

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von
Hepatitis-D-Virus-ähnlichen Viren
als Spender- oder Empfängerorganismen
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Viren der Gattung *Deltavirus* besitzen ein zirkuläres einzelsträngiges RNA-Genom negativer Polarität. Dieses in großen Teilen zu sich selbst komplementäre Genom hat eine Größe von 1,7 kb und kodiert für ein einziges Protein (HDAg) ohne Enzymaktivität, das aufgrund einer RNA-Editierung in zwei Varianten (S-HDAg und L-HDAg) exprimiert wird. Für die Bildung von Viruspartikeln ist ein Helfervirus notwendig, welches die Hüllproteine zur Verpackung des viralen Ribonukleoproteinkomplexes zur Verfügung stellt. Für die Replikation und Transkription des Virusgenoms innerhalb infizierter Zellen wird das Helfervirus jedoch nicht benötigt. Diese Schritte werden, unter Beteiligung weiterer zellulärer Proteine, durch zelluläre DNA-abhängige RNA-Polymerasen in einer Vielzahl von Zelltypen verschiedener Spezies katalysiert. Bisher wurde der Gattung nur eine Spezies, das *Hepatitis delta virus* (HDV), zugeordnet.

HDV wurde aus Patienten isoliert, die mit dem Hepatitis-B-Virus (HBV, Familie *Hepadnaviridae*) infiziert waren. Eine solche Ko-Infektion kann mit einer im Vergleich zu einer HBV-Infektion verstärkten Symptomatik einhergehen. Neuere *in vitro*- und *in vivo*-Experimente belegen, dass auch die Hüllproteine anderer, nicht mit HBV verwandter Viren eine Infektion durch HDV und anschließende Abgabe von HDV-Partikeln vermitteln können. Diese alternativen Hüllproteine stammten u. a. vom Hepatitis-C-Virus, Dengue-Virus, West-Nil-Virus und dem Humanen Metapneumovirus. Der Zelltropismus und das Wirtsspektrum von HDV änderten sich entsprechend der Rezeptorspezifität der Hüllproteine [1]. Ob diese alternativen HDV-Partikel eine klinische Relevanz haben, ist nicht geklärt. HDV ist als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Bei Transkriptom-Analysen von Proben verschiedener nicht-humaner Wirte konnte in den letzten Jahren die genomische RNA mehrerer HDV-ähnlicher Viren nachgewiesen werden. Ähnlich zur genomischen RNA des humanen HDV haben die zirkulären Genome dieser Viren eine Größe von 1,5 – 1,7 kb und bestehen aus größtenteils zu sich selbst komplementären Sequenzen. Alle HDV-ähnlichen Viren kodieren für ein einziges Protein, das dem HDAg von HDV ähnelt. Zudem konnten auch Sequenzen mit Ähnlichkeit zum genomischen und antigenomischen HDV-Ribozym nachgewiesen werden. Abgesehen von diesen Sequenzinformationen liegen zu den Viren bislang nur wenige Informationen vor.

Die genomische RNA des snake HDV-like virus (sHDV) wurde initial in der Schweiz in Proben eines *Boa constrictor*-Brutpaares sowie später in einigen ihrer Nachkommen und einer Wasserpython (*Liasis mackloti savuensis*) nachgewiesen, die im selben Raum gehalten wurden. Beide Elterntiere wurden aus Panama importiert und waren an der *bovid inclusion body disease* erkrankt [2], welche durch Viren der Gattung *Reptarenavirus* verursacht wird [3]. Die Wasserpython zeigte Anzeichen einer chronischen Hepatitis. RNA-Fragmente des sHDV konnten

in Proben des Gehirns, des Bluts und der Leber der Elterntiere nachgewiesen werden. In diesen Proben wurden zudem RNA-Fragmente von Arenaviren der Gattungen *Reptarenavirus* und *Hartmanivirus* gefunden. Ob diese Viren eine Helferfunktion für sHDV wahrnehmen ist nicht untersucht. mRNA-Fragmente mit Homologie zu einem Hepadnavirus wurden nicht identifiziert. Mithilfe eines Antikörpers konnten zwei HDAg-Varianten unterschiedlicher Größe in Hepatozyten der infizierten Schlangen nachgewiesen werden. Mindestens eine der beiden HDAg-Varianten wurde zudem in neuronalen Zellen aller Gehirnregionen, in Epithelzellen der Niere und der Lunge sowie in Leukozyten der Milz detektiert. Ein zytopathischer Effekt wurde nicht beobachtet [2].

Die genomische RNA des avian HDV-like virus (avHDV) wurde in einer Sammelprobe von Abstrichen des Oropharynx und der Kloake verschiedener Enten (*Anas gracilis*, *A. castanea* und *A. superciliosa*) aus Australien nachgewiesen. Dieselbe Probe enthielt zudem große Mengen von RNA-Fragmenten von Influenza-A-Viren. Ob diese Viren tatsächlich als Helfervirus fungieren, kann jedoch nicht mit Sicherheit bestätigt werden, da in dieser Probe die RNA von zehn verschiedenen Tieren enthalten war. Eine Ko-Infektion ist somit nicht sicher belegt [4]. *In vitro* führte die Ko-Expression des Hämagglutinins und der Neuraminidase eines aviären Influenza-A-Virus bei gleichzeitiger HDV-Genom-Replikation in humanen Zellen nicht zur Entstehung infektiöser HDV-Partikel [1]. mRNA-Fragmente des *Duck hepatitis B virus (DHBV)* wurden nicht identifiziert. Die Tiere zeigten keine Krankheitssymptome [4].

