

Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung des *Madariaga virus*, *Middelburg virus*, *Salmon pancreas disease virus* und *Southern elephant seal virus* als Spender- oder Empfängerorganismen gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Die Viren der Spezies *Madariaga virus* (MADV), *Middelburg virus* (MIDV), *Salmon pancreas disease virus* (SPDV, auch salmonid alphavirus, SAV, oder sleeping disease virus, SDV) und *Southern elephant seal virus* (SESV) sind der Gattung *Alphavirus* (Familie *Togaviridae*) zugeordnet. Sie sind behüllte Viren und besitzen ein einzelsträngiges RNA-Genom mit positiver Polarität. Gegebenenfalls mit der Ausnahme von SPDV sind die Viren der Gruppe der Arboviren zuzurechnen.

Im Jahr 2012 wurden die südamerikanischen Isolate des *Eastern equine encephalitis virus* (EEEV) (Subtypen II, III und IV, auch als SA EEEV bezeichnet) in die neu geschaffene Spezies MADV überführt, da zwischen den Viren dieser Subtypen und denen des nordamerikanischen Subtyps I (auch als NA EEEV bezeichnet) lediglich eine ca. 75 %ige Nukleotid- und eine 90 %ige Aminosäuresequenzidentität besteht. Darüber hinaus unterscheiden sich SA und NA EEEV auch in ihrem Vektor, Reservoirwirt sowie ihrer Epidemiologie und Pathogenität [1]. MADV wird von Stechmücken der Gattung *Culex* übertragen. Ob es wie EEEV unter experimentellen Bedingungen auch über Aerosole übertragen werden kann, ist nicht bekannt. Das Reservoir sind vermutlich Nagetiere. Es wurden jedoch auch Antikörper in Wildvögeln, Fledermäusen, Reptilien und Beuteltieren gefunden [2; 3]. In Pferden verursacht MADV sporadisch lokale Ausbrüche, die sich in neurologischen Erkrankungen äußern, welche in bis zu 80 % der Fälle zum Tod führen [1]. Die Morbidität in Pferdepopulationen während eines Ausbruchs ist jedoch gering. Sie betrug beispielweise während eines Ausbruchs in Panama im Jahr 2010 je nach Region 0,03 – 0,31 % [4]. In Regionen mit einem aktuellen Ausbruch von MADV unter Pferden wurden in bis zu 66 % der getesteten Bewohner Antikörper gegen MADV nachgewiesen [5]. Dokumentierte symptomatische Infektionen des Menschen sind jedoch sehr selten, und keiner der Fälle war letal. Bis zu dem Ausbruch in Panama im Jahr 2010, bei dem 20 Kinder unter 10 Jahren eine Enzephalitis entwickelten, waren lediglich drei Krankheitsfälle beschrieben [4]. Aufgrund der typischerweise unspezifischen Symptomatik eines viralen, fiebrigen Infekts während leichter Verläufe ist es jedoch nicht auszuschließen, dass es weitere nicht dokumentierte Fälle gibt. Die Daten weisen dennoch daraufhin, dass MADV im Vergleich zu EEEV (**Risikogruppe 3**), für welches eine Letalität von 30 – 80 % im Menschen beschrieben ist, deutlich weniger humanpathogen ist. MADV ist in Südamerika sowie Teilen Mittelamerikas und der Karibik verbreitet.

MIDV wurde im Jahr 1957 im Zuge eines *screenings* von Stechmücken während eines Krankheitsausbruchs in Schafen in Südafrika isoliert [6]. Es wird von verschiedenen Stechmücken der Gattung *Aedes* und der Spezies *Mansonia africana* übertragen [7]. Zu seinen Wirten zäh-

len Schafe, Ziegen, Pferde und Nashörner. Typischerweise verursacht das Virus ausschließlich eine fiebrige Erkrankung. Bei Pferden und Nashörnern können jedoch auch neurologische Symptome, wie z. B. Bewegungsstörungen und Lähmungen, auftreten, die schließlich zum Tod führen können [8; 9]. Während des Ausbruchs von 1957 wurden in zwei von neun Serumproben von Bewohnern der betroffenen Region Antikörper gegen MIDV nachgewiesen. Ebenso bildeten Hühnerküken, Meerschweinchen und Grüne Meerkatzen Antikörper gegen MIDV nach experimenteller Infektion. In diesen Versuchstieren wie auch im Menschen verliefen die Infektionen jedoch asymptomatisch. In neugeborenen, nicht jedoch in adulten Mäusen, ist eine intraperitoneale oder intrazerebrale Injektion des Virus letal [6]. MIDV ist in verschiedenen Staaten Afrikas verbreitet [7]. In der TRBA 462 „Einstufung von Viren in Risikogruppen“ ist MIDV der Risikogruppe 2 zugeordnet.

