-reactive and recognize epitopes containing highly conserved residues at the fusion loop of domain II*. In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 6631–6643.
- Lei, H. Y.; Yeh, T. M.; Lin, H. S.; Lin, Y. S.; Chen, S. H.; Lin, C. C. *Immunopathogenesis of dengue virus infection*. In: *J. Biomed. Sci.* 8 (2001) S. 377–388.
- Leung, J. Y.; Pijlman, G. P.; Kondratieva, N.; Hyde, J.; Mackenzie, J. M.; Khromykh, A. A. *Role of nonstructural protein NS2A in flavivirus assembly*. In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 4731–4741.
- Lim, J. K.; Glass, W. G.; McDermott, D. H.; Murphy, P. M. *CCR5: no longer a „good for nothing“ gene—chemokine control of West Nile virus infection*. In: *Trends Immunol.* 27 (2006) S. 308–312.
- Lin, R. J.; Chang, B. L.; Yu, H. P.; Liao, C. L.; Lin, Y. L. *Blocking of interferon-induced Jak-Stat signaling by Japanese encephalitis virus NS5 through a protein tyrosine phosphatase-mediated mechanism*. In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 5908–5918.
- Liu, W. J.; Wang, X. J.; Clark, D. C.; Lobigs, M.; Hall, R. A.; Khromykh, A. A. *A single amino acid substitution in the West Nile virus nonstructural protein NS2A disables its ability to inhibit alpha/beta interferon induction and attenuates virus virulence in mice*. In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 2396–2404.
- Mansfield, K. L.; Johnson, N.; Phipps, L. P.; Stephenson, J. R.; Fooks, A. R.; Solomon, T. *Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis*. In: *J. Gen. Virol.* 90 (2009) S. 1781–1794.
- Meyers, G.; Thiel, H. J. *Molecular characterization of pestiviruses*. In: *Adv. Virus Res.* 47 (1996) 53–118.
- Muerhoff, A. S.; Leary, T. P.; Simons, J. N.; Pilot-Matias, T. J.; Dawson, G. J.; Erker, J. C.; Chalmers, M. L.; Schlauder, G. G.; Desai, S. M.; Mushahwar, I. K. *Genomic organization of GB viruses A and B: Two new members of the flaviviridae associated with GB agent hepatitis*. In: *J. Virol.* 69 (1995) S. 5621–5630.
- Pardigon, N. *The biology of chikungunya: a brief review of what we still do not know*. In: *Pathol. Biol. (Paris)* 57 (2009) S. 127–132.
- Pfleiderer, C.; Blümel, J.; Schmidt, M.; Roth, W. K.; Houfar, M. K.; Eckert, J.; Chudy, M.; Menichetti, E.; Lechner, S.; Nübling, C. M. *West Nile virus and blood product safety in Germany*. In: *J. Med. Virol.* 80 (2008) S. 557–563.
- Pierson, T. C.; Diamond, M. S. *Molecular mechanisms of antibody-mediated neutralisation of flavivirus infection*. In: *Expert Rev. Mol. Med.* 10 (2008) e12.
- Pileri, P.; Uematsu, Y.; Campagnoli, S.; Galli, G.; Falugi, F.; Petracca, R.; Weiner, A. J.; Houghton, M.; Rosa, D.; Grandi, G.; Abrignani, S. *Binding of Hepatitis C Virus to CD81*. In: *Science* 282 (1998) S. 938–941.
- Reshetnyak, V. I.; Karlovich, T. I.; Ilchenko, L. U. *Hepatitis G virus*. In: *World J. Gastroenterol.* 14 (2008) S. 4725–4734.
- Rümenapf, T.; Thiel, H.-J. *Molecular Biology of Pestiviruses*. In: Mettenleiter, T. C.; Sobrino, F. (Hrsg.) *Animal viruses*. ORT (Molecular Biology. Caister Academic Press) 2008. S. 39–96.
- Rey, F. A.; Heinz, F. X.; Mandl, C.; Kunz, C.; Harrison, S. C. *The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution*. In: *Nature* 375 (1995) S. 291–299.
- Solomon, T. *Flavivirus encephalitis*. In: *N. Engl. J. Med.* 351 (2004) S. 370–378.
- Tautz, N.; Elbers, K.; Stoll, D.; Meyers, G.; Thiel, H.-J. *Serin protease of pestivirus: Determination of cleavage sites*. In: *J. Virol.* 71 (1997) S. 5415–5422.
- Timm, J.; Roggendorf, M. *Sequence diversity of hepatitis C virus: implications for immune control and therapy*. In: *World J. Gastroenterol.* 13 (2007) S. 4808–4817.
- Wallner, G.; Mandl, C. W.; Kunz, C.; Heinz, F. X. *The flavivirus 3′-noncoding region: Extensive size heterogeneity independent of evolutionary relationships among strains of tick-borne encephalitis virus*. In: *Virology* 213 (1995) S. 169–178.
- White, D. J.; Morse, D. L. *West-Nile-Virus: Detection, Surveillance and Control*. In: *Am. N.Y. Acad. Sci.* 951 (2001) S. 1–374.
- Wilson, J. R.; de Sessions, P. F.; Leon, M. A.; Scholle, F. *West Nile virus nonstructural protein 1 inhibits TLR3 signal transduction*. In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 8262–8271.
- Yamshchikov, V. F.; Compans, R. W. *Formation of flavivirus envelope: role of the viral NS2B-NS3 protease*. In: *J. Virol.* 96 (1995) S. 1995–2003.
- Zhou, Y.; Ray, D.; Zhao, Y.; Dong, H.; Ren, S.; Li, Z.; Guo, Y.; Bernard, K. A.; Shi, P. Y.; Li, H. *Structure and function of flavivirus NS5 methyltransferase*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 3891–3903.

## 14.6 Togaviren



Ursprünglich hatte man die *Togaviren* aufgrund ihrer morphologischen Ähnlichkeit mit den *Flaviviridae* in eine gemeinsame Virusfamilie eingeordnet. Als Einzelheiten über die Replikationsmechanismen bekannt wurden, zeigten sich jedoch deutliche Unterschiede, die zur heutigen Einteilung in zwei getrennte Familien führte. Im Hinblick auf die Evolution können die *Flaviviren* als Vorstufe für die *Togaviren* angesehen werden, da auch

sie membranumhüllte Viren sind und während der Vermehrung Polyproteine synthetisieren. Die *Togaviren* haben jedoch mit der Produktion einer *subgenomischen RNA* für die Translation der Strukturproteine die Möglichkeit entwickelt, die Menge der verschiedenen Proteine an die jeweiligen Bedürfnisse anzupassen und ähneln darin den *Astro-*, *Calici-* und *Hepeviren*. Der Name dieser Virusfamilie leitet sich von dem lateinischen Wort *toga* (Mantel, Hülle) ab: Auf den ersten elektronenmikroskopischen Aufnahmen war ein Capsid erkennbar, das von einer weiten Membranhülle umgeben war (► Abbildung 14.17).

### 14.6.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Die Familie der *Togaviren* umfasst zwei Genera (► Tabelle 14.13). Die durch Insekten übertragenen *Alphaviren* sind in Amerika, Afrika und Asien vor allem als Erreger von *Encephalitiden* und *Arthritiden* in Tieren bekannt. Sie werden entsprechend ihrer antigenen Ähnlichkeit in verschiedene Komplexe eingeteilt, sind nicht wirtsspezifisch und werden von unterschiedlichen Stechmücken zwischen Tierarten (Pferden, Nagetieren, verschiedenen Vogelarten wie Fasanen und Kranichen) und Menschen verbreitet und replizieren sich in diesen. Bei Übertragung auf den Menschen verursachen sie

**Tabelle 14.13** Charakteristische Vertreter der *Togaviren*

Genus	Mensch	Tier	Vektor/Überträger
Alphaviren	Semliki-Forest-Komplex Chikungunya-Virus (CHIKV) O'nyong-nyong-Virus (ONNV)	Semliki-Forest-Komplex Semliki-Forest-Virus (SFV, Nagetiere)	<i>Aedes</i> spp.
		Chikungunya-Virus (CHIKV, nichtmenschliche Primaten)	<i>Aedes</i> spp.
	Ross-River-Virus (RRV)	Ross-River-Virus (RRV, Beuteltiere)	<i>Culex annulirostris</i>
		O'nyong-nyong-Virus (ONNV, tierischer Wirt unbekannt)	<i>Anopheles funestus</i> , <i>A. gambiae</i>
	Western-Equine-Encephalitis-Komplex	Western-Equine-Encephalitis-Virus (WEEV, Vögel Pferd)	<i>Culex tarsalis</i> , <i>C. quinquefasciatus</i>
		Sindbisvirus (SIN, Nagetiere)	
		Eastern-Equine-Encephalitis-Komplex	<i>Culex</i> spp.
	Eastern-Equine-Encephalitis-Komplex	Eastern-Equine-Encephalitis-Virus (EEEV, Vögel, Pferd)	
		Venezuelan-Equine-Encephalitis-Komplex	<i>Culex</i> spp., <i>Aedes</i> spp.
		Venezuelan-Equine-Encephalitis-Virus (VEEV, Nagetiere, Pferd)	<i>Culex</i> spp.
Rubiviren	Rötelnvirus	Everglades-Virus (EVEV)	<i>Culex</i> spp.
		–	–



## Semliki-Forest- und Sindbisvirus – zwei gut untersuchte Vertreter der Alphaviren

Die *Semliki-Forest-* und die *Sindbisviren* sind die hinsichtlich der Molekularbiologie und Replikationsmechanismen am besten untersuchten Vertreter der Togaviren; sie galten deswegen lange als Prototypen dieser Virusfamilie. Die Sindbisviren sind mit den Western-Equine-Encephalitisviren (WEEV) verwandt, die auf dem amerikanischen Kontinent verbreitet sind (► Abschnitt 14.6.6). Beide Virusarten lassen sich leicht in Zellkulturen vermehren und zeigen einen ausgeprägten cytopathischen Effekt. Das Sindbisvirus ist in Afrika, Osteuropa und Asien weit verbreitet, wird von Mücken der Gattung *Culex* übertragen und verursacht nur

in seltenen Fällen eine fieberhafte Erkrankung mit Hautausschlägen und Gelenkbeschwerden, die hinsichtlich Klinik und Pathogenese der von einigen Flaviviren hervorgerufenen Krankheit ähnlich ist. Neurotrope Isolate wurden bisher nur in Einzelfällen beschrieben. Das Semliki-Forest-Virus ist in Afrika, Indien und Südostasien endemisch und wird durch *Aedes* spp. übertragen. Für den Menschen ist es weitgehend apathogen. Auch deswegen wird es heute häufig als gentechnologischer Vektor zur Expression von Genen in eukaryotischen Zellkulturen eingesetzt.

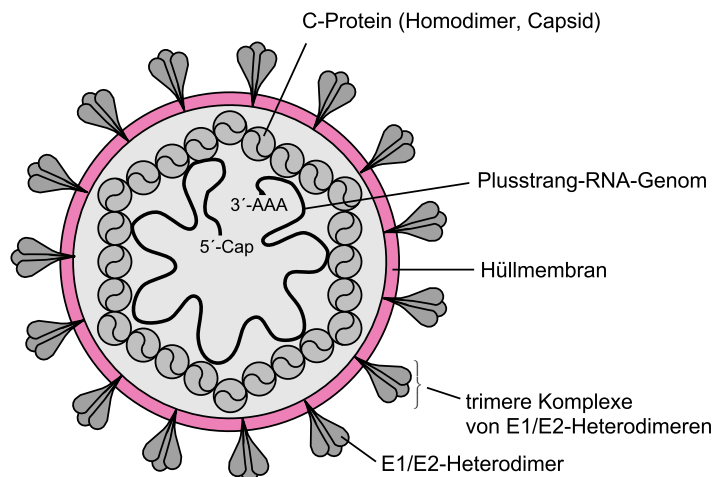
gelegentlich symptomatische Infektionen; so werden seit 2005 während der Sommermonate gelegentlich Infektionen mit dem *Chikungunya-Virus* auch in Südeuropa (Italien) beschrieben. Die Vertreter des zweiten Genus, der *Rubiviren*, zu denen der Erreger der *Rötelninfektion* gehört, sind dagegen weltweit verbreitet. Sie werden nicht durch Insekten übertragen.

### 14.6.2 Aufbau

#### Viruspartikel

Die infektiösen Partikel der Togaviren haben einen Durchmesser von 60 bis 80 nm und bestehen aus ikosaedrischen oder sphärischen Capsiden (Durchmesser

40 nm), die von einer Membranhülle umgeben sind. In diese Membran sind die viralen *Glycoproteine E1* und *E2* eingelagert. Sie liegen als Heterodimere aus E1 und E2 vor, die weiter zu trimeren Proteinkomplexen assoziieren. Pro Virion finden sich etwa 80 dieser Trimere. Sie bilden *spike*-ähnliche Vorsprünge von sechs bis acht Nanometern auf der Virusoberfläche (► Abbildung 14.17). Die Trimere vermitteln die Adsorption an zelluläre Rezeptoren und sind für die Bindung virusneutralisierender Antikörper verantwortlich. Beim Rötelnvirus findet man zusätzlich auch E1-Homodimere auf dem Partikel. Das Capsid besteht aus 240 Molekülen des dimeren *C-Proteins*. Es enthält das RNA-Genom und ist durch Aminosäuren an der Innenseite mit ihm komplexiert.



**14.17** Aufbau eines Togaviruspartikels. Das ikosaedrische Capsid besteht aus C-Proteinen; mit seinen Innenseiten ist das virale RNA-Genom verbunden. Das Capsid ist von einer Hüllmembran umgeben, in welche die viralen Oberflächenproteine eingelagert sind.



## Genom und Genomaufbau

Das Genom der Togaviren besteht aus einzelsträngiger RNA, die in Plusstrangorientierung vorliegt, am 5'-Ende gecappt und am 3'-Ende polyadenyliert ist und eine Länge von 9 762 (Rötelnvirus, Stamm Therien), 11 703 (Sindbisvirus), 11 675 (Eastern-Equine-Encephalitis-Virus) beziehungsweise 11 442 Basen (Semliki-Forest-Virus) besitzt. Das Genom enthält zwei offene Leserahmen: Der in der 5'-orientierten Hälfte codiert für das Vorläuferpolyprotein der vier Nichtstrukturproteine NSP1 bis NSP4 bei den Alphaviren beziehungsweise p150 und p90 bei den Rubiviren; der in der 3'-Hälfte des Genoms gelegene Leserahmen enthält die genetische Information für die Sequenzen der Strukturproteine, also der C-, E1- und E2-Proteine (► Abbildung 14.18). Die beiden Leserahmen sind bei den Sindbis- und Semliki-Forest-Viren durch einige wenige Nucleotide voneinander getrennt, beim Rötelnvirus durch 124 Basen. Am 5'-Ende des Genoms befindet sich ein kurzer, nicht-translatierter Bereich (41 Nucleotide beim Rötelnvirus, 60 bis 80 beim Sindbisvirus), und zwischen dem Stoppcodon des zweiten Leserahmens und dem Poly(A)-Anteil am 3'-Ende liegen beim Rötelnvirus 61 Basen (264 beim Semliki-Forest-Virus, 322 beim Sindbisvirus), die in definierte Sekundärstrukturen gefaltet sind.

### 14.6.3 Virusproteine

#### Polyprotein der Nichtstrukturproteine

Die Vorläuferproteine der bis zu vier Nichtstrukturproteine NSP1 bis NSP4 unterscheiden sich bei den verschiedenen Togavirustypen: So werden beim Sindbisvirus zwei unterschiedliche Vorläufer gebildet; einer umfasst die Proteine NSP1 bis NSP3 und endet an einem Opal-Stoppcodon (UGA), das sich zwischen den Proteinabschnitten NSP3 und NSP4 befindet (► Abbildung 14.18A); dieses Signal für die Beendigung der Translation wird aber in 20 Prozent der Fälle überlesen, und die Translation wird dann bis zum Ende des NSP4-Proteins fortgesetzt. Beim Semliki-Forest-Virus findet man ähnlich wie beim Rötelnvirus nur ein Nichtstrukturpolyprotein der vollen Länge (240 kD beim Rötelnvirus; ► Abbildung 14.18B). Ob ähnliche zweistufige Translationsprozesse bei den anderen Togaviren eine Rolle spielen, ist nicht bekannt. ► Tabelle 14.14 gibt einen Überblick über Größe und Funktion der togavirusspezifischen Proteine.

## Nichtstrukturproteine

**Alphaviren** Die Daten über die Spaltprodukte des Vorläuferpolyproteins für die Nichtstrukturproteine NSP1 bis NSP4 stammen überwiegend aus Untersuchungen von Sindbis- und Semliki-Forest-Viren. Man kann aber davon ausgehen, dass die Nichtstrukturproteine bei den anderen Togavirustypen eine identische Funktion im Infektionszyklus erfüllen. Ihre Aktivitäten spielen eine wichtige Rolle bei der viralen Replikation und Transkription.

Das *NSP1-Protein* ist eine *Methyl- und Guanosyltransferase*, die an der Bildung der *methylierten 5'-Cap-Strukturen* der viralen RNA-Spezies beteiligt ist. Togaviren müssen für diese Enzymfunktion codieren, da sie die entsprechenden zellulären, im Kern lokalisierten Funktionen aufgrund ihres ausschließlich im Cytoplasma ablaufenden Replikationszyklus nicht mitverwenden können. Die Sequenzen des NSP1-Proteins sind innerhalb der verschiedenen Togaviren hoch konserviert. Das Protein ist an den Cysteinresten 418 bis 421 (beim Semliki-Forest-Virus) mit Palmitinsäure modifiziert. Dies bedingt zusammen mit einer amphipatischen  $\alpha$ -Helix im zentralen Abschnitt des Proteins die Assoziation mit intrazellulären Membrankompartimenten.

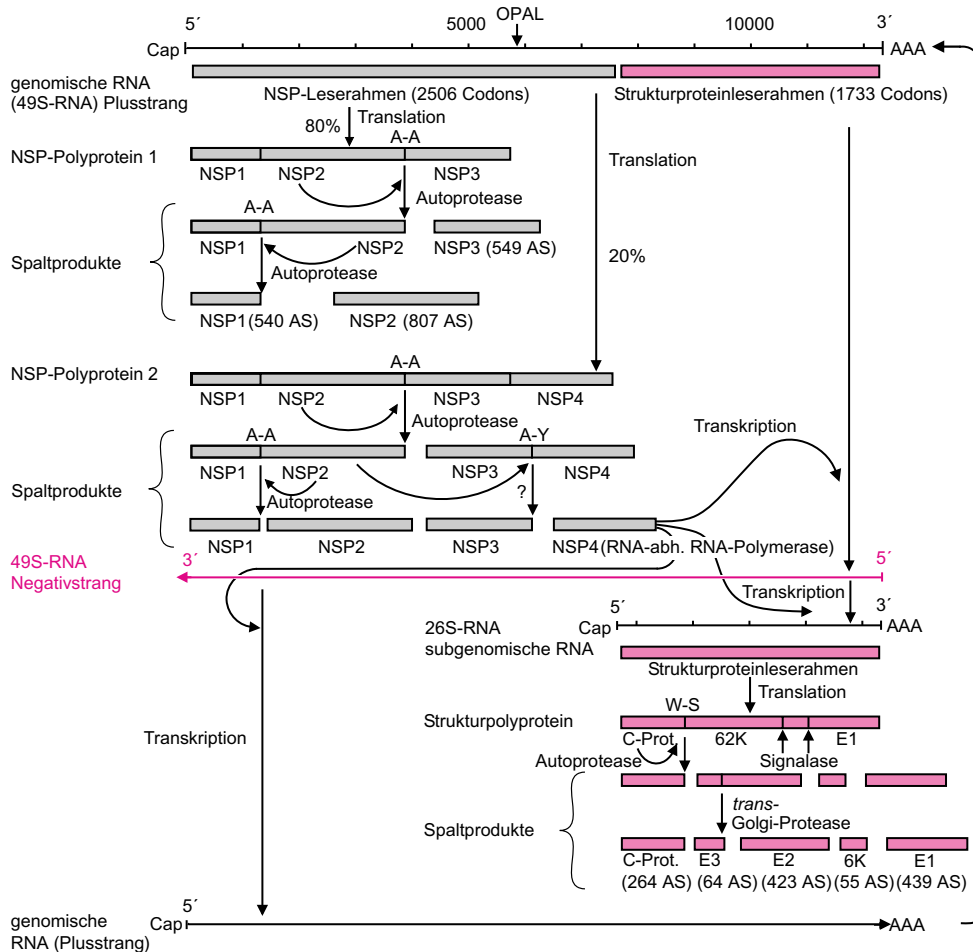
Das *NSP2-Protein* enthält im aminoterminalen Abschnitt eine *RNA-Helicase*, die bei der Transkription und Genomreplikation notwendig ist. Im carboxyterminalen Bereich befindet sich eine *proteolytische Aktivität*, die das Vorläuferprotein autokatalytisch zwischen den NSP2- und NSP3-Anteilen spaltet. Als Erkennungssequenz dienen beim Sindbisvirus zwei aufeinander folgende Alaninreste (A-A). Durch die Spaltung entstehen die Produkte NSP1-NSP2 und NSP3-NSP4 (beziehungsweise NSP3 beim Sindbisvirus), das NSP1-NSP2 wird weiter durch die NSP2-Protease in NSP1 und NSP2 zerlegt. Ob die NSP2-Protease auch an der Prozessierung des anderen Vorläuferproteins NSP3-NSP4 dieser Virustypen beteiligt ist, dessen Spaltung an der Aminosäurefolge Alanin-Tyrosin (A-Y) nur sehr langsam verläuft, konnte bislang nicht geklärt werden.

Das *NSP3-Protein* wird bei der Genomreplikation benötigt. Wie es dabei wirkt, ist jedoch unbekannt. Es hat eine kurze Halbwertszeit und liegt in der Zelle zum Teil in Anbindung an intrazelluläre Membranen und in phosphorylierter Form vor.

Das *NSP4-Protein* ist eine *RNA-abhängige RNA-Polymerase*. Es ist sowohl bei der Synthese der Negativstrang-RNA als auch bei der Bildung der genomischen und subgenomischen RNA-Spezies aktiv.

**Rubiviren** Im Fall des Rötelnvirus entstehen durch die Spaltung des Vorläufers für die Nichtstrukturproteine

## A Sindbisvirus

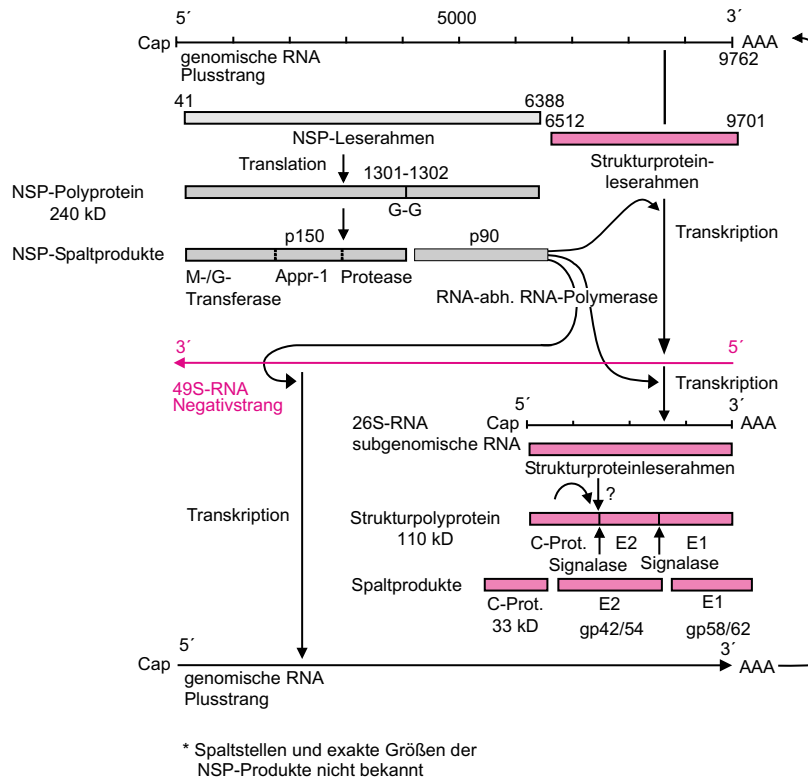


**14.18** Genomorganisation und Replikationsverlauf bei Togaviren. **A:** Sindbisvirus. Die RNA-Genome codieren für eine Version (beim Rötelnvirus) oder zwei Versionen (beim Sindbisvirus) eines Polyproteins für die Nichtstrukturproteine (NSP) sowie für je ein Strukturpolyprotein. Der Vorläufer der Nichtstrukturproteine wird zuerst gebildet und durch die Aktivität der Protease als Teil des Polyproteins autokatalytisch in die Einzelkomponenten gespalten. Dabei entsteht eine RNA-abhängige RNA-Polymerase, die unter Verwendung des Plusstrang-RNA-Genoms als Matrize eine Negativstrang-RNA bildet. Diese dient ihrerseits als Matrize für die Synthese genomischer RNA-Stränge in Plusstrangorientierung wie auch für die von subgenomischer RNA. Letztere dient als mRNA für die Translation des Polyproteins der Strukturkomponenten, das durch die Aktivität zellulärer Signalasen in die verschiedenen Bestandteile prozessiert wird. M-/G-Transferase: Methyl-/Guanosyl-Transferase; Appr-1: Proteindomäne mit Homologie zum zellulären Protein Appr-1.

nur zwei Spaltprodukte: *p150* entspricht den aminoterminalen Bereichen, *p90* enthält die carboxyterminalen Regionen. Die dafür verantwortliche proteolytische Aktivität einer  $Zn^{2+}$ -abhängigen, *papainähnlichen Cysteineprotease* befindet sich im carboxyterminalen Abschnitt des *p150* und spaltet den Proteinvorläufer zwischen zwei Glycinresten an den Positionen 1301 und 1302 des Vorläuferproteins. Der aminoternale Abschnitt des *p150* enthält die *Methyl-/Guanosyltrans-*

*ferase*, die für das 5'-Capping der viralen RNAs notwendig ist. Zwischen diesen beiden Enzymdomänen befindet sich eine Aminosäurefolge mit Homologie zum zellulären Protein Appr-1 (*ADP-Ribose-1<sup>er</sup>-monophosphate processing enzyme*). Ob diese Funktion für die Virusinfektion notwendig ist, ist ungeklärt. Das Protein *p90* enthält die Aktivitäten der *RNA-Helicase* und der *RNA-abhängigen RNA-Polymerase*.

