

**Aus dem Robert Koch-Institut über das Institut für Virologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Diversität und Evolution  
von Adenoviren bei Primaten in  
Subsahara-Afrika**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von  
Eileen Hoppe  
Tierärztin aus Berlin**

**Berlin 2016  
Journal-Nr.: 3888**

**Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek

**Erster Gutachter:** PD Dr. Kerstin Borchers

**Zweiter Gutachter:** Prof. Dr. Annette Mankertz

**Dritter Gutachter:** Prof. Dr. Peter-Henning Clausen

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Adenoviridae, primates, zoonoses, phylogeny, evolution, recombination,  
polymerase chain reaction, wild animals, Africa South of Sahara

**Tag der Promotion: 20.10.2016**

*Für Mama*



# INHALTSVERZEICHNIS

---

<b>I Verzeichnis der Abkürzungen</b> .....	<b>III</b>
<b>II Verzeichnis der Abbildungen</b> .....	<b>V</b>
<b>III Verzeichnis der Tabellen</b> .....	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Zielsetzung</b> .....	<b>3</b>
<b>3 Schriftum</b> .....	<b>8</b>
3.1 Adenoviren .....	8
3.1.1 Charakteristika.....	8
3.1.2 Aufbau des Virions.....	14
3.1.3 Genomorganisation .....	15
3.1.4 Zellinfektion.....	17
3.1.5 Phylogenie der Adenoviren .....	17
3.1.6 Rekombination.....	20
3.1.7 Humane Adenoviren und assoziierte Erkrankungen.....	21
3.1.8 Simiane Adenoviren .....	24
3.2 Zoonosen .....	26
3.2.1 Die Bedeutung von Zoonosen .....	26
3.2.2 Zoonotisches Potential von Erregern aus Menschenaffen.....	27
3.2.3 Zoonotisches Potential von Adenoviren.....	29

<b>4 Publikationen</b> .....	<b>31</b>
4.1 Publikation 1 .....	31
4.2 Publikation 2.....	65
<b>5 Diskussion</b> .....	<b>75</b>
5.1. HAdV-Prävalenz.....	75
5.2. Genetische Diversität und Wirtsspezifität.....	76
5.3. Speziesübergreifende Übertragungen .....	77
5.4. Rekombinationspotential .....	78
5.5. Schlussfolgerung und Ausblick .....	80
<b>6 Zusammenfassung</b> .....	<b>82</b>
<b>7 Summary</b> .....	<b>84</b>
<b>8 Literaturverzeichnis</b> .....	<b>86</b>
<b>9 Publikationsverzeichnis</b> .....	<b>99</b>
<b>10 Danksagung</b> .....	<b>102</b>
<b>11 Selbstständigkeitserklärung</b> .....	<b>103</b>

## *I VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN*

---

A	Adenin
AdV	Adenovirus
BaAdV	Baboon adenovirus
BF	Bayes Factor
BMCMC	Bayesian Monte Carlo Markov Chain
bp	Basenpaare
C	Cytosin
CAR	Coxsackievirus-Adenovirus-Rezeptor
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPOL	DNA-Polymerase
Fig.	Figure (Figur)
G	Guanin
GMYC	Generalized Mixed Yule Coalescent
HAdV	Humanes Adenovirus
HIV	Humane Immundefizienz-Virus
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
ITR	Inverted Terminal Repeat
IUCN	International Union for Conservation of Nature
kbp	Kilobasenpaare
LD-PCR	Long-distance PCR
Mio. J.	Millionen Jahre

ML	Maximum likelihood
mVISTA	MontaVista Software
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NHP	nichthumane Primaten
nm	Nanometer
NPC	nuclear pore complex
NWM	New world monkey
OTU	operational taxonomic unit
OWM	Old world monkey
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
SAdV	Simianes Adenovirus
SIV	Simiane Immundefizienz-Virus
SIVcpz	Simiane Immundefizienz-Virus (vom Schimpansen)
SIVgor	Simiane Immundefizienz-Virus (vom Gorilla)
T	Thymin
TMAAdV	Titi monkey adenovirus
usw.	und so weiter
WHO	Weltgesundheitsorganisation



## ***II VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN***

---

1 Probenherkunft

2 PCR Strategie allgemein

3 PCR Strategie detailliert

4 AdV-Genomorganisation

5 Genomorganisation eines HAdV-B

6 Phylogenie der AdVs von Primaten

7 Phylogenetische Analyse von Hexonsequenzen unterschiedlicher PCRs

### ***III VERZEICHNIS DER TABELLEN***

---

1 Probenübersicht

2 Taxonomie der AdV Gattungen und Spezies

Die Gesundheit von Menschen und Tieren ist untrennbar verknüpft. Krankheitserreger, die zwischen Tieren und Menschen übertragen werden, spielen eine große Rolle für die öffentliche Gesundheit (Taylor, Latham et al. 2001). Rund 75% der neu auftretenden Infektionskrankheiten (EIDs) sind Zoonosen (Gebreyes, Dupouy-Camet et al. 2014). Die Mehrzahl aller Zoonoseerreger entstammt der Wildnis (Jones, Patel et al. 2008). Insbesondere Infektionserreger, die von nicht-humanen Primaten (NHPs) im tropischen Afrika auf den Menschen übertragen werden, sind von großer klinischer und wissenschaftlicher Bedeutung (Parrish, Holmes et al. 2008, Pedersen und Davies 2009). Minimale genetische Unterschiede untereinander und ähnliche physiologische Voraussetzungen legen nahe, dass sich Menschen und nicht-humane Primaten ein Erregerspektrum teilen. Ebola, Anthrax, HIV und Malaria sind Beispiele für verheerende Infektionskrankheiten, die von nicht-humanen Primaten auf Menschen übertragen werden können (Calvignac-Spencer, Leendertz et al. 2012).

Adenoviren (AdVs) sind unbehüllte ikosaedrische Viren mit doppelsträngigem DNA-Genom (Davison, Benkö et al. 2003). Sie infizieren eine Vielzahl an Wirbeltieren, darunter Menschen und NHP. In der allgemeinen Bevölkerung sind sie endemisch. Für immunkompetente Personen ist der Großteil der AdVs jedoch nicht pathogen. Bei immunsupprimierten Personen verursachen AdV-Infektionen vor allem Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes, des Respirationstraktes sowie der Augen (Schmitz, Wigand et al. 1983, Davison, Benkö et al. 2003, Lion 2014).

Wie für die meisten Viren wird auch für AdVs generell eine koevolutionäre Entwicklung mit dem Wirt angenommen (Harrach und Benkö 2007, Roy, Vandenberghe et al. 2009, Wevers, Metzger et al. 2011). Der evolutionäre Ursprung vieler humaner AdV (HAdV) wurde bisher jedoch noch nicht vollständig entschlüsselt. Die Tatsache, dass den taxonomischen Spezies *Humanes Mastadenovirus A - F* nicht nur HAdV sondern auch solche von NHPs angehören, ist als Hinweis darauf zu werten, dass einige HAdV ihren Ursprung in nicht-humanen Primaten haben könnten.

Zoonotische Übertragungen von AdVs wurden schon für verschiedene Affenarten beobachtet (Chen, Yagi et al. 2011, Chiu, Yagi et al. 2013), wobei die Übertragungen hier wahrscheinlich durch engen Kontakt von Pfleger und Affe in Zoologischen Gärten begünstigt wurden. Angesichts überlappender Lebensräume von NHPs und Menschen in einigen afrikanischen Gebieten sowie durch Jagd, Zubereitung und Verzehr von „Bushmeat“ kommen Menschen in intensiven Kontakt mit Gewebe und Körpersekreten sowie -exkreten von NHP (Sharp und Hahn 2011). Daraus ergibt sich die Notwendigkeit der umfassenden Erforschung möglicher statt gefundener zoonotischer Übertragungen, die ihren Ursprung in wildlebenden NHPs haben.

Studien auf Grundlage von menschlichen Stuhlproben und von solchen fast ausschließlich in Menschenhand gehaltenen NHP zeigten auf, dass AdV-Infektionen relativ häufig bei NHP auftreten (Roy, Vandenberghe et al. 2009, Wevers, Leendertz et al. 2010,

Wevers, Metzger et al. 2011, Duncan, Cranfield et al. 2013, Seimon, Olson et al. 2015). Über AdV-Infektionen bei wildlebenden NHPs im tropischen Afrika gibt es jedoch nur wenige Daten.

Bei der Entstehung neuer AdV-Typen mit zoonotischen Potenzial kann Genaustausch durch Rekombination eine wesentliche Rolle spielen. Die hierbei neu entstehenden Viren können sich hinsichtlich des Wirtsspektrums und der Pathogenität vom Ausgangsvirus unterscheiden. Die Rekombinationsfähigkeit von AdVs bekam eine zunehmende Gewichtung durch die Entdeckung hochpathogener AdV-Rekombinanten der Spezies *Humanes Mastadenovirus D* beim Menschen (Walsh, Chintakuntlawar et al. 2009, Walsh, Seto et al. 2010, Robinson, Seto et al. 2011). Rekombinationen zwischen AdVs der gleichen Wirtsspezies sind ein bei HAdVs gut untersuchtes Phänomen. Vereinzelt wurde aber auch über Rekombinationen bei AdVs berichtet, die von verschiedenen Wirten stammen (Lukashev, Ivanova et al. 2008). Es mangelt allerdings an Informationen über Rekombinationsereignisse bei HAdVs von wildlebenden Primaten. Diese könnten eine Rolle bei der Entstehung pathogener Zoonoseerreger spielen. Idealtypisch wird dies an AdV-Komplettgenomen untersucht. Alle bisher verfügbaren AdV-Komplettgenome aus Gorillas, Schimpansen und Bonobos stammen allerdings aus amerikanischen Zoos (Roy, Vandenberghe et al. 2009). Vollständige Genome von AdV wildlebender NHPs wurden bisher nicht publiziert.

