



Im Kampf um eine Welt ohne Kinderlähmung

Lagebeurteilung aus der Sicht der Polioviren

Die Krankheit

Impfstoffe

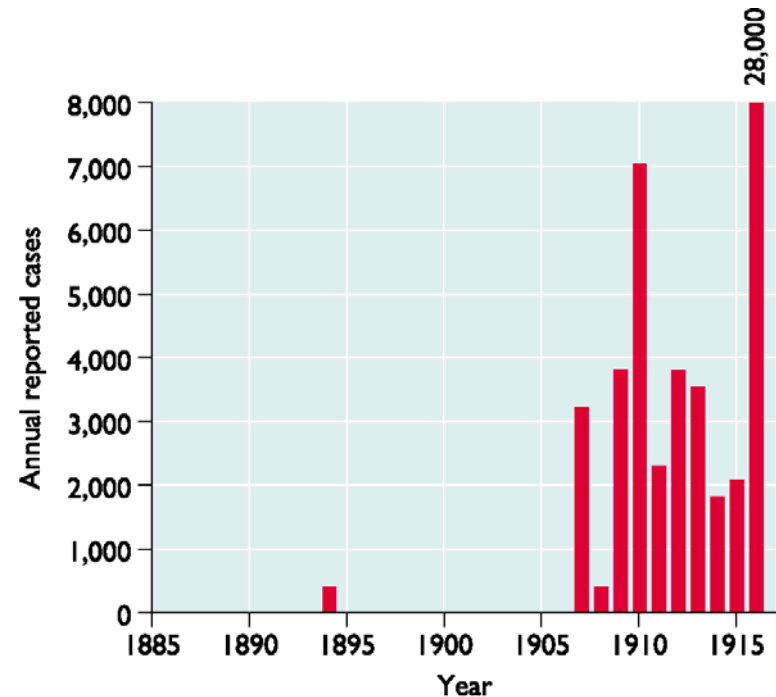
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



Alfred Metzler, Universität Zürich, Vetsuisse Fakultät, Virologisches Institut
Direktor: Prof. Dr. M.Ackermann



Poliomyelitis

Klinische Manifestationsrate <1%; 1988 global 350'000 Krankheitsfälle

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

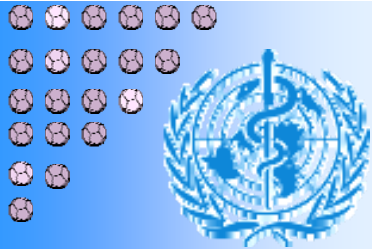
Ausblick



Eiserne Lunge



Poliomyelitis in Nigeria und Tansania, 2004



Krankheitsentstehung

Die Krankheit

Impfstoffe

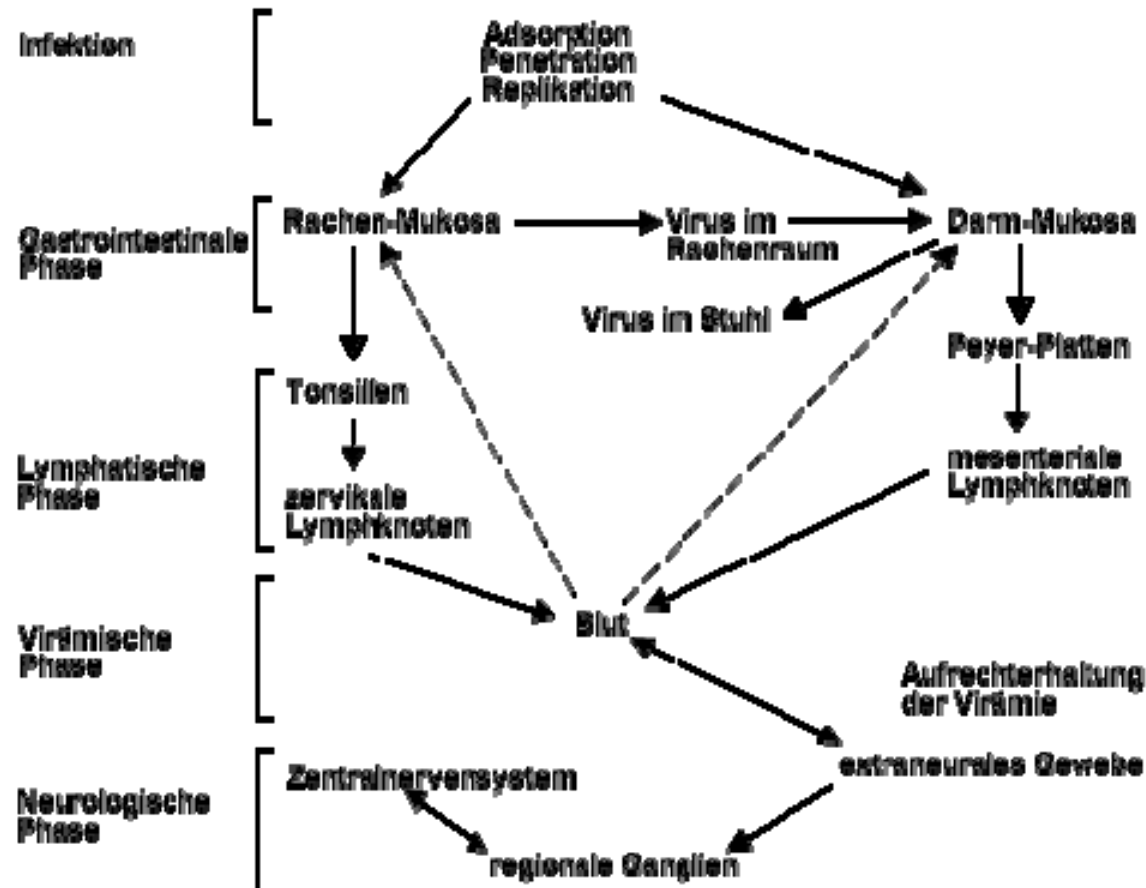
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



Attenuierte (abgeschwächte) Impfviren (OPV):
Langsame Vermehrung in Lymphknoten und extraneuralem Gewebe, **keine** Vermehrung im Zentralnervensystem



Impfstoffe

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



IPV (J. Salk, 1955)
Inactivated
Polio Vaccine

keine
Virusausscheidung
Schützt vor Krankheit

sicher

Herstellung + Logistik

+++



OPV (A. Sabin, 1961)
Oral Polio Vaccine
(lebend-attenuiert)

Virusausscheidung
und -zirkulation

Schützt vor Krankheit
und Infektion

Impfpolio (VAPP)
Rückmutation zur
Virulenz (VDPV)

Herstellung und Logistik

+





Virus-Attenuierung

Die Krankheit

Impfstoffe

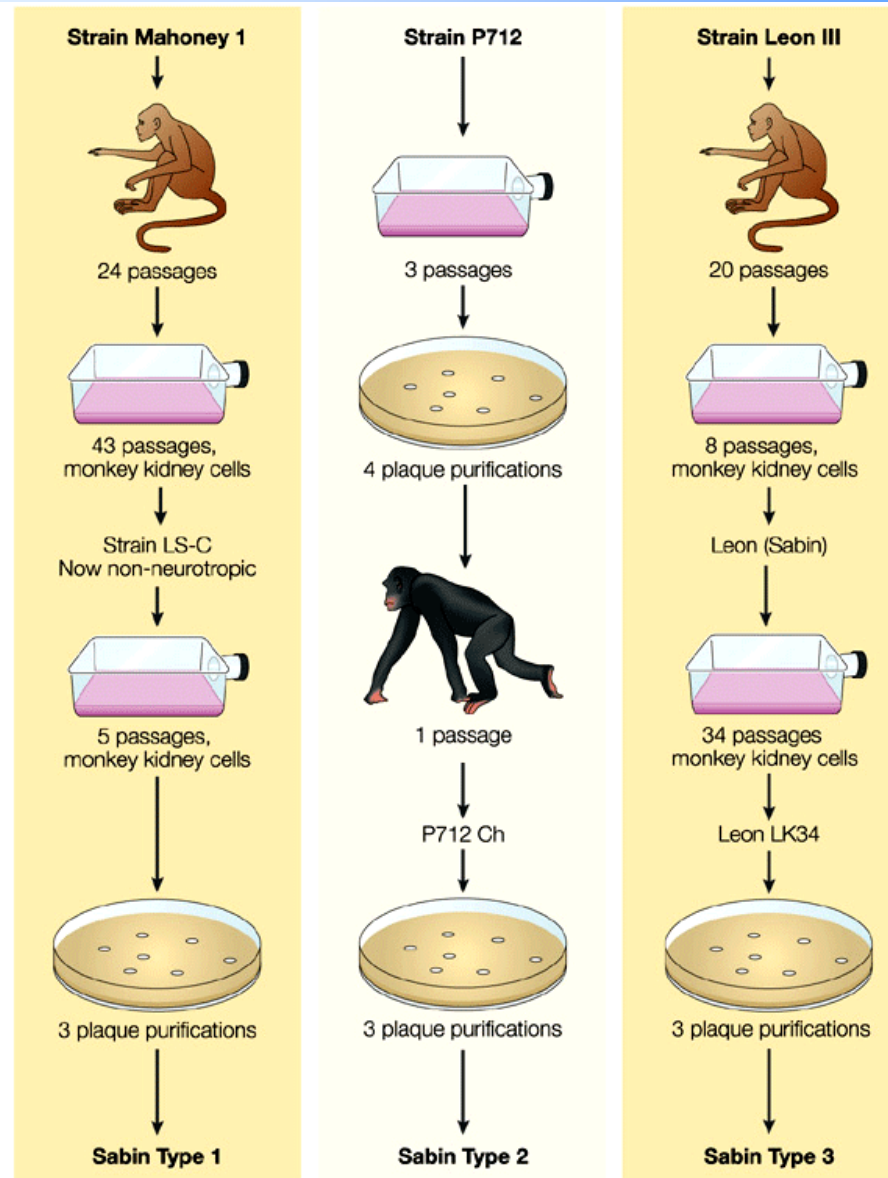
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick





Merkmale der Attenuierung

Die Krankheit

Impfstoffe

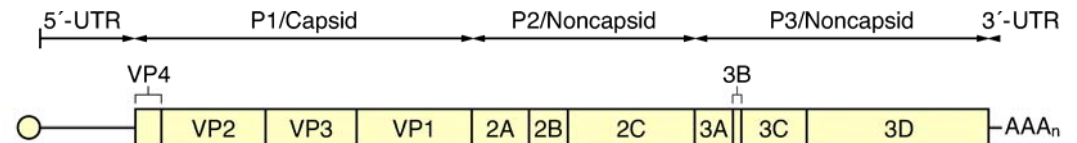
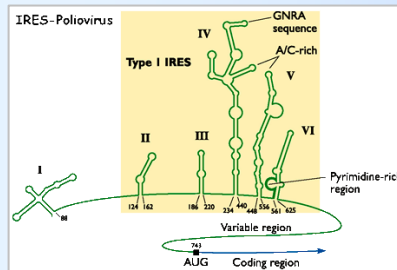
Impferfolge

Rückschläge

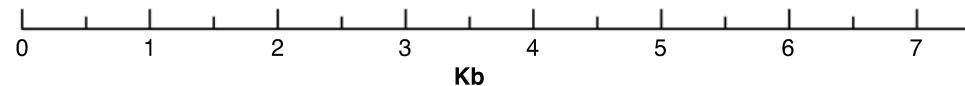
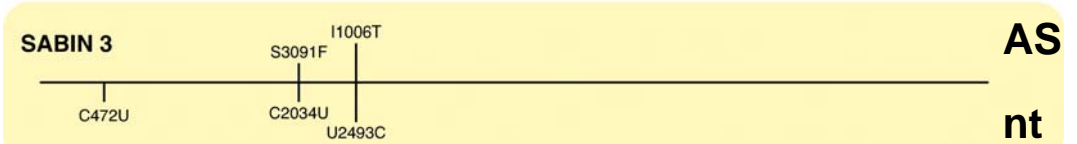
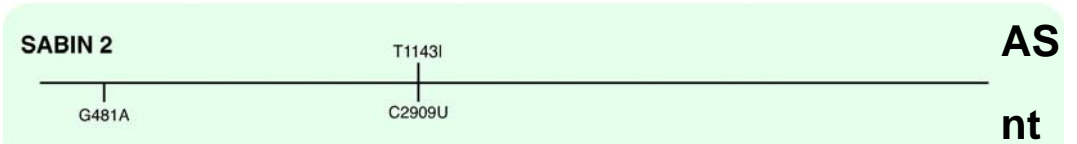
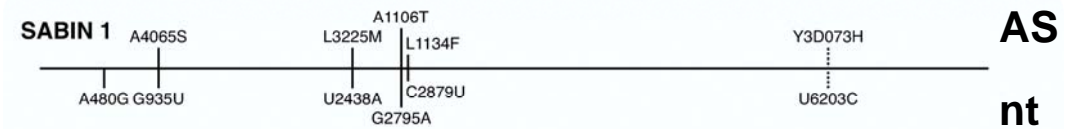
Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



Sabin ↔ Wildtyp



IRES = 5'-UTR
 weist **Sekundärstruktur** auf.
 ist für die **Vermehrung des Virusgenoms** bedeutsam

Virulente und attenuierte Virusstämme unterscheiden sich in auffällig wenigen Nukleotiden



Impfschutz

Die Krankheit

Impfstoffe

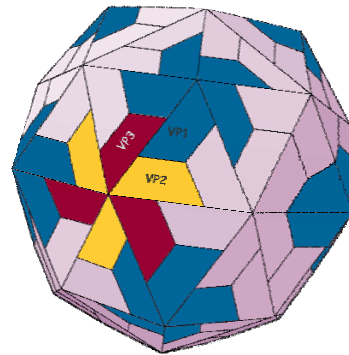
Impferfolge

Rückschläge

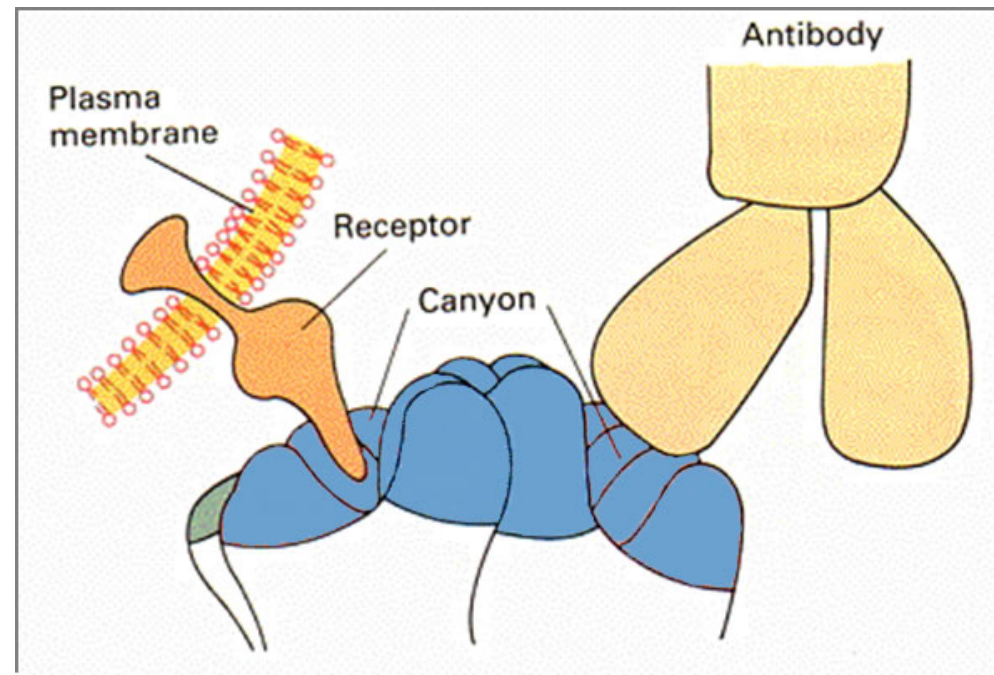
Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



Natürliche Infektion und Impfung bewirken Bildung von Antikörpern



Antikörper verhindern Adsorption der Viren an zelluläre Rezeptoren



Viruseradikation durch Impfungen

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

N_0 = Nettoreproduktionsrate

R_0 = Basisreproduktionsrate

n = Anteil der immunen Bevölkerung

$$N_0 = \frac{R_0 \times (100 - n)\%}{100}$$

Beispiele für Basisreproduktionsraten und $N_0 < 1$

- Malaria: 1,4 - 1900 (!) -> $n > 29,0\%$ - 99,9%
- Masern: 15-18 -> $n > 93,7\%$
- Polio : 6- 8 -> $n > 86,0\%$

Bedeutung auch für die Schweiz:

WHO empfiehlt >90% der Kinder unter 5 Jahren zu impfen → $N_0 < 1$



Das Versprechen – die Hoffnung

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

Die Pocken waren im Jahre 1977 nach nur elf Jahre dauernder Impfkampagne weltweit ausgerottet.

Dies ermutigte die Weltgemeinschaft im Jahre 1988 zum Entschluss, die Kinderlähmung bis zum Jahre 2000 ebenfalls auszurotten (WHA/WHO).

Zur Eindämmung der Poliomyelitis verfügt man über zwei unterschiedliche Impfstoffe:

- IPV (Salk): inaktivierter Impfstoff
- OPV (Sabin): abgeschwächter Lebendimpfstoff

Das Ziel wurde bis heute nicht erreicht

Der Vortrag deckt die Hintergründe auf, die der erfolgreichen Ausrottung der Polioviren entgegen stehen.