## B Rötelnvirus



14.18 (Fortsetzung) B: Rötelnvirus.

## Polyprotein der Strukturproteine

Das Strukturpolyprotein ist bei allen Togaviren deutlich kleiner als das der Nichtstrukturproteine. Beim Rötelnvirus hat es ein Molekulargewicht von 110 kD (► Abbildung 14.18B). Es enthält die Sequenzen der Proteine C, E2 und E1. Im Falle der Alphaviren liegen zwischen den jeweiligen Proteinabschnitten verbindende Aminosäurefolgen, die im Verlauf der Prozessierung des Polyproteins und der Virusreifung entfernt werden. Die Synthese der Strukturpolyproteine findet an der Membran des endoplasmatischen Reticulums statt. Zu Signalpeptiden analoge Aminosäuresequenzen hat man bei den Alphaviren direkt nach dem carboxyterminalen Ende des C-Proteins (das heißt am Aminoterminus des p62-Proteins, aus dem zu einem späteren Zeitpunkt E2 entsteht) und im 6K-Protein vor dem E1-Anteil gefunden (► Abbildung 14.18A). Beim Rötelnvirus sind sie an den carboxyterminalen Enden der C- und E2-Proteine lokalisiert. Diese Bereiche sind für den Transport des in Translation befindlichen Polyproteins und seine Einlagerung in die Membran des endoplasmatischen Reticulums verantwortlich. Mit der Membran assoziierte Pro-

teasen (*Signalasen*) schneiden die Vorläuferproteine nach den signalpeptidähnlichen Sequenzen und sorgen so für die Bildung der Einzelkomponenten. Bei den Alphaviren ist zusätzlich eine autokatalytisch wirkende Proteaseaktivität im C-Protein identifiziert worden, die zur Abspaltung des Capsidproteins vom Vorläufer beiträgt; sie ähnelt der einer Serinprotease, die Spaltung erfolgt an der Aminosäurefolge Tryptophan-Serin (W-S). Ähnliche Funktionen hat man auch für das C-Protein der Rötelnviren postuliert.

## Capsidprotein (C-Protein)

Das C-Protein ist abhängig vom jeweiligen Virustyp 260 bis 300 Aminosäuren lang und hat ein Molekulargewicht von etwa 33 kD. Nach der Abspaltung von der wachsenden Polyproteinkette durch seine *autoproteolytische Funktion* bei den Alphaviren beziehungsweise der signalasevermittelten Prozessierung beim Rötelnvirus dimerisiert das C-Protein und assoziiert mit den viralen RNA-Genomen zu Nucleocapsiden; die RNA-bindende Proteindomäne befindet sich zwischen den Aminosäureresten 28 und 56. Diese Wechselwirkung ist sehr stark,

Tabelle 14.14 Übersicht über Funktion und Größe der Proteine von Togaviren

Protein	Sindbis-virus	Semliki-Forest-Virus	Röteln-virus	Funktion
<b>NSP-Polyprotein</b>	2 506 AS	2 431 AS	2 116–2 205 AS 240 kD	Vorläufer der Nichtstrukturproteine
<b>NSP1</b>	540 AS	537 AS		Methyl-/Guanosyltransferase; 5'-Capping-Enzym; palmitinoyliert
<b>NSP2</b>	807 AS	798 AS		Protease; Helicase (Nucleotidase)
<b>NSP3</b>	549 AS	482 AS		aktiv bei der Replikation
<b>NSP4</b>	610 AS	614 AS		RNA-abhängige RNA-Polymerase
<b>p150</b>	-	-	1 300/1 301 AS 150 kD	Methyl-/Guanosyltransferase; 5'-Capping-Enzym; Cystein-Protease
<b>p90</b>	-	-	815–905 AS 90 kD	Helicase; RNA-abhängige RNA-Polymerase
<b>Strukturpolyprotein</b>	1 733 AS	1 739 AS	1 063 AS 110 kD	Vorläufer der Strukturproteine
<b>C</b>	264 AS	267 AS	260–300 AS 33 kD	Capsidprotein; Dimer; Protease
<b>E3</b>	64 AS	64 AS	-	Spaltprodukt; NH <sub>2</sub> -Ende von E2
<b>E2</b>	423 AS	418 AS	42–54 kD	glycosyliert; palmitinoyliert; Neutralisation bei SIN und SFV; Hämagglutination und Fusion bei Rötelnvirus
<b>6K</b>	55 AS	60 AS	-	Spaltprodukt; Signalsequenz am NH <sub>2</sub> -Ende von E1; Ionenkanalprotein?
<b>E1</b>	439 AS	438 AS	58–62 kD	glycosyliert; palmitinoyliert; Neutralisation bei Rötelnvirus; Hämagglutination und Fusion bei SIN und SFV

AS: Aminosäuren; SIN: Sindbisvirus; SFV: Semliki-Forest-Virus.

Die Proteine sind in der Reihenfolge ihrer Lokalisation in den Vorläuferprodukten angegeben.

denn im Cytoplasma der infizierten Zellen findet man nur sehr wenig freies C-Protein. Die C-Proteine unterliegen nach ihrer Synthese komplexen Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsvorgängen. Der Grad der Modifikation scheint die Wechselwirkung mit den RNA-Genomen zu beeinflussen: Nicht phosphorylierte C-Proteine binden sich wesentlich stärker an die Genome als phosphorylierte Versionen. Die Dephosphorylierung der C-Proteine im späten Stadium des Replikationszyklus – vermutlich katalysiert durch die zelluläre Proteinphosphatase 1A – scheint die Wechselwirkung mit den RNA-Genomen und ihre Verpackung zu fördern. Es wird vermutet, dass durch diesen Dephosphorylierungsschritt die vorzeitige Interaktion der RNA-Genome mit den C-Proteinen verhindert werden soll.

## Glycoprotein E1

Bei den Alphaviren befindet sich zwischen dem carboxyterminalen Ende des E2-Proteins und dem Beginn der E1-Sequenzen ein kurzer, hydrophober Abschnitt von 55 bis 60 Aminosäuren. Man bezeichnet ihn wegen seiner Größe von etwa 6 kD auch als *6K-Protein*. Es enthält signalpeptidähnliche Sequenzen, welche durch die Signalasen erkannt und gespalten werden, und vermittelt während der Translation die Durchschleusung der Aminosäurekette des E1-Proteins durch die Membran des endoplasmatischen Reticulums. In geringen Mengen ist es auch in den infektiösen Partikeln nachweisbar. Man fand, dass das 6K-Protein jedoch auch eigenständige Funktionen hat: Es scheint sich um ein porenbildendes Ionenkanalprotein zu handeln, das die Membranpermeabilität der infizierten Zellen beein-

flusst. Man zählt es zu der Proteinfamilie der *Viroporine*, zu denen auch die 7K-Proteine der Hepaci- und Pestiviren gerechnet werden (► Abschnitt 14.5).

Das über eine hydrophobe Transmembranregion am carboxyterminalen Ende in der Membran verankerte E1-Protein ist *glycosyliert* und *fettsäuremodifiziert*. Bei den Alphaviren scheint mit ihm die *Hämagglutinations-* und *Fusionsaktivität* verbunden zu sein. Im Gegensatz zum E2-Protein konnten nur wenige E1-spezifische Antikörper mit virusneutralisierender Funktion gefunden werden.

Beim Rötelnvirus sind die neutralisierenden Antikörper dagegen mehrheitlich gegen das E1-Protein gerichtet. Man hat zwei Proteindomänen identifiziert, an die sich die schützenden Antikörper anlagern. Das monomere Protein hat ein Molekulargewicht von 58 bis 62 kD, es ist glycosyliert und mit Palmitinsäure modifiziert. Das E1-Protein des Rötelnvirus ist für die Adsorption des Partikels an zelluläre Rezeptoren verantwortlich. Mutationen in den Genombereichen, die für die hydrophoben Regionen des E1-Proteins codieren, verringern die Infektiosität der Viren.

## Glycoprotein E2

Bei den Alphaviren wird das E2-Protein durch Spaltung eines Vorläuferproteins mit einem Molekulargewicht von 62 kD gebildet. Dieses *p62-Protein* wird durch hydrophobe Sequenzen in seiner carboxyterminalen Domäne in der Membran des endoplasmatischen Reticulums verankert und über den Golgi-Apparat zur Zellmembran transportiert. Dadurch ist das carboxyterminale Ende selbst zum Cytoplasma hin orientiert. Es besitzt Aminosäuren, die spezifisch mit den C-Proteinen der Nucleocapside interagieren. Dadurch wird spät im Infektionszyklus der Assembly-Prozess eingeleitet, in dessen Verlauf die Membran des endoplasmatischen Reticulums die vorgeformten Capside umhüllt. Auf dem Weg zur Zelloberfläche wird das p62 durch *Zucker-* und *Fettsäuregruppen* modifiziert und im *trans-Golgi-Bereich* durch eine trypsinähnliche Protease in den aminoterminalen Anteil E3 und das E2-Protein gespalten. Während beim Sindbisvirus E3 von der Zelloberfläche abgegeben wird, bleibt es beim Semliki-Forest-Virus mit dem E2-Protein assoziiert und ist in unterschiedlichen Mengen auch im Virion nachweisbar. Bei den Alphaviren ist die überwiegende Mehrheit der neutralisierenden Antikörper gegen das E2-Protein gerichtet, das im Virion als Heterodimer mit E1 vorliegt. Man konnte hier drei wichtige Epitope charakterisieren.

Das E2-Protein (gp42–54) des Rötelnvirus ist ebenfalls *glycosyliert*, *fettsäuremodifiziert* und über die carboxyterminalen Aminosäuren in der Membran verankert.

Einen E3-Anteil, wie er bei Alphaviren vom aminoterminalen Bereich abgespalten wird, konnte man hier nicht identifizieren. Das E2-Protein der Rötelnviren hat *hämagglutinierende* und *membranfusionierende* Aktivität und liegt überwiegend als Heterodimer mit E1 vor. Hier ist jedoch der Hauptteil der neutralisierenden Antikörper nicht gegen das E2-, sondern gegen das E1-Protein gerichtet.

## 14.6.4 Replikation

Beim Rötelnvirus und bei den meisten der Alphaviren kennt man den zellulären Rezeptor für das Virus noch nicht. Im Falle des Sindbisvirus wurde *Laminin* und der Laminin-Rezeptor-Präkursor (LRP) auf der Oberfläche von Hühnerfibroblasten als Rezeptor identifiziert, aber auch andere zelluläre Proteine binden die Virionen; beim Rötelnvirus scheinen bestimmte *Phospholipide* auf der Zelloberfläche an der Bindung der Partikel beteiligt zu sein. Die Aufnahme der Viruspartikel durch die Zellen erfolgt durch *rezeptorvermittelte Endocytose*. Das Innere der endocytotischen Vesikel (Endosomen) wird in einem energieabhängigen Prozess durch Import von  $H^+$ -Ionen angesäuert. Dies bewirkt Konformationsänderungen der viralen Membranproteine, wodurch es zur Verschmelzung der Endosomenmembran mit der Virus-hülle und dadurch zur Freisetzung des Capsids kommt. Wie die enge Wechselwirkung der C-Proteine mit dem RNA-Genom aufgehoben wird, ist unbekannt. Die Polarität der RNA in Plusstrangorientierung erlaubt jedoch über die Cap-Struktur am 5'-Ende die Bindung des zellulären Cap-Binding-Komplex und hierüber die Assoziation mit den ribosomalen Untereinheiten, die mit der Translation der Sequenzfolgen für das Polyprotein der Nichtstrukturproteine beginnen. Dieses Polypeptid wird an Ribosomen im Cytoplasma synthetisiert, über hydrophobe Aminosäurefolgen und die Palmitinoylierung im NSP1-Anteil mit den Membranen des endoplasmatischen Reticulums assoziiert und durch die Cysteinprotease im NSP2 beziehungsweise p150 in die Einzelkomponenten gespalten. Liegt die Aktivität der *RNA-abhängigen RNA-Polymerase* in der Form des funktionell aktiven NSP4-Proteins vor, wird die *Negativstrang-RNA* synthetisiert. Beim Sindbisvirus bildet das NSP4-Protein hierbei mit dem ungespaltenen NSP-Polyprotein einen Komplex (► Abbildung 14.18A). Die Initiation erfolgt am 3'-Ende im Bereich einer hochkonservierten Basenfolge, die dem Poly(A)-Anteil direkt vorgelagert ist. Zusätzlich scheinen aber auch Basen aus den nichttranslatierten Sequenzen am 5'-Ende des Genoms beteiligt zu sein. Diese sind teilweise zu Berei-



chen des 3'-Endes komplementär und können mit diesen einen partiellen RNA-Doppelstrang ausbilden und so eine *Zirkularisierung* des Genoms vermitteln. Zelluläre Proteine beeinflussen die Initiation der RNA-Synthese am 3'-Ende: Man fand, dass phosphorylierte Formen des zellulären Proteins *Calreticulin* sich an die 3'-Enden des Rötelnvirusgenoms binden. Die Details der Initiation der RNA-Synthese sind unbekannt, klar ist jedoch, dass im weiteren Verlauf ein zum gesamten Genomstrang komplementäres RNA-Produkt entsteht. Der Prozess läuft an den ER-Membranen ab.

Von der Negativ-RNA wird neben neuen RNA-Genomen in voller Länge eine *subgenomische RNA* gebildet, die an der Verbindungsregion zwischen den beiden Leserahmen initiiert wird und diejenigen Sequenzen enthält, die für das Strukturpolyprotein codieren. Verantwortlich hierfür sind die RNA-abhängige RNA-Polymerase des NSP4-Proteins und die weiteren Spaltprodukte der Nichtstrukturproteine. Die subgenomische RNA wird nach ihrem Sedimentationsverhalten auch als *26S-RNA* bezeichnet – im Gegensatz zu der *49S-RNA* des Genoms (► Abbildung 14.18). Sie wird am 5'-Ende gecappt und methyliert, sodass in den nächsten Schritten die Translation und Synthese der Strukturproteine beginnen kann. In der infizierten Zelle wird weit mehr subgenomische RNA als genomische RNA gebildet. Ähnliche Replikationsschritte, die zur Synthese einer subgenomischen mRNA führen, findet man auch bei den Astro-, Calici- und Hepeviren (► Abschnitte 14.2, 14.3 und 14.4).

Liegen ausreichende Mengen dephosphorylierter C-Proteine vor, so assoziieren diese mit Basenfolgen im 5'-Bereich der neu gebildeten 49S-Plusstränge und bilden die Vorformen der Nucleocapside. Diese ersten Verpackungsschritte verhindern auch, dass die genomische RNA translatiert wird; die Synthese weiterer NSP-Proteine wird so unterbrochen. Durch diesen relativ einfachen Regulationsmechanismus ist gewährleistet, dass in der Spätphase der Infektion überwiegend virale Strukturkomponenten produziert werden, die zu diesem Zeitpunkt für die Bildung der Viruspartikel in wesentlich größeren Mengen benötigt werden als die enzymatisch aktiven Nichtstrukturproteine.

Im weiteren Verlauf assoziieren die vorgeformten Nucleocapside mit den carboxyterminalen Bereichen der E2-Proteine und werden mit der Membran und den darin eingelagerten viralen Glycoproteinen umgeben. Diese Budding-Komplexe können sowohl an den Membranen des endoplasmatischen Reticulums und des Golgi-Apparats als auch an der Cytoplasmamembran entstehen. Die umhüllten Virionen werden entweder durch die Golgi-Vesikel zur Zelloberfläche transportiert oder dort direkt freigesetzt. In den Zellen wird im Infektionsverlauf die *Apoptose* induziert. Dieser Vorgang, der

den Tod der Zellen zur Folge hat, ist vor allem bei Infektionen mit Rötelnviren gefunden worden, deren C-Proteine proapoptotisch wirken.

## 14.6.5 Humanpathogene Togaviren

### Das Rötelnvirus

#### Epidemiologie und Übertragung

Die in früheren Jahren oft epidemisch aufgetretene *Rötelnkrankung* oder *Rubella* (*German measles*) ist bereits 1800 genau beschrieben worden. Das Virus übertrug man 1938 erstmals durch Ultrafiltrate auf Menschen und Affen. Bei einer Epidemie im Jahre 1940 in Australien entdeckte der Augenarzt Sir Norman Gregg, dass die Mütter von Kindern mit angeborenem Katarakt, Hörschäden und Herzmissbildungen („Gregg-Syndrom“) während der Schwangerschaft eine Rötelninfektion durchgemacht hatten (► Tabelle 14.15). Das Virus erzeugt also nicht nur die harmlosen Röteln, sondern ruft auch schwerwiegende *Embryopathien* hervor. 1962 wurde das Virus erstmals *in vitro* gezüchtet. In Kaninchennieren- (RK-13)- oder Affennierenzelllinien (Verozellen) erzeugt es einen cytopathischen Effekt. Nachdem 1964 in den USA eine große Epidemie abgelaufen war, gelang 1967 die Entwicklung eines attenuierten Lebendimpfstoffes. Seine Anwendung führte dazu, dass die Röteln heute nur noch sehr selten auftreten; in den USA gelten sie seit 2001 als getilgt. Auch in Deutschland treten aufgrund der Impfung akute Röteln nur noch selten auf; man geht von etwa 150 bis 400 Fällen pro Jahr aus.

Das Rötelnvirus ist serologisch einheitlich. Hinsichtlich seiner Nucleinsäuresequenzen kann man die weltweit vorkommenden Isolate zwei Stämmen (*clades* 1 und 2) zuordnen, die wiederum in zehn Genotypen (1a–g, 2a–c) unterteilt werden; Rötelnviren des Stammes 2 isolierte man bisher nur im eurasischen Raum. Das Rötelnvirus kommt nur beim Menschen vor, lässt sich jedoch auf einige Affenspezies übertragen. Die Übertragung erfolgt durch Tröpfcheninfektion und führt bei flüchtigem Kontakt in etwa zwanzig Prozent der Fälle zur Ansteckung. Überträger sind infizierte Personen in der virämischen Phase, die bereits sechs Tage vor Ausbruch des Exanthems beginnt und ein bis zwei Wochen andauert (► Abbildung 14.19), infizierte Kleinkinder, die mit dem Embryopathiesyndrom geboren wurden, sowie selten Erwachsene mit inapparenten Reinfektionen, die das Virus dennoch übertragen können. Viren finden sich auch in der Tränenflüssigkeit, im Urin, im Cervixsekret, im Stuhl, in der Lunge, im Liquor und in der Synovialflüssigkeit.

## Klinik

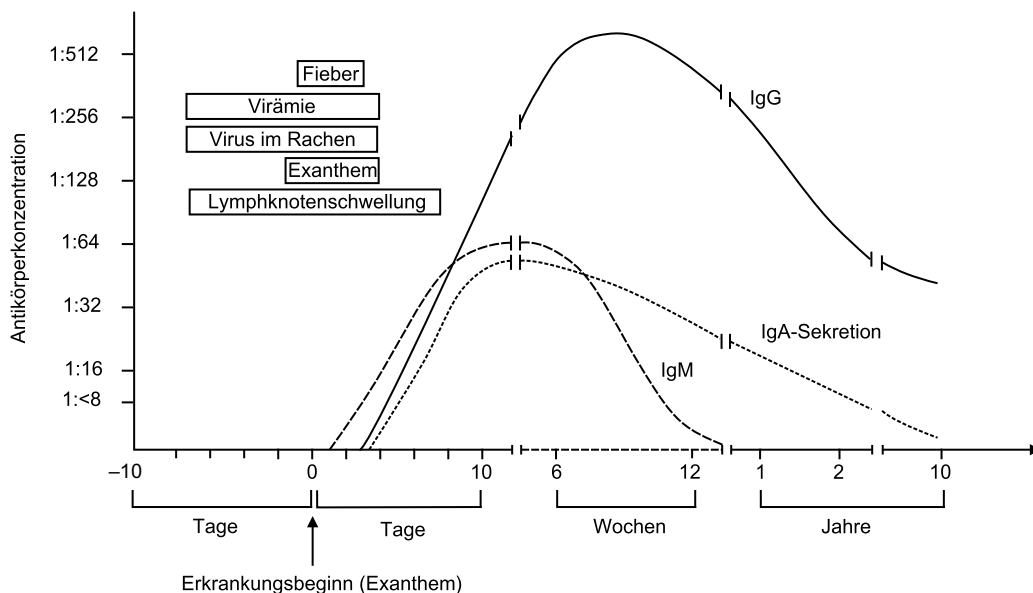
**Postnatale Infektionen** Die Röteln sind eine relativ harmlose, wenig fieberhafte Erkrankung. Etwa die Hälfte der Infektionen verlaufen bei Kindern inapparent. Der mit der symptomatischen Erkrankung verbundene, kleinfleckige und nicht konfluierende *Hautausschlag (Exanthem)* tritt etwa ein bis zwei Wochen nach dem Kontakt mit dem Rötelnvirus auf und bleibt bis zu fünf Tage bestehen (► Abbildung 14.19). Er ist oft uncharakteristisch und deshalb von fleckförmigen Exanthemen anderer Viruserkrankungen nur schlecht zu unterscheiden. Erkältungsähnliche Symptome fehlen, oft sind stark *geschwollene Halslymphknoten* zu beobachten. Insbesondere bei jungen Frauen gehen die Infektionen zum Teil mit *Arthralgien* der kleinen Gelenke einher, die meist innerhalb von einigen Wochen abklingen. Selten kommt es zu einer Thrombocytopenie, deren Entstehungsmechanismus ungeklärt ist. Eine Enzephalitis tritt mit einer Häufigkeit von 1:6000 auf. Etwa 20 Prozent der Rötelninfektionen mit dieser postinfektiösen Enzephalitis verlaufen tödlich.

**Pränatale Infektionen** Erfolgt die Infektion mit dem Rötelnvirus während des ersten Drittels der Schwangerschaft, können *Abort*, *Totgeburt* und *Missbildungen des Embryos* auftreten, während die werdende Mutter keine

oder nur leichte Symptome zeigt. In den ersten 16 Schwangerschaftswochen – zur Zeit der Organdifferenzierung – werden besonders viele Embryonen und Feten geschädigt. Mehrfachdefekte treten vor allem nach einer Infektion in den ersten beiden Schwangerschaftsmonaten auf, nach dem dritten Schwangerschaftsmonat geht die Komplikationsrate gegen Null. Während der virämischen Phase wird die Placenta in 80 bis 90 Prozent, der Embryo in 60 bis 70 Prozent der Fälle infiziert. Leitsymptome sind *Augenschäden*, *Herzmissbildungen* und *Innenohrdefekte*. Als Spätfolgen beobachtet man Hörstörungen, Panencephalitis, Diabetes mellitus und Krampfleiden (► Tabelle 14.15).

