



Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von C-Typ-Retroviren der Hühner gemäß Gentechniksicherheitsverordnung

1. Einführung

1.1. Problemdarstellung

Gemäß § 5 Abs. 2 i.V.m. Anhang I Teil B II Gentechniksicherheitsverordnung werden mit Ausnahme der humanpathogenen Retroviren HIV, HTLV I und HTLV II (Risikogruppe 3) exogene Retroviren generell der **Risikogruppe 2** zugeordnet. Die ZKBS wurde gebeten, zur Einstufung von C-Typ-Retroviren der Hühner Stellung zu nehmen.

1.2. Kurzbeschreibung der Hühner-C-Typ-Retroviren

1.2.1. Unterteilung von C-Typ-Retroviren der Hühner [1, 2]

a. Geflügelendotheliose-Viren.

Es handelt sich um exogene Retroviren, die bei verschiedenen Spezies in Geflügelzuchten auftreten. Sie sind mit Retroviren von Säugetieren verwandt und werden den Säuger-C-Typ-Retroviren zugerechnet. Sie können Lymphome und andere Tumore verursachen.

b. Virus der lymphoproliferativen Erkrankung des Truthahns.

Es handelt sich hierbei um ein exogenes lymphotropes Virus des Truthahns, welches eine lymphoproliferative Erkrankung verursacht. Der natürliche Wirt ist der Truthahn, unter experimentellen Bedingungen vermehrt sich das Virus in Truthahn- und Hühnerzellen, nicht jedoch in Enten- oder Gänsezellen. Werden unter experimentellen Bedingungen 4 Wochen alte Truthähne infiziert, treten ca. 14 Tage nach Inokulation die ersten lymphoproliferativen Läsionen in der Milz und im Thymus auf.

c. Fasanen-C-Typ-Retroviren.

Es sind endogene Viren von Fasanen, die wahrscheinlich apathogen sind. Sie sind mit den endogenen Leukose-Sarkom-Viren, die in manchen Fasanen vorkommen, nicht verwandt.

d. **Geflügel-Leukose-Sarkom-Viren (GLSV)**

GLSV sind als exogene oder endogene Retroviren sehr weit verbreitet. Es wird davon ausgegangen, daß - mit wenigen Ausnahmen - sämtliche kommerzielle Hühnerherden damit infiziert sind. Sie können Leukosen, Sarkome und andere Tumore verursachen.

Unterteilung der GLSV:

(a) Viren ohne Onkogene (Aviäre Leukose-Viren, ALV):

Sie erzeugen mit geringer Effizienz und langer Latenz (Monate bis Jahre) lymphatische Leukosen. Diese Tumore entstehen aufgrund der Integration eines Retrovirus-Genoms in der Nachbarschaft oder innerhalb eines Proto-Onkogens mit dessen nachfolgender Aktivierung.

(b) Viren mit Onkogenen (Akute Leukämie/Sarkom Viren):

Diese Viren erzeugen innerhalb von Wochen bis Monaten Tumore. Sie enthalten ein bis zwei Onkogene, die typischerweise virale Gene ersetzen. Sie können sich daher nur in Anwesenheit von replikationskompetenten "Helfer"-Viren vermehren und kommen im Gemisch mit Leukose-Viren vor. (Ausnahme: einige Stämme des Rous Sarkom Virus, die sich Helfer-unabhängig vermehren können). Als typische Onkogene seien beispielhaft genannt: *myb* (Myeloblastose), *erb* (Erythroblastose), *src* (Sarkomatose), u.a.

Bestimmte Hüllproteine sind verantwortlich für die Anheftung an Zellrezeptoren und bestimmen somit den Wirtsbereich. Sie sind darüberhinaus verantwortlich für serologische Eigenschaften. Es werden z.Zt. bis zu 10 Subgruppen unterschieden, von denen die Subgruppen A, B, C, D und J beim Huhn als exogene Viren, Subgruppe E als endogene Viren, Subgruppen F und G beim Fasan, Subgruppe H beim ungarischen Rebhuhn und Subgruppe I bei der Gambel'schen Wachtel vorkommen.