Impferfolge

Die Krankheit

Impfstoffe

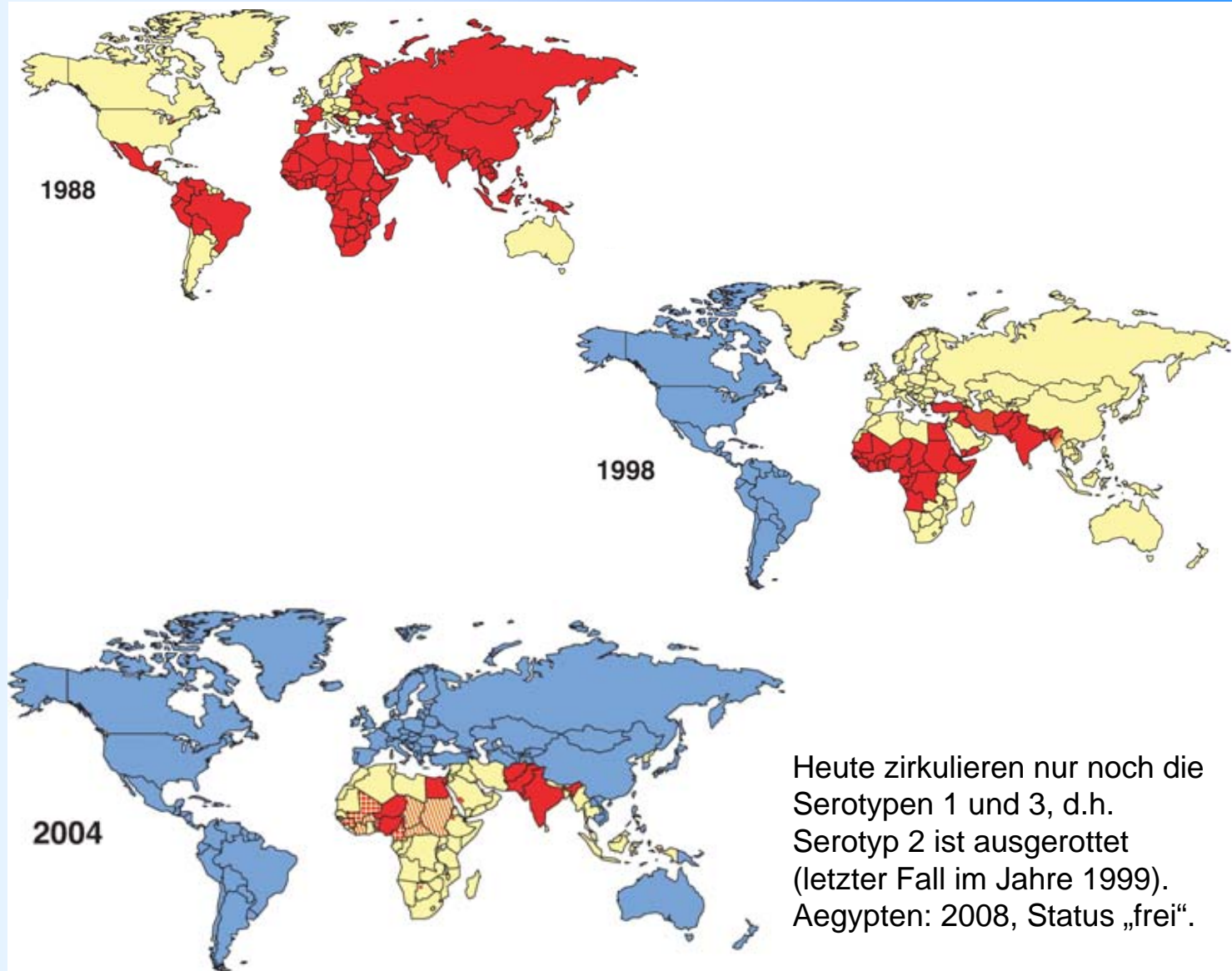
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



Heute zirkulieren nur noch die Serotypen 1 und 3, d.h. Serotyp 2 ist ausgerottet (letzter Fall im Jahre 1999).
Aegypten: 2008, Status „frei“.



Rückschlag Nr. 1: Nigeria

Die Krankheit

Impfstoffe

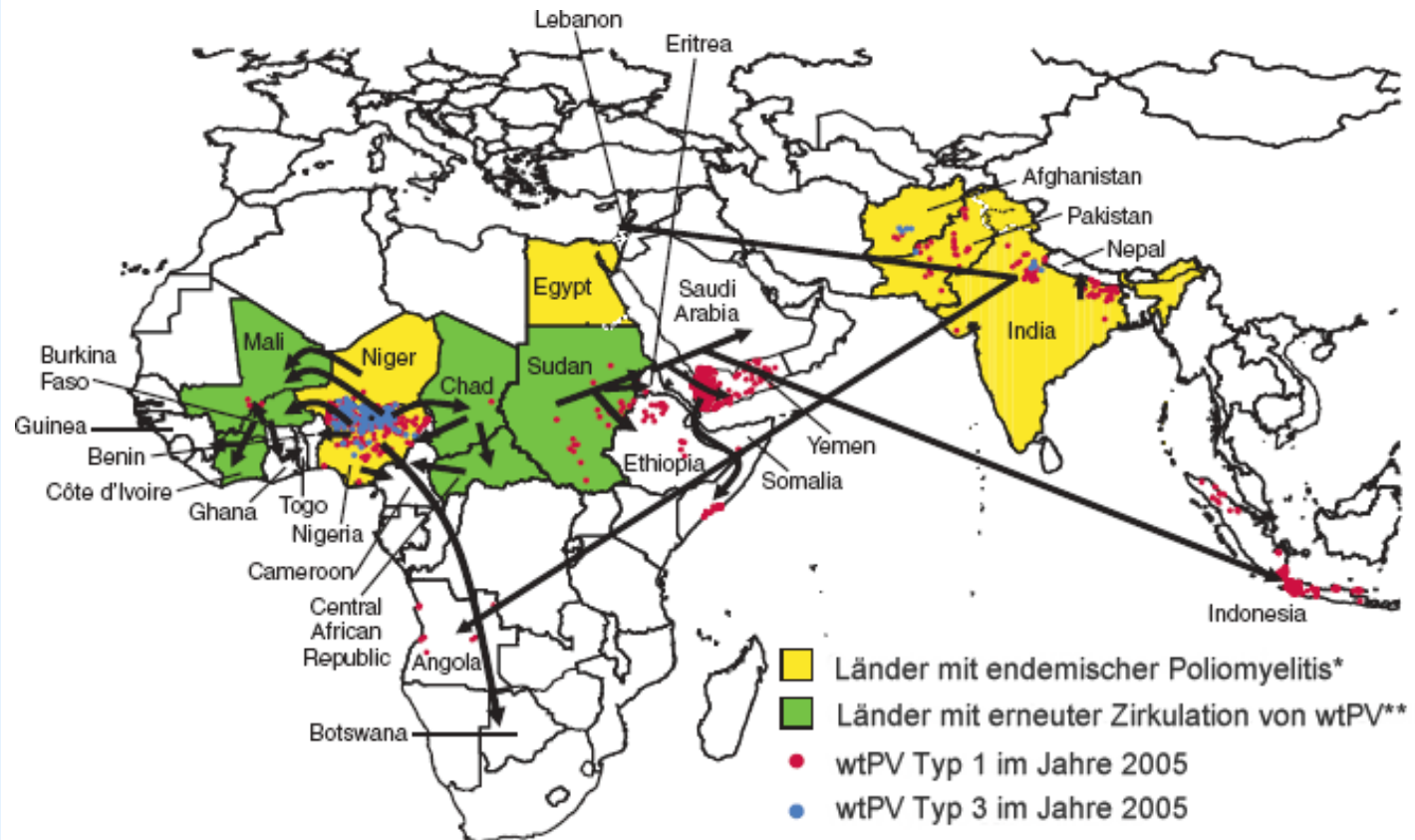
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

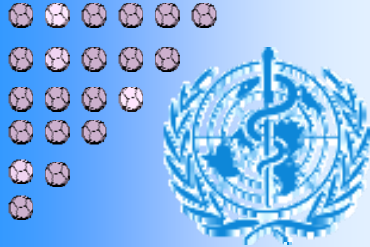
Folgerungen

Ausblick



Bei ungenügender Impfdichte ($< 86\%$) wird $N_0 > 1$, d.h. die Krankheit breitet sich wieder aus.

Gleichzeitig können aus Impfviren virulente Revertanten (VDPV) entstehen.



Rückschlag Nr. 2: VDPV

Die Krankheit

Impfstoffe

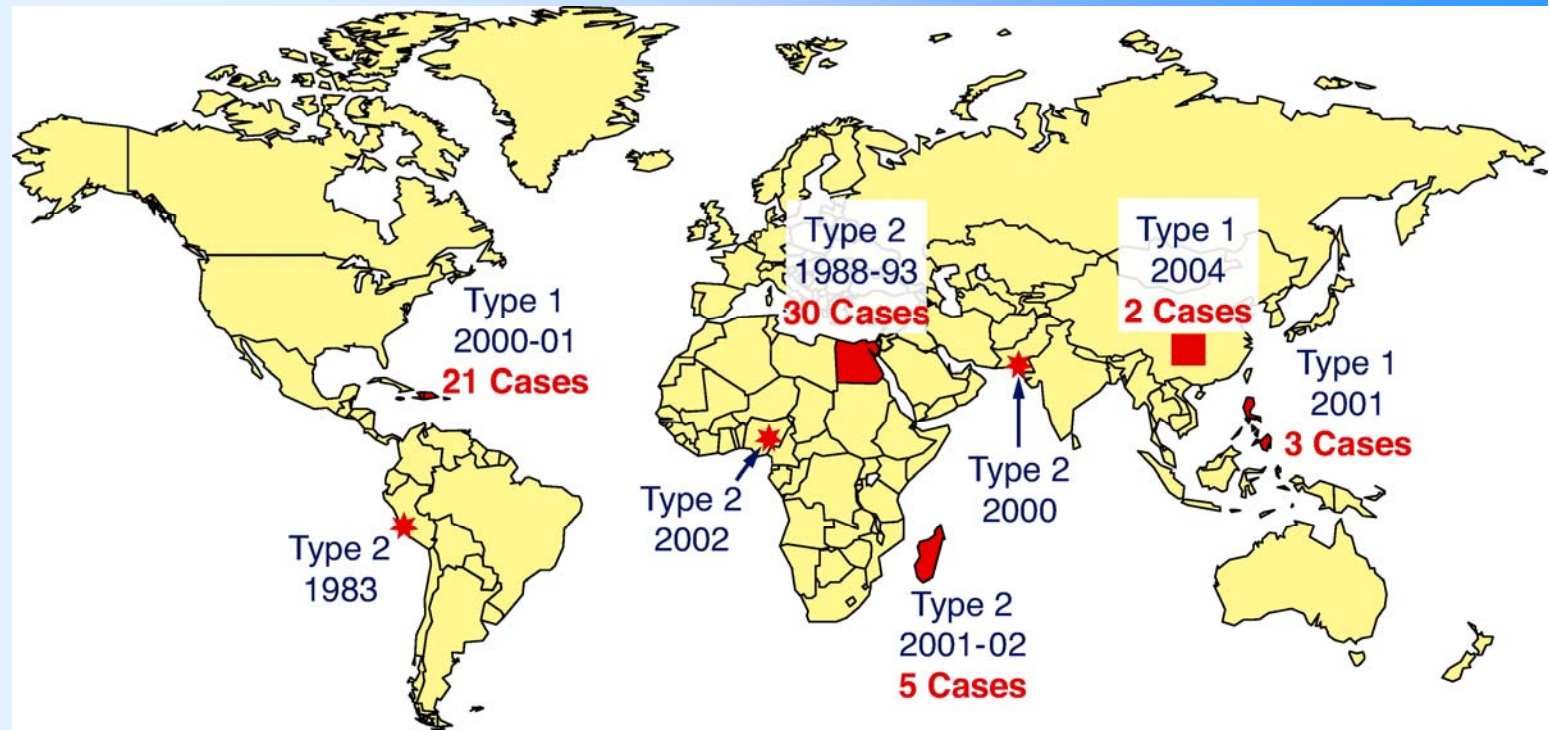
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