## Pathogenese

Das Virus wird durch Tröpfcheninfektion übertragen. Es gelangt über die Schleimhaut des Mund-, Nasen- und Rachenraumes in den Organismus. Die primäre Replikation erfolgt im Epithel dieser Region. Dort werden Makrophagen und Lymphocyten infiziert, die das Virus in die lokalen Lymphknoten transportieren. Hier findet das Virus weitere Zielzellen, in denen es repliziert. In der Folge schwellen die Lymphknoten stark an. Von ihnen geht wahrscheinlich die Virämie aus, in deren Verlauf Rötelnviren frei und auch zellgebunden im Blut vorhanden sind. Sie breiten sich über den Organismus aus und



**14.19** Verlauf der Antikörperbildung bei einer Rötelnvirusinfektion. Tag 0 auf der Skala gibt die Zeit an, bei welcher das erstmalige Auftreten des Hautausschlags (Exanthem) beobachtet wird. Die Inkubationsperiode beträgt bis zu zehn Tage. Bereits vor der Ausbildung des Exanthems findet man Lymphknotenschwellungen und das Rötelnvirus ist im Blut sowie im Rachenspülwasser nachweisbar. IgM-Antikörper kann man sehr bald nach dem Einsetzen der Symptome im Blut nachweisen, ihre Konzentration nimmt im Verlauf von drei bis sechs Monaten ab. IgG-Antikörper folgen den IgM-Immunglobulinen und bleiben lebenslang nachweisbar.

Tabelle 14.15 Rötelnembryopathien und ihre Symptome

Syndrom	Organ	Symptom
Gregg-Syndrom	Herz	persistierender Ductus Botalli Aortenstenose
	Augen	Katarakt Glaukom Retinopathie
	Ohren	Innenohrdefekte
erweitertes Röteln Syndrom		geistige Retardierung geringes Geburtsgewicht Minderwuchs, Osteopathie Encephalitis Hepatosplenomegalie Pneumonie Thrombocytopenie Purpura
spätes Röteln Syndrom		chronisches Exanthem Wachstumsstillstand interstitielle Pneumonie IgG- und IgA-Hypogammaglobulinämie Persistenz von IgM
Spätmanifestation		Hörschäden Diabetes mellitus progressive Panencephalitis Krampfleiden

sind unter anderem in der Tränenflüssigkeit, im Nasen-Rachen-Raum, im Cervixsekret, im Liquor und in der Synovialflüssigkeit nachweisbar. Zusammen mit den ersten virusspezifischen Antikörpern tritt das Exanthem auf. *Immunkomplexe*, also mit Antikörpern komplezierte Viren, die sich am Endothel der Blutkapillaren in der Haut anlagern und lokale Entzündungen hervorrufen, sind dafür verantwortlich.

Auch die akute Arthritis, die in Verbindung mit der Infektion auftritt, wird auf Virus-Antikörper-Komplexe zurückgeführt, die in der Gelenkflüssigkeit vorhanden sind. In Zellen der Synovialmembranen wird vermehrt IL-1 produziert, ein Hinweis darauf, dass dort Entzündungsprozesse ablaufen. Hinweise darauf, dass sich das Rötelnvirus in Synovialzellen vermehren kann und dort über längere Zeiträume persistiert, hat man bei Kleinkindern mit kongenitalem Röteln Syndrom gefunden – also bei Kindern, die während des Embryonalstadiums infiziert wurden. Bei ihnen lässt sich das Rötelnvirus in den Wachstumszonen der Knochen, den Epi- und Diaphysen, nachweisen. Man nimmt an, dass das in diesen Kindern persistierende Virus die Produktion von Interferonen auslöst und dadurch die Teilung der Knochenzellen hemmt, was einen Minderwuchs der Extremitäten bewirkt. In den seltenen Fällen der postinfektiösen Encephalitis kann man gelegentlich virale Proteine im

Gehirngewebe nachweisen. Man vermutet hier eine zelluläre Autoimmunantwort gegen das basische Myelinprotein der Rückenmarks- und Nervenscheiden, weil Lymphocyten der Erkrankten nach der Zugabe dieses Proteins proliferieren.

Bei Infektionen während der Schwangerschaft transportiert das Blut die Viren in die Placenta und in die Chorionzotten. Dort vermehrt es sich und gelangt schließlich in das Endothel der placentaren Blutgefäße und damit in den kindlichen Kreislauf. Die durch die Infektion abgelösten Endothelzellen bilden sogenannte „*Emboli*“, die das Virus im Organismus verbreiten. Die Virusproduktion mit Ausscheidung dauert aber nach der Geburt noch lange Zeit (bis zu einem Jahr) an. Wie die Schädigung der sich differenzierenden Organe und die Störung der embryonalen Zellteilung zustande kommen, ist unbekannt. Man vermutet, dass dabei Interferone und möglicherweise weitere Cytokine mit zellschädigenden Eigenschaften oder auch Apoptosemechanismen eine wichtige Rolle spielen.

## Immunreaktion und Diagnose

**Postnatale Röteln** Im Infektionsverlauf werden IgM-, IgA- und IgG-Antikörper gegen die viralen E1-, E2- und C-Proteine gebildet. Neutralisierend sind die E1-spezifi-

schen Immunglobuline. Der Antikörpernachweis erfolgt durch *Hämagglutinationshemm-* oder *ELISA-Tests*. Virusspezifisches IgM bleibt etwa vier bis sechs Monate nach der Infektion nachweisbar, IgG lebenslang (► Abbildung 14.19). Akute Rötelninfektion sind durch das gemeinsame Vorliegen von virusspezifischem IgM und IgG sowie den Nachweis der viralen RNA mittels der Polymerasekettenreaktion diagnostizierbar. Das alleinige Vorhandensein von IgG-Antikörpern weist auf eine abgelaufene Infektion hin. Bei immunen Personen lassen sich cytotoxische T-Lymphozyten nachweisen, die bevorzugt Epitope des C-Proteins erkennen.

**Pränatale Röteln** Infektionen des Embryos sind früh durch Nachweis viraler RNA mittels der Polymerasekettenreaktion in Chorionzottenmaterial möglich. Virusspezifisches IgM kann erst ab der 22. bis 23. Schwangerschaftswoche im Nabelschnurblut nachgewiesen werden. Der Nachweis von IgM und viraler RNA gibt jedoch keinen Aufschluss darüber, ob eine Embryopathie vorliegt. Rötelnviruspezifische IgM-Antikörper und Virus-RNA bleiben bis längere Zeit nach der Geburt nachweisbar. Eine periphere Toleranz, möglicherweise in Kombination mit einer Störung des Umschaltens der Synthese der Antikörperklassen von IgM zu IgG, kann für die Persistenz der Rötelninfektion verantwortlich sein. Auch die Stimulierbarkeit der Lymphocyten durch virale Proteine ist deutlich reduziert.

Pränatale Röteln stellen eine medizinische Indikation für den Schwangerschaftsabbruch dar. Aufgrund der derzeit in Deutschland geltenden Bestimmungen der Mutterschaftsrichtlinie muss deshalb die Immunität gegen Röteln untersucht und im Mutterpass dokumentiert werden. Bei Verdacht auf eine Rötelnexposition einer nicht immunen Schwangeren muss der Antikörpertiter im Hämagglutinationshemmtest bestimmt werden. Ist IgG in Serumverdünnungen von 1/32 und höher vorhanden, so ist die Patientin vor der Infektion geschützt und es besteht keine Gefahr einer embryonalen Schädigung. Liegt der Wert darunter und es zeigt sich auch im ELISA keine eindeutige Reaktivität, sollte innerhalb von drei Tagen nach der Exposition rötelnviruspezifisches IgG verabreicht werden, da eine frische Infektion möglich ist. In der Folge muss man durch weitere Antikörperkontrollen feststellen, ob in der Schwangeren tatsächlich eine Infektion abläuft oder abgelaufen ist und ob der Embryo infiziert wurde. Erschwerend kommt hinzu, dass IgM-Reaktivitäten im ELISA in der Schwangerschaft unspezifisch sein können. Ist im Nabelschnurblut rötelnviruspezifisches IgM vorhanden und der Nachweis der Virus-RNA in der Polymerasekettenreaktion positiv, so ist eine Indikation für einen Abbruch der Schwangerschaft wegen des hohen Risikos einer mög-

lichen Schädigung des ungeborenen Kindes durch die Infektion gegeben. Die retrospektive Bestimmung des wahrscheinlichen Infektionszeitpunkts der Mutter ist dabei von ausschlaggebender Bedeutung, da das Risiko der Embryopathie im Verlauf des ersten Schwangerschaftstrimesters deutlich abnimmt. Dazu werden auch Avidität und Reaktivität der Antikörper gegen einzelne Proteine in der Immunoblot-Untersuchung herangezogen.

## Therapie und Prophylaxe

Zur Verhinderung der Rötelnvirusinfektion existiert ein attenuierter Lebendimpfstoff. Seit 1979 wird der Stamm RA 27/3 eingesetzt, der hohe Antikörpertiter induziert und dazu geführt hat, dass die Röteln in Europa und Nordamerika nur noch vereinzelt auftreten. In Deutschland erfolgt die Rötelnimpfung im Kombinationsimpfstoff mit attenuierten Impfstämmen gegen Masern, Mumps und Windpocken am Anfang des 2. Lebensjahrs; eine zweimalige Applikation gilt als schützend. Seit der Einführung der Impfung ist die Zahl der kongenitalen Rötelninfektionen und der Embryopathien stark zurückgegangen. Konnatale Röteln sind nach den Vorgaben des Infektionsschutzgesetzes meldepflichtig; in den Jahren zwischen 2000 und Ende 2009 sind in Deutschland acht kongenitale Rötelninfektionen gemeldet worden.

Bei nachgewiesener Exposition nicht immuner Schwangerer mit dem Rötelnvirus nimmt man eine passive Immunisierung mit virusspezifischem IgG vor. Der Schutzeffekt ist umso größer, je eher diese passive Immunisierung erfolgt; schon drei Tage nach der Exposition ist der vermittelte Schutz nur noch gering. Der Einsatz des Lebendimpfstoffes ist während der Schwangerschaft nicht erlaubt. Eine Chemotherapie existiert nicht.

## 14.6.6 Tierpathogene Togaviren

### Die verschiedenen equinen Encephalitisviren

#### Epidemiologie und Übertragung

Im Genus Alphavirus sind Erreger zusammengefasst, die von Arthropoden, meist von Mücken der Gattungen *Culex* und *Aedes*, übertragen werden und unterschiedliche Krankheiten bei Mensch und Tier verursachen können. Neben *neurotrophen Alphaviren*, die bei einer Infektion eine Encephalitis verursachen können – hierzu zählen insbesondere die verschiedenen Typen der equi-



## Das Chikungunya-Virus verursacht seit kurzem Erkrankungen bei Menschen in europäischen Ländern

Das Chikungunya-Virus war erstmals 1953 aus einem Patienten mit einer fieberhaften Erkrankung in Ostafrika (damals Tanganyika) isoliert worden. Infektionen mit diesem Virus sind vermutlich schon seit dem späten 18. Jahrhundert, fälschlicherweise jedoch als epidemische Ausbrüche des Denguefiebers, dokumentiert. Zwischen 1960 und 2003 wurde das Chikungunya-Virus immer wieder als Verursacher von regional begrenzten Epidemien in den Ländern Ost-, Süd- und Westafrikas sowie in Südostasien (unter anderem in Indien, Pakistan, Malaysia, Thailand, Indonesien, Vietnam) nachgewiesen. Seit 2004 wurde das Virus wiederholt auch bei Patienten in verschiedenen europäischen Ländern gefunden, vor allem in Italien, aber auch in Deutschland, Belgien, Frankreich, Spanien, Großbritannien und Norwegen. Die Infektionen verlaufen mit hohem Fieber, Arthralgien und Hautausschlägen, die Morbidität der Infektion ist hoch. Insbesondere die Gelenkschwellungen und -entzündungen können über Monate andauern – sie

gaben dem Virus auch seinen Namen: Chikungunya bedeutet: „das, was verbiegt“. Als natürliche Wirte und Reservoire für die Erreger gelten nichtmenschliche Primaten in Afrika und Südostasien. Von ihnen ausgehend werden sie von verschiedenen Arten von *Aedes*-Mücken aufgenommen und durch sie – auch von Mensch zu Mensch – übertragen. Für die in den letzten Jahren in Europa beobachteten Chikungunya-Infektionen macht man vor allem *A. albopictus* (Tigermücke) verantwortlich, da diese Mückenart in subtropischen und auch kühleren Regionen existieren kann. Vermutlich wurde das Virus ursprünglich durch Touristen oder Mücken in die Länder Europas importiert und führte so zu den lokalen Ausbrüchen. Insbesondere eine weitere Erwärmung des Klimas könnte dazu führen, dass sich die *Aedes*-Mücken zunehmend auch in Europa heimisch fühlen und es deshalb zu vermehrten Infektionen mit den Chikungunya-Viren kommen kann.

nen Encephalitis-Viren und einige andere der Alphaviren der Neuen Welt –, spielen in Europa, Afrika und Asien vor allem Alphaviren eine Rolle, die meist milde Krankheitsanzeichen oder *Arthritiden* hervorrufen.

Neben ihrer Bedeutung als *zoonotische Erreger* sind die equinen Encephalitisviren aufgrund ihrer Epidemiologie und ihrer molekularen Evolution wichtig. Alle haben einen enzootischen Zyklus, der kleine Nagetiere und Vögel einschließt. Übertragen werden sie zwischen diesen Wirten durch Mücken. Die Wirtsspezifität der Mücken bestimmt auch den Charakter der Infektionen. Pferde und Menschen stellen dabei lediglich akzidentielle Wirte dar, von denen die Viren nicht weiter verbreitet werden können. Nur bestimmte epizootische Subtypen des Venezuelan-Equine-Encephalitis-Virus verursachen in Pferden oder Menschen eine Virämie, in deren Verlauf die Erreger in so großen Mengen vorliegen, dass sie ausreichen, um eine saugende Mücke zu infizieren. Nur in diesem Fall tragen die Infektionen der Pferde und Menschen zur Verbreitung der Viren bei.

Das *Eastern-Equine-Encephalitis-Virus* (EEEV) ist im Süden der Vereinigten Staaten sowie in vielen Ländern Südamerikas endemisch und infiziert asymptomatisch unterschiedliche Vogelarten, darunter verschiedene Sing- und Wattvögel. In anderen eingeführten Vogelarten wie dem Jagdfasan oder dem Emu verursacht es letale Infektionen und schwere wirtschaftliche Verluste.

Bestimmte, nur an Vögeln saugende Mückenarten, insbesondere *Culiseta melanura*, halten diesen endemischen Vogelzyklus aufrecht. Saugen an infizierten Vögeln andere Mückenarten, die auch Säugetiere und Menschen stechen, kann es zu Epidemien kommen, welche die Säugetiere als Wirte einschließen. In Regionen mit gemäßigttem Klima besteht eine saisonale Häufung von Erkrankungen im Spätsommer; in tropischen Klimazonen finden ganzjährig Infektionen der Reservoirwirte und Übertragungen statt.

Das *Western-Equine-Encephalitis-Virus* (WEEV) ist ebenfalls weit über den amerikanischen Kontinent verbreitet und wird durch verschiedene Mückenarten verbreitet. Während in Nordamerika der enzootische Zyklus weitgehend über die Infektion verschiedener Singvögel aufrechterhalten wird, spielen in Südamerika vor allem Nagetiere als Reservoir eine herausragende Rolle. Die Infektion von Pferden und Menschen ist auch hier akzidentell.

Im Gegensatz zu den Eastern- und Western-Equine-Encephalitis-Viren ist beim *Venezuelan-Equine-Encephalitis-Virus* (VEEV) der Wechsel vom enzootischen zum epizootischen Zyklus abhängig von einer Mutation in den für das E2-Protein codierenden Genomsequenzen des prävalenten enzootischen Virus. Während die enzootisch vorkommenden Subtypen I-D bis I-E sowie der anderen Viren des VEEV-Komplexes (Mosso dos





## Enzootische und epizootische Zyklen bestimmen die Epidemiologie der equinen Encephalitisviren

Die equinen Encephalitisviren EEEV, WEEV und VEEV sind Arboviren („Arbo“, engl.: *arthropod-borne* für „von Arthropoden getragen“), die sich in der Regel asymptomatisch in ihren Wirten, vor allem Singvögeln und Nagetieren, replizieren und in diesen eine ausreichend große Virämie etablieren, um durch Mücken unter diesen Wirten übertragen zu werden. Dies bezeichnet man als *enzootischen Zyklus*.

Durch verschiedene Faktoren wie eine Massenvermehrung von nicht streng wirtsspezifischen Mückenarten, die den Viren als Reservoir dienen, kann es zu einem Saugakt an anderen Tierarten und damit zur Übertragung beispielsweise auf Menschen, Pferde oder andere Säugetiere kommen. Man spricht dann von einem *epizootischen Zyklus*.

Pedras, Everglades, Mucambo, Tonate, 71D–1252, Pixuna, Cabasson und Rio Negro) nur begrenzte Infektionsherde in Kleinnagern aufbauen und hier von Mücken der Gattung *Culex* übertragen werden, geschieht die Übertragung der epizootischen Subtypen I-AB und I-C durch Stechmücken der Gattungen *Aedes* und *Psorophya* und schließt die Infektion einer Vielzahl von Säugetieren, auch von Pferden und Menschen, ein. Die pathogenetische Grundlage für die epizootischen Typen liegt in ihrer Fähigkeit, eine hochtitrige Virämie in ihren Wirten zu verursachen und die Übertragung zu ermöglichen. Phylogenetische Untersuchungen zeigen, dass die epizootischen Subtypen möglicherweise vor jedem epizootischen Ausbruch neu aus den enzootischen Viren entstehen. So konnte durch Austausch des E2-Gens aus einem enzootischen I-D-Virus mit einem I-AB-Virus der epizootische Biotyp generiert werden.

Neben der Epizootiologie ist bei diesen Viren auch die Evolution interessant: Die Western-Equine-Encephalitis-Viren sind aus einer Rekombination zwischen dem Eastern-Equine-Encephalitis- und einem dem Sindbisvirus ähnlichen Vorläufervirus hervorgegangen (► Kapitel 12). Diese Rekombination führte zum Austausch der für die Glycoproteine codierenden Gene des Eastern-Equine-Encephalitis-Virus mit denjenigen des sindbisähnlichen Virus.

### Klinik

Infektionen mit den in Osteuropa, Asien und Afrika verbreiteten Alphaviren verlaufen häufig asymptomatisch (Semliki-Forest-Virus) oder sind mit leichtem Fieber, Hautausschlägen und Gelenkentzündungen verbunden (Sindbisvirus). Die amerikanischen equinen Encephalitisviren können hingegen häufig eine Encephalitis in den infizierten Organismen induzieren.

### Pathogenese

Die Alphaviren gelangen durch Insektenstiche direkt in die Blutbahn und lagern sich mittels der Membranproteine an überwiegend noch nicht bekannte Rezeptoren auf Endothelzellen und lymphatischen Zellen an. Dort vermehren sie sich. Über das Blut werden sie zu den weiteren Zielorganen transportiert. Das geschädigte Endothel ermöglicht den Übertritt der Viren in das zentrale Nervensystem, wo sie sich in den Neuronen vermehren. Die Mechanismen der Neuronenschädigung durch Induktion der Apoptose sind im Detail am Beispiel der Sindbisvirusinfektion in der Maus untersucht. Das Sindbisvirus zeigt eine altersabhängige Pathogenität für Mäuse. Neugeborene Babymäuse erkranken letal nach einer intracerebralen Infektion, während Mäuse im Alter von vier Wochen nicht erkranken und das Virus eine Woche nach Inokulation eliminieren. Die Viruseliminierung erfolgt durch virusspezifische Antikörper. Wie man zeigen konnte, beruht dieses Phänomen darauf, dass die Virusinfektion in unreifen Neuronen die Apoptose induziert, während reife Neuronen diesen Vorgang durch einen noch unbekanntem Faktor verhindern können. Die Resistenz ist jedoch nicht absolut und kann durch besonders virulente Virusstämme durchbrochen werden. Offensichtlich ist dabei das virale Glycoprotein E2 von besonderer Bedeutung: Die Untersuchung von Virusmutanten, die durch ortgerichtete Mutagenese hergestellt wurden, zeigte eine besondere Rolle der Aminosäure Histidin an Position 55 für die Virulenz.

### Immunreaktion und Diagnose

Die Infektion mit den equinen Encephalitisviren hinterlässt eine belastbare, langanhaltende Immunität. Die Diagnose kann über den direkten Virusnachweis im Blut

während der Virämiephase oder *post mortem* in Hirnmaterial gestellt werden. Gebräuchlich ist der indirekte Nachweis der Infektion durch die Untersuchung von Serumpaaren, die zum Zeitpunkt der akuten Infektion und nach weiteren drei Wochen gewonnen werden. Die Antikörpertiter werden in Hämagglutinationshemm- oder Virusneutralisationstests bestimmt.

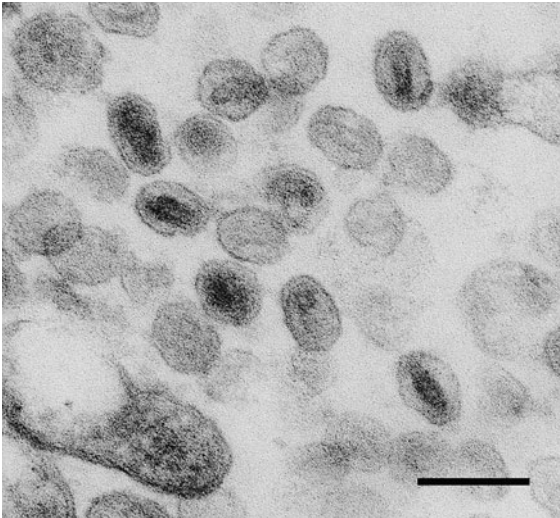
## Bekämpfung und Prophylaxe

Gegen Infektionen mit allen Vertretern der equinen Encephalitisviren sind Impfstoffe verfügbar, die bei Menschen, Pferden und wertvollen Vogelarten, wie etwa dem vom Aussterben bedrohten Schreikranich (*Grus americana*), eingesetzt werden. Sie basieren auf abgetöteten, in Zellkultur gezüchteten Viren. Eine konsequente Impfung kann die Entstehung von Epizootien verhindern oder – nach ihrem Ausbruch – günstig beeinflussen.