1.3. Sicherheitsrelevante Eigenschaften der C-Typ-Retroviren der Hühner

a. **Wirtsspektrum**

GLSV sind eine in der Natur äußerst weit verbreitete Virusgruppe. Das Huhn ist der natürliche Wirt, daneben können Fasane, Perlhühner Wachteln und einige andere den Phasianiden zugehörige Vogelarten betroffen sein. Eine Übertragung von GLSV auf Säugetiere ist in der Natur nicht beobachtet worden.

b. Transmissionswege

Die Übertragung verläuft vorwiegend vertikal, entweder kongenital über den Reproduktionstrakt in das Ei (Eiklar) mit Infektion des Embryos während der Brut, oder gametogen über ein in die Zellen der Keimbahn integriertes Provirus. Die Viren können bei unmittelbarem Kontakt zwischen den Tieren über Speichel, Sekrete verschiedenster Art und infizierte Zellen horizontal übertragen werden. Eine Übertragung durch Insekten, Wasser oder Aerosole wurde nicht beschrieben, wohl aber Übertragungen durch infizierte Kanülen bei Injektionen von Küken, z.B. bei Impfungen gegen die Marek'sche Krankheit.

c. Epidemiologie

Das Virus ist in den heutigen Hühnerbeständen sehr weit verbreitet. Es wird davon ausgegangen, daß mit wenigen Ausnahmen sämtliche kommerzielle Hühnerherden damit infiziert sind. Nur wenn die Tiere innerhalb der ersten Tage infiziert werden, kann es zu einer Virämie mit nachfolgender Leukose kommen. Obwohl das Virus in den heutigen Hühnerbeständen ubiquitär ist, liegen Verlustraten durch spontan erkrankte Tiere bei ca. 2% und weniger.

Akute, Onkogen-enthaltende Stämme entstehen im Laufe der Evolution nur sporadisch.

d. Widerstandsfähigkeit des Organismus

Die Viren besitzen ein Lipid-haltiges Envelope, das seine geringe Stabilität und seine Empfindlichkeit in der Außenwelt bedingt. Außerhalb des unmittelbaren Zellmilieus werden die Viren rasch inaktiviert. Detergentien wirken desinfizierend, Temperaturen von 60°C inaktivieren das Virus in weniger als 1 Minute, ebenso führen pH-Werte von 5 oder 9 zur schnellen Inaktivierung. Gegenüber Lipidlösungsmitteln ist das Virus hochempfindlich.

e. Infektiosität für Säugetiere bzw. Säugerzellen

Eine Übertragung von GLSV auf Säugetiere ist in der Natur nicht beobachtet worden. Experimentell können einige Virusstämme auch an andere Zellsysteme adaptiert werden. Bestimmte Rous Sarkom Virus Stämme können Säugerzellen transformieren. Die menschlichen Fibroblasten zeigen dabei nur morphologische Veränderungen ohne eine erhöhte Proliferationsrate [3]. Im Vergleich zu Geflügelzellen ist die Transformationseffizienz für Säugerzellen generell niedriger. Transformierte Säugerzellkulturen produzieren entweder nicht nachweisbare oder um mehrere Größenordnungen niedrigere Titer an infektiösem Virus als

entsprechende transformierte Hühnerzellen [4]. Die Fähigkeit zur Infektion bzw. Transformation von Säugerzellen ist beschränkt auf Viren bestimmter Subgruppen, die Hüllproteine des Typs C oder D enthalten. Es liegen keine Berichte über die Induktion von Tumoren in Säugern durch Leukose- oder Leukämieviren vor. Jedoch kann das Rous Sarkom Virus, wenn es Hüllantigene der Subgruppen C oder D trägt, Cysten und Tumoren in neugeborenen Nagern erzeugen. Diese Tumoren metastasieren aber nicht und gehen in der Regel nach ein paar Monaten zurück [4, 5].

f. Humanpathogenität

In Gegenwart von Leukoseviren der Subgruppen C und D vermehrte akut transformierende Retroviren sind in der Lage, humane Fibroblasten zu infizieren [1, 3, 4]. Natürliche Infektionen wurden jedoch bisher nicht beschrieben. Tumoren oder anderweitige Erkrankungen beim Menschen, die auf C-Typ-Retroviren der Hühner zurückgeführt werden können, sind nicht bekannt. Der Test von 101 Seren von leukämischen Patienten erbrachte keinen Hinweis auf GLSV-Virusantigene [6]. Eine Humanpathogenität von GLSV ist aufgrund von zwei anderen Befunden wenig wahrscheinlich:

1. In einem Selbstversuch injizierte sich J. G. Carr 1939 das Rous Sarcom Virus, und war 21 Jahre später immer noch symptomlos [7].
2. Bei der Verabreichung von Gelbfiebertvakzine an amerikanisches Militär enthielten zumindest einige der verabreichten Chargen kontaminierende GLSV, da diese Vakzine in Hühnerfibroblasten hergestellt wurde [8, 9]. Zwanzig Jahre später konnte im Vergleich zu einer Kontrollgruppe kein Zusammenhang zwischen der Gelbfieber-Vakzinierung und der Entstehung von Tumoren festgestellt werden [10]. Auch gegen Influenza oder Typhus geimpfte Personen wiesen Antikörper gegen RSV und ein Hühner-Leukosevirus auf, jedoch wurde auch bei diesen Personen keine Krebserkrankung festgestellt, die mit diesen Viren in Verbindung gebracht werden konnte [11].

