

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung des *Reston ebolavirus* (RESTV)
als Spender- oder Empfängerorganismus
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Das *Reston ebolavirus* (RESTV) gehört zur Familie der *Filoviridae* innerhalb der Ordnung der *Mononegavirales*. Es stellt neben dem *Zaire ebolavirus* (EBOV), dem *Tai forest ebolavirus* (TAFV), dem *Bundibugyo ebolavirus* (BDBV) und dem *Sudan ebolavirus* (SUDV) eine eigene Art innerhalb der Gattung *Ebolavirus* dar [1]. Bei RESTV handelt es sich um filamentöse, behüllte Viren mit einem linearen Einzelstrang-RNA-Genom negativer Polarität. RESTV ist am engsten mit dem SUDV verwandt [2]. Die Aminosäuresequenz der Proteine von EBOV und RESTV ist zu 58 – 81 % identisch, wobei die Sequenz des Gens für das Glykoprotein am wenigsten und die Sequenz des Matrixproteingens *vp24* am stärksten konserviert ist [3; 4].

RESTV wurde zuerst 1989 diagnostiziert, als in der Stadt Reston im Bundesstaat Virginia der USA Javaneraffen in einer Quarantäneeinheit an einer Erkrankung starben. Die Javaneraffen waren zuvor aus einem Zuchtbetrieb auf den Philippinen in die USA importiert worden [5; 6]. Eine Untersuchung ergab, dass die Affen Infektionen mit dem *Simian hemorrhagic fever virus* und einem damals unbekanntem Filovirus erlitten waren. In den Jahren 1989, 1990, 1992 und 1996 kam es in den USA und in Italien zu weiteren RESTV-Ausbrüchen unter aus den Philippinen importierten Javaneraffen [7 - 11], die sich auf die gleiche Zuchtstation in den Philippinen zurückführen ließen. Die Letalität für Javaneraffen beträgt zwischen 50 und 84 % [9; 12]. Dagegen überlebten alle sieben experimentell infizierten Äthiopischen Grünmeerkatzen. Bei Javaneraffen verliefen RESTV-Infektionen milder und wiesen eine geringere Letalität auf als EBOV-Infektionen, bei denen die virämische Phase schneller eintrat und weniger lang andauerte [9]. Außerhalb von Asien ist das RESTV nicht endemisch.

2008 wurde RESTV bei einer Epizootie in Schweinen zweier geographisch getrennter Schweinemastbetriebe auf den Philippinen nachgewiesen. Die Schweine waren darüber hinaus auch mit dem *Porcine reproductive and respiratory syndrome virus* (PRRSV) und dem *Porcine circovirus type-2* ko-infiziert [13]. In nachfolgenden Untersuchungen zeigten Schweine, die experimentell ausschließlich mit RESTV infiziert worden waren, keine Krankheitssymptome, schieden das Virus jedoch aus [14]. Darüberhinaus wurde RESTV 2011 durch RT-PCR auch bei Ferkeln in China nachgewiesen, die mit PRRSV infiziert waren [15].

Experimentell konnten Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse erfolgreich mit RESTV infiziert werden. In Stechmücken und Zecken repliziert RESTV nicht [16]. Antikörper gegen RESTV-Antigene sowie z. T. auch Nukleinsäureabschnitte des RESTV-Genoms wurden jedoch darüber hinaus in wildlebenden Fledermäusen und Flughunden aus den Philippinen, Bangladesh und China nachgewiesen [17 - 20].

Bei einer Untersuchung der Personen, die mit den infizierten Affen bzw. Schweinen Kontakt gehabt hatten, wurde festgestellt, dass insgesamt 15 Menschen seropositiv für Antikörper gegen RESTV waren. Sie zeigten jedoch keine Krankheitssymptome [5; 21 - 24]. Unter ihnen war ein Tierpfleger, der sich mit dem Virus durch eine Schnittverletzung während der Nekropsie eines infizierten Affen infiziert hatte. Untersuchungen zeigten, dass er an den Tagen 9, 10 und 11 nach der Inokulation virämisch war, jedoch keine weiteren Symptome zeigte [6; 23]. Alle untersuchten Kontaktpersonen seropositiver Personen erwiesen sich als seronegativ [21], so dass eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung von RESTV nicht zu erwarten ist.

Die Transmission von RESTV erfolgt wie bei anderen Viren der Gattung über Kot, Blut, Urin und andere Körperflüssigkeiten. Bei infizierten Schweinen und Javaneraffen konnten Ebola-Antigene in Alveoli der Lunge sowie in intraalveolären Infiltraten nachgewiesen werden, sodass eine

Übertragung über Aerosole bei Javaneraffen und Schweinen nicht ausgeschlossen wird [12; 13].