### 14.6.7 Weiterführende Literatur

- Angelini, R.; Finarelli, A. C.; Angelini, P.; Po, C.; Petropulacos, K.; Silvi, G.; Macini, P.; Fortuna, C.; Venturi, G.; Magurano, F.; Fiorentini, C.; Marchi, A.; Benedetti, E.; Bucci, P.; Boros, S.; Romi, R.; Majori, G.; Ciufolini, M. G.; Nicoletti, L.; Rezza, G.; Cassone, A. *Chikungunya in north-eastern Italy: a summing up of the outbreak*. In: *Euro. Surveill.* 12 (2007) 071122.2.
- Banatvala, J. E.; Brown, D. W. *Rubella*. In: *Lancet* 363 (2004) S. 1127–1137.
- Chen, J.; Strauss, J. H.; Strauss, E. G.; Frey, T. K. *Characterization of the rubella virus nonstructural protease domain and its cleavage site*. In: *J. Virol.* 70 (1996) S. 4707–4713.
- Chevillon, C.; Briant, L.; Renaud, F.; Devaux, C. *The Chikungunya threat: an ecological and evolutionary perspective*. In: *Trends Microbiol.* 16 (2008) S. 80–88.
- Fontana, J.; Tzeng, W. P.; Calderita, G.; Fraile-Ramos, A.; Frey, T. K.; Risco, C. *Novel replication complex architecture in rubella replicon-transfected cells*. In: *Cell Microbiol.* 9 (2007) S. 875–890.
- Frey, T. K. *Molecular biology of rubella virus*. In: *Adv. Virus Res.* 44 (1994) S. 69–160.
- Gonzalez, M. E.; Carrasco, L. *Viroporins*. In: *FEBS Lett.* 552 (2003) S. 28–34.
- Gould, E. A.; Coutard, B.; Malet, H.; Morin, B.; Jamal, S.; Weaver, S.; Goralenya, A.; Moureau, G.; Baronti, C.; Delogu, I.; Forrester, N.; Khasnatinov, M.; Gritsun, T.; de Lamballerie, X.; Canard, B. *Understanding the alphaviruses: Recent research on important emerging pathogens and progress towards their control*. In: *Antiviral Res.* (2009) doi:10.1016/j.antiviral.2009.07.007
- Greene, I. P.; Paessler, S.; Austgen, L.; Anishchenko, M.; Brault, A. C.; Bowen, R. A.; Weaver, S. C. *Envelope glycoprotein mutations mediate equine amplification and virulence of epizootic venezuelan equine encephalitis virus*. In: *J. Virol.* 79 (2005) S. 9128–9133.
- Kiiver, K.; Tagen, I.; Zusinaite, E.; Tamberg, N.; Fazakerley, J. K.; Merits, A. *Properties of non-structural protein 1 of Semliki Forest virus and its interference with virus replication*. In: *J. Gen. Virol.* 89 (2008) S. 1457–1466.
- Law, L. M.; Everitt, J. C.; Beatch, M. D.; Holmes, C. F.; Hobman, T. C. *Phosphorylation of rubella virus capsid regulates its RNA binding activity and virus replication*. In: *J. Virol.* 77 (2003) S. 1764–1771.
- Lin X.; Yang, J.; Ghazi, A. M.; Frey, T. K. *Characterization of the Zinc Binding activity of the Rubella Virus nonstructural protease*. In: *J. Virol.* 74 (2000) S. 5949–5956.
- Melton, J. V.; Ewart, G. D.; Weir, R. C.; Board, P. G.; Lee, E.; Gage, P. W. *Alphavirus 6K proteins form ion channels*. In: *J. Biol. Chem.* 277 (2002) S. 46923–46931.
- Powers, A. M.; Brault, A. C.; Shirako, Y.; Strauss, E. G.; Kang, W.; Strauss, J. H.; Weaver, C. *Evolutionary relationships and systematics of the alphaviruses*. In: *J. Virol.* 75 (2001) S. 10118–10131.
- Powers, A. M.; Logue, C. H. *Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus*. In: *J. Gen. Virol.* 88 (2007) S. 2363–2377.
- Shirako, Y.; Strauss, J. H. *Regulation of sindbis virus RNA replication: uncleaved p123 and nsP4 function in minus strand RNA synthesis whereas cleaved products from p123 are required for efficient plus-strand synthesis*. In: *J. Virol.* 68 (1994) S. 1874–1885.
- Singh, N. K.; Atreya, C. D.; Nakhasi, H. L. *Identification of calreticulin as a rubella virus RNA binding protein*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91 (1994) S. 12770–12774.
- Spuul, P.; Salonen, A.; Merits, A.; Jokitalo, E.; Kääriäinen, L.; Ahola, T. *Role of the amphipathic peptide of Semliki forest virus replicase protein nsP1 in membrane association and virus replication*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 872–883.
- Weaver, S. C.; Powers, A. M.; Brault, A. C.; Barrett, A. D. *Molecular epidemiological studies of veterinary arboviral encephalitides*. In: *The Veterinary Journal* 157 (1999) S. 123–128.
- Weaver, S. C.; Pfeffer, M.; Marriott, K.; Kang, W.; Kinney, R. M. *Genetic evidence for the origins of Venezuelan equine encephalitis virus subtype IAB outbreaks*. In: *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60 (1999) S. 441–448.
- Wolinsky, J. S. *Rubella Virus*. In: Fields, B. N.; Knipe, D. N.; Howley, P. M. (Hrsg.) *Virology*. 3. Aufl. New York (Raven Press) 1995. S. 899–930.
- Zhou, Y.; Tzeng, W. P.; Yang, W.; Zhou, Y.; Ye, Y.; Lee, H. W.; Frey, T. K.; Yang, J. *Identification of a Ca<sup>2+</sup>-binding domain in the rubella virus non-structural protease*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 7517–7528.
- Zhou, Y.; Ushijima, H.; Frey, T. K. *Genomic analysis of diverse rubella virus genotypes*. In: *J. Gen. Virol.* 88 (2007) S. 932–941.
- Zusinaite, E.; Tints, K.; Kiiver, K.; Spuul, P.; Karo-Astover, L.; Merits, A.; Sarand, I. *Mutations at the palmitoylation site of non-structural protein nsP1 of Semliki Forest virus attenuate virus replication and cause accumulation of compensatory mutations*. In: *J. Gen. Virol.* 88 (2007) S. 1977–1985.

## 14.7 Arteriviren



Die Arteriviren stellen zusammen mit den Corona- (► Abschnitt 14.8) und den Roniviren die Ordnung *Nidovirales* dar. Dies ist in der Genomorganisation, in dem Gebrauch von *polycistronischen mRNA-Transkripten* für die virale Genexpression sowie in den Transkriptions- und Translationsstrategien begründet – also in Merkmalen und Vorgängen, in denen sich die Vertreter dieser Virusfamilien ähneln. Darauf ist auch der Name der Ordnung zurückzuführen, der seinen Ursprung im lateinischen Wort *nidus* für „Nest“ hat. Er bezieht sich auf die einzigartige Transkriptionsstrategie der Nidovirales: Bei der mRNA-Synthese entstehen Transkripte, die zwar alle die gleichen 5'- und 3'-Enden aufweisen, bei denen jedoch der am 5'-Ende gelegene Sequenzabschnitt mit verschiedenen RNA-Abschnitten kombiniert wird, die weiter stromabwärts lokalisiert sind: Es entstehen somit Sets von polycistronischen (*nested*) mRNA-Molekülen. Andererseits sind die Unterschiede in der Größe der Virusgenome und -partikel sowie in der Sequenz und Art der Strukturproteine so deutlich, dass man sich entschloss, sie in getrennte Familien einzuordnen. Im Vergleich zu den Corona- und Roniviren sind die Partikel und die Genome der Arteriviren deutlich kleiner. Die Vertreter der Roniviren infizieren ausschließlich Wirbellose und Insekten, sie werden daher im Rahmen dieses Lehrbuchs nicht näher besprochen.

### 14.7.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

In der Familie der Arteriviren, die ausschließlich tierpathogene Erreger umfasst, gibt es nur eine Gattung (► Tabelle 14.16). Als ein charakteristischer Vertreter gilt das *equine Arteritisvirus* (EAV), das bei Pferden und Eseln eine persistierende asymptomatische Infektion induziert, in den Tieren aber auch Aborte oder hämorrhagisches Fieber verursachen kann. Die *Lactatdehydrogenase-induzierenden Viren* (LDV) und die *Simian-Haemorrhagic-Fever-Viren* (SHFV) infizieren Mäuse beziehungsweise verschiedene afrikanische und asiatische Affenarten. Diese Erreger hat man bereits im 19. Jahrhundert erstmals beschrieben. Dagegen traten Infektionen von Schweinen durch das *Virus des seuchenhaften Spätaborts der Schweine* (*Porcine-Reproductive-and-Respiratory-Syndrom-Virus*, PRRSV) erstmals und nahezu zeitgleich zwischen 1983 und 1988 in Europa und den USA auf.

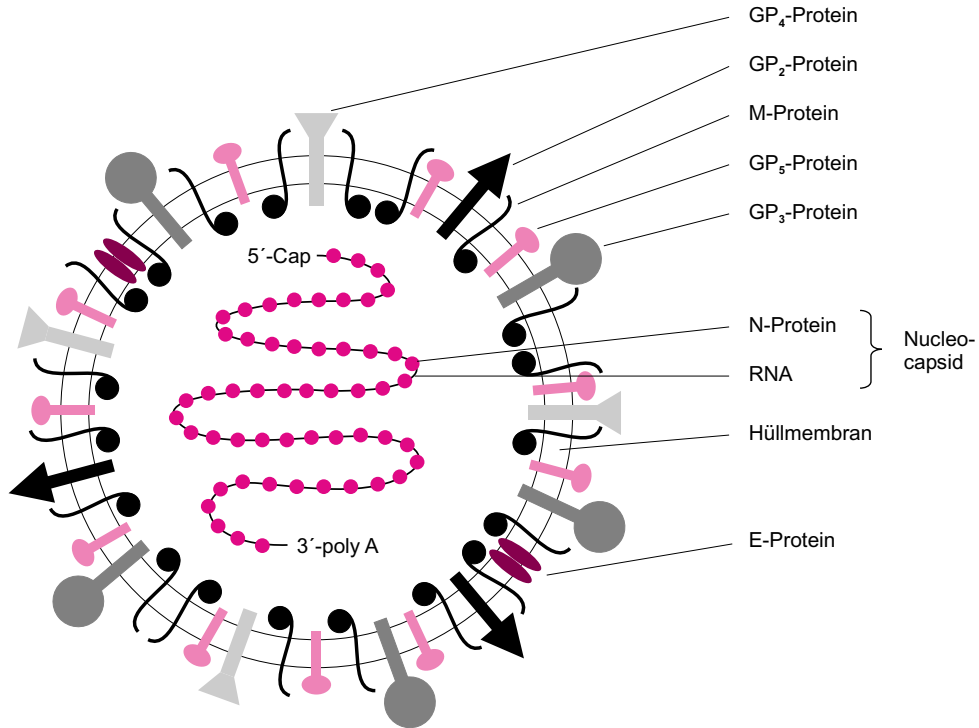
### 14.7.2 Aufbau

#### Viruspartikel

Die infektiösen Partikel der Arteriviren haben einen Durchmesser vom 40 bis 60 nm und bestehen aus *ikosaedrischen* oder *sphärischen Nucleocapsiden* (Durchmesser 25 bis 35 nm), die von einer *Membranhülle* umgeben sind (► Abbildung 14.20). Im Gegensatz zu den Coronaviren findet man bei Arteriviren Membranproteine, die nur gering (10 bis 14 nm) aus der Partikeloberfläche hervorragen. In die Hüllmembran sind vier virale Glycoproteine eingelagert: GP<sub>2</sub>, GP<sub>3</sub>, GP<sub>4</sub> und GP<sub>5</sub>, beim lactatdehydrogenaseinduzierenden Virus (LDV) handelt es sich um GP<sub>2</sub>, GP<sub>3</sub>, GP<sub>4</sub> und GP<sub>7</sub>. Als weitere Proteine sind die M- und E-Proteine mit der Virusmembran assoziiert. Das Nucleocapsid im Inneren

**Tabelle 14.16** Charakteristische Vertreter der Arteriviren

Genus	Tier
Arterivirus	equines Arteritisvirus (EAV)
	lactatdehydrogenaseinduzierendes Virus der Maus (LDV)
	Virus des seuchenhaften Spätaborts der Schweine (Porcine-Reproductive-and-Respiratory-Syndrom-Virus, PRRSV)
	Simian-Haemorrhagic-Fever-Virus (SHFV)



**14.20** Aufbau eines Arteriviruspartikels am Beispiel des Porcine-Reproductive-and-Respiratory-Syndrome-Virus (PRRSV). Im Inneren des Partikels liegt das mit N-Proteinen komplexierte RNA-Genom als helikales Nucleocapsid vor. Es ist von einer Membranhülle umgeben, in welche vier virale Glycoproteine (GP<sub>2</sub> bis GP<sub>5</sub>) sowie das nichtglycosylierte M-Protein eingelagert sind.

der Membranhülle besteht aus dem N-Protein und dem einzelsträngigen RNA-Genom.

### Genom und Genomaufbau

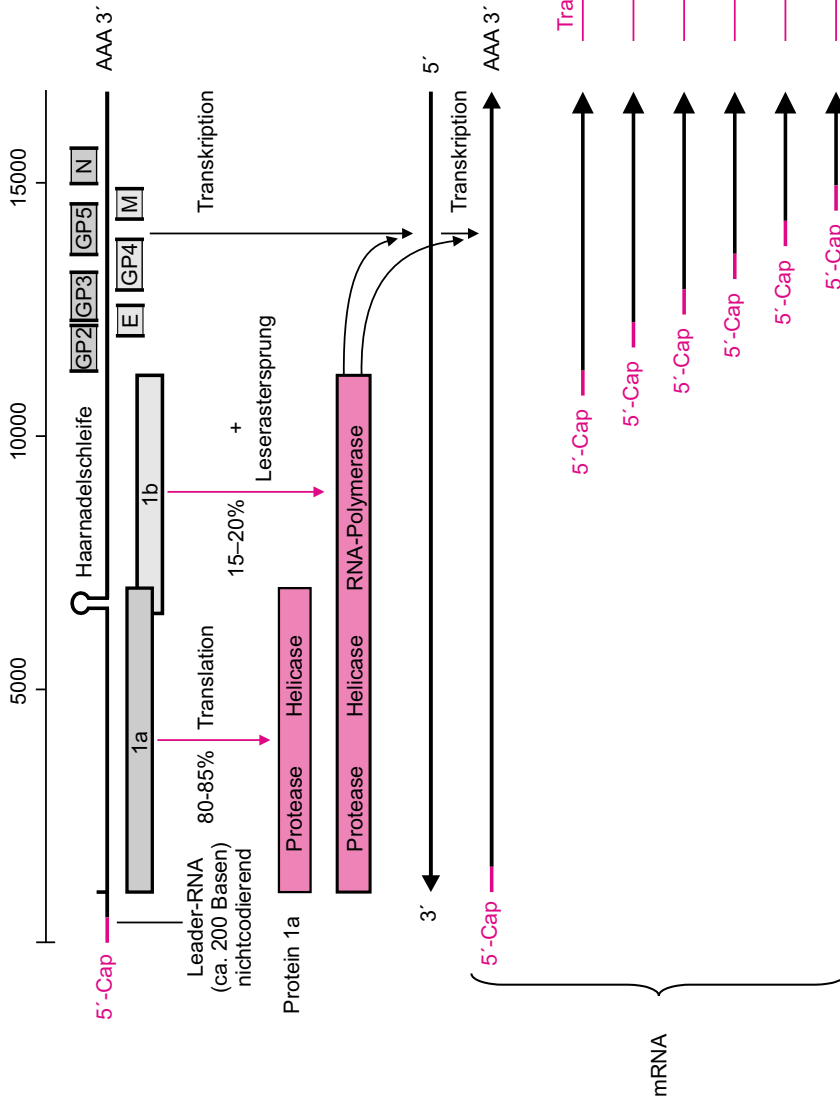
Die Genome der Arteriviren haben eine ähnliche Organisation wie die der Coronaviren, die Aufeinanderfolge der codierenden Regionen ist im Vergleich zu diesen aber wesentlich gedrängter. Daher sind sie kürzer und umfassen zwischen 12 704 (equines Arteritisvirus) und etwa 15 000 bis 15 700 Basen beim Virus des seuchenhaften Spätaborts der Schweine (PRRSV) beziehungsweise beim Simian-Haemorrhagic-Fever-Virus. Sie bestehen aus *einzelsträngiger RNA*, liegen in *Plusstrangorientierung* vor, besitzen am 5'-Ende eine methylierte *Cap-Struktur* und sind am 3'-Ende *polyadenyliert*. Die codierenden Genombereiche werden am 5'-Ende von 156 bis 221 beziehungsweise am 3'-Ende von 59 bis 117 nichttranslatierten Nucleotiden flankiert. Zwei große Leserahmen (1a und 1b), von denen der Leserahmen 1a am 5'-Ende beginnt, überlappen an den Enden miteinander und nehmen etwa zwei Drittel des Genoms ein (► Abbildung 14.21). Sie sind für die Synthese von zwei Polyproteinen (1a und 1ab) verantwortlich, aus welchen

die Nichtstrukturproteine durch proteolytische Spaltung entstehen. Eine *Verschiebung des ribosomalen Leserasters* während der Translation führt zum Überlesen eines Stoppcodons am Ende des 1a-Leserahmens und zur Bildung des Proteins 1ab. Durch die autokatalytische Spaltung entstehen *drei Proteasen* (NSP1, NSP2, NSP4), die *RNA-abhängige RNA-Polymerase*, eine *Helicase* sowie einige weitere Nichtstrukturproteine ungeklärter Funktion. Die Leserahmen 2 bis 7 (beziehungsweise 9 beim PRRSV) für die Strukturproteine befinden sich im Anschluss an die Gene für die Nichtstrukturproteine. In der Reihenfolge zum 3'-Ende codieren sie die Synthese der verschiedenen Glycoproteine sowie die des M- und des N-Proteins; das E-Protein wird durch einen intern auf der zweitlängsten mRNA gelegenen Leserahmen codiert.

### 14.7.3 Virusproteine

#### Nichtstrukturproteine

Bei der Translation der genomischen mRNA entstehen zwei große Vorläuferprodukte der Nichtstrukturpro-



**14.21** Genomorganisation und Replikationsverlauf bei Arteriviren. Das RNA-Genom des Virus wirkt als mRNA und wird im Cytoplasma der Zelle translatiert. Die beiden miteinander überlappenden Leserahmen codieren für die Nichtstrukturproteine 1a und 1b. Eine Haarnadelschleife induziert bei der Translation einen Leserastersprung und ermöglicht dadurch bei etwa 15 bis 20 Prozent der Translationsvorgänge die Synthese des Nichtstrukturproteins 1ab, das in seinem carboxyterminalen Bereich den Anteil der RNA-abhängigen RNA-Polymerase enthält. Sie werden durch die autokatalytische Aktivität von zwei Cysteinproteasen und einer Serinprotease in den aminoterminalen Anteilen der Vorläuferproteine gespalten. Die RNA-abhängige RNA-Polymerase schreibt das Plusstrang-RNA-Genom in einen Negativstrang um. Dieser dient als Matrize sowohl für die Synthese von neuen Plusstrang-RNA-Genomen als auch für die Transkription einer Reihe von subgenomischen mRNA-Spezies, die am 5'-Ende mit einer Cap-Gruppe modifiziert sind und bei allen mRNA-Molekülen die identischen Sequenzen der Leader-Region enthalten. Von den subgenomischen mRNAs werden die verschiedenen viralen Strukturproteine translatiert, deren Leserahmen sich im 3'-orientierten Drittel des Plusstrang-RNA-Genoms befinden. Diese überlappen zum Teil miteinander.





## XendoU und NendoU

Die ursprünglich bei *Xenopus laevis* gefundene zelluläre Endoribonuclease XendoU ist mit für die Prozessierung der nucleolären RNA-Spezies verantwortlich und zählt zu einer kleinen Proteinfamilie, zu der man auch die nidovirale Endoribonuclease NendoU rechnet. Die enzymatische Aktivität von NendoU ist  $Mn^{2+}$ -Ionen abhängig. Sie spaltet bevorzugt

doppelsträngige RNA vor oder nach Uridinresten in den Sequenzfolgen GUU oder GU; es entstehen Moleküle mit 2'-3'-zyklischen Phosphatenden. Daneben scheinen die NendoU-Enzyme, die bisher ausschließlich bei Nidoviren gefunden wurden, einige weitere, aber noch nicht näher charakterisierte Aktivitäten auszuüben.

teine: Das *Protein 1a* weist bei den unterschiedlichen Vertretern der Arteriviren eine Molekularmasse zwischen 187 und 260 kD auf, das *Protein 1ab* (345 bis 421 kD) ist im aminoterminalen Bereich identisch zum Protein 1a. Die drei im aminoterminalen Bereich beider Proteine lokalisierten Proteasen (NSP1, NSP2, NSP4) spalten die Vorläuferproteine in insgesamt zwölf Nichtstrukturproteine (NSP1 bis NSP12), deren Funktion in einigen Fällen nicht geklärt ist.

Bei den NSP1- und NSP2-Proteinen handelt es sich um *Cysteinproteasen*, die sich autokatalytisch von den Polyproteinen abspalten (► Tabelle 14.17). NSP4 ist eine *Serinprotease* und ähnelt der 3C-Protease der Picornaviren (► Abschnitt 14.1). Ihre Aktivität bedingt die weitere Prozessierung der Vorläuferproteine 1a und 1ab an bis zu acht Spaltstellen. Dadurch entstehen unter anderem die *RNA-abhängige RNA-Polymerase*, ein *metallo-nenbindendes Protein MP* und eine *Helicase* (NSP10). Letztere verfügt über eine  $Zn^{2+}$ -Ionen bindende Domäne, welche für die Bildung der viralen mRNAs, nicht aber für die Genomreplikation notwendig ist. Das NSP11 stellt die Endoribonuclease (NendoU, *nidoviral uridylate-specific endoribonuclease*) dar, die bei allen Vertretern der Nidovirales vorkommt. Ihre Aktivität scheint vor allem bei der Synthese der subgenomischen RNAs notwendig zu sein. In den meisten Fällen erfolgten die funktionellen Zuordnungen durch vergleichende Sequenzanalysen und nicht durch Reinigung und direkte Charakterisierung der Proteinaktivitäten.

## Strukturproteine

Die Strukturproteine der Arteriviren lassen sich in Haupt- (*major*-) und Neben- (*minor*-) Proteine unterteilen. Die Hauptproteine sind die  $GP_5$  ( $GP_7$  bei LDV), M- und N-Proteine. Zu der anderen Gruppe zählen das  $GP_2$ ,  $GP_3$ ,  $GP_4$  und E-Protein. Die Funktion des Strukturproteins E ist nicht endgültig geklärt, es ist jedoch essenziell für die Infektiosität und es gibt Hinweise, dass es sich um

ein Ionenkanalprotein handeln könnte. Die Glycoproteine liegen in komplexen Anordnungen vor,  $GP_5/GP_7$ - und M-Proteine bilden Heterodimere,  $GP_2$ ,  $GP_3$  und  $GP_4$  hingegen Heterotrimere. Daneben findet man als Zwischenprodukte der  $GP_2$ - und  $GP_4$ -Heterodimere, die in nachfolgenden Schritten über Cysteinbrücken mit  $GP_3$  assoziieren. Für den Einbau in die Virushüllmembran ist diese Komplexbildung mit  $GP_3$  eine Voraussetzung. Die neutralisierenden Epitope befinden sich überwiegend in den  $GP_5$ - beziehungsweise  $GP_7$ -Proteinen. Allerdings scheint für ihre korrekte Konformation das Vorliegen in heterodimerer Struktur mit den M-Proteinen notwendig zu sein.

Das *M-Protein* ist das Strukturprotein der Arteriviren mit dem höchsten Konservierungsgrad. Es ähnelt dem M-Protein der Coronaviren. Die carboxyterminalen Domänen befinden sich im Partikelinneren, die kurze aminoterminal Region ist auf der Virusoberfläche lokalisiert und flankiert von hydrophoben Sequenzen, die das Protein in der Membranhülle verankern. Über einen Cysteinrest in der aminoterminalen Domäne bildet das M-Protein eine Disulfidbrücke mit dem *Glycoprotein*  $GP_5$  beziehungsweise dem  $GP_7$  beim lactatdehydrogenaseinduzierenden Virus aus.

Das phosphorylierte *N-Protein* (12–15 kD) liegt gebunden an das RNA-Genom vor und bildet das Nucleocapsid.

## 14.7.4 Replikation

Arteriviren infizieren bevorzugt *Makrophagen* und gelangen über rezeptorvermittelte Endocytose in das Zellinnere. Die Rezeptoren, die von den Viren zur Adsorption verwendet werden, sind nicht endgültig bekannt. Das Virus des seuchenhaften Spätaborts der Schweine PRRSV scheint über das M-Protein mit Heparansulfat auf der Oberfläche von Makrophagen zu

Tabelle 14.17 Bekannte Funktionen und Eigenschaften der Arterivirusproteine

Protein	Größe (kD)	Eigenschaften	Funktion
GP <sub>5</sub> /GP <sub>7</sub> (LDV)	24–44	glycosyliert	Membranprotein; <i>major</i> Strukturprotein neutralisierende Antikörper bildet Heterodimere mit M-Protein Apoptose-Induktion?
GP <sub>2</sub>	20–35	glycosyliert	Membranprotein; <i>minor</i> Strukturprotein Heterotrimer mit GP <sub>3</sub> und GP <sub>4</sub>
GP <sub>3</sub>	27	glycosyliert	Membranprotein; <i>minor</i> Strukturprotein Heterotrimer mit GP <sub>2</sub> und GP <sub>4</sub>
GP <sub>4</sub>	20	glycosyliert	Membranprotein; <i>minor</i> Strukturprotein Heterotrimer mit GP <sub>2</sub> und GP <sub>3</sub>
M	16–20	–	Membranprotein; <i>major</i> Strukturprotein bildet Heterodimer mit GP <sub>5</sub> bzw. GP <sub>7</sub>
N	12–15	phosphoryliert	Nucleocapsidprotein; <i>major</i> Strukturprotein Homodimer
E	7–8	sehr hydrophob	Ionenkanalprotein? Homooligomere
NSP1	29	–	Cysteinprotease; papainähnlich
NSP2	61	–	Cysteinprotease
NSP4	21	–	Serinprotease; Homologien zu Chymotrypsin und 3C-Proteasen der Picornaviren; Hauptenzym zur Spaltung der Polyproteine
NSP9	?	–	RNA-abhängige RNA-Polymerase
NSP10	?	–	RNA-Helicase
NSP11	?	–	Endoribonuclease (NendoU)
MP	?	Zn <sup>2+</sup> -bindend	?

interagieren. Daneben fand man aber auch, dass sich das Virus an CD163 sowie an die aminoternale, variable Ig-ähnliche Domäne von Sialoadhäsine bindet – einem Mitglied der Immunglobulin-Superfamilie auf der Makrophagenoberfläche. Welches der viralen Glycoproteine diese Wechselwirkung vermittelt, ist unklar. Der Replikationszyklus ähnelt weitgehend dem der Coronaviren; auch bei den Arteriviren laufen alle Replikationsschritte im Cytoplasma der Zelle ab. Von der genomischen RNA werden zuerst – wie bereits erwähnt – die Polyproteine der Nichtstrukturproteine 1a und 1ab unter Induktion eines ribosomalen Leserastersprungs translatiert. Das Protein 1ab enthält die *RNA-abhängige RNA-Polymerase* (► Abbildung 14.21).