## **2 ZIELSETZUNG**

---

Es ist bekannt, dass sowohl Menschen als auch NHP AdVs häufig mit ihrem Stuhl ausscheiden. Ein Stuhl-Screening ist bei Menschen eine rationale Methode zur Prävention und Frühdiagnostik von AdV-Infektionen (Lion, Kosulin et al. 2010, Ganzenmueller und Heim 2012). AdVs werden im Stuhl noch lange Perioden nach Ausbruch einer akuten Infektion ausgeschieden, daher wird von persistierenden Infektionen ausgegangen (Durepaire 1997). In einer kürzlich stattgefundenen Studie wurde die AdV-Prävalenz in verschiedenen Geweben, Blut und Kot von wilden und in Gefangenschaft lebenden NHPs untersucht, wobei sich Fäzes als bestgeeignete Quelle für den AdV-Nachweis durch PCR und Sequenzierung erwies (Wevers, Metzger et al. 2011).

Schimpansen, Bonobos und Gorillas sind dem Menschen genetisch am nächsten verwandt. Da sich folglich auch ihr Erregerspektrum ähnelt, sind NHPs von größter Bedeutung für die Erforschung des zoonotischen Potentials von AdVs.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten insgesamt 860 Fäzesproben von Menschen, Bonobos und verschiedenen Gorilla- und Schimpansenspezies auf die Präsenz von AdVs untersucht werden. Die Proben stammen aus verschiedenen Teilen des tropischen Afrika (siehe Tabelle 1 und Abbildung 1). Alle Humanproben stammen aus Gebieten, in denen sich Menschen und NHPs einen Lebensraum zumindest teilweise teilen (diese Gebiete sind mit der gestrichelten Linie in der Abbildung 1 markiert). Dadurch sind diese Areale mögliche „Hotspots“ für zoonotische Übertragungen. Außerdem sind zwei Gebiete beprobt worden, in denen Schimpansen und Gorillas gemeinsame Lebensräume haben.

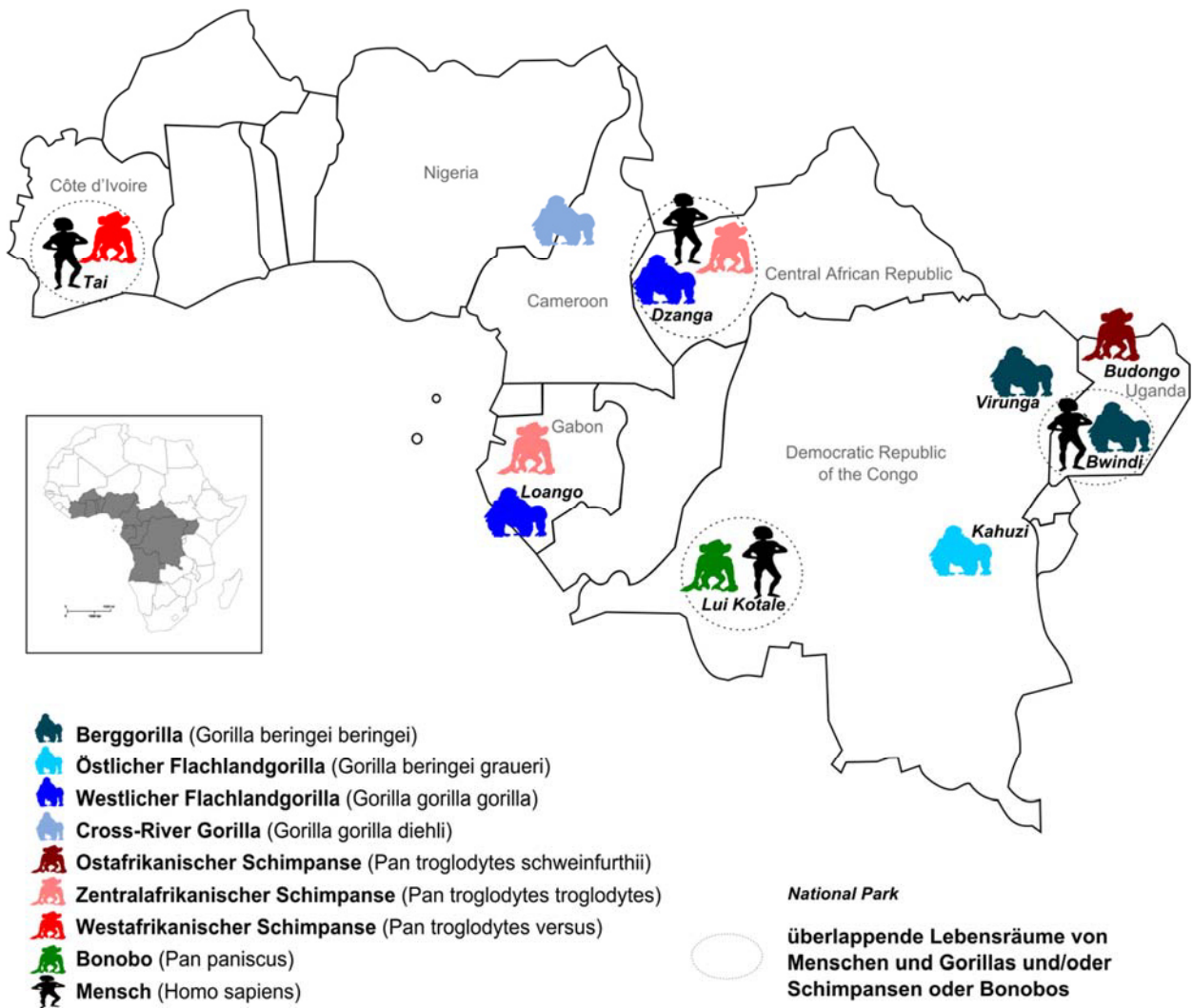


Abbildung 1 Probenherkunft

Tabelle 1 Probenübersicht

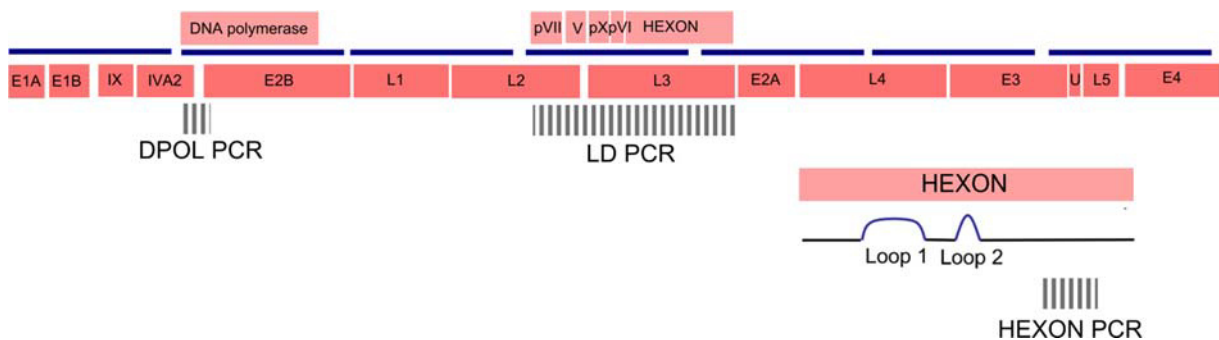
Land	Ort	Spezies	Probenanzahl
Gabun	Loango National Park	<i>Pan troglodytes troglodytes</i>	62
		<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	80
Elfenbeinküste	Taï National Park	<i>Pan troglodytes versus</i>	41
		<i>Homo sapiens</i>	100
Uganda	Budongo Forest Reserve	<i>Pan troglodytes schweinfurthii</i>	31
	Bwindi Impenetrable National Park	<i>Gorilla beringei beringei</i>	50
		<i>Homo sapiens</i>	69
Zentralafrikanische Republik	Dzanga-Sangha Forest Reserve	<i>Pan troglodytes troglodytes</i>	12
		<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	50
		<i>Homo sapiens</i>	18
Nigeria Kamerun	Grenzregion	<i>Gorilla gorilla diehli</i>	58
Demokratische Republik Kongo	Virunga National Park	<i>Gorilla beringei beringei</i>	50
	Kahuzi-Biega National Park	<i>Gorilla beringei graueri</i>	50
	Lui Kotale	<i>Pan paniscus</i>	84
		<i>Homos sapiens</i>	105

Anhand dieser Probenkollektion sollte ein umfassender Überblick über AdV-Typen und deren Häufigkeit bei Menschen, Gorillas, Schimpansen und Bonobos in den verschiedenen Gebieten des tropischen Afrika erhalten werden.

Zur Bestimmung der Prävalenz sollten verschiedene PCR-Verfahren etabliert und eingesetzt werden (Abbildung 2). Es sollte zunächst eine generische PCR auf der Basis des DNA Polymerase-Gens (DPOL PCR) durchgeführt werden, die Vertreter aller zu den taxonomischen Spezies *Humanes Mastadenovirus A - G* (HAdV-A – HAdV-G) gehörigen AdVs detektieren kann. Weiterhin sollten verschiedene spezifische PCR Systeme auf der Basis des Hexon-Gens (HEXON PCR) entwickelt und angewendet werden, die nur Sequenzen von Vertretern bestimmter HAdV-Spezies (HAdV-B, -E oder -D) amplifizieren.



**Abbildung 2 PCR-Strategie allgemein**



**Abbildung 3 PCR-Strategie detailliert**

Die dunkelblauen Linien stellen jeweils 5kb eines HAdV-Genoms dar. Die rosa Rechtecke unterhalb der dunkelblauen Linie kennzeichnen die Transkripte eines HAdVs, während die hellrosa Rechtecke oberhalb der dunkelblauen Linie einige für diese Arbeit wichtige Gene darstellen. Die verschiedenen PCR-Systeme umfassen jeweils komplette Genebereiche oder nur kleine Genfragmente (gestreifte Rechtecke). Die Hexon-PCR amplifiziert beispielsweise einen kurzen Genbereich stromabwärts der hypervariablen Loops 1 und 2.