Aufgrund der nicht stark ausgeprägten *proofreading*-Funktion seiner Polymerase hat RESTV ebenso wie andere RNA-Viren eine hohe Mutationsrate. Die Pathogenität von Ebolaviren kann innerhalb weniger Passagen deutlich verändert werden. So gelang es z. B. durch serielle Passagierung, EBOV innerhalb von wenigen Passagen an das Meerschweinchen zu adaptieren, für das EBOV vor der Passagierung nicht pathogen war [25; 26]. Nach Passage 5 betrug die Letalität bei einer infektiösen Dosis von 10^3 TCID₅₀ 100 %.

Die WHO empfiehlt darüber hinaus, mit RESTV wie mit anderen Filoviren nur unter Sicherheitsbedingungen der Stufe 4 umzugehen, da eine Pathogenität für den Menschen nicht auszuschließen sei. Eine Pathogenität für den Menschen werde als möglich erachtet, da es sich bei den untersuchten, seropositiven Personen mit Kontakt zu infizierten Affen oder Schweinen ausschließlich um männliche, gesunde Erwachsene gehandelt hatte, von denen nur einer (der Tierpfleger, der sich während einer Nekropsie mit RESTV infiziert hatte und virämisch war) als Grunderkrankung Diabetes hatte. Daher sei es nach Auffassung der WHO nicht auszuschließen, dass eine Infektion von Schwangeren, Kindern oder Immunsupprimierten einen gravierenderen Verlauf nehmen könnte [21].

Andererseits waren sowohl EBOV, deren Glykoproteinen gegen das Glykoproteinen von RESTV ausgetauscht war, als auch RESTV mit dem Glykoproteinen von EBOV attenuiert. Dies spricht dafür, dass die Attenuierung von RESTV im Vergleich mit EBOV multifaktoriell bedingt ist und einzelne Mutationen nicht direkt zur Erhöhung des pathogenen Potentials für den Menschen auf das eines Organismus der Risikogruppe 4 führen könnten [27].

In den „Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe 462: Einstufung von Viren“ wird das Virus in die Risikogruppe 2 eingestuft, mit dem Hinweis, dass aufgrund des pathogenen Potentials für Wirbeltiere Sicherheitsmaßnahmen der Stufe 4 einzuhalten sind. International (u. a. Schweiz, Belgien, USA, Kanada) wird mit dem RESTV ausschließlich unter Sicherheitsbedingungen der Stufe 4 umgegangen.

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird das *Reston ebolavirus* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 4** zugeordnet.

Begründung

Die ZKBS empfiehlt die Einstufung des RESTV in die Risikogruppe 4, da es (i) ein hohes Gefährdungspotential für nicht-humane Primaten hat, (ii) eng mit anderen hochpathogenen Ebolaviren verwandt ist, (iii) nicht vollständig geklärt ist, worauf die Attenuierung von RESTV im Vergleich zu anderen Ebolaviren beruht und (iv) sich um ein RNA-Virus handelt, dessen Genom einer hohen Mutationsrate unterliegt.

Literatur

1. **Kuhn JH, Becker S, Ebihara H, Geisbert TW, Johnson KM, Kawaoka Y, Lipkin WI, Negrodo AI, Netesov SV, Nichol ST, Palacios G, Peters CJ, Tenorio A, Volchkov VE, Jahrling PB** (2010). Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Arch Virol.* **155**(12):2083-103.
2. **Dudas G, Rambaut A** (2014). Phylogenetic Analysis of Guinea 2014 EBOV Ebolavirus Outbreak. *PLoS Curr.* **6**:ecurrents.