SPDV wurde 1995 aus Aquakulturen des Atlantischen Lachses isoliert. In diesen verursacht es die sogenannte „*pancreas disease*“. Daneben kann es in Aquakulturen von Forellen die sogenannte „*sleeping disease*“ auslösen. Beide Erkrankungen zeichnen sich durch Erschöpfung, Veränderungen des Schwimmverhaltens bedingt durch eine Schädigung der Skelettmuskulatur und plötzlichen Tod aus. Die Mortalität in betroffenen Nutzbeständen kann bis zu 50 % betragen. Entsprechend kann SPDV zu signifikanten wirtschaftlichen Einbußen in kommerziellen Fischzuchten führen [10; 11]. Außerhalb von kommerziellen Beständen wurde SPDV bisher lediglich in einigen marinen Plattfischspezies nachgewiesen. Ob sich in diesen auch Krankheitssymptome zeigen, ist nicht bekannt [12]. Darüber hinaus deuten wiederkehrende Infektionen von marinen Aquakulturen auch nach längeren Betriebsunterbrechungen auf ein Wildtierreservoir hin [11]. Der Übertragungsweg des Virus ist nicht vollständig geklärt. Zumindest in Nutzbeständen scheint eine orale Übertragung durch die Aufnahme kontaminierter, von toten Fischen stammender Fetttröpfchen oder eine fäkal-orale Übertragung möglich. Begünstigt wird dies durch die hohe Tenazität des Virus insbesondere in kaltem Salzwasser. Krankheitsausbrüche in Lachsbeständen sind jedoch auch mit dem Vorhandensein der Lachslaus (*Lepeophtheirus salmonis*) assoziiert. In dieser wurde das Virus zudem bereits nachgewiesen. Ob sie jedoch auch als Vektor fungiert, ist unklar. SPDV ist in Nord-, West- und Mitteleuropa, einschließlich Deutschland, verbreitet [10]. Gegenwärtig sind in Europa zwei Impfstoffe gegen SPDV in Lachsen zugelassen [10; 13]. In der TRBA 462 „Einstufung von Viren in Risikogruppen“ ist SPDV der Risikogruppe 1 mit dem Zusatz t2¹ zugeordnet.

SESV wurde im Jahr 2001 aus der Tierlaus (*Lepidophthirus macrorhini*) des Südlichen See-Elefanten isoliert. Es wird vermutet, dass diese auch den Vektor darstellt. Der vermutliche Hauptwirt ist der Südliche See-Elefant. Obwohl nahezu alle Serumproben von Individuen dieser Spezies ab einem Alter von zwei Jahren Antikörper gegen SESV enthielten, gibt es keine Berichte über Krankheitssymptome in diesen Tieren. Daneben können auch die Hamsterzelllinie BHK-21 und die Affenzelllinie Vero sowie Mäuse experimentell infiziert werden. In BHK-21-Zellen zeigte sich hierbei ein zytopathischer Effekt. In Mäusen verlief die Infektion nach intraperitonealer Inokulation mit einer Dosis von 10⁵ *cell culture infectious dose 50* asymptomatisch und ging mit einer niedrigen Virämie einher. Serumproben von sechs Menschen, die regelmäßigen und engen Kontakt zu See-Elefanten hatten, enthielten keine SESV-Antikörper. Grund hierfür könnte die hohe Wirtsspezifität des Vektors sein [14]. Gemäß der Verbreitung des Südlichen See-Elefanten und seines Parasiten ist das Vorkommen von SESV vermutlich auf die Regionen um die Antarktis einschließlich Neuseeland, dem südlichen Australien, Südafrika und Patagonien begrenzt. In der TRBA 462 „Einstufung von Viren in Risikogruppen“ ist SESV der Risikogruppe 1 mit dem Zusatz t2¹ zugeordnet.

¹ Wegen der Wirbeltierpathogenität können aus tierseuchenrechtlicher Sicht Sicherheitsmaßnahmen erforderlich werden, die vergleichbar mit den Sicherheitsmaßnahmen der Schutzstufe 2 ein Entweichen des Virus in die äußere Umgebung bzw. in andere Arbeitsbereiche minimieren.

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden das *Madariaga virus*, *Middelburg virus* und *Salmon pancreas disease virus* als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet. Das *Southern elephant seal virus* wird als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Das *Madariaga virus*, das *Middelburg virus* und das *Salmon pancreas disease virus* sind pathogen für Nutztiere. Aufgrund ihrer Übertragungswege weisen sie jedoch ein geringes epizootisches Potenzial auf. Den Menschen können sie nicht infizieren bzw. sind für diesen apathogen oder nur selten pathogen.