Mit den erhaltenen Sequenzen sollten auf der Basis bioinformatischer Analysen (I) Prävalenzen bestimmt, (II) die Evolution von AdVs bei Menschen und Menschenaffen reevaluiert und (III) nach Hinweisen auf zoonotische Übertragungen gesucht werden.

Zur Aufdeckung von Rekombinationsereignissen sollten AdV-Teil- oder Komplet-Genome mittels Long-Distance PCR (LD PCR) amplifiziert und komplett sequenziert werden. Zudem sollten Teilgenome, die sich über mehrere Gene erstrecken, in der phylogenetischen Analyse mit anschließender molekularer Datierung und Rekonstruktion der Ursprungswirte zur Aufklärung der evolutionären Entwicklung verschiedener HAdV-Spezies beitragen.



Zusammenfassend sollten folgende Ziele in der vorliegenden Arbeit erreicht werden:

- (I) Bestimmung der Prävalenz von AdV-Infektionen bei Menschen sowie NHP im tropischen Afrika
- (II) Re-Evaluation der Evolution von HAdV bei Menschen und Menschenaffen
- (III) Suche nach Hinweisen für zoonotische Übertragungen
- (IV) Erfassung von Rekombinationsereignissen bei HAdV von wildlebenden Menschenaffen, vorzugsweise durch Amplifikation und Sequenzierung von Kompletengenomen

#### 3.1 ADENOVIREN

##### 3.1.1 Charakteristika

AdVs sind unbehüllte Viren mit einem doppelsträngigen, linearen DNA-Genom von 26 – 45 Kbp. Ihr Kapsid besteht aus 252 Kapsomeren, die wiederum in ikosaedrischer Symmetrie angeordnet sind. Das Kapsid ist nicht behüllt (Davison, Benkö et al. 2003). Die AdV-Replikation findet im Zellkern statt. In der Zellkultur findet man eine traubenartige Aggregation der Viren vor und die Zytopathogenität ist durch abgerundete infizierte Zellen gekennzeichnet (Cabasso und Wilner 1969).

Die Familie der *Adenoviridae* ist in fünf Genera eingeteilt: *Mastadenovirus*, *Aviadenovirus*, *Atadenovirus*, *Siadenovirus*, *Ichtadenovirus*. Die humanen und simianen Adenoviren sind dem Genus *Mastadenovirus* zuzuordnen (siehe Tabelle 2). Die humanen Adenoviren wiederum sind in sieben Spezies unterteilt, *Humanes Adenovirus A-G* (HAdV-A-HAdV-G) (Davison, Benkö et al. 2003), zu denen mittlerweile auch diverse NHP-AdV zugeordnet sind (ICTV 9. Report; Tab. 2).

Für die Identifikation und genetische Charakterisierung von AdVs ist die Polymerase Kettenreaktion (PCR), in Kombination mit anschließender Sequenzierung, Methode der Wahl. Die Isolation von Viruspartikeln erfolgt mittels Anzucht in Zellkultur (Harrach, Benkö et al. 2011).

AdVs spielen schon lange eine bedeutende Rolle in der Infektionsbiologie. Sie werden häufig als Modellorganismus in die Erforschung der molekularen Biologie von Viren aufgrund ihres ausgedehnten Tropismus und der guten Handhabbarkeit einbezogen. Beispiele dafür sind die aktuellen Erkenntnisse zum Spleißen (Engl: splicing) und zu Mechanismen der viralen Onkogenese. Der Prozess des Spleißens wurde erstmals in humanen AdVs während elektronenmikroskopischen Untersuchungen entdeckt (Berget, Moore et al. 1977, Chow, Gelinis et al. 1977). Das Spleißen ist an der Genexpression bei den meisten humanen AdVs beteiligt (Akusjärvi 1986).

**Tabelle 2.** Taxonomie aller derzeit anerkannten AdV Gattungen und Spezies nach ICTV (Harrach, Benkö et al. 2011), aktualisiert im Februar 2013, sowie assoziierte bekannte Erkrankungen

Genus	Spezies	Serotypen	Wirt	Klinische Relevanz
<b>Mastadenovirus</b>	Human Adenovirus A	HAdV-12	Mensch	Gastroenteritis, Atemwegsinfektionen, Harnwegsinfektion
		HAdV-18	--	--
		HAdV-31	--	--
	Human Adenovirus B	HAdV-3	Mensch	Keratokonjunktivitis, Gastroenteritis, Atemwegsinfektionen, Harnwegsinfektion
		HAdV-7	--	--
		HAdV-11	--	Gastroenteritis, Atemwegsinfektionen, Harnwegsinfektion
		HAdV-14	--	--
		HAdV-16	--	Keratokonjunktivitis, Gastroenteritis, Atemwegsinfektionen, Harnwegsinfektion
		HAdV-21	--	--
		HAdV-34	--	Gastroenteritis, Atemwegsinfektionen, Harnwegsinfektion
		HAdV-35	--	--
		HAdV-50	--	--
		SAdV-21	--	--
		SAdV-27.1	Schimpanse	--
		SAdV-27.2	Gorilla	--
		SAdV-28.1	Schimpanse	--
		SAdV-28.2	Gorilla	--
		SAdV-29	Schimpanse	--
		SAdV-32	--	--
		SAdV-33	--	--
		SAdV-35.1	--	--
		SAdV-35.2	Bonobo	--
		SAdV-41.1	Gorilla	--
		SAdV-41.2	--	--
		SAdV-46	--	--
		SAdV-47	--	--
	Human Adenovirus C	HAdV-1	Mensch	Gastroenteritis einschließlich Hepatitis, Atemwegsinfektionen, Harnwegsinfektion
		HAdV-2	--	--
		HAdV-5	--	--
		HAdV-6	--	--
		HAdV-31.1	Schimpanse	--
		HAdV-31.2	--	--
		HAdV-34	--	--
		HAdV-40.1	--	--
		HAdV-40.2	--	--
		HAdV-42.1	Bonobo	--
		HAdV-42.2	--	--
		HAdV-42.3	--	--
		HAdV-43	Gorilla	--
		HAdV-44	Bonobo	--
		HAdV-45	Gorilla	--
	Human Adenovirus D	HAdV-8	Mensch	Keratokonjunktivitis, Gastroenteritis
		HAdV-9	--	--
HAdV-10		--	--	
HAdV-13		--	--	
HAdV-15		--	--	
HAdV-17		--	--	
HAdV-19		--	--	
HAdV-20		--	--	
HAdV-22		--	--	
HAdV-23		--	--	
HAdV-24		--	--	
HAdV-25		--	--	

Schrifttum

	HAdV-30	--	--
	HAdV-32	--	--
	HAdV-33	--	--
	HAdV-36	--	--
	HAdV-37	--	--
	HAdV-38	--	--
	HAdV-39	--	--
	HAdV-42	--	--
	HAdV-43	--	--
	HAdV-44	--	--
	HAdV-45	--	--
	HAdV-46	--	--
	HAdV-47	--	--
	HAdV-48	--	--
	HAdV-49	--	--
	HAdV-51	--	--
	HAdV-53	--	--
	HAdV-54	--	--
Human Adenovirus E	HAdV-4	Mensch	Keratokonjunktivitis, Atemwegsinfektionen
	SAdV-22	Schimpanse	
	SAdV-23	--	
	SAdV-24	--	
	SAdV-25.1	--	
	SAdV-25.2	--	
	SAdV-26	--	
	SAdV-30	--	
	SAdV-36	--	
	SAdV-37.1	--	
	SAdV-37.2	Bonobo	
	SAdV-38	Schimpanse	
	SAdV-39	--	
Human Adenovirus F	HAdV-40	Mensch	Gastroenteritis
	HAdV-41	--	--
Human Adenovirus G	HAdV-52	Mensch	Gastroenteritis
	SAdV-1	Langschwanzmakak	
	SAdV-2	Rhesusaffe	
	SAdV-7	Rhesusaffe	
	SAdV-11	Rhesusaffe	
	SAdV-12	Rhesusaffe	
	SAdV-15	Rhesusaffe	
Bat Adenovirus A	BtAdV-3	Mausohren	
Bat Adenovirus B	BtAdV2	Zwergfledermaus	
Bovine Adenovirus A	BAdV-1	Rind	Respiratorische und enterale Symptome (Kälber)
			--
Bovine Adenovirus B	BAdV-3	Rind	--
Bovine Adenovirus C	BAdV-10	Rind	
Canine Adenovirus	CAdV-1	Candidae (Rotfuchs, Hund, Wolf, Bär, Kojote, Skunk)	Infektiöse Hundehepatitis Enzootische Fuchsencephalitis Rubarth-Krankheit
	CAdV-2	Hund	Infektiöse Laryngotracheitis Infektiöse Tracheobronchitis Zwingerhusten
Equine Adenovirus A	EAdV-1	Pferd	Respiratorische und enterale Symptome(Fohlen)
Equine Adenovirus B	EAdV-2	Pferd	--
Murine Adenovirus A	MAdV-1	Maus	