Kew OM, et al. 2005.
Annu. Rev. Microbiol. 59:587-635

"Vaccine-derived polioviruses" entstehen in ungenügend geschützten Populationen, sofern der entsprechende Wildtyp abwesend ist. Dies geschieht, indem Impfviren zum Wildtyp zurück mutieren.

In seltenen Fällen trifft man das Phänomen auch bei geimpften Dauerausscheidern, die an einer bestimmten Immunschwäche leiden. Der Rekord liegt bei 18 Jahren.



Rückschlag Nr. 3: Indien

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

Zwölf und mehr Impfungen ergeben teilweise keine belastbare Immunität (Krankheitsfälle); dies trotz intensiver Impfkationen

NID, National Immunization Days

2004, 5 x innerhalb eines Tages

- 200 Mio. Impfdosen
- 2 Mio. Impftaschen
- 6.3 Mio. Eispackungen
- 170 Mio. geimpfte Kinder
- 2.5 Mio. Helfer
- 191 Mio. besuchte Wohnungen





Wild Poliovirus

13 Feb 2008 - 12 Aug 2008

Die Krankheit

Impfstoffe

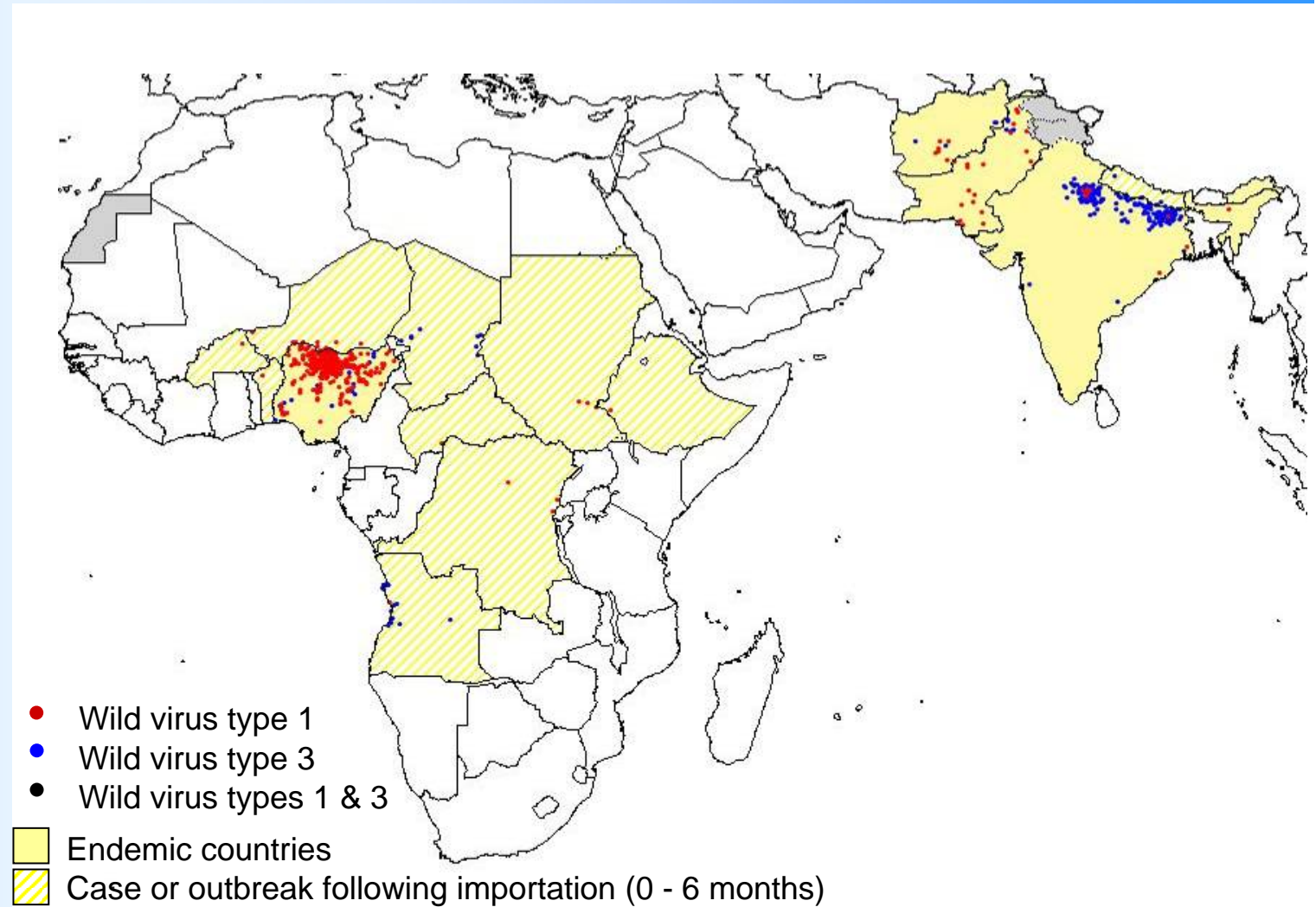
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick





Molekulare Viruseigenschaften

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

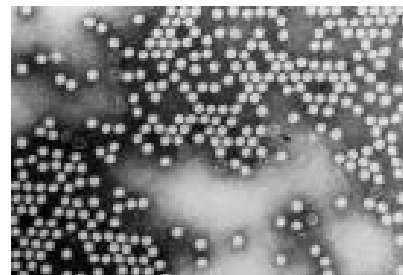
Ausblick

$1 \mu\text{m} = 1/1000 \text{ mm}$

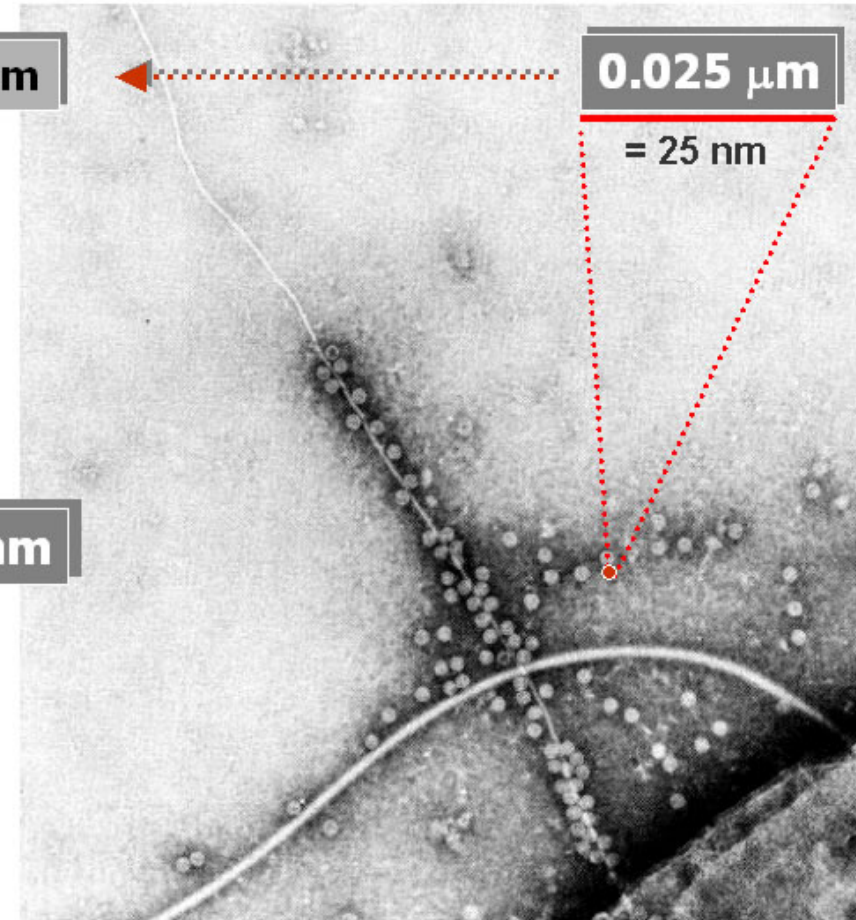


$\sim 0,3 \mu\text{m}$

40'000 Viren/mm



Polioviren
28 nm Durchmesser,
ss(+)RNA-Viren mit
7400 nt (7,4 kb)



Vertreter der (bakteriellen) Leviviridae:
ss(+)RNA mit rund 4000 nt (4kb)