Im folgenden Schritt wird durch die Polymeraseaktivität des gebildeten Enzyms und unter Verwendung der

genomischen RNA als Matrize der Gegenstrang synthetisiert. Dieser umfasst das gesamte Genom und hat eine negative Orientierung. Im weiteren Verlauf des Replikationszyklus hat er zwei Funktionen: Er dient als Matrize für die Synthese neuer Virusgenome und für die Bildung mehrerer, subgenomischer mRNA-Spezies, von welchen die verschiedenen Strukturproteine der Arteriviren translatiert werden. All diese subgenomischen mRNAs haben die gleichen 5'- und 3'-Enden, die auch denjenigen des Virusgenoms entsprechen. An den 5'-Enden befindet sich jeweils eine einheitliche Sequenzfolge, die *Leader-RNA*. Sie ist am 5'-Ende gecappt und entspricht der Basenfolge im nichttranslatierten Abschnitt am 5'-Ende des Genoms. Diese Leader-RNA dient als Primer für die Synthese der subgenomischen mRNA-Spezies. Nahe ihrem 3'-Ende weist die Leader-RNA eine konser-

vierte Basenfolge (UCAAC beim equinen Arteritisvirus) auf. Komplementäre Sequenzen hierzu sind in der Negativstrang-RNA an unterschiedlichen Stellen zu finden. Sie sind in der Genomregion zwischen dem Ende des Leserahmens für das Polyprotein 1ab und dem 3'-Ende des Genoms den verschiedenen Initiationsstellen für die Synthese der subgenomischen mRNA-Spezies vorgelagert: Mit ihnen kann die Leader-RNA hybridisieren und so einen kurzen doppelsträngigen Bereich mit dem 3'-OH-Ende für die Fortsetzung der Polymerisation liefern. Ähnlich wie bei den Coronaviren kann die RNA-Polymerase die Synthese der subgenomischen mRNA-Spezies an den verschiedenen Startregionen vermutlich nicht selbst initiieren. Von diesen *nested*-Transkripten wird meist nur der am 5'-Ende gelegene Leserahmen in ein Protein übersetzt, nur im Fall des E-Proteins fand man die Transkription eines intern gelegenen Leserahmens.

Das N-Protein komplexiert mit den genomischen RNA-Strängen zu den Nucleocapsiden und bindet sich an die carboxyterminale Domäne des in die Membran des endoplasmatischen Reticulums eingelagerten M-Proteins. Dies löst den *Budding-Prozess* aus, in dessen Verlauf das Nucleocapsid mit der die M- und Glycoproteine enthaltenden Membran umgeben wird. Die entstehenden Partikel werden in das Lumen des endoplasmatischen Reticulums abgegeben und im weiteren Verlauf über die Golgi-Vesikel zur Zelloberfläche transportiert, wo sie in die Umgebung entlassen werden.

### 14.7.5 Tierpathogene Arteriviren

Bisher kennt man keine Arteriviren, die Menschen infizieren oder deren Infektion beim Menschen Krankheiten verursacht. Zu den wichtigsten tierpathogenen Arteriviren zählen das equine Arteritisvirus (EAV) und der Erreger des seuchenhaften Spätaborts der Schweine und Pferde (PRRSV).

## Das equine Arteritisvirus

### Epidemiologie und Übertragung

Das equine Arteritisvirus ist in Pferdepopulationen weltweit verbreitet. Es verursacht beim Pferd eine schon seit vielen Jahrzehnten bekannte Erkrankung, die heute als *equine Arteritis* bezeichnet wird. Sie äußert sich in Ödembildungen an Kopf und Extremitäten. Diese Manifestation hat der Krankheit auch die Synonyme „*Pink Eye*“ oder „*Pferdestaupe*“ eingebracht. Eine wirtschaftlich bedeutendere Erkrankungsform ist der *seu-*

*chenhafte Abort*, der in Gestüten epidemisch auftreten kann.

Nur Pferde scheinen für die Infektion empfänglich zu sein. Die Übertragung des Virus erfolgt durch *direkten Kontakt* und über *Aerosole*. Die Infektionen treten gehäuft auf Turnieren oder Messen auf, wenn viele Pferde aus unterschiedlichen Regionen zusammenkommen. Das Virus kann eine persistierende Infektion verursachen; einige Hengste scheiden es über Jahre mit dem Ejakulat aus. Dies ist epidemiologisch wichtig und tierseuchenrechtlich außerordentlich problematisch, da das Virus auf diese Weise auch bei künstlicher Besamung in der Population verbreitet werden kann.

### Klinik

Nach einer Inkubationszeit von etwa drei Tagen bis zwei Wochen kommt es zu Fieber und *Ödembildungen* an Kopf, Extremitäten und Unterbauch (Präputial- und Skrotalödem bei Hengsten) sowie zu einer *Konjunktivitis*. Die Erkrankung ist in der Regel transient und Todesfälle sind selten. Bei trächtigen Stuten kann es jedoch zehn bis 30 Tage nach der Infektion zum Verfohlen (Abort) kommen. In einem seronegativen und somit empfänglichen Tierbestand können bis zu 80 Prozent der tragenden Stuten verfohlen („*abortion storms*“). Bei Hengsten findet man eine vorübergehende Infertilität als Komplikation der EAV-Infektion. In der Regel verläuft die Infektion jedoch subklinisch, Erkrankungen sind selten.

### Pathogenese

Die Zielzellen des Virus sind vor allem *Makrophagen* und *Endothelzellen*. Durch diesen Tropismus erklären sich Klinik und Pathologie, da das Virus hierdurch sehr schnell in praktisch alle Organsysteme mit Ausnahme des zentralen Nervensystems gelangt und dort über Funktionsstörungen der Gefäße die Symptome und pathologischen Veränderungen induziert. Lokale Infarktionen und Ergüsse (Ödembildung) stehen hypovolämischen, systemischen Erscheinungen gegenüber. Die intrauterine Übertragung führt zu einer Infektion des Fetus, der ebenfalls aufgrund generalisierter Ödeme stirbt und abortiert wird. Der Abort geht in der Regel mit einer vollständigen Ablösung der Placenta einher.

### Immunreaktion und Diagnose

Die Diagnose kann serologisch durch Neutralisationstests erfolgen. Die Untersuchung von Serumpaaren gestattet im nachhinein die Diagnose einer akuten Infektion. Der Virusnachweis gelingt durch die Züch-

tung des Erregers in equinen Zelllinien oder durch den Nucleinsäurenachweis mittels RT-PCR.

## Bekämpfung und Prophylaxe

Eine Immunprophylaxe ist derzeit in Deutschland nicht verfügbar. In anderen Ländern sind Impfstoffe auf der Basis von sowohl attenuierten als auch inaktivierten, abgetöteten Viren zugelassen. Beide haben sich als grundsätzlich wirksam erwiesen.

## Das Virus des seuchenhaften Spätaborts der Schweine (PRRSV)

### Epidemiologie und Übertragung

Das Virus des seuchenhaften Spätaborts der Schweine (PRRSV) ist erst seit etwa 1985 bekannt, als es nahezu zeitgleich in Europa und Nordamerika auftrat. Beim Sequenzvergleich der ersten Viren, die auf beiden Kontinenten isoliert wurden, fand man eine Sequenzidentität von nur etwa 60 Prozent, aufgrund der Divergenz werden die Isolate als Genotypen bezeichnet. Genotyp I umfasst die Isolate vom europäischen Typ, Genotyp II repräsentiert diejenigen des nordamerikanischen Typs. Der Ursprung des PRRS-Virus ist unklar. Eine Hypothese geht von einem Wirtswechsel von der Maus zum Schwein aus, der unabhängig voneinander in Europa und Nordamerika stattfand. Alternativ wird diskutiert, dass Wildschweine in Europa über wildlebende Mäuse mit einem LDV-ähnlichen Erreger infiziert und dann von Europa nach Nordamerika transportiert wurden. Da PRRSV als Virus mit der höchsten bisher bekannten Mutationsrate gilt, konnte es sich in den getrennten Schweinepopulationen dann zu den bekannten Genotypen entwickeln.

Das Virus scheint nur Schweine zu infizieren und wird durch den *direkten Kontakt* der Tiere übertragen. Epidemiologisch von großer Bedeutung sind klinisch gesunde Schweine mit persistierender PRRSV-Infektion, die das Virus in empfängliche Herden einschleppen. Die vollständige Durchseuchung erfolgt dann innerhalb weniger Wochen.

### Klinik

Die durch Infektionen mit dem PRRSV verursachte Erkrankung beim Schwein ist derjenigen der equinen Arteritis sehr ähnlich. Die typischen Symptome sind *Fruchtbarkeitsprobleme*, die sich vor allem als *Spätaborte* nach einer Tragzeit von mehr als 110 Tagen (normale Trächtigkeitsdauer beim Schwein: 115 Tage) manifestie-

ren. Daneben werden auch abgestorbene, mumifizierte Feten abgesetzt. Im Gegensatz zur Infektion mit dem porcinen Parvovirus (► Abschnitt 20.1.6) finden sich auch beim abortierenden Mutterschwein pathologische Veränderungen. Dazu zählen *Endo-* und *Myometritiden*; zudem ist die Placenta häufig hämorrhagisch verändert. Bei nichtträchtigen Tieren stellt sich die Infektion als fieberhafte Allgemeinerkrankung dar, die häufig von respiratorischen Symptomen begleitet ist. Ein klassisches Symptom ist die aufgrund von Minderdurchblutung auffällige blaue Verfärbung der Ohren, der Rüssel-scheibe und der Vulva.

### Pathogenese

Die Zielzellen des Virus sind *Makrophagen* und *Endothelzellen*. Das Virus persistiert trotz des Vorhandenseins neutralisierender Antikörper in den Makrophagen. Diese Antikörper können im Rahmen einer antikörper-abhängigen Zelltoxizität (ADCC; ► Kapitel 7) zur Pathogenese der Erkrankung beitragen. Es gibt Hinweise, dass PRRSV die Induktion der Produktion von IFN- $\beta$  unterbindet: Es inaktiviert den Faktor IPS-1 (IFN- $\beta$  Promoter Stimulator 1), ein Adaptormolekül für die Helicase RIG-I und hemmt somit die RIG-I vermittelte Signalkaskade.

### Immunreaktion und Diagnose

Durch Immunfluoreszenz kann man das Virus in totgeborenen Ferkeln nachweisen. Die Züchtung des Erregers in Zellkultur ist in porcinen Makrophagen oder in der Affennierenzelllinie MA-104 möglich. Antikörper sind mithilfe kommerzieller ELISA-Tests nachweisbar. Die Serologie ist aufgrund der verbreiteten Impfung der Schweine jedoch nur von begrenzter Aussagekraft.

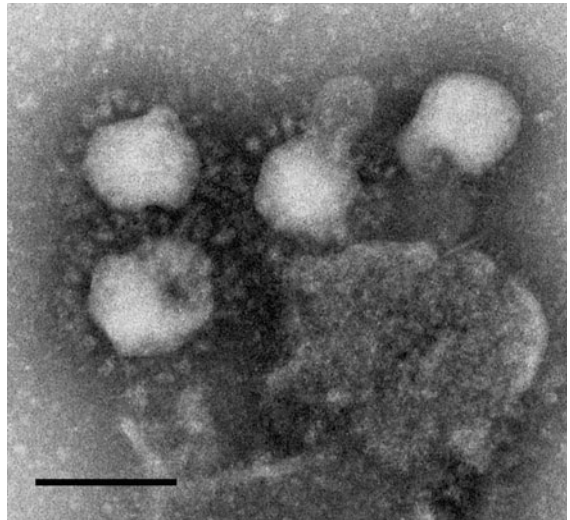
### Bekämpfung und Prävention

Es sind sowohl Lebendvakzinen zum Schutz vor Infektionen mit beiden Genotypen als auch Totimpfstoffe verfügbar, deren Wirksamkeit kontrovers diskutiert wird. Die derzeit verfügbaren Totimpfstoffe scheinen – verglichen mit den Lebendvakzinen – erheblich weniger effizient zu sein. Eine Diskussion über die Wirksamkeit der Vakzinen über die Grenzen der Genotypen hinweg und eine mögliche Rückmutation der attenuierten Impfviren beider Genotypen zu virulenten Erregern wird sehr lebhaft geführt.

### 14.7.6 Weiterführende Literatur

- Balasriya, U. B. R.; Snijder, E. J. *Arteriviruses*. In: Mettenleiter, T. C.; Sobrino, F. (Hrsg.) *Animal viruses*. 2008 (Molecular Biology. Caister Academic Press) S. 97–148.
- Calvert, J. G.; Slade, D. E.; Shields, S. L.; Jolie, R.; Mannan, R. M.; Ankenbauer, R. G.; Welch, S. K. *CD163 expression confers susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome viruses*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 7371–7379.
- Delputte, P. L.; Van Breedam, W.; Delrue, I.; Oetke, C.; Crocker, P. R.; Nauwynck, H. J. *Porcine arterivirus attachment to the macrophage-specific receptor sialoadhesin is dependent on the sialic acid-binding activity of the N-terminal immunoglobulin domain of sialoadhesin*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 9546–9550.
- Lee, C.; Yoo, D. *The small envelope protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus possesses ion channel protein-like properties*. In: *Virology* 355 (2006) S. 30–43.
- MacLachlan, N. J.; Balasuriya, U. B. *Equine viral arteritis*. In: *Adv. Exp. Med. Biol.* 581 (2006) S. 429–433.
- Posthuma, C. C.; Nedialkova, D. D.; Zevenhoven-Dobbe, J. C.; Blokhuis, J. H.; Gorbalenya, A. E.; Snijder, E. J. *Site-directed mutagenesis of the Nidovirus replicative endoribonuclease NendoU exerts pleiotropic effects on the arterivirus life cycle*. In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 1653–1661.
- Snijder, E. J.; Meulenberg, J. J. M. *The molecular biology of arteriviruses*. In: *J. Gen. Virol.* 79 (1998) S. 961–979.
- Van Marle, G.; Dobbe, J. C.; Gulyaev, A. P.; Luyties, W.; Spaan, W. J.; Snijder, E. J. *Arterivirus discontinuous mRNA transcription is guided by base pairing between sense and antisense transcription-regulating sequences*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 (1999) S. 12056–12061.
- Ziebuhr, J.; Snijder, E. J.; Gorbalenya, A. E. *Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales*. In: *J. Gen. Virol.* 81 (2000) S. 853–879.

### 14.8 Coronaviren



Die *Coronaviridae* fasst man heute mit den *Arteri-* und den *Raniviridae* (► Abschnitt 14.7) in der Ordnung der Nidovirales zusammen. Humane Coronaviren wurden 1965 von David A. J. Tyrrell und Mitarbeitern bei Erkältungskrankheiten entdeckt und 1968 aufgrund von morphologischen Unterschieden zu anderen Viren als eigene Familie definiert. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten Viruspartikel, die von einer Membranhülle mit eingelagerten Proteinen umgeben waren, durch die sie wie von einem „Strahlenkranz“ (lateinisch *corona*) umgeben erschienen. Als später die molekularen Details des Genomaufbaus und der Replikationsmechanismen bekannt wurden, bestätigten sie die ursprünglich nur auf morphologischen Untersuchungen beruhende Einteilung.

Coronavirusinfektionen verursachen beim Menschen überwiegend harmlose Erkältungskrankheiten und Infektionen im oberen und seltener unteren Respirationstrakt. Infektionen mit Coronaviren kennt man auch bei einigen Haussäugetieren. Im Wesentlichen stehen sie hier mit akuten Gastroenteritiden bei Rindern, Schweinen, Katzen und Hunden in Verbindung. Außer diesen kennt man aber auch andere Krankheitsbilder wie Encephalitiden bei Schweinen oder eine fatale systemische Allgemeininfektion bei der Katze, die feline infektiöse Peritonitis, verursacht durch das feline Coronavirus. Das Maus-Hepatitis-Virus, welches in den Nagetieren sowohl Leberentzündungen als auch Bronchitis auslöst, ist ein wichtiges Modellsystem für die Klärung pathogenetischer Mechanismen. Außer den verschiedenen Coronaviren, die Säugetiere infizieren, existieren einige Typen, die schwere Infektionen im Ge-



flügel verursachen. Hierzu zählt vor allem das Virus der infektiösen Bronchitis des Huhns.

Infektionen mit dem *Virus des schweren respiratorischen Syndroms* (SARS-Coronavirus, SARS-CoV), sind bei Menschen erstmals im Winter 2002/03, vorwiegend in den Ländern Südostasiens (China, Hongkong, Taiwan) und Canada aufgetreten. Dieser einmalige Ausbruch verursachte weltweit über 8 000 manifeste Infektionen und 700 Todesopfer, dies entspricht einer Mortalitätsrate von etwa 10 Prozent. Der Ursprung dieses neuen Virus war lange unklar, bis man in China ein fast identisches Virus in Fledermäusen (*Rhinolophus* spp., große Hufeisennase) fand. Diese übertragen die Erreger auf Schleichkatzen, welche sie auf Lebendtiermärkten wiederum an Menschen weitergeben können.

### 14.8.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Coronaviren werden in zwei Genera, Coronavirus und Torovirus, unterteilt. Die Vertreter der Gattung Coronavirus kann man nach ihren molekularen und serologischen Eigenschaften drei Gruppen zuordnen (► Tabelle 14.18). Das SARS-Coronavirus wurde erst kürzlich zusammen mit den aus Schleichkatzen und Fledermäusen isolierten Coronaviren in die Gruppe 2 eingeteilt. Die Coronaviren infizieren Menschen, viele verschiedene Säugetiere, wie Huftiere und diverse Fleischfresser, sowie Vögel. Die Biologie der Toroviren und die von ihnen verursachten Krankheiten sind kaum untersucht.

### 14.8.2 Aufbau

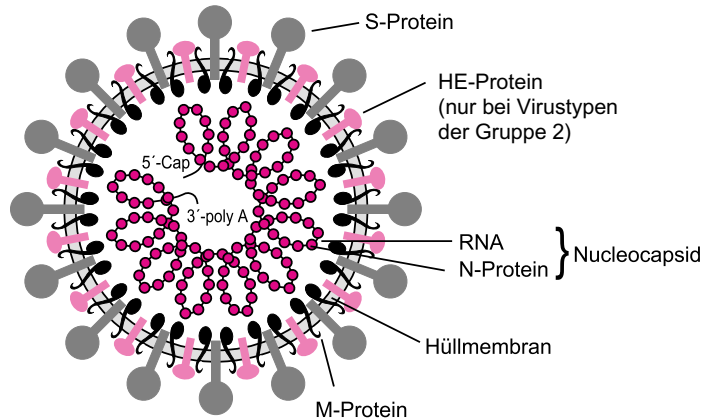
#### Viruspartikel

Die *membranhüllten Virionen* der Coronaviren haben einen Durchmesser von 80 bis 160 nm. Das *einzelsträngige RNA-Genom* hat Plusstrangorientierung und liegt assoziiert mit den *N-Proteinen* als Nucleocapsid im Inneren der Partikel vor (► Abbildung 14.22). Dieser Komplex aus RNA und N-Proteinen ist *helikal angeordnet*. Die Helix hat einen Durchmesser von 10 bis 20 nm. Definierte Aminosäuren im N-Protein interagieren mit der carboxyterminalen Domäne des in die Membran eingelagerten *M-Proteins*. Das Nucleocapsid ist so über Proteinwechselwirkungen mit der Innenseite der Membran assoziiert. Neben dem M-Protein, einem am aminoterminalen Ende glycosylierten Protein von 20 bis 30 kD, sind zwei weitere virale Proteine in die Hüllmembran eingelagert: Das ebenfalls glycosylierte *S-Protein* (180 bis 200 kD) liegt in keulenförmigen Trimeren vor, die etwa 20 nm aus der Membranoberfläche herausragen und für das Erscheinungsbild der *Corona* verantwortlich sind, und das *E-Protein* (9 bis 12 kD), das in nur geringen Mengen vorhanden ist. Ein weiteres mit der Membran assoziiertes Protein, *HE* (*Hämagglutinin-Esterase*), ist nur bei den meisten der Coronaviren der Gruppe 2 vorhanden. Es hat ein Molekulargewicht von 65 kD, liegt als Dimer vor und weist eine *hämagglutinierende Aktivität* auf.

**Tabelle 14.18** Charakteristische Vertreter der Coronaviren

Genus	Mensch	Tier
Coronavirus	<b>Gruppe 1</b> humanes Coronavirus 229E humanes Coronavirus NL63	Virus der transmissiblen Gastroenteritis der Schweine (TGE-Virus) felines Coronavirus (FeCoV, FIP-Virus) Fledermaus-Coronavirus-HKU2, 6–8
	<b>Gruppe 2</b> humanes Coronavirus OC43 humanes Coronavirus HKU1 SARS-Coronavirus	Maus-Hepatitis-Virus (MHV), Serotypen 1–3 Coronavirus des Rindes (BHV) SARS-Coronavirus der Schleichkatze SARS-Coronavirus der Fledermaus
	<b>Gruppe 3</b> –	Virus der infektiösen Bronchitis des Huhns (IBV)
Torovirus	–	equines Torovirus (Bernevirus) bovines Torovirus (Bredavirus) porcines Torovirus

**14.22** Aufbau eines Coronaviruspartikels. Im Innern des Partikels liegt das mit N-Proteinen komplexierte RNA-Genom als helikales Nucleocapsid vor. Es ist von einer Membranhülle umgeben, in welche die Glycoproteine S und HE sowie das nichtglycosylierte M-Protein eingelagert sind.