In einer weiteren Studie konnte die genomische RNA von vier weiteren HDV-ähnlichen Viren identifiziert werden. Auch in dieser Studie wurden keine mRNA-Fragmente von Hepadnaviren nachgewiesen. In einer Sammelprobe verschiedener Fisch-Spezies der Klassen *Actinopterygii*, *Agnatha* und *Chondrichthyes* wurden neben der RNA des fish HDV-like virus (fiHDV) Sequenzen von Arena-, Hanta- und Reoviren gefunden. Aus Kröten (*Bufo gargarizans*) wurde die RNA des toad HDV-like virus (tfHDV) sowie aus Molchen (*Cynops orientalis*) die RNA des newt HDV-like virus (amHDV) isoliert. Beide Proben enthielten daneben auch RNA-Fragmente von Astroviren. Darüber hinaus wurde aus den Kröten die RNA eines neuen, bisher nicht näher klassifizierten Influenzavirus isoliert. In Termiten (*Schedorhinotermes intermedius*) wurde neben Fragmenten einiger bisher nicht klassifizierter Viren die genomische RNA des termite HDV-like virus (tHDV) identifiziert. Alle Proben enthielten RNA aus mehreren Tieren. Über deren Gesundheitszustand liegen keine Informationen vor [5].

Zusätzlich wurde kürzlich die RNA des rodent HDV-like virus (rHDV) in Proben eines Nagetiers (*Proechimys semispinosus*) nachgewiesen (M. A. Müller, persönliche Mitteilung).

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden HDV-ähnliche Viren, deren genomische RNA aus Tieren isoliert wurde, als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten vorsorglich der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

HDV-ähnliche Viren wurden lediglich durch Sequenzanalyse von cDNA-Bibliotheken aus tierischen Proben identifiziert. Über ihren Wirtsbereich, ihre Übertragungswege, ihre Prävalenz und ihre Replikationseigenschaften liegen bislang keine Informationen vor. Die Sequenzierung hat gezeigt, dass HDV-ähnliche Viren kein eigenes Hüllprotein und keine RNA-Polymerase kodieren. Für ihre Replikation und Übertragung sind sie daher wie HDV auf die Anwesenheit eines Helfervirus und zelluläre RNA-Polymerasen angewiesen. Untersuchungen weisen darauf hin, dass die genomische HDV-RNA in einer Vielzahl von Zellen transkribiert und repliziert

werden kann. Darüber hinaus scheint das jeweils anwesende Helfervirus bzw. dessen Hüllprotein(e) den Zelltropismus und auch den Wirtsbereich von HDV-Partikeln maßgeblich zu bestimmen. In Abwesenheit entsprechender Daten zu HDV-ähnlichen Viren ist zunächst davon auszugehen, dass sich diese Befunde auf HDV-ähnliche Viren übertragen lassen. Da die Identität der Helferviren von HDV-ähnlichen Viren bislang nicht bekannt ist, kann keine Vorhersage zum natürlichen Wirtsspektrum und Zelltropismus dieser Viren getroffen werden. Bei einer Ko-Infektion mit einem Helfervirus kann zudem eine Pathogenität für Tiere oder ggf. den Menschen derzeit nicht ausgeschlossen werden. Vorsorglich ist daher ein dem humanen HDV ähnliches Gefährdungspotenzial für Mensch und Tier anzunehmen.

Hinweis

Die ZKBS empfiehlt, an den gentechnischen Arbeiten mit HDV-ähnlichen Viren keine HBV-infizierten Personen zu beteiligen.

Literatur

1. **Perez-Vargas J, Amirache F, Boson B, Mialon C, Freitas N, Sureau C, Fusil F, Cosset F-L** (2019). Enveloped viruses distinct from HBV induce dissemination of hepatitis D virus *in vivo*. *Nat Commun* **10**(1):2098.
2. **Hetzel U, Szivovicza L, Smura T, Prähauser B, Vapalahti O, Kipar A, Hepojoki J** (2019). Identification of a Novel Deltavirus in Boa Constrictors. *MBio* **10**(2).
3. **Hetzel U, Sironen T, Laurinmäki P, Liljeroos L, Patjas A, Henttonen H, Vaheri A, Artelt A, Kipar A, Butcher SJ, Vapalahti O, Hepojoki J** (2013). Isolation, identification, and characterization of novel arenaviruses, the etiological agents of bovid inclusion body disease. *J Virol* **87**(20):10918–35.
4. **Wille M, Netter HJ, Littlejohn M, Yuen L, Shi M, Eden J-S, Klaassen M, Holmes EC, Hurt AC** (2018). A Divergent Hepatitis D-Like Agent in Birds. *Viruses* **10**(12).
5. **Chang W-S, Pettersson JH-O, Le Lay C, Shi M, Lo N, Wille M, Eden J-S, Holmes EC** (2019). Novel hepatitis D-like agents in vertebrates and invertebrates. *Virus Evol* **5**(2):vez021.