Genetische Informationen

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

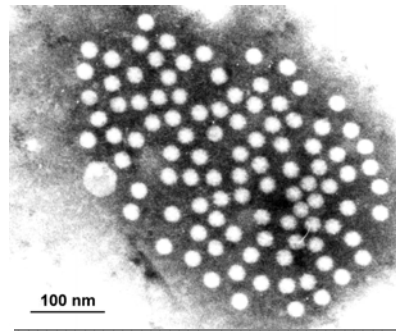
Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

Organismus	Genom	Genomgröße ^a	Gene
<i>Triturus vulgaris</i> (Teichmolch)	dsDNA	2,5 x 10 ¹⁰	
<i>Homo sapiens</i> (Mensch)	dsDNA	3,2 x 10 ⁹	40'000
<i>Drosophila melanogaster</i> (Taufliege)	dsDNA	2 x 10 ⁸	13'500
<i>Caenorhabditis elegans</i> (Fadenwurm)	dsDNA	8 x 10 ⁷	19'000
<i>E. coli</i> (Darmbakterium)	dsDNA	4,6 x 10 ⁶	4'500
Mimivirus	dsDNA	1,2 x 10 ⁶	911
Herpes simplex Virus	dsDNA	1,25 x 10 ⁵	74
λ-Phage	dsDNA	4,9 x 10 ⁴	70
Tollwutvirus	ss(-)RNA	1,2 x 10 ⁴	5
Poliovirus	ss(+)RNA	7,5 x 10 ³	1



dsDNA,
doppelsträngige DNA

ss(±)RNA,
single-stranded RNA

^a Basenpaare bei dsDNA,
Basen bei RNA



Basenpaarung in DNA-Doppel-Helix

Die Krankheit

Impfstoffe

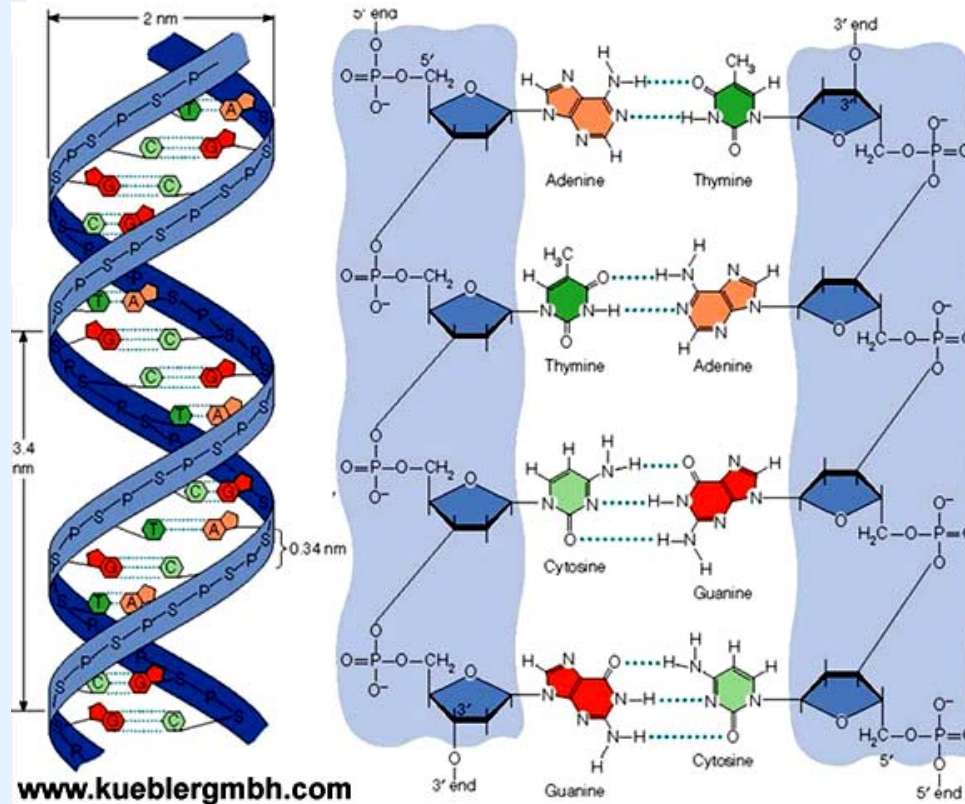
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



DNA-DNA

T - A

G - C

T, Thymin
A, Adenosin
G, Guanotin
C, Cytosin

DNA/RNA (mRNA)
RNA/RNA (Poliovirus)

U - A

G - C

U, Uracil



Das molekularbiologische Dogma

Die Krankheit

Impfstoffe

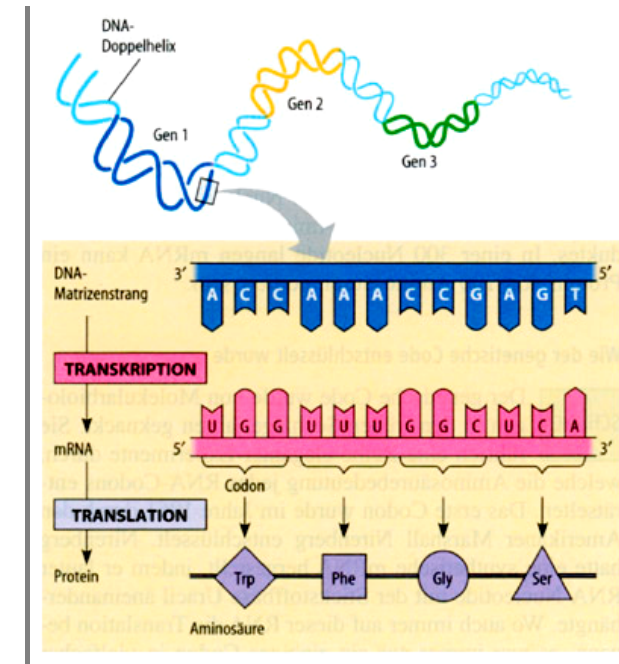
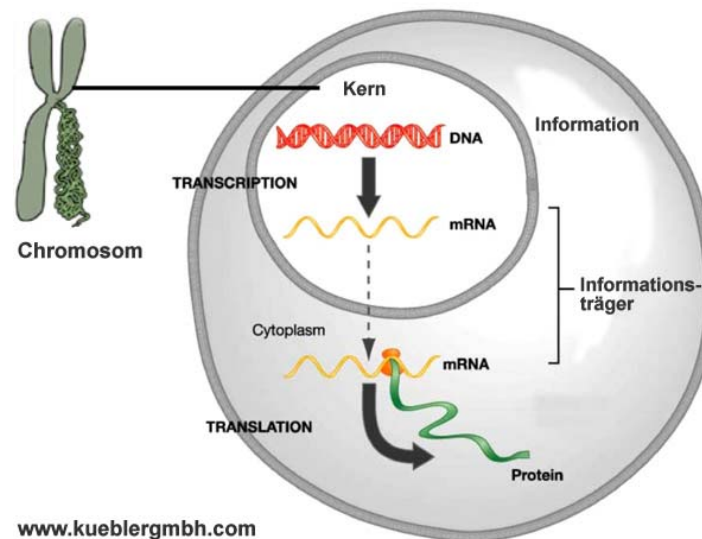
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



DNA ← DNA → RNA → Protein



Der genetische Code

Die Krankheit

Impfstoffe

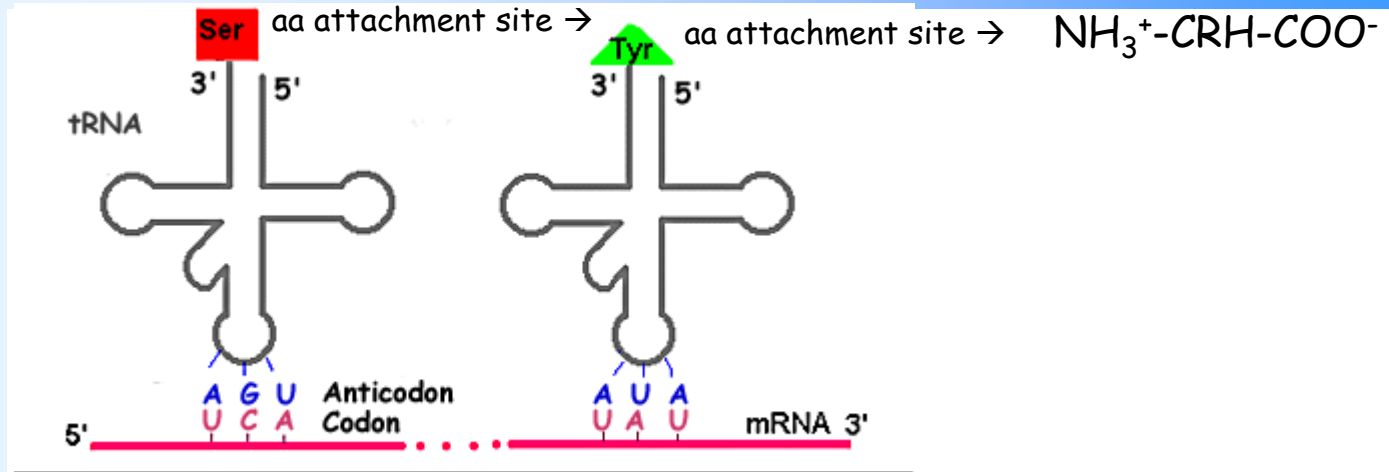
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



2. Base im Codon

	U	C	A	G		
1. Base im Codon	U	Phe	Ser	Tyr	Cys	3. Base im Codon
		Phe	Ser	Tyr	Cys	
		Leu	Ser	STOP	STOP	
		Leu	Ser	STOP	Trp	
C	Leu	Pro	His	Arg	U	
	Leu	Pro	His	Arg	C	
	Leu	Pro	Gln	Arg	A	
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U	
	Ile	Thr	Asn	Ser	C	
	Ile	Thr	Lys	Arg	A	
	Met	Thr	Lys	Arg	G	
G	Val	Ala	Asp	Gly	U	
	Val	Ala	Asp	Gly	C	
	Val	Ala	Asp	Gly	A	
	Val	Ala	Asp	Gly	G	

Methionin = Startcodon

Zu beachten:

der genetische Code ist redundant.