3. **Groseth A, Ströher U, Theriault S, Feldmann H** (2002). Molecular characterization of an isolate from the 1989/90 epizootic of Ebola virus Reston among macaques imported into the United States. *Virus Res.* **87**(2):155-63.
4. **Ikegami T, Calaor AB, Miranda ME, Niikura M, Saijo M, Kurane I, Yoshikawa Y, Morikawa S** (2001). Genome structure of Ebola virus subtype Reston: differences among Ebola subtypes. *Arch Virol.* **146**(10):2021-7.
5. **Centers for Disease Control and Prevention** (1990). Update: Filovirus infection associated with contact with nonhuman primates or their tissues. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* **39**:404-5.
6. **Centers for Disease Control and Prevention** (1990). Update: Evidence of filovirus infection in an animal caretaker in research/service facility. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* **39**:296-7.
7. **World Health Organization** (1992). Viral haemorrhagic fever in imported monkeys. *Wkly Epidemiol Rec.* **67**:142-3.
8. **Rollin PE, Williams RJ, Bressler DS, Pearson S, Cottingham M, Pucak G, Sanchez A, Trappier SG, Peters RL, Greer PW, Zaki S, Demarcus T, Hendricks K, Kelley M, Simpson D, Geisbert TW, Jahrling PB, Peters CJ, Ksiazek TG** (1999). Ebola (subtype Reston) virus among quarantined nonhuman primates recently imported from the Philippines to the United States. *J Infect Dis.* **179 Suppl 1**:S108-S114.
9. **Fisher-Hoch SP, Brammer TL, Trappier SG, Hutwagner LC, Farrar BB, Ruo SL, Brown BG, Hermann LM, Perez-Oronoz GI, Goldsmith CS** (1992). Pathogenic potential of filoviruses: role of geographic origin of primate host and virus strain. *J Infect Dis.* **166**(4):753-63.
10. **Centers for Disease Control and Prevention** (1990). Update: Ebola-related filovirus infection in nonhuman primates and interim guidelines for handling nonhuman primates during transit and quarantine. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* **39**(2):22.
11. **Centers for Disease Control and Prevention** (1996). Ebola-Reston virus infection among quarantined nonhuman primates - Texas, 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* **45**:314-6.
12. **Jahrling PB, Geisbert TW, Jaax NK, Hanes MA, Ksiazek TG, Peters CJ** (1996). Experimental infection of cynomolgus macaques with Ebola-Reston filoviruses from the 1989-1990 U.S. epizootic. *Arch Virol Suppl.* **11**:115-34.
13. **Barrette RW, Metwally SA, Rowland JM, Xu L, Zaki SR, Nichol ST, Rollin PE, Towner JS, Shieh WJ, Batten B, Sealy TK, Carrillo C, Moran KE, Bracht AJ, Mayr GA, Sirios-Cruz M, Catbagan DP, Lautner EA, Ksiazek TG, White WR, McIntosh MT** (2009). Discovery of swine as a host for the Reston ebolavirus. *Science.* **325**(5937):204-6.
14. **Marsh GA, Haining J, Robinson R, Foord A, Yamada M, Barr JA, Payne J, White J, Yu M, Bingham J, Rollin PE, Nichol ST, Wang LF, Middleton D** (2011). Ebola Reston virus infection of pigs: clinical significance and transmission potential. *J Infect Dis.* **204 Suppl 3**:S804-S809.
15. **Pan Y, Zhang W, Cui L, Hua X, Wang M, Zeng Q** (2014). Reston virus in domestic pigs in China. *Arch Virol.* **159**(5):1129-32.
16. **Turell MJ, Bressler DS, Rossi CA** (1996). Short report: lack of virus replication in arthropods after intrathoracic inoculation of Ebola Reston virus. *Am J Trop Med Hyg.* **55**(1):89-90.
17. **Olival KJ, Islam A, Yu M, Anthony SJ, Epstein JH, Khan SA, Khan SU, Crameri G, Wang LF, Lipkin WI, Luby SP, Daszak P** (2013). Ebola virus antibodies in fruit bats, Bangladesh. *Emerg Infect Dis.* **19**(2):270-3.
18. **Taniguchi S, Watanabe S, Masangkay JS, Omatsu T, Ikegami T, Alviola P, Ueda N, Iha K, Fujii H, Ishii Y, Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Kyuwa S, Akashi H, Yoshikawa Y, Morikawa S** (2011). Reston Ebolavirus antibodies in bats, the Philippines. *Emerg Infect Dis.* **17**(8):1559-60.

19. **Yuan J, Zhang Y, Li J, Zhang Y, Wang LF, Shi Z** (2012). Serological evidence of ebolavirus infection in bats, China. *Virology*. **9**(1):236.
20. **Jayne SI, Field HE, de JC, Olival KJ, Marsh G, Tagtag AM, Hughes T, Bucad AC, Barr J, Azul RR, Retes LM, Foord A, Yu M, Cruz MS, Santos IJ, Lim TM, Benigno CC, Epstein JH, Wang LF, Daszak P, Newman SH** (2015). Molecular evidence of Ebola Reston virus infection in Philippine bats. *Virology*. **12**:107.
21. **World Health Organization** (2009). WHO experts consultation on Ebola Reston pathogenicity in humans.
22. **Centers for Disease Control and Prevention** (1990). Update: Filovirus infections among persons with occupational exposure to nonhuman primates. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* **39**:266-7.
23. **Centers for Disease Control and Prevention** (1990). Update: Filovirus infection in animal handlers. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* **39**:221.
24. **Miranda MEG, White ME, Dayrit MM, Hayes CG, Ksiazek TG, Burans JP** (1991). Seroepidemiological study of filovirus related to Ebola in the Philippines. *The Lancet.* **337**(8738):425-6.
25. **Volchkov VE, Chepurinov AA, Volchkova VA, Ternovoj VA, Klenk HD** (2000). Molecular characterization of guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology.* **277**(1):147-55.
26. **Dowall SD, Matthews DA, Garcia-Dorival I, Taylor I, Kenny J, Hertz-Fowler C, Hall N, Corbin-Lickfett K, Empig C, Schlunegger K, Barr JN, Carroll MW, Hewson R, Hiscox JA** (2014). Elucidating variations in the nucleotide sequence of Ebola virus associated with increasing pathogenicity. *Genome Biol.* **15**(11):540.
27. **Groseth A, Marzi A, Hoenen T, Herwig A, Gardner D, Becker S, Ebihara H, Feldmann H** (2012). The Ebola virus glycoprotein contributes to but is not sufficient for virulence in vivo. *PLoS Pathog.* **8**(8):e1002847.