2. Literatur:

- [1] Levy, J. A. (1992). The Retroviridae, Plenum Press.
- [2] Fields, B. (1985). Retroviridae, Virology, Vol. 2, 2nd. Edition, Raven Press, New York.
- [3] Stenkvist, B. (1966). Long-term cultivation of human and bovine fibroblastic cells morphologically transformed in vitro by Rous sarcoma virus. Acta Path. microbiol. scandinav. 67, 67 - 82.
- [4] Simkovic, D. (1972). Characteristics of Tumors induced in mammals, especially rodents, by virus of the avian leukosis sarcoma groups. Adv. Virus Res. 17, 95 - 123.
- [5] Zilber, L. A. (1965). Pathogenicity and oncogenicity of Rous sarcoma virus for mammals. Progr. Exp. Tumor. Res. Vol. 7, 1 -48. (Karger, Basel/New York).
- [6] Roth, F. K., and Dougherty, R. B. (1971). Search for group-specific antibodies of avian leukosis virus in human leukemia sera. J. Nat. Cancer Inst. 46, 1357 - 1360.
- [7] Carr, J.G. (1969). Lack of pathogenicity of Rous I virus for humans: A long.termexperiment. Veter. Rec. 72, 87.
- [8] Harris, R. J. C., Dougherty, R. M., Biggs, P. M., Payne, L. N., Goffe, A. P., Churchill. A. E., and Mortimer, R. (1966). Contaminant viruses in two live vaccines produced in chick cells. J. Hyg. Camb, 64, 1 - 6.
- [9] Piraino, F., Krumbiegel, E. R., and Wisniewski, H. J. (1967). Serologic survey of man for avian leukosis virus infection. J Immunol. 98, 702 - 706.
- [10] Waters, T. D., Anderson, P. S., Beebe, G. W., and Miller, R. W. (1972). Yellow fever vaccination, avian leukosis virus, and cancer risk in man. Science 177, 76 - 77.
- [11] Richman, A.V., Aulisio C. G., Jahnes, W. G., and Tauraso, N. M. (1971). Avian Leukosis Antibody Response in Individuals Given Chicken Embryo Derived Vaccines (36117). Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 139, 235 - 237.

3. Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von C-Typ-Retroviren der Hühner

- a. Geflügelendotheliose-Viren: Risikogruppe 2**

Begründung:

Die Viren weisen einen hohen Verwandtschaftsgrad zu Retroviren von Säugetieren auf und werden nach neueren Erkenntnissen den Säuger-C-Typ-Retroviren zugerechnet [1, 2]. Von einem engen Wirtsbereich kann somit nicht ausgegangen werden.

- b. Lymphoproliferative Disease Virus of Turkeys: Risikogruppe 2**

Begründung:

Es handelt sich um ein für Truthähne pathogenes lymphotropes Virus, welches noch wenig charakterisiert ist.

- c. Fasanen-C-Typ-Retroviren: Risikogruppe 1**

Begründung:

Es handelt sich um endogene tierische Retroviren, die auf natürliche Weise in das Genom gelangt und apathogen sind. Sie sind somit gemäß § 5 Abs 2 i.V.m. Anhang I Teil B II GenTSV der Risikogruppe 1 zuzuordnen.

- d. akute Leukämie/Sarkom-Viren der Subgruppen C und D: Risikogruppe 2**

Begründung:

Die Viren haben einen erweiterten Wirtsbereich. Unter experimentellen Bedingungen sind sie in der Lage, neben Hühnerzellen auch Säugerzellen, einschließlich menschlicher Fibroblasten, zu transformieren. In Nagern und Primaten können sie Cysten und Tumore erzeugen.

- e. Geflügel-Leukose-Sarkom-Viren (GLSV),
akute Leukämie/Sarkom-Viren der Subgruppen A und B: Risikogruppe 1**

Begründung:

Die Viren sind ubiquitär bei Hühnern vorhanden, eine Erkrankung der Tiere erfolgt bei weniger als 2% der infizierten Tiere. Die Viren verursachen keine Krankheitsepidemien. Eine Übertragung auf andere Tiere ist nicht beobachtet worden. Sie haben einen engen Wirtsbereich und sind durch Aerosole nicht übertragbar. Sie sind für den Menschen nicht pathogen. Außerhalb ihrer Wirtszellen sind die Viren sehr instabil.