## Schrifttum

Murine Adenovirus B	MAdV-2	Maus	
Murine Adenovirus C	MAdV-3	Maus	
Ovine Adenovirus A	BAdV-2	Schaf, Ziege	Respiratorische und enterale Symptome(Lämmer)
	OAdV-2	-:-	-:-
	OAdV-3	-:-	-:-
	OAdV-4	-:-	-:-
	OAdV-5	-:-	-:-
Ovine Adenovirus B	OAdV-1	Schaf, Ziege	
	GAdV-2	-:-	
Porcine Adenovirus A	PAdV-1	Schwein	
	PAdV-2	-:-	
	PAdV-3	-:-	
Porcine Adenovirus B	PAdV-4	Schwein	Systemische Infektion
Porcine Adenovirus C	PAdV-5	Schwein	
Tree shrew Adenovirus A	TSAdV-1	Spitzhörnchen	
Simian Adenovirus A	SAdV-3	Rhesusaffe	Enteritis
	SAdV-4	Rhesusaffe	
	SAdV-6	Rhesusaffe	
	SAdV-9	Makak	
	SAdV-10	Makak	
	SAdV-14	Rhesusaffe	
	SAdV-48	Langschwanzmakak	
Simian Adenovirus B	SAdV-5	?	
	SAdV-8	Langschwanzmakak	
	SAdV-49	-:-	
	SAdV-50	-:-	
	BaAdV-1	Pavian	
Simian Adenovirus C	SAdV-19	Steppenpavian	
	BaAdV-2	Pavian	
	BaAdV-3	-:-	

<b>Aviadenovirus</b>	Fowl Adenovirus A	FAdV-1	Geflügel (Huhn)	gizzard erosions
	Fowl Adenovirus B	FAdV-5	Geflügel (Huhn)	
	Fowl Aviadenovirus C	FAdV-4	Geflügel (Huhn)	Inclusion body hepatitis, Hydropericardium syndrome
		FAdV-10	-:-	-:-
	Fowl Adenovirus D	FAdV-2	Geflügel (Huhn)	Inclusion body hepatitis
		FAdV-3	-:-	
		FAdV-9	-:-	
		FAdV-11	-:-	
	Fowl Adenovirus E	FAdV-6	Geflügel (Huhn)	Inclusion body hepatitis
		FAdV-7	-:-	Hydropericardium syndrome
		FAdV-8a	-:-	
		FAdV-8b	-:-	
	Falcon Adenovirus A	FaAdV-1	Falke	
	Goose Adenovirus A	GoAdV-1	Gans	
	Turkey Adenovirus B	TAdV-1	Truthahn	

<b>Siadenovirus</b>	Frog Adenovirus A	FrAdV-1	Frosch	
	Great tit Adenovirus A	GrtAdV-1	Kohlmeise	
	Raptor Adenovirus A	RaAdV-1	Wüstenbussard	
	Skua Adenovirus A	SkAdV-1	Raubmöwe	
	Turkey Adenovirus A	TAdV-3	Pute, Fasan	Hämorrhagische Enteritis bei Puten Marmormilzkrankheit bei Fasanen
<b>Atadenovirus</b>	Bovine Adenovirus D	BovAdV-4	Rind	Enteritis
	Duck Adenovirus A	DAdV-1	Huhn, Ente	Egg Drop Syndrom bei Hühner
	Ovine Adenovirus D	OvAdV-7	Ziege, Schaf	Pneumonie (Lämmer)
	Possum Adenovirus A	PoAdV-1	Kusus	
	Snake Adenovirus A	SnAdV-1	Kornnatter	
<b>Ichtadenovirus</b>	Sturgeon Adenovirus A	StAdV-1	Weißer Stör	

AdVs sind die Grundlage häufig genutzter Vektorsysteme für virusbasierte Gentherapie (Fallaux, van der Eb et al. 1999). Sie sind aus mehreren Gründen attraktive Impfstoff-Plattformen. Zum einen induzieren sie sowohl die angeborene als auch die adaptive Immunantwort in Säugetieren. Zum anderen verursachen AdVs in immunkompetenten Erwachsenen nur milde Symptome, und durch Deletion bestimmter Regionen des viralen Genoms werden die Viren unfähig zur Replikation, was unerwünschte Nebenwirkungen reduziert und die Berechenbarkeit der Infektion erhöht. Eine andere positive Eigenschaft in Bezug auf die Eignung von AdVs als Vektoren ist ihr breiter Tropismus und ihre Fähigkeit, sowohl in sich teilenden als auch in ruhenden Zellen zu replizieren (Tatsis und Ertl 2004).

In der humanen Gentherapieforschung fokussieren sich die meisten Bemühungen auf HAdV-5 für die Verwendung als AdV-basierter Impfstoff, während Rinder-, Schweine- und Schafsadenoviren für den veterinärmedizinischen Gebrauch erforscht werden (Sharma, Li et al. 2009). 23,4 % aller Vektoren, die in genehmigten klinischen Studien für Gentherapie verwendet worden sind, sind AdVs und stellen damit die Mehrzahl an verwendeten Vektoren (Ginn, Alexander et al. 2013). Das Ziel der meisten dieser Studien ist die Therapie verschiedener Krebserkrankungen.

HAdV sind äußerst resistent gegen verschiedene physikalische und chemische Einflüsse. In der Umwelt bleiben sie lange infektiös. So wie andere Viren mit gastrointestinalem Tropismus werden AdVs in hoher Konzentration von infizierten Personen ausgeschieden. Besonders in Regionen ohne sanitäre Infrastruktur gelangen diese Viren mit meistens nur minimaler Reduktion an Virusanzahl und Virusinfektiosität in die Umwelt (Sibanda und Okoh 2012). Bei Untersuchungen zur Virusbelastung in der Umwelt stellte sich heraus, dass AdVs das ganze Jahr über in hoher Frequenz in Ab-, See- und Flusswasser gefunden werden können. Wurden zunächst andere Viren in den Proben detektiert, wurden dann zumeist auch AdVs nachgewiesen. Daraus entwickelte sich die Idee von AdVs als optimale Indikatoren für Virusbelastung in der Umwelt (Pina, Puig et al. 1998). Mehrere Studien belegen, dass unter den intestinal ausgeschiedenen Viren AdVs weltweit die höchste Prävalenz im Wasser haben (Pina, Puig et al. 1998, van Heerden, Ehlers et al. 2005, Cheong, Lee et al. 2009, Fong, Phanikumar et al. 2010, Haramoto, Kitajima et al. 2010).

### **3.1.2 Aufbau des Virions**

AdVs gehören zu den unbehüllten Viren und besitzen ein lineares doppelsträngiges DNA-Genom (Wold und Horowitz 2007, Harrach, Benkö et al. 2011). Das Kapsid ist ikosaedrisch geformt und hat einen Durchmesser von 70 bis 100 nm (Wold und Horowitz 2007). Die sogenannten Fiber-, Penton- und Hexonproteine stellen die Hauptkomponenten der Proteinhülle dar. Dabei nimmt das Hexon den größten Teil des Kapsids ein und umfasst 252 Kapsomere, die die 20 Dreiecksflächen des Ikosaeders bilden. An jeder der 12 Ecken befindet sich ein Penton-Kapsomer, das jeweils aus fünf Pentonbasisproteinen gebildet wird. Jedes Pentonkapsomer trägt in Verlängerung ein Fiberprotein, wobei Größe und Anzahl der Fiberproteine vom jeweiligen Adenovirustyp abhängig sind (Chroboczek, Ruigrok et al. 1995). Die distale Fiber-Knob-Domäne stellt den primären Wirtszellrezeptor. Außer den Hauptbestandteilen des Kapsids gibt es noch kleinere Kapsidproteine, wie die AdV-Proteine IIIa, VI, VIII und IX, die vor allem für die Stabilität des reifen Virions verantwortlich sind. Der Kern des Kapsids umfasst vier weitere Proteine (V, VII, X und das terminale Protein). Diese interagieren mit der viralen DNA.