## Genom und Genomaufbau

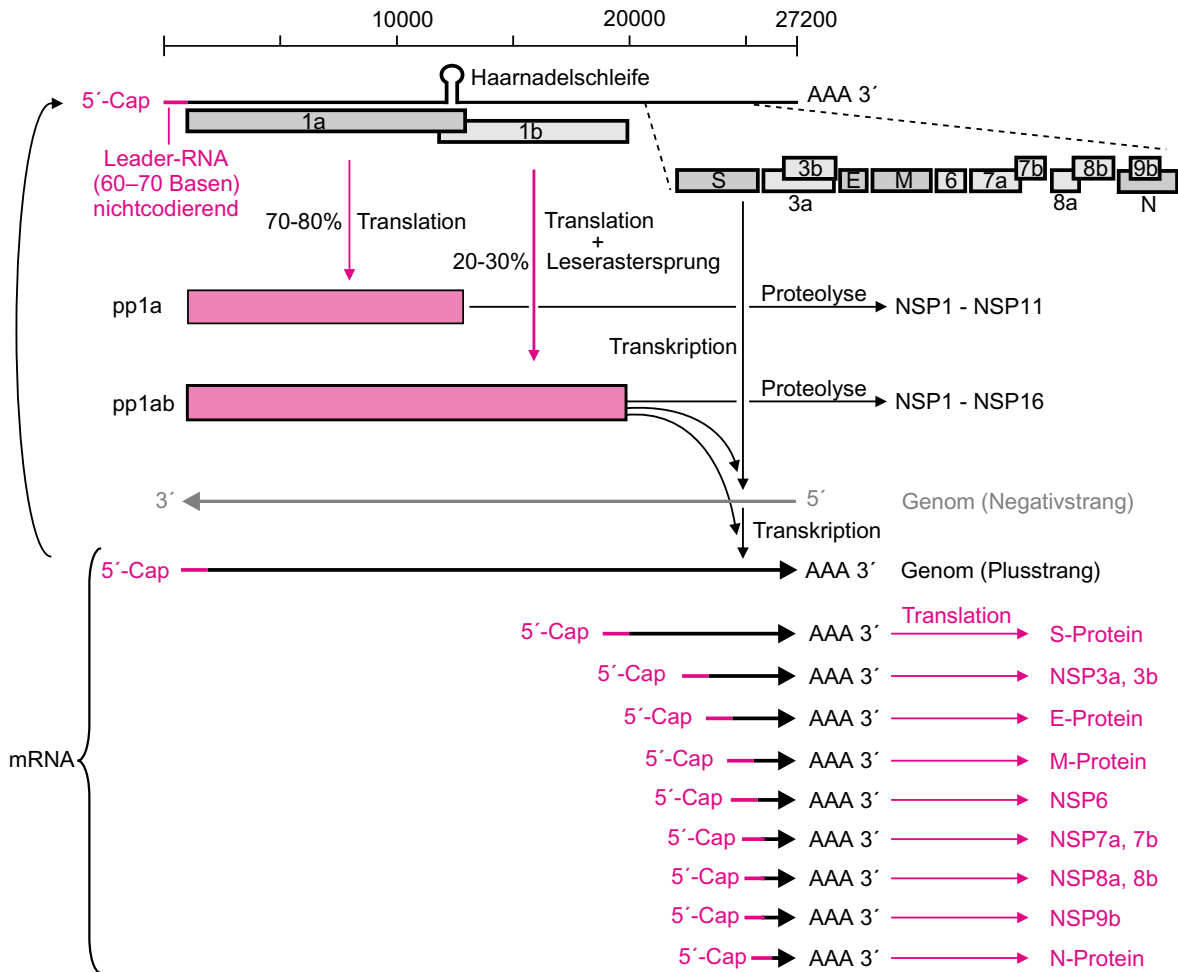
Coronaviren besitzen das größte Genom aller bekannten RNA-haltigen Viren: Es hat eine Länge von 27 000 bis 32 000 Basen (humanes Coronavirus 229E: 27 317; Virus der infektiösen Bronchitis des Huhns: 27 608; Virus der transmissiblen Gastroenteritis der Schweine: 28 580 Basen; SARS-Coronavirus: 29 727 Basen; Maus-Hepatitis-Virus: 31 357 Basen), ist einzelsträngig, liegt in Plusstrangorientierung vor, ist am 5'-Ende mit einer *Cap-Gruppe* modifiziert und am 3'-Ende *polyadenyliert* (► Abbildung 14.23). Die RNA ist infektiös. Das Genom enthält mehrere codierende Regionen: Zwei relativ große, an den Enden um 40 bis 60 Nucleotide miteinander überlappende Leserahmen 1a und 1b, von denen der Rahmen 1a kurz nach dem 5'-Ende beginnt, umspannen etwa 20 000 Basen und codieren gemeinsam für ein Polyprotein 1ab (pp1ab) von theoretisch 700 bis 800 kD. Die *Verschiebung des ribosomalen Leserasters (frame shift)* während der Translation führt zum Überlesen eines Stoppcodons am Ende des Leserahmens 1a und ermöglicht die Proteinsynthese bis zum Ende des zweiten Leserahmens. Dieser Vorgang erfolgt in 20 bis 30 Prozent der Translationsereignisse und ermöglicht die Synthese des pp1ab, dem Vorläufer für die Nichtstrukturproteine. Erfolgt diese ribosomale Leserasterverschiebung nicht, dann endet die Translation am Ende des Leserahmens 1a und es entsteht das Polyprotein 1a (pp1a, 450 bis 500 kD). Die Produkte enthalten Sequenzabschnitte für zwei (beim SARS-Coronavirus und bei den aviären Viren der infektiösen Bronchitis) beziehungsweise drei Proteasen (bei den anderen Coronaviren), welche die Vorläuferproteine pp1a und pp1ab autokatalytisch spalten, sowie eine funktionell aktive *RNA-abhängige RNA-Polymerase* und eine *RNA-Helicase*. Die Leserahmen für die Synthese der Strukturproteine befinden sich im zum 3'-Ende orientierten Drittel

des Genoms. In der Reihenfolge vom 5'- zum 3'-Ende codieren sie für die Membranproteine S, HE (nur bei den meisten Viren der Gruppe 2, nicht beim SARS-CoV), E, M und direkt vor dem 3'-Ende für das N-Protein. Zusätzlich findet man im Bereich der für die Strukturproteine codierenden Genomhälften unterschiedlich viele kleine Leserahmen (ORF 2a, 3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8a, 8b, 9b). Die Coronaviren der unterschiedlichen Gruppen unterscheiden sich in der Existenz dieser kleinen ORFs deutlich, sie codieren überwiegend für meist sehr kleine akzessorische Proteine, davon sind die meisten für die Virusreplikation nicht essenziell.

## 14.8.3 Virusproteine

### Nichtstrukturproteine

Für die Synthese der Vorläuferpolyproteine pp1a und pp1ab (486 kD und 790 kD beim SARS-Coronavirus) dient das Virusgenom als mRNA. Damit das Protein 1ab gebildet werden kann, muss eine *Verschiebung des ribosomalen Leserasters* induziert werden, die es ermöglicht, das Stoppcodon am Ende des ORF1a zu überlesen. Das geschieht aufgrund einer definierten Sekundärstruktur der RNA, die am Ende des ersten Leserahmens eine Haarnadelschleife bildet. Das große, experimentell nicht fassbare Vorläuferpolyprotein 1ab wird bei den verschiedenen Virustypen durch die Aktivität der Proteasen autokatalytisch in 13 bis 16 Spaltprodukte geteilt; die Funktion der entstehenden Nichtstrukturproteine (NSP) ist nicht in allen Fällen bekannt. Mit am besten untersucht sind die Aktivitäten der Nichtstrukturproteine NSP1 bis NSP16 beim SARS-Coronavirus; hier findet sich eine *RNA-abhängige RNA-Polymerase* (NSP12), die das Virus für die Replikation des RNA-Genoms und die



**14.23** Genomorganisation und Replikationsverlauf bei Coronaviren (hier: SARS-CoV). Das RNA-Genom des Virus wirkt als mRNA und wird im Cytoplasma der Zelle translatiert. Die beiden miteinander überlappenden Leserahmen codieren für die Nichtstrukturproteine 1a und 1ab. Eine Haarnadelschleife induziert bei der Translation einen Leserastersprung und ermöglicht dadurch bei etwa 20-30 Prozent der Translationsvorgänge die Synthese des Nichtstrukturpolyproteins 1ab, das in seinem carboxyterminalen Bereich den Anteil der RNA-abhängigen RNA-Polymerase enthält. Dieser wird durch die autokatalytische Aktivität einer Cysteinprotease im Zentrum des Vorläuferproteins abgespalten. Papainproteaseähnliche Sequenzanteile befinden sich in den aminoterminalen Domänen der Proteine 1a und 1ab; sie sind autokatalytisch aktiv und bewirken ihre Abspaltung von den Vorläuferpolyproteinen. Die RNA-abhängige RNA-Polymerase schreibt das Plusstrang-RNA-Genom in einen Negativstrang um. Dieser dient als Matrize für die Synthese von neuen Plusstrang-RNA-Genomen sowie für die Transkription einer Reihe von subgenomischen mRNA-Spezies, die am 5'-Ende mit einer Cap-Gruppe modifiziert sind und bei allen mRNA-Molekülen die identischen Sequenzen der Leader-Region enthalten. Von den subgenomischen mRNAs werden die verschiedenen viralen Strukturproteine translatiert, deren Leserahmen sich im 3'-orientierten Drittel des Plusstrang-RNA-Genoms befinden. Diese überlappen zum Teil miteinander. Neben den hier aufgeführten existieren in diesem Genombereich bei den unterschiedlichen Coronavirustypen noch einige weitere kleine Leserahmen, die meist für Nichtstrukturproteine noch unbekannter Funktion codieren und in dieser Abbildung nicht angegeben sind.

Synthese der subgenomischen mRNAs benötigt. Diese ist zusammen mit einer vermutlich  $Zn^{2+}$ -Ionen bindenden *RNA-Helicase* (NSP13), einer *Exoribonuclease* (NSP14), einer *Endoribonuclease* (NSP15) und einer *2'-O-Ribose-Methyltransferase* (NSP16) Teil des großen Vorläuferpolyproteins pp1ab. Beim SARS-Coronavirus finden sich im Vorläuferproteins pp1a (486 kD), das bei

diesem Virus in insgesamt elf Abschnitte (NSP1 bis NSP11) gespalten wird, die Sequenzen einer *papainähnlichen Protease*  $PL2^{pro}$  (NSP3, *papain-like protease 2*) und eines der *3C-Protease* der Picornaviren ähnelnden Enzyms ( $3CL^{pro}$ , *3C-like protease*, NSP5). Die  $3CL^{pro}$  stellt die hauptsächlich aktive Protease dar und ist für elf der Spaltungen in den Vorläuferpolyproteinen verantwort-

lich. Diese beiden Proteasen findet man bei allen Coronaviren. Die meisten verfügen im aminoterminalen Bereich der Polyproteine pp1a und pp1ab über eine weitere *papainähnliche Cysteinprotease* (PL1<sup>pro</sup>), die autokatalytisch eine aminoternale Domäne von den Polyproteinen abspaltet. Ihre Funktion ist nicht endgültig geklärt (► Tabelle 14.19). Beim SARS-CoV findet sich statt dieser proteolytischen Aktivität im Nichtstrukturprotein nsp1 eine Funktion, die in den Stoffwechsel der Zellen eingreift und den Abbau der zellulären mRNAs bewirkt, unter anderen auch derjenigen Transkripte, die für die Synthese der Klasse-I-Interferone notwendig sind. Zusätzlich codieren die verschiedenen Coronaviren einige weitere Nichtstrukturproteine, die im Infektionsverlauf produziert werden. Die genetische Information befindet sich im Bereich der Strukturproteingene, jedoch nicht regelmäßig bei allen Virustypen. Die Funktion dieser kleinen akzessorisch wirkenden Proteine ist weitgehend ungeklärt.

## Strukturproteine

Drei Typen von Membranproteinen findet man bei allen Coronaviren: das M- (in älterer Nomenklatur auch E1-Protein), das S-Protein (auch E2-Protein genannt) und das E-Protein (auch sM-Protein). Ein weiteres Glycoprotein HE ist nur in den meisten Viren der Gruppe 2 vorhanden (► Tabelle 14.19).

Das *S-Protein* (S steht für *surface* oder *spike*) hat ein Molekulargewicht von 180 bis 200 kD. Es ist glycosyliert und über eine Transmembranregion in der Nähe des fettsäuremodifizierten Carboxylendes in der Membran der Viruspartikel, aber auch in der Cytoplasmamembran verankert. Das S-Protein liegt als Di- oder Trimer vor und bildet in dieser Form keulenähnliche Proteinvorsprünge auf der Virusoberfläche. Im Verlauf einer Infektion werden *neutralisierende Antikörper* gegen das S-Protein gebildet. Drei wichtige Epitope konnte man in der Aminosäuresequenz lokalisieren. Über Domänen des S-Proteins adsorbiert das Virus an die Oberflächenmoleküle auf der Zelle. Die Tatsache, dass das Protein in der Membran der infizierten Zellen vorhanden ist, macht diese zu Zielen für die *antikörpervermittelte cytotoxische Zellyse* durch Killerzellen. Im S-Protein ist zudem die *Fusionsaktivität* des Virus lokalisiert. Darunter versteht man die Fähigkeit der viralen Hüllmembran, mit der Cytoplasmamembran zu verschmelzen und die Fusion der Membranen infizierter Zellen mit der von nichtinfizierten und die damit verbundene Polykaryocytenbildung zu bewirken. Um die Fusionspotenz zu aktivieren, muss bei einigen Coronavirustypen (Maus-Hepatitis-Virus, Virus der infektiösen Bronchitis der Vögel und ähnliche) eine zelluläre, trypsinähnliche Pro-

tease das S-Protein an einer stark basischen Aminosäurefolge in der Mitte der Sequenz spalten. Dieser Vorgang erfolgt wahrscheinlich während der späten Schritte der Virusreifung im Golgi-Apparat. Er ergibt einen aminoterminalen Anteil S<sub>1</sub>, der nichtkovalent mit der carboxyterminalen Hälfte S<sub>2</sub> verbunden ist und von der Virusoberfläche abgelöst werden kann. Die Fusionswirkung wird jedoch nicht wie bei den Paramyxoviren vermittelt, bei denen durch die Spaltung ein neues, hydrophobes aminoternales Ende am S<sub>2</sub>-Teil gebildet wird (► Abschnitt 15.3). Der molekulare Mechanismus der Membranfusion ist bei den Coronaviren noch nicht endgültig geklärt. Auch Virustypen, deren S-Protein nicht proteolytisch gespalten wird, können Zellverschmelzungen induzieren. An dem Vorgang scheinen, wie man beim Maus-Hepatitis-Virus zeigen konnte, zwei in der Aminosäuresequenz des S<sub>2</sub>-Proteins gelegene hydrophobe Abschnitte beteiligt zu sein. Werden sie durch Mutation verändert, geht die Fusionsaktivität verloren.

Das *HE-Protein* (*Hämagglutinin-Esterase*) wird nur bei einigen Coronaviren der Gruppe 2 gefunden; die SARS-CoV besitzen kein entsprechendes Gen. Das HE-Protein ist glycosyliert, hat ein Molekulargewicht von etwa 65 kD und ist über Disulfidbrücken zu einem Dimer verbunden. Die Viren, die für das *HE-Protein* codieren und es exprimieren, haben die Fähigkeit der *Hämagglutination* und Bindung an Erythrocyten. Hierbei interagiert das HE-Protein mit 9-O-acetylierten Neuraminsäuren (Sialylsäuren), die sich als Modifikation an Lipid- und Proteinkomponenten auf Zelloberflächen befinden. Mit dem HE-Protein assoziiert ist eine *Esterase*, über die das Virus die Acetylgruppen von der Neuraminsäure entfernen kann. Das HE-Protein der Coronaviren hat eine ausgeprägte Sequenzhomologie zum HEF-Protein der Influenza-C-Viren (► Abschnitt 16.3).

Das *E-Protein* (9–12 kD) findet sich in den infektiösen Viruspartikeln in unterschiedlicher Konzentration wieder, es ist für die Partikelbildung und die Morphogenese notwendig. Bei einigen Coronaviren (Maus-Hepatitis- und SARS-Coronavirus) hat das E-Protein proapoptotische Funktion. Des Weiteren scheint das E-Protein zur Gruppe der Viroporine zu zählen; es bildet Ionenkanäle und verändert die Membranpermeabilität.

Das *M-Protein* (M steht für Matrix) ist ein an der aminoterminalen Domäne glycosyliertes Oberflächenprotein mit einem Molekulargewicht von 20 bis 30 kD. Die Zuckerguppen sind überwiegend mit Serin- oder Threoninresten verknüpft. Es liegt also im Gegensatz zu der meist üblichen N-Glycosylierung an Asparaginresten hier eine *O-Glycosylierung* vor. Nur wenige aminoternale Bereiche dieses Proteins sind an der Oberfläche exponiert und es besitzt drei Transmem-

Tabelle 14.19 Bekannte Funktionen und Eigenschaften der Coronavirusproteine

codierender Leserahmen	Protein	Größe (Aminosäuren*)	Eigenschaften	Funktion
ORF1a	<b>NSP1</b>	180 AS		Virulenzfaktor; Aktivität nur bei SARS-CoV beschrieben; bewirkt Abbau der zellulären RNA und ermöglicht dem Virus, sich ungestört zu replizieren; blockiert Synthese von IFN- $\alpha$ und IFN- $\beta$
	<b>NSP2</b>	638 AS	?	unklar; Wechselwirkung mit zellulären Proteinen Prohibitin 1 und 2; Deletion hat keine Auswirkung auf Replikation
	<b>PL1<sup>pro</sup></b>	?		papainähnliche Cysteinprotease; autokatalytische Abspaltung der aminoterminalen Domäne vom pp1a und pp1ab (nicht beim SARS-CoV)
	<b>NSP3 / PL2<sup>pro</sup></b>	1922 AS	Zn-Finger-Motiv; 180–200 kD	papainähnliche Cysteinprotease; spaltet pp1a und pp1ab zwischen NSP2 und NSP3; bewirkt Deubiquitylierung von Proteinen; ADP-Phosphatase
	<b>NSP4</b>	500 AS	membran-assoziiert	beeinflusst Bildung intrazellulärer Membranvesikel; aktiv bei Virusmorphogenese?
	<b>NSP5 / 3CL<sup>pro</sup></b>	306 AS	30 kD; Dimer	Serinpotease mit Homologie zur 3C-Protease der Picornaviren; Hauptprotease
	<b>NSP6</b>	290 AS	hydrophob; Transmembrandomäne	?
	<b>NSP7</b>	83 AS	bildet zusammen mit NSP7 Superkomplexe	?
	<b>NSP8</b>	198 AS	bildet zusammen mit NSP7 Superkomplexe; nucleinsäurebindende Eigenschaften	alternative RNA-abhängige RNA-Polymerase zu NSP12; Primase zur Synthese der RNA-Primer bei Genomreplikation und Transkription?
	<b>NSP9</b>	113 AS	bildet Homodimere; Interaktion mit NSP8	?
	<b>NSP10</b>	139 AS	Zn-Finger-Motiv; nucleinsäurebindende Eigenschaften	?
ORF1b	<b>NSP11</b>	13 AS	?	?
	<b>NSP12/RNA-abhängige RNA-Polymerase</b>	932 AS	106 kD	Synthese der genomischen und subgenomischen RNA-Spezies
	<b>NSP13/RNA-Helicase</b>	601 AS	Zn <sup>2+</sup> -Ionen bindend, 67 kD	ss/dsRNA-Helicase; NTPase; dNTPase; notwendig für die Genomreplikation (RNA 5'-Triphosphatase; aktiv bei 5'-Capping der mRNAs)
	<b>NSP14/3'-5'-Exoribonuclease (ExoN)</b>	527 AS		Exoribonuclease; aktiv bei RNA-Synthese; möglicherweise an Rekombinations- und Reparaturvorgängen beteiligt



Tabelle 14.19 (Fortsetzung)

codierender Leserahmen	Protein	Größe (Aminosäuren*)	Eigenschaften	Funktion
	<b>NSP15/Endoribonuclease (NendoU)</b>	346 AS		uridylspezifische Endoribonuclease; aktiv bei RNA-Synthese
	<b>NSP16/2'-O-Ribose-Methyltransferase</b>	298 AS		aktiv beim 5'-Capping der mRNAs und Virusgenome
<b>ORF2a</b>	<b>2a-Protein (Maus-Hepatitis-Virus)</b>	30 kD	Nichtstrukturprotein	cyclische Phosphodiesterase; RNA-Prozessierung
<b>ORF2</b>	<b>S-Protein</b>	180–200 kD	glycosyliertes Membranprotein; Trimer; lokalisiert in Virus- und Cytoplasmamembran infizierter Zellen	Adsorption/Rezeptorbindung; induziert Membranfusion; induziert Bildung neutralisierender Antikörper; ADCC-Antwort
<b>ORF2,1</b>	<b>HE-Protein</b>	65–70 kD	glycosyliertes Membranprotein; bei den meisten Coronaviren der Gruppe 2 vorhanden (nicht beim SARS-CoV)	Hämagglutinin-Esterase; Hämagglutinin und Esterase verantwortlich für sekundäre Adsorption (Hämadsorption) an acetylierte Neuraminsäurereste
<b>ORF3</b>	<b>3a-Protein</b>	274 AS	Membranprotein, O-glycosyliert; Tetramer; Bestandteil der Viruspartikel	Ionenkanalprotein; induziert beim SARS-CoV die Produktion proinflammatorischer Cytokine
	<b>3b-Protein</b>	154 AS	Transport in Zellkern	Funktion unklar; Hemmung der Produktion von IFN- $\alpha$ /IFN- $\beta$ ?
<b>ORF4</b>	<b>E-Protein</b>	9–12 kD	Membranprotein	notwendig für Partikelbildung; Ionenkanalprotein (Viroporin); bei einigen Coronaviren proapoptisch
<b>ORF5</b>	<b>M-Protein</b>	20–30 kD	Glycosyliertes Membranprotein; lokalisiert in viraler und ER-Membran infizierter Zellen	Interaktion mit N-Protein; initiiert die virale Morphogenese durch Budding in das ER-Lumen
<b>ORF6</b>	<b>ORF6-Protein</b>	63 AS	Coronaviren, Gruppe 2 (SARS-CoV): mit Membranen des ER und der Golgi-Vesikel assoziiert; Teil der Viruspartikel. Coronaviren, Gruppen 1 und 3: Nichtstrukturprotein unklarer Funktion	Funktion unklar; Wechselwirkung mit Karyopherin- $\alpha$ 2, dadurch Hemmung des Kerntransports von Stat1?
<b>ORF7</b>	<b>7a-Protein</b>	122 AS	ER/ERGIC/Golgi, auch Teil der Viruspartikel; Interaktion mit M-/E-Proteinen, anderen akzessorischen Proteinen und zellulären Proteinen	Induktion von Apoptose; Aktivierung zellulären Kinasen; Interaktion mit BiP und Proteasom
	<b>7b-Protein</b>	44 AS	Membranprotein (SARS-CoV); in Viruspartikeln nachweisbar; in infizierten Zellen in Golgi-Vesikeln	Funktion unklar

Tabelle 14.19 (Fortsetzung)

codierender Leserahmen	Protein	Größe (Aminosäuren*)	Eigenschaften	Funktion
ORF8a	<b>8ab-Protein, 8a-Protein, 8b-Protein</b>		SARS-CoV Isolate aus Tieren (Schleichkatzen, Fledermäuse) enthalten einen durchgehenden ORF8 und produzieren ein 8ab-Protein; in aus Menschen isolierten SARS-CoV ist der ORF8 durch eine Deletion von 29 Basen in ORFa und ORFb getrennt	Funktion unklar
ORF9	<b>N-Protein</b>	50–60 kD	phosphoryliert; stark basisch; Dimere; Lokalisation zelltypspezifisch auch im Kern	Bindung an RNA-Genom unter Bildung des helikalen Nucleocapsids; Interaktion mit cytoplasmatischer Domäne des M-Proteins; Induktion von Apoptose; Aktivierung von Caspasen und Prozessierung durch Caspasen smad3, damit Eingriff in zelluläre Transkription und Zellzyklusregulation
	<b>9b-Protein</b>	?	assoziiert mit intrazellulären Membranvesikeln (SARS-CoV)	Funktion unklar, Morphogenese?

\*Angaben beziehen sich, falls nicht anders angegeben, auf das SARS-CoV. Die Auflistung der Proteine entspricht der Anordnung der sie codierenden Leserahmen im Virusgenom. ER: endoplasmatisches Reticulum; ADCC: antikörpervermittelte cytotoxische Zellreaktion.

branregionen. Das carboxyterminale Ende befindet sich im Inneren des Viruspartikels und interagiert mit dem N-Protein des Nucleocapsids. Das M-Protein wird nicht über den Golgi-Apparat zur Cytoplasmamembran transportiert, sondern bleibt während des gesamten Infektionszyklus in der Membran des endoplasmatischen Reticulums. An diesen Stellen erfolgen durch die Wechselwirkung des M-Proteins mit dem Nucleocapsid die ersten Schritte der *Virus-Assembly*, die das *Budding* in das Lumen des endoplasmatischen Reticulums einleiten. Ebenfalls an der Virusmorphogenese beteiligt ist das E-Protein. Werden die M- und E-Proteine über gentechnologische Methoden isoliert in eukaryotischen Zellen produziert, dann lagern sie sich zu virusähnlichen Partikeln zusammen.

Das *N-Protein* (N steht für nucleinsäurebindend), das in Wechselwirkung mit dem viralen Genom vorliegt, ist reich an basischen Aminosäuren und phosphoryliert. Außerdem kann es spezifisch mit den carboxyterminalen Regionen des M-Proteins interagieren. Phylogenetische Stammbäume, die auf der Nucleinsäuresequenz des N-Gens beruhen, korrelieren gut mit der Einteilung der

Coronaviren in verschiedenen Gruppen. N-Proteine sind sowohl im Cytoplasma als auch im Nucleolus der infizierten Zellen nachweisbar. Aufgrund der zelltypspezifischen Lokalisation im Nucleus/Nucleolus vermutet man, dass die N-Proteine in verschiedene zelluläre Prozesse eingreifen.

### Akzessorische Proteine

Außer den klassischen Strukturproteinen sind etliche Produkte, die in den kleinen Leserahmen in der 3'-orientierten Hälfte des Genoms im Bereich der Strukturgene codieren, ebenfalls in den Viruspartikeln nachweisbar. Hierzu zählen die Proteine 3a, 7a, 7b und das ORF6-Protein. Überwiegend handelt es sich dabei um Genprodukte mit akzessorischen Funktionen: Man kann die entsprechenden Gene deletieren, ohne dass die Infektiosität oder die Replikationsfähigkeit *in vitro* grundlegend eingeschränkt ist. Vermutlich haben diese Proteine aber wichtige Aufgaben als Virulenzfaktoren, wenn Menschen oder Tiere infiziert werden. Über die Funktion dieser Proteine ist nur wenig bekannt (► Tabelle 14.19).