Eine Infektion mit dem *Southern elephant seal virus* ist bisher nicht mit einer Krankheit in Tieren assoziiert. Auch gibt es keinen Hinweis darauf, dass das Virus den Menschen infizieren kann. Somit gibt es keinen Hinweis auf ein Gefährdungspotenzial für Mensch, Tier oder Umwelt.

Literatur

1. **ICTV** (2012). Taxonomy Proposal 2012.007aV. <https://talk.ictvonline.org/ICTV/proposals/2012.007aV.A.v1.Alphavirus-sp.pdf>
2. **Arrigo NC, Adams AP, Weaver SC** (2010). Evolutionary patterns of eastern equine encephalitis virus in North versus South America suggest ecological differences and taxonomic revision. *J Virol.* **84**(2):1014-25.
3. **Vittor AY, Armien B, Gonzalez P, Carrera JP, Dominguez C, Valderrama A, Glass GE, Beltran D, Cisneros J, Wang E, Castillo A, Moreno B, Weaver SC** (2016). Epidemiology of Emergent Madariaga Encephalitis in a Region with Endemic Venezuelan Equine Encephalitis: Initial Host Studies and Human Cross-Sectional Study in Darien, Panama. *PLoS Negl Trop Dis.* **10**(4):e0004554.
4. **Carrera JP, Forrester N, Wang E, Vittor AY, Haddow AD, López-Vergès S, Abadía I, Castaño E, Sosa N, Báez C, Estripeaut D, Díaz Y, Beltrán D, Cisneros J, Cedeño HG, Travassos da Rosa AP, Hernandez H, Martínez-Torres AO, Tesh RB, Weaver SC** (2013). Eastern equine encephalitis in Latin America. *N Engl J Med.* **369**(8):732-44.
5. **Aguilar PV, Paessler S, Carrara AS, Baron S, Poast J, Wang E, Moncayo AC, Anishchenko M, Watts D, Tesh RB, Weaver SC** (2005). Variation in interferon sensitivity and induction among strains of eastern equine encephalitis virus. *J Virol.* **79**(17):11300-10.
6. **Kokernot RH, de Meillon B, Paterson HE, Heymann CS, Smithburn KC** (1957). Middelburg virus; a hitherto unknown agent isolated from Aedes mosquitoes during an epizootic in sheep in the eastern Cape Province. *S Afr J Med Sci.* **22**(4):145-53.
7. **Tricou V, Berthet N, Descorps-Declere S, Nakouné E, Kazanji M** (2014). Complete genome sequences of two middelburg viruses isolated from arthropods in the central african republic. *Genome Announc.* **2**(5). pii: e01078-14.
8. **van Niekerk S, Human S, Williams J, van Wilpe E, Pretorius M, Swanepoel R, Venter M** (2015). Sindbis and Middelburg Old World Alphaviruses Associated with Neurologic Disease in Horses, South Africa. *Emerg Infect Dis.* **21**(12):2225-9.
9. **Human S, Steyl J, Williams J, Last R, van Niekerk S, Venter M** (2010). Sindbis and Middelburg viruses as a cause of disease in animals in South Africa: the molecular epidemiology. Proceedings of the 9th Annual Congress of the Southern African Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, Farm Inn, Pretoria, South Africa, 18-20 August 2010 pp.93-96

10. **OIE – World Organization for Animal Health** (2017). Infection with salmonid alphaviruses. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/chapitre_salmonid_alpha-virus.pdf
11. **McLoughlin MF, Graham DA** (2007). Alphavirus infections in salmonids--a review. *J Fish Dis.* **30**(9):511-31.
12. **Snow M, Black J, Matejusova I, McIntosh R, Baretto E, Wallace IS, Bruno DW** (2010). Detection of salmonid alphavirus RNA in wild marine fish: implications for the origins of salmon pancreas disease in aquaculture. *Dis Aquat Organ.* **91**(3):177-88.
13. **European Medicines Agency** (2016). First DNA vaccine in the EU recommended for use in salmon. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2016/04/WC500205214.pdf
14. **La Linn M, Gardner J, Warrilow D, Darnell GA, McMahon CR, Field I, Hyatt AD, Slade RW, Suhrbier A** (2001). Arbovirus of marine mammals: a new alphavirus isolated from the elephant seal louse, *Lepidophthirus macrorhini*. *J Virol.* **75**(9):4103-9.