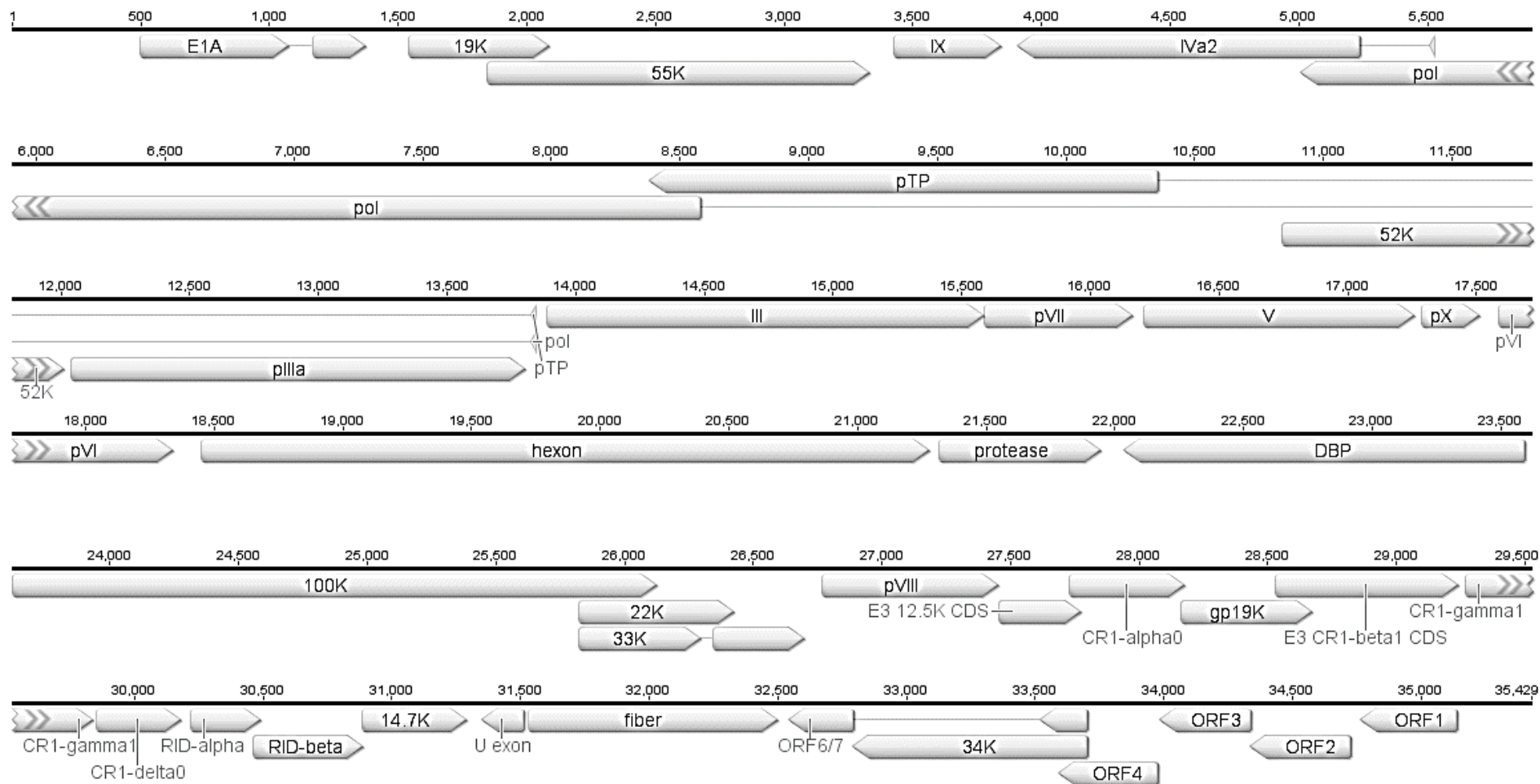
### 3.1.3 Genomorganisation

Das im Kern des Virions enthaltene DNA-Genom ist 26 bis 46 Kbp lang und enthält an seinen Enden invertierte Sequenzwiederholungen, welche terminale Proteine kovalent binden (Harrach 2008). Der Gehalt an den Basen Guanin und Cytosin variiert zwischen 33,7 und 63,8 % (Harrach 2008). Der zentrale Teil des Genoms ist innerhalb der *Adenoviridae* konserviert, während die Enden des Genoms eine große Vielfalt in Länge und Geninhalt zeigen (Harrach 2008). Das AdV-Genom enthält 23 bis 46 proteinkodierende Gene und ist eingeteilt in frühe, mittlere und späte Regionen, die mit dem Infektionszyklus des Virus korrespondieren. Vier Familien von Transkripten (E1, E2, E3 und E4) repräsentieren die frühe Region des Genoms und sind essential für die virale Replikation. Zwei Transkripte (IX und IVa2) stellen die mittleren Gene. Die späte Region besteht aus fünf Familien von Transkripten (L1, L2, L3, L4 und L5), die an der Produktion von reifen Virionen beteiligt sind (siehe Abbildung 4). An jedem 5'- und 3'-Ende des Genoms befinden sich *Inverted Terminal Repeat* (ITR) Regionen, die konservierte Sequenzmotive enthalten und der Virusreplikation dienen. Davison et al. teilten Gene des AdV-Genoms, die in allen Genera positionell und funktionell homolog sind, als Genus-gemeinsame Gene ein und alle anderen Gene als Genus-spezifische Gene ein. Es gibt 16 Genus-gemeinsame Gene, deren Hauptfunktionen in der DNA-Replikation, DNA-Enkapsidierung sowie in der Bildung und Struktur des Virions liegen. Die meisten Genus-spezifischen Gene liegen an den Enden des Genoms und sind an Wechselwirkungen mit dem Wirt beteiligt (Davison, Benkö et al. 2003). Alle AdV-Genome der Genera *Humanes Mastadenovirus A – G* haben eine insgesamt ähnliche Genomorganisation.



#### Abbildung 4 AdV-Genomorganisation

Die grauen Linien stellen jeweils 5 kB des AdV-Genoms dar. Die grauen Rechtecke symbolisieren die Transkripte des AdV-Genoms, die in frühe, mittlere und späte Regionen eingeteilt werden.



**Abbildung 5 Genomorganisation eines HAdV-B**

Die Positionen der Gene eines HAdV-B sind mittels hellgrauer Pfeile auf dieser Genkarte dargestellt. Die Pfeilspitzen geben die Transkriptionsrichtung an. Die Genkarte wurde mithilfe der Software Geneious 8.1.7. (Kearse, Moir et al. 2012)

### **3.1.4 Zellinfektion**

Wie die Mehrzahl aller DNA-Viren replizieren auch AdVs im Zellkern. Dort hat das Virus Zugang zu den zellulären Faktoren, die es für die Replikation und die Transkription des eigenen Genoms benötigt. In den Zellkern gelangen AdVs durch die Plasmamembran einer zu infizierenden Zelle und deren Zytoplasma. Die an den Pentonkapsomeren verankerten Fiber-Proteine dienen der Anheftung des Virus an spezifische Rezeptoren auf der Oberfläche der Zielzelle (Lonberg-Holm und Philipson 1969). Zu Beginn der Infektion bindet das Fiberprotein an den Coxsackievirus-Adenovirus-Rezeptor (CAR) auf der Wirtszelle. Anschließend bindet das Penton-Protein an einen Ko-Rezeptor der Alpha V Integrin-Familie. Diese Interaktion führt zur Freisetzung der Fiberproteine sowie der Endosombildung. Der Zelleintritt des Virions erfolgt via rezeptorvermittelte Endozytose über „clathrin-coated pits“ (Cullen 2001). Ein Abfall des pH-Wertes im Endosom bewirkt die Auflösung der Endosomenmembran, und das Virion wird unbehüllt in das Zytoplasma der Wirtszelle freigegeben (Greber, Willetts et al. 1993). Die anschließende gerichtete Bewegung des Virions durch das Zytoplasma zum Zellkern wird durch Wechselwirkungen der Hexonkapsomere entlang der Mikrotubuli vermittelt (Seth, Pastan et al. 1987). Erreicht das Virion die Zellkernoberfläche, dockt es an die Kernporen („nuclear pore complex, NPC“) an, und der vollständige Zerfall der Virushülle und die Freisetzung der Virus-DNA in den Zellkern wird eingeleitet (Greber, Suomalainen et al. 1997). Die Infektion kann dann entweder produktiv oder abortiv weiterverlaufen.

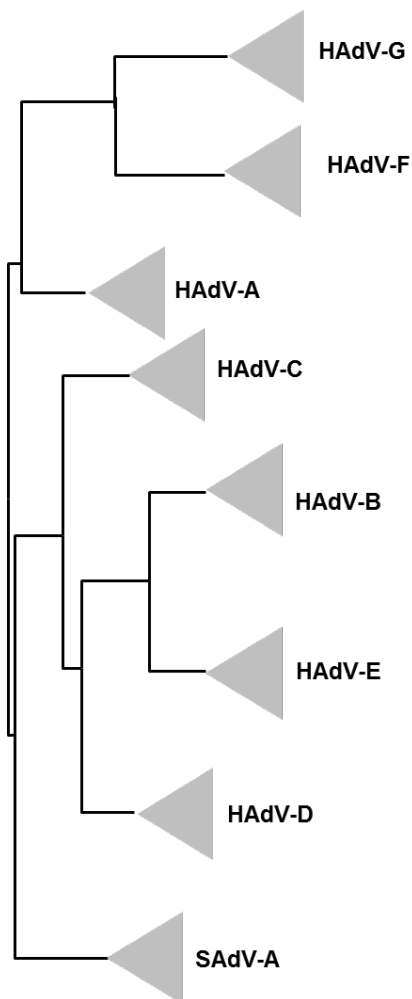
### **3.1.5 Phylogenie der Adenoviren**

AdVs sind wirtsspezifisch und infizieren eine Vielfalt von Wirten. In nahezu jeder Wirbeltiergattung gibt es Vertreter, die als Wirte für AdVs fungieren (Wold 2007). Wie eingangs beschrieben, besteht die Familie der *Adenoviridae* aus fünf Genera (*Mastadenovirus*, *Aviadenovirus*, *Atadenovirus*, *Siadenovirus*, *Ichtadenovirus*). Diese Einteilung basiert auf Wirtsspezies und DNA-Zusammensetzung (Davison, Benkö et al. 2003). Phylogenetische Analysen der AdV-Protease und der kleinen Einheit der mitochondrialen rRNA von Wirten ergaben Übereinstimmungen, sodass geschlossen wurde, dass AdVs sich zusammen mit ihren Wirten entwickelt haben (Benkö und Harrach 2003). Mastadenoviren und Aviadenoviren haben sich demnach mit ihren Wirten, den Säugetieren bzw. den Vögeln, koevolutionär entwickelt (Benkö und Harrach 2011, Hall, Archer et al. 2012, Kaján, Davison et al. 2012).

Siadenoviren sowie Atadenoviren weisen ein breites Wirtsspektrum auf (Harrach, Benkö et al. 2011). Atadenoviren wurden aufgrund des hohen Gehaltes an Adenin und Thyrosin in ihrer DNA benannt und infizieren Reptilien, Wiederkäuer, Beuteltiere und Vögel (Benkö und Harrach 1998, Both 2002). Siadenoviren, wurden aufgrund ihres Gens benannt, das für ein Sialidase-ähnliches Protein kodiert. Sie beinhalten jeweils eine AdV-Spezies mit Vertretern aus Vögeln und Fröschen (Davison, Wright et al. 2000).

Die beiden Genera passen aufgrund ihrer vielfältigen Wirte augenscheinlich nicht zu der Hypothese der koevolutionären Entwicklung von AdVs mit ihrem Wirt. Es wird vermutet, dass der ursprüngliche Wirt der Atadenoviren die Reptilien sind, während für Siadenoviren Amphibien als Ursprungswirte angenommen werden (Davison, Benkő et al. 2003). In den Fällen, in denen für Siadenoviren sowie Atadenoviren andere Wirtsspezies identifiziert wurden, geht man von einer Trans-Spezies-Übertragung aus. Ein Fischadenovirus ist das bisher einzige Mitglied des neu etablierten Genus *Ichtadenovirus* (Benkő, Elo et al. 2002).