### 14.8.4 Replikation

Humane Coronaviren 229E adsorbieren durch Wechselwirkung nicht näher charakterisierter Domänen des S-Proteins mit der *Zink-Metalloprotease CD13 (Aminopeptidase N)* auf der Zelloberfläche. Es gibt keinen Hinweis, dass die CD13-Protease bei der Bindung das S-Protein spaltet. Auch das feline Coronavirus verwendet eine Aminopeptidase als Rezeptor. Das SARS-Coronavirus und auch das humane Coronavirus NL63 binden sich hingegen über eine Domäne der S<sub>1</sub>-Proteine an eine andere Metalloprotease, nämlich an das Protein *ACE-2 (angiotensin-converting enzyme 2)*. Dieses findet man auf der Oberfläche von Pneumocyten, aber auch auf Enterocyten und Zellen anderer Gewebe und Organe (Herz, Niere, Endothel). Zusätzlich verstärkt die Bindung an einige Lektine wie DC-SIGN, L-SIGN oder LSECtin den Zelleintritt des SARS-CoV. Dem Maus-Hepatitis-Virus dienen verschiedene Isoformen des *CEA-Antigens (carcinogenic embryonic antigen)*, die zur Gruppe der Immunglobulinsuperfamilie gerechnet werden, als zelluläre Rezeptoren. Coronaviren, die zusätzlich zum S-Protein das HE-Protein in der Membran enthalten, können außerdem mit *9-O-acetylierten Neuraminsäureresten* auf der Zelle interagieren. Diese erste Wechselwirkung des HE-Proteins mit den Zuckergruppen reicht jedoch für die Infektion der Zelle nicht aus. Sie muss durch spezifische Bindung des S-Proteins mit noch nicht identifizierten Zellproteinen verstärkt werden.

Die Aufnahme der Partikels scheint durch eine *rezeptorvermittelte Endocytose* und nachfolgende Fusion der Endosomen- mit der Virusmembran (wie bei den Flavi- und Togaviren; ► Abschnitte 14.5 und 14.6) zu erfolgen. Beim SARS-CoV ist beschrieben, dass die Bindung zwischen dem S<sub>1</sub>-Protein und dem ACE-2 konformationelle Veränderungen der S-Proteine bewirkt, wodurch eine fusogene Region im S<sub>2</sub>-Anteil bei niedrigem pH-Wert ihre Aktivität entfaltet und die Verschmelzung von Virus- und Zellmembran einleitet. Eine mit den Endosomenmembranen assoziierte Protease, L-Cathepsin, welche noch ungespaltene S-Proteine in die Anteile S1 und S2 prozessiert, fördert die Infektiosität der Viren.

Alle Replikationsschritte laufen im Cytoplasma der Zelle ab. Das RNA-Genom der Coronaviren ist am 5'-Ende mit einer Cap-Struktur versehen, welche die Bindung der Ribosomen vermittelt. Von der genomischen RNA werden zuerst – wie bereits erwähnt – die Polyproteine der Nichtstrukturproteine pp1a und unter Induktion eines ribosomalen Leserastersprunges das Vorläuferprotein pp1ab translatiert, das die *RNA-abhängige RNA-Polymerase* enthält (► Abbildung 14.23).

Das Vorläuferprotein pp1ab, das hierbei gebildet wird, hat ein Molekulargewicht von 700 bis 800 kD. Bisher konnte man es im Verlauf der Virusinfektion in der Zelle nicht direkt nachweisen. *In vitro*-Translationsexperimente, bei denen man die genomische RNA als Matrize einsetzte, ergaben jedoch, dass dieses Translationsprodukt tatsächlich entsteht. Die in seiner Sequenz enthaltenen Proteasen (PL1<sup>pro</sup>, PL2<sup>pro</sup> und 3CL<sup>pro</sup>) spalten das pp1ab in 16 Nichtstrukturproteine, von denen eines die RNA-abhängige RNA-Polymerase (NSP12) ist.

Im folgenden Schritt wird durch die Aktivität der gebildeten RNA-abhängigen RNA-Polymerase sowie der RNA-Helicase (NSP13), Exoribonuclease (NSP14), und Endoribonuclease (NSP15) unter Verwendung der genomischen RNA als Matrize der Gegenstrang synthetisiert. Dieser umfasst das gesamte Genom und hat eine negative Orientierung. Im weiteren Verlauf des Replikationszyklus hat er zwei Funktionen: Er dient als Matrize für die Synthese neuer Virusgenome und für die Bildung von *subgenomischen mRNA-Spezies*. Beim SARS-CoV findet man insgesamt acht dieser subgenomischen mRNAs, von denen die verschiedenen akzessorischen und Strukturproteine translatiert werden. Sie zeichnen sich dadurch aus, dass sie *diskontinuierlich* synthetisiert werden: Alle haben das gleiche 3'-Ende, ihre Startpunkte sind jedoch unterschiedlich und befinden sich in der Genomregion zwischen dem Ende des Leserahmens für das Polyprotein 1ab und dem 3'-Ende des Genoms. Trotz ihrer unterschiedlichen Startpunkte haben alle subgenomischen mRNA-Moleküle am 5'-Ende eine einheitliche, etwa 60 bis 90 Nucleotide lange Sequenz: die *Leader-RNA*. Sie ist am 5'-Ende gecappt und komplementär zum 3'-Ende des Negativstranges. Man vermutet, dass diese Leader-RNA als Primer für die subgenomischen mRNA-Spezies dient; ob für die Synthese dieser kurzen RNA-Abschnitte die Aktivität des nsp8 benötigt wird, ist unklar. Nahe ihrem 3'-Ende weisen die Leader-RNAs eine konservierte Basenfolge (UCUAAAC) auf. Komplementäre Sequenzen hierzu sind in der Negativstrang-RNA an unterschiedlichen Stellen zu finden. Sie sind den verschiedenen Initiationsstellen für die Synthese der subgenomischen mRNA-Spezies vorgelagert: Mit ihnen kann die Leader-RNA hybridisieren und so einen kurzen doppelsträngigen Bereich mit dem 3'-OH-Ende für die Fortsetzung der Polymerisation liefern. Die RNA-Polymerase kann die Synthese der subgenomischen mRNA-Spezies an den verschiedenen Startregionen vermutlich nicht selbst initiieren. Daher musste das Virus wohl diesen Mechanismus des Transfers einer Leader-RNA entwickeln. Der Befund, dass die konservierte Heptamersequenz vor einigen Transkriptionsstartpunkten mehrfach wiederholt vorliegt – beispielsweise vor dem Beginn der für das N-Protein codie-

renden Sequenzfolgen – weist darauf hin, dass an diesen Stellen die RNA-Synthese bevorzugt initiiert wird und so auch die Menge der verschiedenen Proteine kontrolliert werden kann.

Diese *nested*-Transkripte werden durch die 2'-O-Ribose-Methyltransferase (NSP16) am 5'-Ende mit einer Cap-Gruppe versehen; diese vermittelt die Bindung der Ribosomenuntereinheiten und die Translation des jeweiligen, am 5'-Ende gelegenen Leserahmens in ein Protein. Bei den verschiedenen Coronavirustypen sind unterschiedlich viele der subgenomischen RNAs jedoch bi- oder auch tricistronisch, von ihnen werden also zwei oder drei Proteine translatiert. Beim SARS-CoV sind insgesamt fünf der subgenomischen RNA bicistronisch, beim Virus der infektiösen Bronchitis des Huhns fand man eine tricistronische mRNA. Die Translation der Leserahmen, die nicht benachbart zum 5'-gecappten Ende der subgenomischen mRNAs vorliegen, erfolgt dann in einem alternativen Mechanismus, häufig durch eine Verschiebung des ribosomalen Leserasters. Im Fall der subgenomischen RNAs 3 und 5 des Virus der infektiösen Bronchitis des Huhns beziehungsweise des Maus-Hepatitis-Virus dient hingegen eine IRES-ähnliche Sekundärstruktur der RNA zur Anlagerung der Ribosomen vor dem Start der stromabwärts gelegenen Leserahmen. Es scheinen jedoch neben diesen noch andere Wege zu existieren, welche eine Translationsinitiation alternativ genutzter Leserahmen ermöglichen. Diese sind jedoch meist nicht sehr effektiv und bewirken, dass die entsprechenden Proteine in nur geringen Mengen gebildet werden. Welche Mechanismen bei der Regulation der Proteinsynthese außerdem eine Rolle spielen, ist nicht geklärt. Mengenmäßig wird in der infizierten Zelle am meisten das N-Protein gebildet, das von der kürzesten mRNA translatiert wird.

Bei der Virusmorphogenese komplexieren die N-Proteine mit den genomischen RNA-Strängen zu den helikalen Nucleocapsiden und binden sich an die carboxyterminalen Domänen der in die Membran des endoplasmatischen Reticulums eingelagerten M- und E-Proteine. Dieser Vorgang löst den Budding-Prozess aus, in dessen Verlauf das Nucleocapsid mit der M-, S-, und – soweit vorhanden – HE-Proteine enthaltenden Membran umgeben wird. Die entstehenden Partikel werden in das Lumen des endoplasmatischen Reticulums abgegeben und im weiteren Verlauf über die Golgi-Vesikel zur Zelloberfläche transportiert, wo sie in die Umgebung entlassen werden.

## 14.8.5 Humanpathogene Coronaviren

### Die humanen Coronaviren HCoV-229E und HCoV-OC43

#### Epidemiologie und Übertragung

Die humanen Coronaviren der Subtypen HCoV-229E und HCoV-OC43 sind bereits seit 1966 und 1967 bekannt; die Subtypen HCoV-NL63 und –HKU1 wurden erst vor einigen Jahren identifiziert, als man als Folge der SARS-Epidemie verstärkt nach humanen Coronaviren suchte. Alle diese Coronavirustypen kommen weltweit vor: Bereits 75 beziehungsweise 65 Prozent der Kinder im Alter von dreieinhalb Jahren und bis zu 90 Prozent der Erwachsenen haben Antikörper gegen die Viren – ein Hinweis auf ihre weite Verbreitung. Man schätzt, dass weltweit zehn Prozent aller Infektionen der oberen und unteren Atemwege durch sie verursacht werden. Coronaviren werden von infizierten Personen durch *Tröpfcheninfektion* übertragen. Wie bei anderen Tröpfcheninfektionen kann eine Übertragung bei ungenügender Hygiene auch über Schmierinfektionen erfolgen. Die Infektionen treten gehäuft während des Winterhalbjahres auf. Reinfektionen – auch mit dem gleichen Virusstamm – sind häufig, verlaufen aber meist symptomlos.

#### Klinik

Coronaviren verursachen *Erkältungserkrankungen* der oberen und seltener der unteren Atemwege. Die Infektionen verlaufen häufig inapparent oder haben überwiegend harmlose Auswirkungen. Die Inkubationszeit beträgt zwei bis fünf Tage, die Erkrankungsdauer mit Schnupfen, Husten, Hals- und Kopfschmerzen in Verbindung mit leichtem Fieber etwa eine Woche. Bei Säuglingen und Kleinkindern kann die Infektion einen deutlich schwereren Verlauf nehmen und mit Croup-ähnlichen Symptomen verbunden sein. Hier kann es zu asthmatischen Anfällen und in Einzelfällen auch zu Bronchitis und Lungenentzündung kommen. Bei vorbestehenden respiratorischen Grundkrankheiten wie Asthma und chronischer Bronchitis können diese sowohl bei Kindern als auch Erwachsenen verstärkt werden. Humane Coronaviren werden auch mit *Erkrankungen des gastrointestinalen Systems* in Verbindung gebracht. Dies gilt besonders für immunologisch geschwächte Personen, zum Beispiel AIDS-Patienten, bei denen auch länger andauernde Durchfallerkrankungen beobachtet wurden.

## Pathogenese

Die humanen Coronaviren vermehren sich in den *Flimmerepithelzellen des Respirationstraktes*, die entsprechende Rezeptormoleküle ACE-2 oder CD13 aufweisen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen weisen darauf hin, dass sie sich auch im Darmepithel vermehren. Die Infektion beschränkt sich in aller Regel auf die Epithelzellen dieser Organe.

Fälle, in denen das Virus während der Erkrankung Makrophagen und Lymphocyten infiziert, sich in diesen vermehrt, über die Blutbahn verbreitet wird und in der Folge Leber-, Endothel-, Glia- und Nierenepithelzellen befällt, sind nur von tierischen Coronaviren und dem SARS-CoV bekannt. Inwieweit das HE-Protein bei der Infektion dieser Zelltypen und der Pathogenese der Erkrankung eine Rolle spielt, ist nicht bekannt. Mutationen im S-Protein verändern den Tropismus, das heißt die Spezifität für verschiedene Zelltypen, und die Virulenz. Neben virusspezifischen scheinen auch genetische Merkmale des Menschen für die Etablierung der Coronavirusinfektion wichtig zu sein: So ist die Empfänglichkeit für HCoV-229E-Infektionen offenbar durch einen Faktor bedingt, der auf dem Chromosom 15 codiert wird.

## Immunreaktion und Diagnose

Im Verlauf einer Coronavirusinfektion werden IgM-, IgG- und IgA-Antikörper gebildet. Immunglobuline gegen das S-Protein sind neutralisierend. Im Nasensekret sezernierte IgA-Antikörper und Interferone scheinen für den Schutz vor einer Infektion wichtig zu sein. Über die Bedeutung der zellulären Immunantwort im Verlauf der Infektion beim Menschen ist kaum etwas bekannt. Vom Maus-Hepatitis-Virus weiß man, dass cytotoxische T-Zellen an der Eliminierung des Virus aus dem Organismus beteiligt sind.

Coronaviren lassen sich bedingt in Kultur züchten. HCV-227E kann man in Organkulturen der embryonalen Trachea, menschlichen Rhabdomyosarcomzellen oder der Linie MA-177, einer diploiden Darmepithelzelllinie, vermehren. Die Anzucht von HCoV-OC43 ist deutlich schwieriger.

Die Diagnose einer Coronavirusinfektion erfolgt meist retrospektiv durch Nachweis von virusspezifischen IgM- und IgG-Antikörpern im ELISA-Test. Alternativ hierzu kann man heute aus geeigneten klinischen Materialien die viralen Nucleinsäuren mit der Polymerasekettenreaktion amplifizieren und nachweisen.

## Therapie und Prophylaxe

Da eine Coronavirusinfektion weitgehend harmlos verläuft, hat man bisher nicht versucht, einen Impfstoff zu entwickeln. Eine antivirale Therapie gibt es nicht.

## Das Virus des schweren akuten respiratorischen Syndroms (SARS-Virus)

### Epidemiologie und Übertragung

Die ersten Infektionen mit dem SARS-Coronavirus traten im November 2002 in Foshan und Heyuan in der Provinz Guangdong in China auf. Die Mehrzahl der Patienten hatte direkte oder indirekte Kontakte zu Märkten, auf denen mit lebenden Tieren gehandelt wurde. Bis Januar 2003 hatten sich die Infektionen durch Übertragungen von Mensch zu Mensch bis nach Guangzhou, die Hauptstadt der Provinz Guangdong ausgebreitet; es erkrankten nun überwiegend Personen, die im Gesundheitsdienst tätig waren. Man sprach von einer „infektiösen, atypischen Lungenentzündung“ und hatte eine Reihe von Infektionserregern, unter anderem auch Chlamydien, als mögliche Auslöser im Verdacht. Als sich die Zahl der Erkrankten auf über 300 erhöht hatte, darunter 100 Krankenpfleger und Ärzte, und fünf davon verstarben, wurde am 11. Februar 2003 die WHO von dieser neuen Infektion informiert. Im März 2003 hielt sich ein infizierter Nephrologe aus der Provinz Guangdong in einem Hotel in Hongkong auf und infizierte dort nachweislich mindestens zehn andere Hotelgäste. Diese wiederum trugen die Infektion in diverse Länder, einschließlich Singapur, Vietnam, Irland, USA und Kanada. In Hongkong und den oben genannten Ländern wurden in einer zweiten Infektionswelle vor allem Ärzte und Krankenschwestern infiziert, welche die Infektion wiederum in den Kliniken und innerhalb ihrer Familien weitergaben und auch in weitere Länder exportierten. Hierdurch gelangte der Erreger über Singapur auch nach Deutschland. Am 10. März 2003 gab man dieser neuen Erkrankung die Bezeichnung *severe acute respiratory syndrome* (SARS; schweres akutes respiratorisches Syndrom). In den folgenden Monaten bis 5. Juli 2003 trat die SARS-Erkrankung bei weltweit über 8400 Patienten in 29 Ländern auf, etwa 800 davon verstarben. Infolge der massiven Gegenmaßnahmen durch die WHO gelang es aber, die Infektion relativ schnell einzudämmen. Diese Maßnahmen umfassten Isolierung/Quarantäne, Einreiseverbote/Reisebeschränkungen, Kontrollen an Flughäfen und sowohl offene als auch aktuelle Informationspolitik. Bereits im März 2003 gelang es





### Carlo Urbani verstarb an SARS

Der Arzt Carlo Urbani war einer der ersten, die erkannten, dass es sich bei SARS um eine neue, ungewöhnliche Lungenentzündung handelt, von der eine erhebliche Gefahr für die menschliche Gesundheit ausgehen könnte. Er war einer der Experten der WHO für infektiöse Erkrankungen. Urbani veranlasste zusammen mit der WHO und den Regierungen

der von SARS betroffenen Länder, dass bereits im Februar/ März 2003 in Vietnam und Südostasien Maßnahmen ergriffen wurden, die geeignet waren, die Ausbreitung der Infektion einzudämmen und zu verhindern. Leider infizierte er sich dabei selbst mit dem SARS-Virus und verstarb am 29. März 2003.

Christian Drosten vom Bernhard-Nocht-Institut in Hamburg und weiteren internationalen Forschergruppen unabhängig voneinander, ein Coronavirus als ursächlich für die Erkrankung zu identifizieren und seine Genomsequenz vollständig zu entschlüsseln. Dies ermöglichte die Entwicklung von spezifischen diagnostischen Testsystemen. Eine Besonderheit war, dass damals alle Informationen sofort zugänglich und beispielsweise über das Internet bekannt gemacht wurden.

Da man vermutete, dass dieses neue humane Virus im Rahmen von Zoonosen auf Menschen übertragen worden war, untersuchte man verschiedene Tierspezies, die auf Lebendtiermärkten in Guangdong gehandelt wurden, auf entsprechende Infektionen. In Nasenabstrichen und Kotproben von *Schleichkatzen* (*Paguma larvata*) und von Waschbären (*Nyctereutes procyonoides*) fanden sich Coronaviren, deren Genome fast identisch zum humanen SARS-Coronavirus waren. Auch wiesen Tierhändler gehäuft Antikörper auf, die mit den Proteinen des SARS-Coronavirus reagierten. Es zeigte sich, dass das Virus auch eine Reihe anderer Tiere wie Katzen, Mäuse, Frettchen und Makakken infizieren kann, jedoch waren wildlebende Schleichkatzen und Waschbären nicht infiziert. Dies legte die Vermutung nahe, dass es sich bei diesen Tieren nicht um die natürlichen Wirte handeln konnte. Dies sind vermutlich Fledermäuse der Gattung *Rhinolophus* spp. (große Hufeisennase). Bei ihnen konnte man die SARS-Viren in großen Konzentrationen nachweisen. Sie scheiden die Erreger über ihre Exkremente aus. Die Fledermäuse haben die Viren unter den Bedingungen der engen Haltung auf den Lebendtiermärkten auf die Schleichkatzen übertragen, von denen aus die Weitergabe auf die Tierhändler, -käufer und -verwerter (Köche, Pelzverarbeiter) erfolgte. Dabei erfolgte durch weitere Mutationen die Anpassung an menschliche Wirte, sodass das Virus von infizierten Patienten an andere Menschen weitergegeben werden konnte. Die Übertragung unter den Menschen erfolgt überwiegend durch Tröpfcheninfektion, wobei man

zunächst davon ausging, dass jeder Infizierte auch innerhalb von zehn Tagen Symptome entwickelt. Es gibt jedoch klare Hinweise, dass das Virus auch über den Stuhl ausgeschieden wird und fäkal-orale Schmierinfektionen zur Verbreitung beitragen können. Mit Ausnahme einiger weniger Infektionen im Januar 2004 in Guangdong, die wiederum mit Tierkontakten verbunden waren, sowie von einigen Fällen, die auf Laborkontakte mit dem SARS-Coronavirus zurückgeführt werden konnten, traten seit dem SARS-Ausbruch im Jahr 2003 keine weiteren SARS-Infektionen und Erkrankungen auf.

### Klinik

Das Virus wird durch Tröpfchen- oder Schmierinfektion von Mensch zu Mensch übertragen. Die Inkubationszeit beträgt zwei bis maximal zehn Tage, die Erkrankungen beginnen mit grippeähnlichen Symptomen, Lymphknotenschwellung und Fieber. Die Patienten entwickeln einen *trockenen Husten* verbunden mit Schnupfen, Glieder-, Muskel-, Hals- und Kopfschmerzen. In diesem Stadium ist die Erkrankung klinisch praktisch nicht von einer Influenzavirusinfektion unterscheidbar. Häufig sind mit den gravierenden respiratorischen Symptomen auch *Erkrankungen des gastrointestinalen Systems* (Durchfall, Übelkeit) sowie Thrombocytopenien verbunden. Etwa eine Woche nach Auftreten der ersten Symptome entwickelt sich bei einem Teil der Patienten eine schwere Lungenentzündung, die häufig mit Lungenfibrose, Herzinfarkt, akutem Nierenversagen und schließlich Multiorganversagen verbunden ist.

### Pathogenese

Vermutlich vermehrt sich das SARS-Coronavirus initial ähnlich wie die anderen humanen Coronaviren in den *Epithelzellen des Respirationstraktes*. Die Rezeptorproteine ACE-2, an die sich das Virus durch die S-Proteine

bindet, findet man auf der Oberfläche von Zellen in vielen Geweben; sie sind ein Bestandteil des Renin-Angiotensin-Systems und regulieren dieses. Durch die Wechselwirkung mit den S-Proteinen wird die Konzentration von ACE-2 auf der Zelloberfläche gesenkt. Dies induziert in den infizierten Patienten möglicherweise eine besondere Empfänglichkeit für Entzündungen und Versagen der Lungenfunktion. Außer an ACE-2 haben die S-Proteine die Fähigkeit, sich an DC-SIGN (*dendritic cell-specific ICAM-3-grabbing non integrin*) anzulagern. Dies sind Rezeptorproteine, die man auf der Oberfläche von dendritischen Zellen findet. Die Bindung an DC-SIGN ermöglicht den Viren allerdings nicht die Aufnahme in diese Zellen, sie werden jedoch zusammen mit den dendritischen Zellen in die Lymphknoten und in andere Gewebe transportiert. Hier finden die Viren ACE-2-positive infizierbare Zellen. Das Virus scheint sich auf diesem Wege über die Blutbahn im Körper zu verbreiten, es infiziert in der Folge – ähnlich wie die tierischen Coronaviren – Endothel-, Lungen-, und Nieren- und Darmepithelzellen. Zahlreiche Patienten entwickeln während der Erkrankung einen Herzinfarkt. Möglicherweise ist dies mit der Bindung der viralen S-Proteine an die ACE-2-Rezeptoren auf der Oberfläche von Myocyten verbunden.

In der frühen Infektionsphase findet man in den Patienten eine schnelle Aktivierung von unspezifischen Immunreaktionen mit erhöhter Produktion von verschiedenen CC-Chemokinen und Chemokinrezeptoren, von proinflammatorischen Interleukinen und von tolllike-Rezeptor 9. Dies bewirkt eine schnelle Mobilisierung von Monocyten und Makrophagen, die in die infizierten Organe, vor allem in die Lunge einwandern und den Entzündungsvorgang einleiten. Zugleich findet man in der Akutphase der Infektion in den Patienten eine schnelle Abnahme der CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Lymphocyten, deren Ursache unklar ist. Das SARS-Coronavirus kann Lymphocyten selbst nicht infizieren, deswegen kann die Zerstörung der T-Zellen keine direkte Folge der Infektion sein. Möglicherweise sind daran durch die Infektion eingeleitete apoptotische Prozesse beteiligt. Man fand, dass mehrere SARS-CoV Proteine, wie beispielsweise das im Leserahmen 7a codierte Protein, *in vitro* in Zelllinien, die aus unterschiedlichen Geweben (Lunge, Leber, Niere) etabliert wurden, die Apoptose in einem caspaseabhängigen Mechanismus induzieren können.