Apparente Mutationen widerspiegeln Virulenz

Inapparente Mutationen widerspiegeln Alter.



Mutationsfolgen

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

Original

5'.....-CGU-AUG-UAU-UUU-CGC-(XYZ)_n-CCA-UAU-AUC-(X'Y'Z')_n

UAU kodiert für **Tyrosin** (neutral-polar)

Mutante(n)

5'.....-CGU-AUG-UAU-UUU-CGC-(XYZ)_n-CCA-UCU-AUC-(X'Y'Z')_n

UCU kodiert für **Serin** (neutral-polar)

5'.....-CGU-AUG-UAU-UUU-CGC-(XYZ)_n-CCA-UAC-AUC-(X'Y'Z')_n

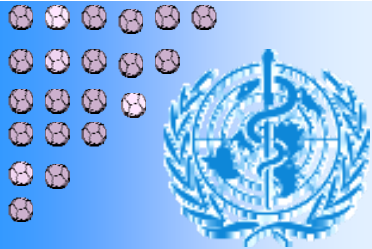
UAC kodiert für **Tyrosin** = stumme Mutation

5'.....-CGU-AUG-UAU-UUU-CGC-(XYZ)_n-CCA-UAA-AUC-(X'Y'Z')_n

UAA kodiert für **Stopp**-Signal

5'.....-CGU-AUG-UAU-UUU-CGC-(XYZ)_n-CCA-CAU-AUC-(X'Y'Z')_n

CAU kodiert für **Histidin** (basisch)



Drei Poliovirus-Serotypen

Die Krankheit

Impfstoffe

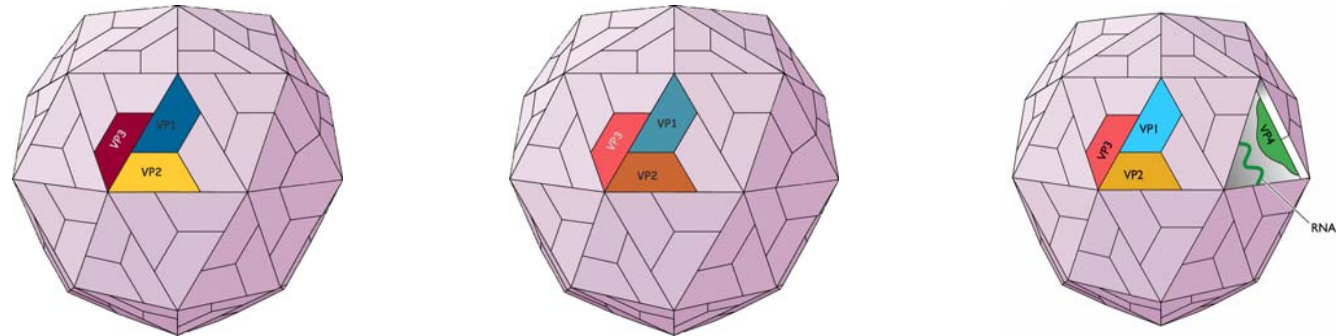
Impferfolge

Rückschläge

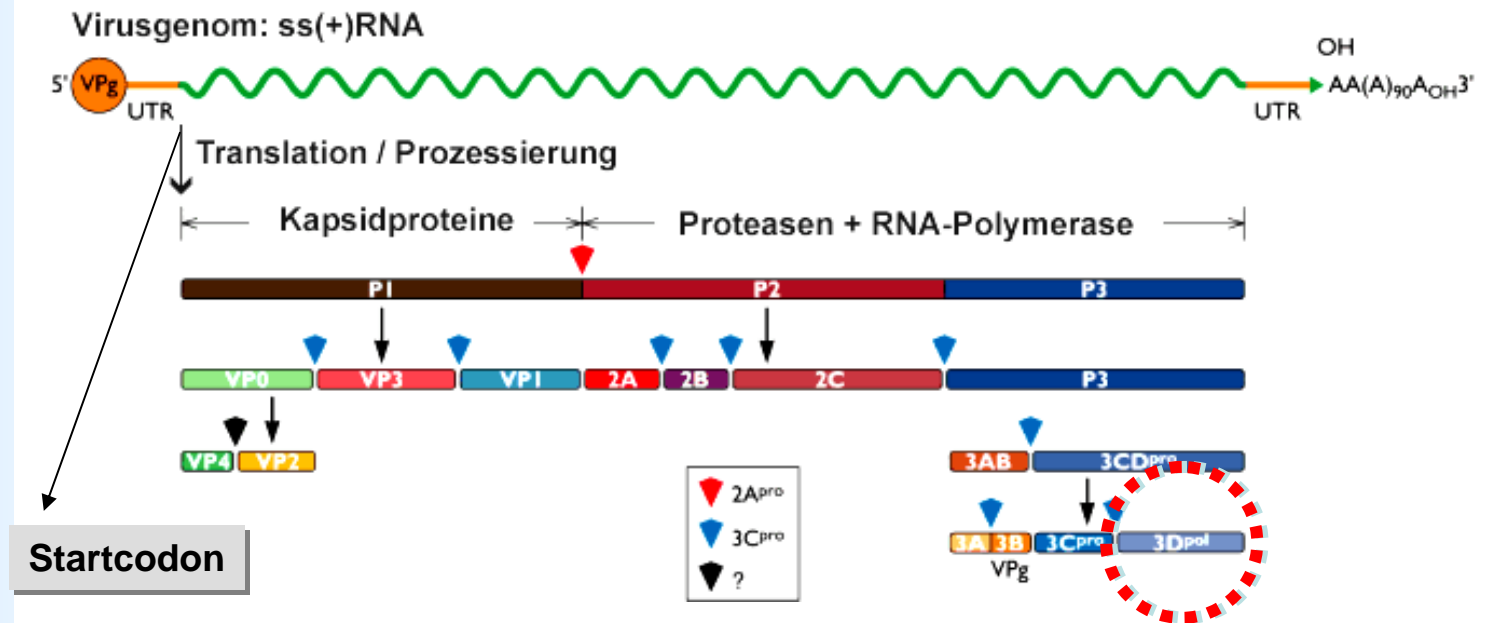
Diktat der Gene

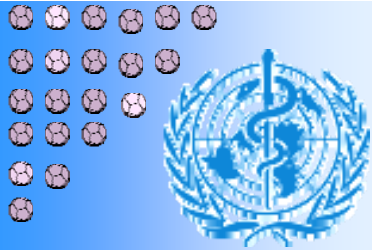
Folgerungen

Ausblick



Je 60 x VP1, VP2, VP3 und (im Virusinnern) VP4





Poliovirus-Replikation

Die Krankheit

Impfstoffe

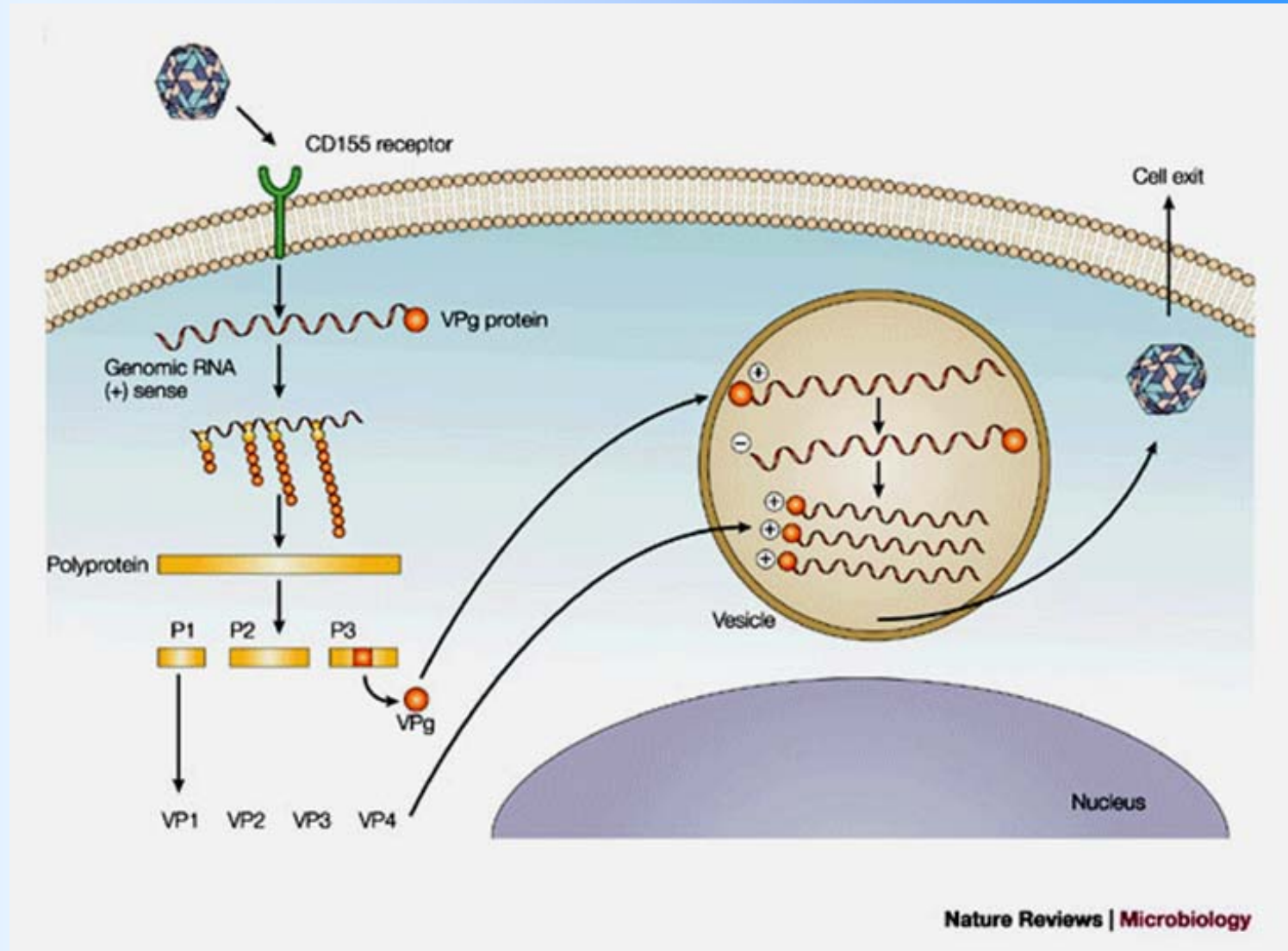
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick





Mutationsrate bei Polioviren: 10^{-4}

Virusgenom: 7400 nt

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

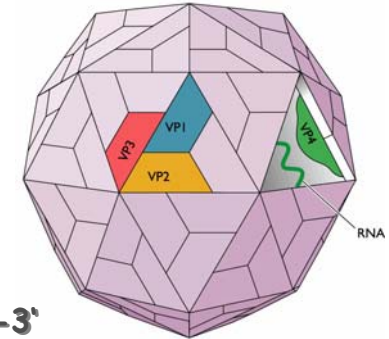
Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

RNA \leftarrow RNA \rightarrow Protein



5'-U U U A C G A U U C C G A C G A C U-3'
 5'-U G U A C G A U U C C G A C G A C U-3'
 5'-U G U A C G A U U C C G A C G A C U-3'
 5'-U G U A C G A U A C C G A C G A C U-3'
 5'-U G U A C G A U U C C G A C G A C U-3'

3'-A C A U G C U A A G G C U G C U G A-5'

U - A
G - C

5' --- U G U A C G A U U C C G A U G A C U ----- 3'

vRNA

codon codon codon codon codon codon

Translation

A1 --- A2 --- A3 --- A4 --- A5 --- A6 --- Aminosäurekette (Protein)

Konsequenzen von Mutationen:

Virus-RNA translatiert und in reifende Viruspartikel eingebaut
 → stumm oder letale Auswirkung oder funktionelle Veränderung.



Genetische Fingerabdrücke

Die Krankheit

Impfstoffe

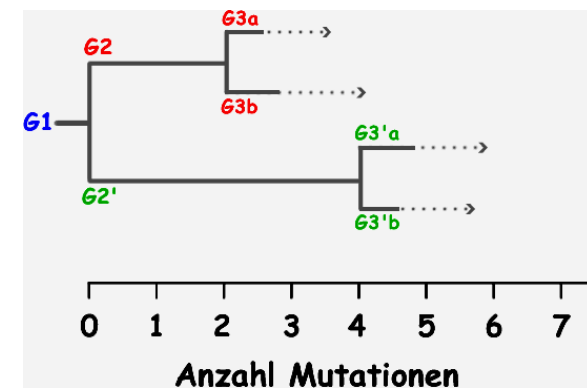
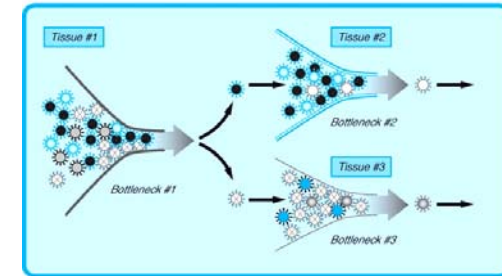
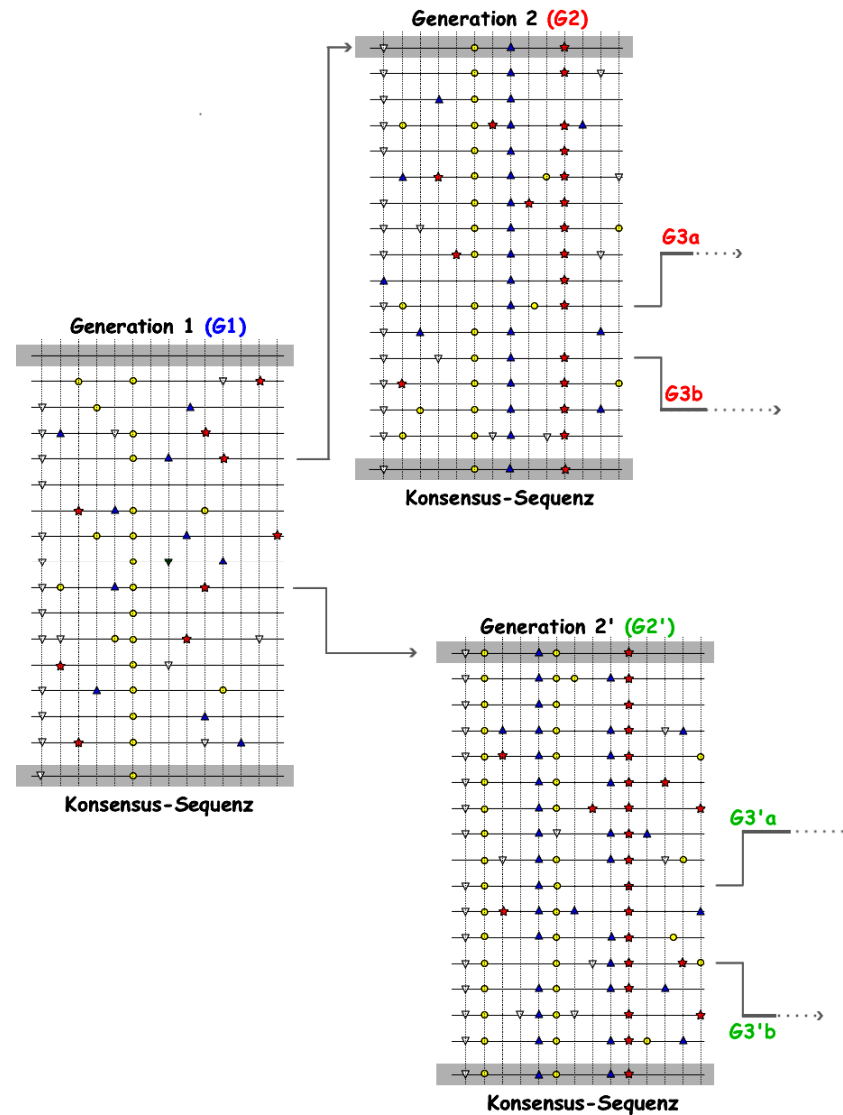
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



VDPV unterscheiden sich vom entsprechenden Impfvirus in 1-15% der Nukleotide.
>15% Unterschied = Wildtyp.



Lesen genetischer Spuren

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

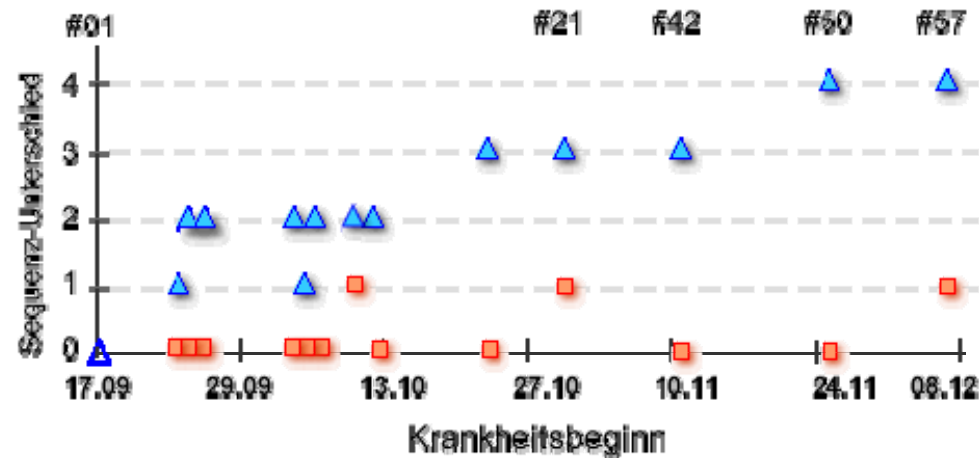
Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

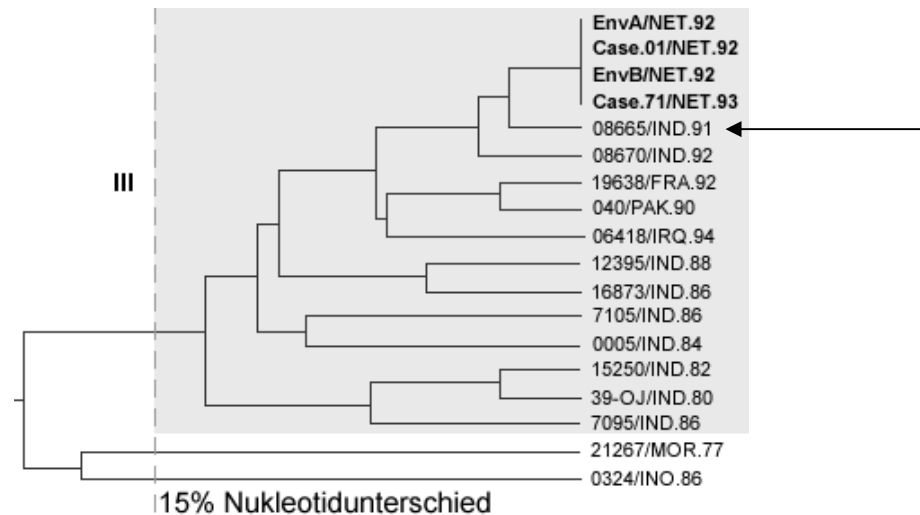
Ausbruch der Poliomyelitis in Holland (1993)