Primaten-AdVs sind im Genus *Mastadenovirus* klassifiziert und in 7 Spezies unterteilt (*Humanes Adenovirus A-G*) (siehe Abbildung 6). HAdVs wurden traditionell durch Hämagglutination- und Serumneutralisation-Reaktionen in verschiedene Serotypen eingeteilt. Gegenwärtig erfolgt die Einteilung hauptsächlich aufgrund von vergleichenden Genomanalysen, aber auch mittels Serologie.



**Abbildung 6 Phylogenie der AdVs bei Primaten**

Im einfachen phylogenetischen Baum aller HAdV-Spezies (HAdV-A – G) und SAdV-A symbolisieren die Dreiecke die Verzweigungen der zu jeder Spezies gehörigen AdV-Typen.

Nach der Genbank (<http://hadvwg.gmu.edu/>) für die Einstufung von HAdV-Genotypen sind 70 Serotypen HAdVs registriert (Stand Dezember 2015).

Auf der Grundlage von Restriktionsverdauemustern und dem unterschiedlichen Gewebetropismus werden Mitglieder der Spezies *Humanes Adenovirus B* in Subspezies eingeteilt (B1 und B2) (Wadell, Varsanyi et al. 1980, Segerman, Arnberg et al. 2003). Die Klassifizierung der zuletzt entdeckten HAdV in die Typen HAdV-52 – HAdV-68 basierte auf Kompletengenom-Sequenzierung und bioinformatischer Analyse. Die zuvor entdeckten 51 HAdV-Typen wurden noch durch serologische Methoden klassifiziert (Huang und Xu 2013).

Der Wirtsursprung ist nur eines von mehreren Kriterien für die Abgrenzung der AdV-Spezies (Davison, Benkö et al. 2003). Phylogenetische Analysen diverser Autoren belegen, dass den AdV-Spezies HAdV-A – HAdV-G offenbar nicht nur Adenoviren vom Menschen, sondern auch solche von Gorillas, Schimpansen und Bonobos zuzuordnen sind (Davison, Benkö et al. 2003, Roy, Gao et al. 2004, Roy, Vandenberghe et al. 2009). In diesem Fall entspricht die Zuordnung der HAdV noch den zuvor definierten taxonomischen Regeln (Wadell 1984, Bailey und Mautner 1994). Die Frage der Zuordnung vieler nicht-humaner AdVs ist nicht abschließend geklärt.

Im Allgemeinen wird angenommen, dass die meisten DNA-Viren sich koevolutionär mit ihren Wirt entwickelt haben. Dies setzt die Infektion eines gemeinsamen Vorfahren der Wirte voraus. Für die HAdVs von Menschen und Menschenaffen wäre dann zu erwarten, dass phylogenetisch betrachtet die Evolution der HAdVs ein Spiegelbild der Evolution der Primaten darstellt. Auf die Phylogenie von Viren der Spezies HAdV-C, trifft dieses zu, d.h. HAdV-C-Typen vom Gorilla, vom Schimpansen, vom Bonobo und vom Menschen haben sich im Stammbaum der HAdV-C zu eigenen Gruppen entwickelt. Während hingegen HAdV-E fast ausschließlich Schimpansen (>15 mögliche Typen; 1 Typ beim Bonobo) infizieren. Beim Menschen ist nur ein Typ bekannt (HAdV-4). Es wird daher davon ausgegangen, dass das humane HAdV-4 durch Transspezies-Übertragung entstanden ist, und der Ursprungswirt aller HAdV-E der Schimpanse ist. HAdV-B wurden nicht nur beim Menschen sondern auch bei Afrikanischen Menschenaffen gefunden. Diese haben (im Gegensatz zur Situation bei HAdV-C) im HAdV-B-Stammbaum gemäß ihrer jeweiligen Wirte keine diskreten Positionen sondern liegen als gemischte Gruppe vor. Hieraus wurde abgeleitet, dass Transspezies-Übertragungen eine treibende Kraft in der evolutionären Entwicklung der HAdV-B waren (Wevers, Metzger et al. 2011). Roy et al. vermuteten nichthumane Ursprungswirte für HAdV-E und -B und eine spätere Übertragung auf den Menschen (Roy, Vandenberghe et al. 2009).

Die Spezies HAdV-D enthält eine große Anzahl HAdV-Typen, aber keine aus NHP. Es wird daher davon ausgegangen, dass der Ursprungswirt für diese Spezies ein Vorfahre des modernen Mensch ist (Robinson, Seto et al. 2011).

### 3.1.6 Rekombination

Bei AdVs ist die Rekombination ein bekanntes und gut erforschtes Merkmal. In den 1970er Jahren wurde die Rekombination bei AdVs erstmals experimentell untersucht (Grodzicker, Anderson et al. 1974, Williams, Grodzicker et al. 1975). *In-vitro* wurden temperatursensitive Mutanten von HAdV-C5 und HAdV-C2/SV40 Hybride (Ad2+ND1) erzeugt, und mithilfe von Restriktionsenzymverdau konnten Kreuzungspunkte (Crossover-Stellen) zwischen den Rekombinanten und den Elternviren dargestellt werden. Bournnell und Mautner benutzten Restriktionsenzym-Karten, um Crossover-Stellen zu identifizieren und ermittelten, dass Rekombination bei AdVs hauptsächlich auf Stellen mit relativ hoher DNA-Homologie beschränkt ist (Bournnell und Mautner 1981). Durch die Verfügbarkeit einer steigenden Anzahl vollständig sequenzierter Adenovirusgenome ist man in der Lage, durch paarweisen Sequenzabgleich (*pairwise alignment*) Rekombinationsereignisse zu detektieren. Mit sogenannten *similarity plots* und *Bootscan*-Analysen von ganzen Genomen oder Teilgenomen lassen sich Gemeinsamkeiten und Unterschiede auf Nukleinsäureebene identifizieren. Auch mit multiplen phylogenetischen Analysen, die auf jeweils anderen Genregionen beruhen, lassen sich Rekombinanten identifizieren.

In den letzten Jahren wurden nicht nur neue AdV-Typen entdeckt sondern auch AdVs, die durch Rekombination bekannter Typen neu entstanden sind. Es wurde von Ausbrüchen mit zum Teil tödlich verlaufenden AdV-Infektionen berichtet, die von neu entdeckten rekombinanten AdVs ausgelöst wurden (Walsh, Seto et al. 2010, Robinson, Singh et al. 2011). Zudem wird die Rekombinationsfrequenz in AdVs durch das häufige Auftreten von Ko-Infektionen begünstigt. Da in humanem Probenmaterial häufig zwei oder mehr Serotypen gefunden werden (Vora, Lin et al. 2006, Gray, McCarthy et al. 2007), ist es denkbar, dass Rekombinationen zwischen gering pathogenen HAdV aus unterschiedlichen Wirten (z.B. Menschen und Menschenaffen) zur Entstehung höher pathogener HAdV führen, die sich an neue Wirte (z.B. den Menschen) anpassen und Epidemien auslösen könnten.

Im Gegensatz zu Mutation als Evolutionsfaktor, der neue Varianten hervorbringt, stellt die Rekombination eine unterschiedliche Verteilung von vorhandenem genetischem Material dar. Es gibt also keinen Wechsel im Genpool. Crawford-Miksza und Schnurr postulierten, dass die Evolution von HAdV durch Rekombination angetrieben wird, begleitet von Einzelbasenmutationen (Crawford-Miksza und Schnurr 1996). Erst kürzlich wurde diese Annahme von Robinson et al. bestätigt. Die Autoren analysierten alle veröffentlichten Kompletengenome von HAdV und konstruierten Nukleotid-Diversitäts-Plots. Der Fokus der Untersuchungen lag auf den Spezies HAdV-D und HAdV-B. Es wurde eine größere Aminosäurevariabilität bei HAdV-B als bei HAdV-D identifiziert und daraus abgeleitet, dass in der Evolution von HAdV-D, im Gegensatz zu HAdV-B, Rekombination eine größere Rolle spielt als Basensubstitution (Robinson, Singh et al. 2013).

Die ersten umfangreichen AdV-spezifischen Rekombinationsstudien erfolgten durch Lukashev et al., die schlussfolgerten, dass lateraler Gentransfer häufig innerhalb einer Adenoviruspezies vorkommt (HAdV-B, HAdV-C und HAdV-D), jedoch eher selten zwischen verschiedenen AdV-Spezies (Lukashev, Ivanova et al. 2008). Der erste Bericht über eine Rekombination zwischen Vertretern zweier HAdV-Spezies aus zwei unterschiedlichen Wirtsspezies präsentierte das humane HAdV-4 als Ergebnis eines Gentransfers zwischen HAdV-B menschlichen Ursprungs und HAdV-E aus Schimpansen (Dehghan, Seto et al. 2013). Ein anderes Beispiel für Rekombination zwischen Genomen von nichtmenschlichen Primaten und Menschen sind die sich sehr ähnlichen SAdV-35.1 und SAdV-35.2. Sie wurden von einem Schimpansen und einem Bonobo isoliert und besitzen hohe Sequenzähnlichkeit in mehreren Genombereichen mit HAdV-21 und HAdV-16 (beide HAdV-B), die aus dem Menschen isoliert wurden (Dehghan, Seto et al. 2013). Zudem gibt es auch Berichte über potentielle Rekombinationsereignisse. Ein Beispiel ist HAdV-52, das aus einem Patienten mit Gastroenteritis isoliert wurde und eng verwandt ist mit SAdV-1 und SAdV-7 (beide aus Affen der Familie *Cercopithecidae*) (Jones, Harrach et al. 2007). Eine weitere Rekombinante wurde in China detektiert. Es wurde vermutet, dass ein von einem Schimpansen isoliertes AdV (SAdV-ch1) ein Hexon-Gensegment mit dem humanen HAdV-61 ausgetauscht hat, was zu der Rekombinante HAdV-31 geführt haben könnte (Zhou, Tian et al. 2014).