Auch genetische Merkmale der infizierten Patienten scheinen für die Etablierung der symptomatischen SARS-Coronavirusinfektion wichtig zu sein. Individuen, die nur geringe Mengen des *Mannose-bindenden Lectins* (MBL) produzieren, scheinen eine Prädisposition für die Etablierung einer symptomatischen Infek-

tion zu haben. MBL zählt zusammen mit den Surfactant-Proteinen A und D der Lunge zu den *Collektinen*. Dabei handelt es sich um Proteine, die sich an glycosylierte Bereiche der S-Proteine auf der Virusoberfläche anlagern, die Aufnahme der Partikel in Granulocyten erleichtern und so möglicherweise die Interaktion mit den Zielzellen verhindern. In anderen Studien fand man, dass SARS-Patienten gehäuft die Haplotypen HLA-B\*0703 und \*4601 sowie HLA-DRB1\*0301 aufwiesen. Allerdings sind diese Daten zum Teil widersprüchlich.

## Immunreaktion und Diagnostik

Im Verlauf einer SARS-CoV-Infektion werden IgM-, IgG- und IgA-Antikörper gegen die N- und S-Proteine gebildet. Sie sind frühestens ab dem vierten Tag nach Einsetzen der Symptome, bei vielen Patienten jedoch erst deutlich später nachweisbar. Hauptsächlich Immunglobuline gegen das S-Protein sind neutralisierend, sie sind überwiegend gegen Epitope der Domäne um die Aminosäurereste 441 bis 700 gerichtet. Über die Bedeutung der zellulären Immunantwort im Verlauf der Infektion beim Menschen ist wenig bekannt.

ELISA-Teste zum Nachweis spezifischer Antikörper gegen die S- und N-Proteine sind verfügbar. Die Virusisolierung und Züchtung ist zeitaufwändig, nicht immer erfolgreich und darf nur in Laboratorien der Sicherheitsstufe 3 und höher durchgeführt werden. Die Diagnose der akuten SARS-Coronavirusinfektion erfolgt daher üblicherweise durch den Nachweis der Virusgenome in Sputum, Rachenspülwasser, Stuhl oder Serum mittels RT-PCR, meist wird ein Abschnitt aus dem Leserahmen 1b, der für die RNA-Polymerase des Virus codiert, amplifiziert. Ein positiver Nachweis muss in weiteren Testen und Referenzlaboratorien bestätigt werden. SARS-Coronaviren sind sehr gut in einer Reihe von Zelllinien anzüchtbar und weisen abhängig vom Zelltyp eine stark lytische oder eher persistente Infektion auf.

## Bekämpfung und Prophylaxe

Einen Impfstoff zur Prävention der SARS-Infektion gibt es nicht. Während des SARS-Ausbruchs im Jahr 2003 wurden die infizierten Patienten mit Ribavirin therapiert. Da die Symptomatik zumindest zum Teil immunpathogenetisch bedingt ist, hat man bei den schweren Fällen zusätzlich Corticosteroide zur Behandlung eingesetzt. Auch wurde versucht, mit hoch dosierten Immunglobulinen die Viruslast im Patienten zu senken. Hemmstoffe der viralen Proteasen sind in Entwicklung.

### 14.8.6 Tierpathogene Coronaviren

Die Familie der Coronaviridae umfasst viele Viren, die in Tieren Krankheiten verursachen. Zu den bedeutendsten zählt man die Erreger der *transmissiblen Gastroenteritis des Schweines* (TGE) und das *feline Coronavirus*, das in Katzen *Peritonitis* und *Polyserositis* verursachen kann. Auf diese Viren wird im Folgenden detailliert eingegangen. Weiterhin gibt es das *hämagglutinierende Encephalomyelitis-Virus der Schweine* (*Porcine-Hemagglutinating-Encephalomyelitis-Virus*), das bei neugeborenen Ferkeln eine Encephalitis verursachen kann. Gelegentlich ist damit auch eine Diarrhoe verbunden. Die Infektion des zentralen Nervensystems erfolgt dabei über *periphere Nerven*, in denen das Virus vom Ort der ersten Vermehrung, der Mucosa von Respirations- und Gastrointestinaltrakt, transportiert wird, ohne dass man eine Virämie beobachtet. Eine Immunprophylaxe ist hier nicht verfügbar. Eine weltweit bedeutsame Erkrankung des Geflügels wird durch das *Virus der infektiösen Bronchitis* hervorgerufen. Neben einer akuten Erkrankung des Respirationstraktes können hier über Schädigungen des Eileiters und der damit verbundenen verminderten Legeleistung erhebliche wirtschaftliche Schäden entstehen. Weit verbreitet in den Mauspopulationen ist das *Maus-Hepatitis-Virus*. Es ist ein wichtiges Modellsystem für die Untersuchung der Biologie und Pathogenese durch Coronavirusinfektionen und verursacht ein breites Spektrum von klinischen Erscheinungen, die von gastrointestinalen, hepatischen und respiratorischen bis zu zentralnervösen Symptomen reichen können. Eine Einschleppung in Versuchstierkolonien erfolgt über die Einstellung von Mäusen mit persistierenden Infektionen. Die Diagnose kann histopathologisch oder durch Anzucht der Erreger erfolgen. Die Eliminierung des Virus aus infizierten Kolonien ist nahezu unmöglich. Meist muss man die Kolonie vernichten und den Bestand mit virusfreien Tieren neu aufbauen. Deswegen sind regelmäßige Untersuchungen der Mäusekolonien auf Infektionen mit dem Maus-Hepatitis-Virus unumgänglich.

Coronavirusinfektionen anderer Tierarten, insbesondere des Hundes, sind beschrieben, aber aufgrund der geringen klinischen Relevanz nicht von veterinärmedizinischer Bedeutung.

Die Infektion mit dem *bovinen Coronavirus* ist eine wesentliche Ursache des *Kälberdurchfalls* in den ersten Lebensstagen. Die Infektion verläuft lokal, die Virusreplikation ist auf die Enterocyten beschränkt. Eine Impfung ist in Form einer sogenannten „Muttertierprophylaxe“ verfügbar, bei der das Muttertier vor dem Geburtstermin zweimal geimpft wird. Der eigentliche Immunschutz besteht dabei in der Aufnahme von Antikörpern mit dem Kolostrum.

## Das Virus der transmissiblen Gastroenteritis des Schweines

### Epidemiologie und Übertragung

Die *transmissible Gastroenteritis* ist eine Erkrankung der Ferkel mit hoher Morbidität, aber geringer Mortalität. Werden Tiere im Alter von nur wenigen Tagen infiziert, kann die Letalitätssrate allerdings sehr hoch sein. Das Virus wird über einen Zeitraum von circa 14 Tagen mit dem Kot ausgeschieden, persistierende Infektionen und Dauerausscheider sind sehr selten. In letzteren scheint das Virus in Lungenmakrophagen zu persistieren. Die Übertragung erfolgt in der Regel durch direkten Kontakt, jedoch sind auch aerogene Übertragungen nachgewiesen worden.

Die natürliche Infektion hinterlässt eine belastbare Immunität, die etwa ein bis zwei Jahre anhält. Sie basiert auf einer lokalen mucosalen Immunität. Eine parenterale Impfung induziert systemische Antikörper, die aber nicht vor einer Infektion schützen. Auch stimuliert eine systemische Impfung der Sau nicht die Abgabe von Immunglobulinen über die Milch.

### Klinik

Die Infektion mit dem Virus der transmissiblen Gastroenteritis verursacht als Hauptsymptom hochgradigen *Durchfall* und *Erbrechen*. Andere Symptome sind selten, wie auch andere Organsysteme außer dem Dünndarm in der Regel nicht betroffen sind.

### Pathogenese

Das Virus wird oral aufgenommen und infiziert nach einer Magenpassage die *Enterocyten*. Diese werden lytisch infiziert, zerstört und durch Enterocyten aus den Lieberkühnschen Krypten ersetzt. Dieser Vorgang erklärt die typischen Symptome des transienten, nicht blutigen Durchfalls. Histologisch ist eine akute Enteritis (in den hinteren Dünndarmabschnitten) mit Zottenatrophie das klassische Bild. Die Magenpassage des an sich säurelabilen Coronavirus wird durch die pH-puffernde Wirkung der Milch erreicht und durch den schwach sauren pH-Wert im Magen der Jungtiere unterstützt.

Es existiert eine natürlich vorkommende Mutante des Virus der transmissiblen Gastroenteritis, bei der Teile des Gens, welches für das S-Protein codiert, deletiert sind. Diese Virusmutante hat den Enterotropismus vollständig verloren und repliziert sich vornehmlich in Makrophagen des Respirationstraktes. Sie verursacht keine oder nur milde Krankheitssymptome, stört aber

die serologische Überwachung im Rahmen der Bekämpfung der transmissiblen Gastroenteritis empfindlich.

### Immunreaktion und Diagnostik

Das Virus ist leicht zu isolieren. Alternativ kann man es durch Immunfluoreszenz in Darmschnitten verendeter Tiere nachweisen. Eine Untersuchung von Serumpaaren auf ihren Antikörpergehalt erlaubt die indirekte Diagnose. Serologisch kann der Infektionsstatus eines Bestandes im Rahmen epidemiologischer Untersuchungen durch ELISA-Tests oder Neutralisationstests festgestellt werden.

### Bekämpfung und Prophylaxe

Die erfolgreiche Bekämpfung der Infektion basiert auf der Eliminierung seropositiver Tiere sowie der Etablierung und Einhaltung strenger Hygiene- und Haltungsverfahren. Eine Vakzine auf Basis abgetöteter, in Zellkultur gezüchteter Viren ist verfügbar, aber wenig effizient. Für einen wirksamen Schutz ist die *lokale immunologische Abwehr* im Darm der Ferkel wichtig, die am effektivsten über das Kolostrum von natürlich infizierten Muttersauen auf die Saugferkel übertragen und aufgebaut wird.

## Das feline Coronavirus (Virus der felines infektiösen Peritonitis)

### Epidemiologie und Übertragung

Die sogenannte *feline infektiöse Peritonitis* (FIP) wird durch Infektion der Katzen mit dem felines Coronavirus (FeCoV) verursacht. Infektionen mit diesem Erreger sind in den Katzenpopulationen weit verbreitet. Das Virus kann in den Katzen persistieren und wird vor allem mit dem Kot ausgeschieden. Die Katzen infizieren sich in der Regel im frühen Welpenalter durch Sozialkontakt mit dem Muttertier oder anderen persistierend infizierten Katzen.

Das genaue Wirtsspektrum dieses Virus ist unbekannt. Es infiziert Haus- und Großkatzen und wahrscheinlich auch Hunde, da einige Isolate des felines Coronavirus identifiziert wurden, die Rekombinanten zwischen dem felines und dem caninen Coronavirus darstellen.

### Klinik

Das Virus verursacht meist eine subklinische Infektion oder milde und transiente *Enteritiden*. Das die Enteritis verursachende Virus kann sich durch Mutation verän-

dern, wodurch ein neuer Biotyp mit verändertem Gewebstropismus entsteht. Diese Virusvariante repliziert sich nicht mehr nur in Enterocyten, sondern infiziert auch Makrophagen und induziert somit eine systemische Infektion. Mit den Makrophagen wird die Variante in praktisch alle Organe verteilt und kann in diesen ausgehend von einer Vaskulitis *pseudogranulomatöse* Entzündungen setzen. Dieses Krankheitsbild wird als feline infektiöse Peritonitis bezeichnet. Aus pathologischer Sicht handelt es sich dabei um eine generalisierte Polyserositis und Vaskulitis/Perivaskulitis.

### Pathogenese

Das Virus bindet sich an die *Aminopeptidase N* auf Katzen-, Hunde- und Schweinezellen. Die Peritonitis verursachende Virusvariante entsteht offensichtlich in der Katze bei jedem individuellen Ausbruch neu. Dabei verändert sich das persistierende Virus durch Mutation zu einer virulenten Variante. Die Übertragung des mutierten Virus von Katze zu Katze wird gelegentlich beobachtet, scheint aber ohne wesentliche epidemiologische Bedeutung zu sein. In der Virusmutante findet man die Deletion einiger Nucleotide im Gen *3c*. Dieses codiert für ein Nichtstrukturprotein, dessen Funktion während des viralen Replikationszyklus nicht geklärt ist, das aber vermutlich die Virulenz der Isolate beeinflusst. Die Deletionen sind jedoch bei allen FIP verursachenden Mutanten nicht einheitlich, sondern in allen Viren der verschiedenen Ausbrüche leicht unterschiedlich. Die molekularbiologischen Grundlagen dieser Veränderungen sind weitgehend unklar.

### Immunreaktion und Diagnostik

Die virologische Diagnostik gestaltet sich außerordentlich schwierig, da die Unterscheidung zwischen den beiden Virusvarianten mit den zurzeit verfügbaren Techniken nicht möglich ist. Die eindeutige Diagnose FIP kann daher nur die pathohistologische Untersuchung leisten.

### Bekämpfung und Prophylaxe

Ein Impfstoff auf der Basis einer attenuierten Lebendvakzine, die eine temperatursensitive Mutante des felines Coronavirus enthält, ist verfügbar, seine Wirksamkeit jedoch umstritten. Insgesamt bestehen bei der Verwendung einer Lebendvakzine mit einem wenig untersuchten, aber breiten Wirtsspektrum zur Verhinderung einer Infektionskrankheit mit nicht geklärter (Immun-)Pathogenese grundsätzliche Sicherheitsbedenken. Auch konnte man zeigen, dass Coronaviren unterschiedlicher Spezies miteinander rekombinieren.

Bei Rekombination mit dem Impfvirus ist die Entstehung von Virusvarianten mit einer veränderten Rezeptorbindung möglich, die unter Umständen verschiedene andere Tierarten infizieren.

## Das Virus der infektiösen Bronchitis des Huhnes

### Epidemiologie und Übertragung

Auch die *infektiöse Bronchitis des Huhnes* wird durch ein Coronavirus hervorgerufen. Es ist weltweit verbreitet. Das Huhn ist der einzig bekannte Wirt, nur im Huhn verursacht das Virus eine Erkrankung. Dem Virus der infektiösen Bronchitis des Huhns ähnliche Coronaviren hat man aus Puten und Fasanen isoliert, sie gelten aber als eigene Spezies. Von besonderer Bedeutung ist die große antigene Diversität dieses Virus. Basierend auf Unterschieden in der Sequenz des S-Proteins werden zahlreiche Sero- und Genotypen unterschieden. Das Virus ist sehr kontagiös, es verbreitet sich durch virus-haltige Faezes und Nasalsekrete sehr schnell innerhalb einer Herde. Zwischen den Herden wird das Virus vor allem indirekt über betreuendes Personal verbreitet.

### Klinik

Das Virus der infektiösen Bronchitis des Huhns verursacht Läsionen in der Niere, im Eileiter und im Respirationstrakt. Die Art der klinischen Manifestation ist abhängig von dem Virusstamm und vom Wirt. Insbesondere das Alter und die Rasse der Hühner beeinflusst das Krankheitsbild. Die Erkrankung ist bei wenigen Tage alten Küken besonders ausgeprägt. Die Morbidität ist hoch, praktisch alle Vögel einer Herde sind infiziert. Die Mortalität dagegen ist generell gering (null bis 25 Prozent).

### Pathogenese

Das Virus repliziert zunächst in den Epithelien des Respirations- oder Gastrointestinaltraktes und gelangt in einer sich anschließenden Virämie in viele Organe, vor allem in die Nieren und Eileiter. In der Regel wird das Virus durch die einsetzende Immunantwort eliminiert, in seltenen Fällen kann die Infektion jedoch über Wochen persistieren.

### Immunreaktion und Diagnostik

Die Infektion hinterlässt eine belastbare, protektive Immunität gegen das homologe Virus, die in der Regel auf Antikörpern gegen das S-Protein beruht. Der Grad

der Kreuzimmunität ist für einzelne Stämme unterschiedlich. Die Diagnostik erfolgt durch Virusnachweis (Virusisolierung in Zellkultur, Polymerasekettenreaktion) oder Immunfluoreszenz mit Nachweis der Virusproteine in Geweben infizierter Tiere oder auf Bestandsebene durch Nachweis viruspezifischer Antikörper mittels Neutralisations- und Hämagglutinationshemmungstests oder ELISA.

### Bekämpfung und Prophylaxe

Die infektiöse Bronchitis des Huhns wird tierseuchenrechtlich nicht geregelt. Verschiedene Lebendvakzinen und Totimpfstoffe sind verfügbar und werden in der Regel serotypspezifisch eingesetzt.

## 14.8.7 Weiterführende Literatur

- Brian, D. A.; Baric, R. S. *Coronavirus genome structure and replication*. In: *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 287 (2005) S. 1–30.
- Cheng, V. C.; Lau, S. K.; Woo, P. C.; Yuen, K. Y. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection*. In: *Clin. Microbiol. Rev.* 20 (2007) S. 660–694.
- Clementz, M. A.; Kanjanahaluethai, A.; O'Brien, T. E.; Baker, S. C. *Mutation in murine coronavirus replication protein nsp4 alters assembly of double membrane vesicles*. In: *Virology* 375 (2008) S. 118–129.
- Cornillez-Ty, C. T.; Liao, L.; Yates, J. R. 3rd.; Kuhn, P.; Buchmeier, M. J. *SARS Coronavirus nonstructural protein 2 interacts with a host protein complex involved in mitochondrial biogenesis and intracellular signaling*. In: *J. Virol.* 83 (2009) S. 10314–10318
- Deming, D. J.; Graham, R. L.; Denison, M. R.; Baric, R. S. *Processing of open reading frame 1a replicase proteins nsp7 to nsp10 in murine hepatitis virus strain A59 replication*. In: *J. Virol.* 81 (2007) S. 10280–10291.
- Diemer, C.; Schneider, M.; Seebach, J.; Quaas, J.; Frösner, G.; Schätzl, H. M.; Gilch, S. *Cell type-specific cleavage of nucleocapsid protein by effector caspases during SARS coronavirus infection*. In: *J. Mol. Biol.* 376 (2008) S. 23–34.
- Enjuanes, L.; Almazán, F.; Sola, I.; Zuñiga, S. *Biochemical aspects of coronavirus replication and virus-host interaction*. In: *Annu. Rev. Microbiol.* 60 (2006) S. 211–230.
- Drosten, C.; Günher S.; Preiser, W.; van der Werf, S.; Brodt, H. R.; Becker, S.; Rabenau, H.; Panning, M.; Kolesnikova, L.; Fouchier, R. A. *Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome*. In: *N. Engl. J. Med.* 348 (2003) S. 1967–1976.
- Guo, Y.; Korteweg, C.; McNutt, M. A.; Gu, J. *Pathogenetic mechanisms of severe acute respiratory syndrome*. In: *Virus Res.* 133 (2008) S. 4–12.
- Hofmann, H.; Simmons, G.; Rennekamp, A. J.; Chaipan, C.; Gramberg, T.; Heck, E.; Geier, M.; Wegele, A.; Marzi, A.;



- Bates, P.; Pöhlmann, S. *Highly conserved regions within the spike proteins of human coronaviruses 229E and NL63 determine recognition of their respective cellular receptors.* In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 8639–8652.
- Hofmann, H.; Pyrc, K.; van der Hoek, L.; Geier, M.; Berkhout, B.; Pöhlmann, S. *Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry.* In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102 (2005) S. 7988–7993.
- Hofmann, H.; Pöhlmann, S. *Cellular entry of the SARS coronavirus.* In: *Trends in Microbiology* 12 (2004) S. 466–472.
- Holmes, E. C.; Rambaut, A. *Viral evolution and the emergence of SARS coronavirus.* In: *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 359 (2004) S. 1059–1065.
- Holmes, K. V.; Lai, M. M. *Coronaviridae: The viruses and their replication.* In: Fields, B. N.; Knipe, D. N.; Howley, P. M. (Hrsg.) *Virology*. 3. Aufl. New York (Raven Press) 1995. S. 1075–1094.
- Kennedy, M.; Boedeker, N.; Gibbs, P.; Kania, S. *Deletions in the 7a ORF of feline coronavirus associated with an epidemic of feline infectious peritonitis.* In: *Vet. Microbiol.* 81 (2001) S. 227–234.
- Lai, M. M.; Cavanagh, D. *The molecular biology of coronaviruses.* In: *Adv. Virus Res.* 48 (1997) S. 1–100.
- Lau, Y. L.; Peiris, J. S. M. *Pathogenesis of the severe acute respiratory syndrome.* In: *Curr. Opin. Immunol.* 17 (2005) S. 404–410.
- Luo, Z. L.; Weiss, S. R. *Mutational analysis of fusion peptide-like regions in the mouse hepatitis virus strain A59 spike protein.* In: *Adv. Exp. Med. Biol.* 440 (1998) S. 17–23.
- Myint, S.; Manley, R.; Cubitt, D. *Viruses in bathing waters.* In: *Lancet* 343 (1994) S. 1640 f.
- Narayanan, K.; Huang, C.; Makino, S. *SARS coronavirus accessory proteins.* In: *Virus Res.* 133(2008) S. 113–121.
- Narayanan, K.; Huang, C.; Lokugamage, K.; Kamitani, W.; Ikegami, T.; Tseng, C. T.; Makino, S. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp1 suppresses host gene expression, including that of type I interferon, in infected cells.* In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 4471–4479.
- Olsen, C. W.; Corapi, W. V.; Jacobson, R. H.; Simkins, R. A.; Saif, L. J.; Scott, F. W. *Identification of antigenic sites mediating antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infectivity.* In: *J. Gen. Virol.* 74 (1993) S. 745–749.
- Pasternak, A. O.; Spaan, W. J.; Snijder, E. J. *Nidovirus transcription: how to make sense ...?* In: *J. Gen. Virol.* 87 (2006) S. 1403–1421.
- Perlman, S.; Netland, J. *Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis.* In: *Nat. Rev. Microbiol.* 7 (2009) S. 439–450.
- Sperry, S. M.; Kazi, L.; Graham, R. L.; Baric, R. S.; Weiss, S. R.; Denison, M. R. *Single-amino-acid substitutions in open reading frame (ORF) 1b-nsp14 and ORF 2a proteins of the coronavirus mouse hepatitis virus are attenuating in mice.* In: *J. Virol.* 79 (2005) S. 3391–3400.
- Stavrinos, J.; Guttman, D. S. *Mosaic evolution of the severe acute respiratory syndrome coronavirus.* In: *J. Virol.* 78 (2004) S. 76–82.
- Surjit, M.; Lal, S. K. *The SARS-CoV nucleocapsid protein: a protein with multifarious activities.* In: *Infect. Genet. Evol.* 8 (2008) S. 397–405.
- Thiel, V.; Weber, F. *Interferon and cytokine responses to SARS-coronavirus infection.* In: *Cytokine Growth Factor Rev.* 19 (2008) S. 121–132.
- Thiel, V.; Herold, J.; Schelle, B.; Siddell, S. G. *Viral replicase gene products suffice for coronavirus discontinuous transcription.* In: *J. Virol.* 75 (2001) S. 6676–6681.
- Tresnan, D. B.; Holmes, K. V. *Feline aminopeptidase N is a receptor for all group I coronaviruses.* In: *Adv. Exp. Med. Biol.* 440 (1998) S. 69–75.
- van der Hoek, L. *Human coronaviruses: what do they cause?* In: *Antivir. Ther.* 12 (2007) S. 651–658.
- Vennema, H.; Poland, A.; Foley, J.; Pedersen, N. C. *Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses.* In: *J. Virol.* 243 (1998) S. 150–157.
- Wang, L. F.; Eaton, B. T. *Bats, civets and the emergence of SARS.* In: *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 315 (2007) S. 325–344.
- Wong, S.; Lau, S.; Woo, P.; Yuen, K. Y. *Bats as a continuing source of emerging infections in humans.* In: *Rev. Med. Virol.* 17 (2007) S. 67–91.
- You, J. H.; Reed, M. L.; Hiscox, J. A. *Trafficking motifs in the SARS-coronavirus nucleocapsid protein.* In: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 358 (2007) S. 1015–1020.
- Zhang, X.; Wu, K.; Wang, D.; Yue, X.; Song, D.; Zhu, Y.; Wu, J. *Nucleocapsid protein of SARS-CoV activates interleukin-6 expression through cellular transcription factor NF-kappaB.* In: *Virology* 365 (2007) S. 324–335.
- Ziebuhr, J. *Molecular biology of severe acute respiratory syndrome.* In: *Curr. Opin. Microbiol.* 7 (2004) S. 412–419.
- Ziebuhr, J.; Snijder, E. J.; Gorbalenya, A. E. *Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales.* In: *J. Gen. Virol.* 81 (2000) S. 853–879.
- Züst, R.; Cervantes-Barragán, L.; Kuri, T.; Blakqori, G.; Weber, F.; Ludewig, B.; Thiel, V. *Coronavirus non-structural protein 1 is a major pathogenicity factor: implications for the rational design of coronavirus vaccines.* In: *PLoS Pathog.* 3 (2007) e109.