Virusprotein 1 (VP1)

Dreiecke:
stumme Mutationen

Vierecke:
Aminosäure-Austausch





Die erfolgreiche Ausrottung

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

	Pockenvirus	Poliovirus
Tierreservoir	nein	nein
Subklinische Infektionen ¹	nein	ja
Nutzen der Quarantäne ¹	erheblich	gering
Chronischen Ausscheider	nein	ja
Einheitlicher Serotyp	ja (1)	nein (3)
Wirksame Impfstoffe	Ja (Vaccinia)	ja (OPV, IPV)
Genetisch stabile Impfviren	ja, DNA-Virus	nein, RNA-Virus

¹wichtig für die Überwachung des Verbleibs des Virus



Folgerungen

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

1. Wildtyp-Poliioviren können durch flächendeckende Impfungen mit OPV oder IPV verdrängt (ausgerottet) werden. Eine Ungewissheit bleibt mit den Impfversagern in Indien
2. Beim Einsatz von OPV besteht bei Abwesenheit eines Wildtypvirus das Risiko der Entstehung entsprechender VDPV, d.h. virulenter Virusmutanten
3. Nach Ausrottung aller Wildtyp-Poliioviren muss die Impfung mit OPV früher oder später global sistiert werden. Dies birgt das Risiko der Entstehung von VDPV
4. Eine Ausstiegs-Strategie geht von einem global finalen Impftag mit OPV aus. Die Aussicht auf Erfolg ist gering
5. Situation in der Schweiz?



Impfstrategien in Europa

Die Krankheit

Impfstoffe

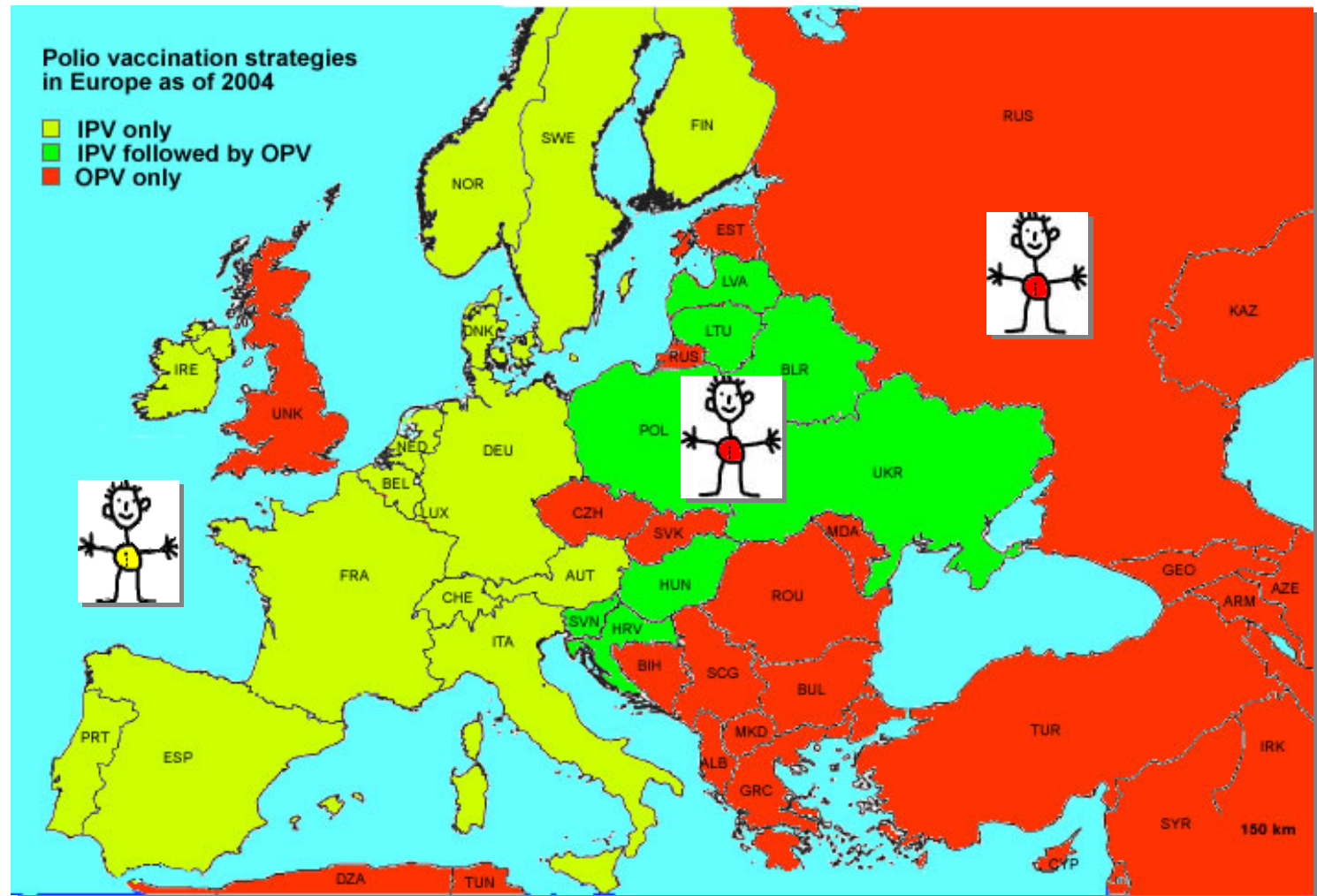
Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick





Umweltmonitoring

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick



Kloten-Opfikon
30'000 EGW
(Einwohnergleichwerte)



Zürich/Werdhölzli
340'000 EGW
(Einwohnergleichwerte)



Polioviren in der Schweiz

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

Sample	Year/ week	Strains ¹ isolated	Origin/strain studied	Genotype ²	Synonymous/ all mutations in VP1 ³	Nucleotide at position ⁴	Recombi- nant ⁵	RCT ⁶	ITD ⁷	
									ELISA	PCR
1	04/19	2	KO/50	Sabin 1	1/1	480G	-	6.0	SL	SL
2	05/25	1	Wh/77P	Sabin 1	1/6	480A	-	4.0	NSL	SL
3	06/14	1	Wh/14.13	Sabin 1	0/4	480A	-	5.5	SL	SL
4	04/16	6	Wh/167	Sabin 2	1/2	481G	-	4.0	SL	SL
5	05/26	1	Wh/80	Sabin 2	0/0	481A	-	4.75	SL	SL
6	05/36	16	Wh/596	Sabin 2	3/4	481G	-	4.5	SL	SL
7	05/39	2	Wh/679	Sabin 2	0/2	481G	-	4.5	SL	SL
8	05/40	1	Wh/777	Sabin 2	0/1	481G	-	5.5	SL	SL
9	05/41	11	Wh/786	Sabin 2	0/1	481G	-	4.5	SL	SL
10	05/43	1	Wh/870	Sabin 2	0/2	481G	-	4.75	SL	SL
11	05/47	1	Wh/939	Sabin 2	1/4	481A	-	5.75	SL	SL
12	05/50	1	Wh/998	Sabin 2	0/1	481G	S2/S1	5.0	SL	SL
13	06/04	1	Wh/4P	Sabin 2	5/9	481G	SpeI	4.0	SL	SL
14	06/30	1	KO/30.1	Sabin 2	0/0	481A	-	5.5	SL	SL
15	06/31	9	Wh/31.32	Sabin 2	0/2	481G	-	4.25	SL	SL
16	06/42	1	KO/42.3	Sabin 2	3/5	481G	-	5.0	SL	SL
17	04/09	2	Wh/70	Sabin 3	0/0	472C	-	3.5	SL	SL
18	05/36	1	KO/565	Sabin 3	0/0	472U	-	5.25	SL	SL
19	06/02	2	Wh/2.1	Sabin 3	0/1	472C	S3/S2/S3	3.75	SL	SL
20	06/03	1	Wh/3.5	Sabin 3	0/1	472C	S3/S2/S3	4.25	SL	SL

In den Jahren 2004 bis 2006 isolierte Impfpoliioviren (Sabin-like)

In den Jahren 2007 und 2008 zusätzlich 1 Wildtypvirus aus Chad sowie 2 VDPV unbekannter Herkunft (Zirkulation mehr als ein Jahr).



Ausblick

Die Krankheit

Impfstoffe

Impferfolge

Rückschläge

Diktat der Gene

Folgerungen

Ausblick

Die globale Ausrottung der Polioviren bleibt ungewiss

Der Ausstieg könnte gelingen, sofern OPV durch IPV ersetzt wird. Die Erfahrungen in der Schweiz zeigen, dass importierte wtPV und OPV-Stämme nicht dauerhaft zirkulieren, d.h. verschwinden

IPV erfordert zusätzliche Ressourcen für die Impfstoffherstellung und die Impf-Logistik.

Wenn Polio in der Schweiz weiterhin der Vergangenheit angehören soll, muss eine hohe Durchimpfungsrate (>90%) bis auf Weiteres aufrecht erhalten bleiben.