Robinson et al. untersuchten den GC-Gehalt in allen Genen des Adenovirusgenoms (Robinson, Singh et al. 2013). Ein hoher GC-Gehalt ist assoziiert mit Genomstabilität und Rekombinationsresistenz (Gruss, Moretto et al. 1991). Interessanterweise fand man in den Genen, die als Ziel von Rekombination bekannt sind, einen deutlichen reduzierten GC-Gehalt. Für Rekombination anfällige Gene, die für Rekombinationsanalysen herangezogen werden, sind vor allem das Penton-Gen, Hexon-Gen und Fiber-Gen (Robinson, Singh et al. 2013). Diese kodieren für Proteine, die an der Interaktion mit Wirtszellen beteiligt sind. Dies spiegelt das Potential der Anpassung an neue Wirte wider, welches neue Rekombinanten mit sich bringen.

### **3.1.7 Humane Adenoviren und assoziierte Erkrankungen**

In den frühen 1950er Jahren wurden AdVs das erste Mal aus Menschen isoliert, und zwar aus einer Patienten-Gruppe, die an einer respiratorischen Erkrankung litt (Rowe, Huebner et al. 1953, Hillemann 1954). AdVs waren die ersten charakterisierten Erreger von Atemwegsinfektionen. Bevor diese neu erfassten, aus dem menschlichen Respirationstrakt isolierten Viren als AdVs bezeichnet wurden (Enders 1956), wurden sie als „*adenoid degeneration agents (AD)*“ (Rowe, Huebner et al. 1953), „*respiratory illness agents (RI)*“ (Hillemann 1954) und „*adenoidal-pharyngeal-conjunctival viruses (APC)*“ (Huebner, Rowe et al. 1954) beschrieben.

AdVs wurden anfangs anhand ihrer Eigenschaften, wie Resistenz, Zellkulturverhalten, Pathogenität gegenüber Labortieren und Produktion von gruppenspezifischen löslichen

Antigenen, spezifiziert (Rowe, Hartley et al. 1958). Rosen beschrieb das erste Mal die hämagglutinierenden Eigenschaften von AdVs (Rosen 1958). Der Tropismus von humanen AdVs erstreckt sich vor allem auf Epithelzellen des Respirationstraktes, des Gastrointestinaltraktes und der Augen (Scheiner 2002). Es wird vermutet, dass der Darm ein Reservoir für AdVs darstellt und progressive AdV-Infektionen von reaktivierten AdVs aus dem Darm stammen (Suparno, Milligan et al. 2004, Lion, Kosulin et al. 2010). AdVs können für mehrere Wochen nach der ersten Infektion ausgeschieden werden sowie latent in lymphatischen Geweben wie Tonsillen, Polypen und Darmtrakt auftreten (Garnett, Erdman et al. 2002, Roy, Calcedo et al. 2011). Die geschätzte Inkubationszeit beträgt ein bis sieben Tage und ist wahrscheinlich abhängig von der Infektionsdosis. Nach der Infektion mit bestimmten AdV-Serotypen erfolgt die Erzeugung neutralisierender Antikörper, die wiederum typspezifisch sind und nicht mit anderen Serotypen kreuzreagieren. AdVs sind in der allgemeinen Bevölkerung endemisch; ungefähr 50% der Kinder und annähernd 100% der Erwachsenen besitzen Antikörper gegen ein oder mehrere AdV-Serotypen (Badger, Curtiss et al. 1956, Brandt, Kim et al. 1969). Die Übertragung von AdVs erfolgt hauptsächlich horizontal durch direkten oder indirekten oral-fäkalen Weg. Die Übertragung über Urin oder Augensekrete wurde auch beschrieben. Klinische Infektionen mit zwei oder mehreren AdV-Serotypen wurden für den Menschen im Detail untersucht (Vora, Lin et al. 2006, Gray, McCarthy et al. 2007). Zudem wurde eine lang anhaltende Ausscheidung im Stuhl betroffener Personen für verschiedene HAdV-D Typen beobachtet (Curlin, Huang et al. 2010). Klinische Symptome, die durch eine AdV-Infektion ausgelöst werden, kommen bei immunkompetenten Personen sehr selten vor. Es wird meist eine selbstlimitierende Erkrankung mit leichten Symptomen beobachtet. Die Erstinfektion mit HAdV oder die Reaktivierung von persistierenden HAdV kann zu schweren Erkrankungen bei immungeschwächten Personen führen (Echavarría 2008). Dazu gehören Konjunktivitis, Gastroenteritis, Hepatitis, Myokarditis und Pneumonie. Besonders die sogenannte YOPI-Risikogruppe (*Young, Old, Pregnant, Immunocompromised*) ist von klinischen Symptomen durch Adenovirusinfektionen betroffen. Die YOPI-Risikogruppe umfasst Kinder, alte Menschen, Schwangere und Menschen mit geschwächtem Immunsystem, wobei die Schwächung der Abwehr durch angeborene oder erworbene Immundefekte hervorgerufen werden kann.

HAdV-A, -F und -G werden mit Magen-Darm Infektionen in Verbindung gebracht, während HAdV-B, HAdV-C sowie HAdV-E für respiratorische Erkrankungen bekannt sind. HAdV-D wie auch einige HAdV-B und HAdV-E werden mit Augeninfektionen assoziiert (siehe Tabelle 2). Kinder, die jünger als fünf Jahre alt sind, sind gefährdeter als ältere Personen, da es sich in diesem Alter bei einer Infektion mit AdVs wahrscheinlich um eine Primärinfektion handelt (Hayashi und Hogg 2007). Fünf Prozent der Atemwegserkrankungen in diesem Alter sind auf eine AdV-Infektion zurückzuführen und werden meist durch die Serotypen 1, 2, 5 und 6 aus der HAdV-C Spezies und Serotyp 3 der HAdV-B Spezies verursacht (Brandt, Kim et al. 1969, Schmitz, Wigand et al. 1983).

HAdV-Infektionen sind bedeutende Ursache für die Morbidität und Mortalität bei Stammzelltransplantierten (Kampmann, Cubitt et al. 2005, Leen, Bollard et al. 2006).



Prophylaktisch werden daher bei Patienten für die Stammzelltransplantation routinemäßige Untersuchungen des Blutes und des Stuhls auf AdVs durchgeführt (Lion, Kosulin et al. 2010, Ganzenmueller, Buchholz et al. 2011).

Soldaten in Militäranlagen können ebenfalls häufig von schweren AdV-bedingten Erkrankungen betroffen sein. Erschöpfung, Stress und beengte Lebensumstände tragen zur Ausbreitung einer Infektion in Militärlagern bei. Bei Infektionen der Atemwege sind die Serotypen 4 und 7 von Bedeutung (Mogabgab 1968, Gray, Callahan et al. 1999). Für diese Serotypen wurden wirksame Impfstoffe hergestellt, die für amerikanische Militärangehörige zur Verfügung stehen (Top, Dudding et al. 1971, Dudding, Top et al. 1973). HAdV-14 wird ebenfalls assoziiert mit gravierenden Pneumoniausbrüchen in Militärlagern und großen Wohnanlagen (Lewis, Schmidt et al. 2009). HAdV-8 ist ein Auslöser der epidemischen Keratokonjunktivitis, die häufig in Militärcamps oder infolge einer Krankenhausinfektion auftritt (Ishiko, Shimada et al. 2008).

Eine Immunsuppression, hervorgerufen durch HIV-Infektionen, stellt ebenfalls einen Risikofaktor für die Entwicklung schwerer AdV-Infektionen dar (Kojaoghlanian, Flomenberg et al. 2003). HAdV-D ist die HAdV-Spezies mit der größten Anzahl von Typen, von denen wiederum die meisten bei HIV-positiven Patienten gefunden wurden (Robinson, Seto et al. 2011).

Es gibt keine effiziente antivirale Therapie für HAdV-Infektionen. Empfohlen werden eine symptomatische Behandlung und entzündungshemmende Medikation. Infektionsprophylaxe ist unerlässlich, wozu vor allem Hygiene und Desinfektion gehören, da HAdVs eine hohe Tenazität aufweisen und in der Umwelt sehr stabil sind (Ghebremedhin 2014).

Studien haben gezeigt, dass HAdV-36 mit Adipositas in Verbindung gebracht werden kann (Dhurandhar, Israel et al. 2000, Atkinson, Dhurandhar et al. 2005). In Tierversuchen wurden NHPs mit HAdV-36 infiziert und zeigten anschließend eine Gewichtszunahme sowie geringere Konzentrationen von Cholesterol und Triglycerid im Blut (Dhurandhar, Israel et al. 2001, Dhurandhar, Whigham et al. 2002, Atkinson, Dhurandhar et al. 2005). Zudem konnte eine Korrelation zwischen dem Vorhandensein von anti-HAdV-36 Antikörpern und Fettleibigkeit in Menschen gezeigt werden (Dhurandhar 2011).

Verschiedene HAdV-Serotypen weisen unterschiedliche Grade von Onkogenität auf. HAdV-12, das zur Spezies HAdV-A gehört, ist stark onkogen und fähig, innerhalb von 4 Monaten Tumore in neugeborenen Nagetieren zu induzieren (Trentin, Yabe et al. 1962, Yabe, Trentin et al. 1962, Yabe, Samper et al. 1964). Dies war das erste humane Virus, welches als onkogen eingestuft wurde. HAdV-B Serotypen sind sehr schwach onkogen, während für HAdV-C, -E und -F keine Onkogenität bekannt ist. In immunsupprimierten Wirten können jedoch auch durch Infektion mit nicht-onkogenen HAdVs transformierte Zellen entstehen und Tumoren induziert werden (Gallimore 1972). Onkogenität eines HAdV für den Menschen ist nicht belegt. Bei Untersuchungen von humanen Hirntumoren wurden AdVs der Spezies HAdV-B, -C und -D identifiziert. Für diese wird eine Rolle bei der Tumorphagenese vermutet (Kosulin, Haberler et al. 2007). Zudem wurden in Lymphozyten aus Sarkomen HAdV-C nachgewiesen,

wobei die Rolle der Viren in diesem Fall noch nicht abschließend geklärt ist (Kosulin, Hoffmann et al. 2013).

### 3.1.8 Simiane Adenoviren

Mittlerweile wurde eine Vielzahl von simianen Adenoviren (SAdVs) in Altwelt- und Neuwelt-Affen identifiziert. Die ersten wurden während der Entwicklung des Poliomyelitis-Impfstoffes aus Affenzell-Kultur isoliert (Hull, Minner et al. 1956, Hull und Minner 1957, Hull, Minner et al. 1958). In den darauffolgenden Jahren kam es zur Beachtung von SAdVs, einerseits durch Entdeckung neutralisierender Antikörper gegen SAdV-5 und SAdV-20 in menschlichen Seren (Aulisio, Wong et al. 1964) und andererseits durch die Untersuchung bestimmter SAdVs auf Onkogenität in Hamstern (Hull, Johnson et al. 1965). Diese wiederum führten zur Entdeckung der AdV-assoziierten Viren (Atchison, Casto et al. 1965, Rapoza und Atchinson 1967). In den letzten Jahren hat das Interesse an SAdVs wieder zugenommen, zum einen aufgrund der Suche nach alternativen Vektorsystemen für die Gentherapie und zum anderen aufgrund der zunehmenden Bedeutung von Primaten als Quelle zoonotischer Erkrankungen. Dabei kam es zur Entdeckung und vollständigen Sequenzierung der Genome von fünf NHP-AdVs, isoliert aus in Gefangenschaft gehaltenen Schimpansen (Farina, Gao et al. 2001, Roy, Gao et al. 2004), gefolgt von kompletten Charakterisierung von 30 AdV-Genomen aus verschiedenen Primatenarten (ausnahmslos Zootiere) (Roy, Vandenberghe et al. 2009).

Anfangs wurden SAdVs mithilfe ihrer Hämagglutinationseigenschaften in vier Untergruppen eingeteilt, die analog zu jenen verwendet wurden, mit denen HAdVs klassifiziert wurden (Rapoza 1967). AdVs, die aus Altweltaffen (Familie: *Cercopithecidae*) isoliert wurden, sind phylogenetisch weiter entfernt von denen des Menschen als die AdVs, die aus Menschenaffen isoliert wurden. So befinden sich fast alle AdVs, die aus Gorillas, Schimpansen und Bonobos isoliert wurden, in den HAdV Spezies B, C und E, die ansonsten ausschließlich menschliche HAdV enthalten (Benkö, Harrach et al. 2000). AdVs aus *Cercopithecidae* werden aktuell in fünf Gruppen eingeteilt. SAdV-1, -2, -7, 11, -12 und -15 sind phylogenetisch am nächsten mit HAdV-52 verwandt und werden somit zur Spezies HAdV-G zugeordnet. SAdV-3, -4, -6, -9, -10, -14 und -48 sind der rein simianen Spezies SAdV-A zuzuordnen, SAdV-5, -8, -49, -50 und BaAdV 1 der Spezies SAdV-B, SAdV-19 sowie BaAdV-2 und -3 der Spezies SAdV-C. SAdV-13 und SAdV-16 bis SAdV-20 sowie das TMAAdV gehören zwar zur Gattung Mastadenoviren, sind bisher jedoch keiner bestehenden oder neuen Spezies zugeordnet (Harrach, Benkö et al. 2011). Insgesamt ist die Taxonomie der SAdVs noch nicht zufriedenstellend entwickelt und muss mit fortschreitender Entdeckung von SAdVs noch besser systematisiert werden.

Die klinischen Auswirkungen von AdV-Infektionen bei nichthumanen Primaten sind noch unzureichend erforscht. In einer Affenkolonie in einem chinesischen Forschungsinstitut waren 46% der 92 genommenen Kotproben PCR-positiv für AdVs. Die gesamte Kolonie litt zur Zeit der Probenentnahme an Diarrhöe. Da keine Kontrollproben von gesunden Tieren untersucht wurden, ist nicht auszuschließen, dass die Affen die AdVs permanent ausgeschieden haben. Somit konnte nicht bestätigt werden, dass die AdVs die Ursache für die Durchfallerkrankung

waren (Wang, Tu et al. 2007, Banyai, Esona et al. 2010). Bei einer Gruppe von in Gefangenschaft gehaltenen Langschwanzmakaken ohne klinische Symptome wurde genetisches Material von AdVs in Kotproben gefunden (Maluquer de Motes, Hundesa et al. 2011). In einem Labor in China wurden von gesunden Rhesusaffen Kotproben per PCR auf das Vorhandensein von Adenovirussequenzen untersucht. 12 von 57 Tieren schieden adenovirale DNA aus (Lu, Wang et al. 2011). Auch Roy et al. hatten eine hohe AdV-Prävalenz im Stuhl von Schimpansen, Gorillas, Bonobos, Orang-Utans und Makaken aus Zoos und Forschungseinrichtungen in Abwesenheit von klinischen Symptomen festgestellt (Roy, Vandenberghe et al. 2009). Diese drei Studien belegen die andauernde Ausscheidung von AdVs mit dem Kot auch ohne klinische Symptomatik, was darauf schließen lässt, dass AdVs in Affen (wahrscheinlich in Zellen des Verdauungstraktes) persistieren. Gemeinsam ist allen genannten Studien die Untersuchung von in Gefangenschaft gehaltenen NHP.

Im Jahr 2009 kam es zu einem schweren Ausbruch von Pneumonie und Hepatitis in einer Kolonie von Springaffen (*Callicebus cupreus*) in einem kalifornischen Primatenforschungszentrum (Chen, Yagi et al. 2011). In Proben der Affen wurde ein neues AdV als Ursache der klinischen Erkrankungen gefunden, das TMAAdV. In der Folge beimpften Yu et al. die Nasenschleimhäute von Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) mit dem kultivierten TMAAdV Stamm. Daraufhin entwickelten die Affen leichte klinische Symptome wie Fieber, Atemwegserkrankung und Appetitlosigkeit. Nach knapp 2 Wochen waren die Symptome verschwunden, was die typische Pathogenese von AdVs in immunkompetenten Wirten widerspiegelt (Yu, Yagi et al. 2013). Während des Ausbruch einer akuten respiratorischen Erkrankung in einer Gruppe von Pavianen an einem Forschungszentrum in Texas wurden drei neue AdVs im Lungengewebe verstorbener Affen gefunden, die BaAdV 1- 3 benannt wurden (Chiu, Yagi et al. 2013).

Entsprechende Daten aus wildlebenden Primaten liegen bisher kaum vor. Tong et al. fanden AdVs im Stuhl von zwei wild lebenden Schimpansen aus Tansania, die beide an einer respiratorischen Erkrankung litten (Tong, Singh et al. 2010). Dies ist der vermutlich erste Bericht über Adenovirusausscheidung in wilden Primaten. Auch hier besteht kein eindeutiger Zusammenhang zwischen Adenovirusausscheidung und der Atemwegserkrankung der Schimpansen. Wevers et al. untersuchten wilde NHP aus verschiedenen Orten Afrikas auf ihre AdV-Prävalenz (Wevers, Metzger et al. 2011). Neben einer hohen Prävalenz wurde auch eine große genetische Diversität unter den detektierten AdVs gefunden. Dabei ergab sich kein Zusammenhang mit klinischen Symptomen und positiver Testung auf AdV.

## 3.2 ZOONOSEN

### 3.2.1 Die Bedeutung von Zoonosen

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert Zoonosen als Infektionen und Krankheiten, die auf natürliche Weise zwischen Wirbeltieren und Menschen übertragen werden können. Um die Übertragungsrichtung anzugeben, wurden die Begriffe Zooanthroponose und Anthropozoonose eingeführt. Bei einer Zooanthroponose handelt es sich um Infektionen und Krankheiten, die vom Tier auf den Mensch übertragen werden und bei einer Anthropozoonose um Infektionen und Krankheiten, die vom Menschen auf ein Tier übertragen werden. Zooanthroponosen haben eine größere Bedeutung als Anthropozoonosen (Frauendorf und Henke 1999). Dabei kann ein Zoonoseerreger ein Bakterium, ein Virus, ein Pilz oder ein anderer übertragbarer Erreger sein. Mindestens 60% aller menschlichen Krankheitserreger sind zoonotischen Ursprungs, und die Mehrheit (ca. 70%) stammt aus der Wildnis (Jones, Patel et al. 2008). Zoonotische Erreger stellen 75% aller in den letzten 10 Jahren neu aufgetretenen Krankheitserreger dar (Gebreyes, Dupouy-Camet et al. 2014). Dies verdeutlicht die Bedeutung der Zoonosenforschung, d.h. die Identifizierung und Charakterisierung möglicher Zoonoseerreger, für die globale Gesundheit. "Hotspots" für neu auftretende Krankheiten sind Orte, an denen die Wahrscheinlichkeit für die Entstehung von Zoonosen sehr hoch ist und die oft durch sich überlappende Lebensräume von Menschen und Tieren gekennzeichnet sind. Zum einen ist die extensive Landwirtschaft an der Entstehung von Zoonosen beteiligt, wofür BSE und Tuberkulose Beispiele sind. Zum anderen führt das Eindringen in unberührte Ökosysteme, die Zerstörung von Lebensräumen und das Zusammendrängen von Tierpopulationen zu zoonotischen Erkrankungen, wie das Auftreten von Ornithose, Borreliose, Tollwut und Toxoplasmose demonstriert. Wolfe et al. beschrieben 5 Stufen, die ein Erreger durchläuft, um sich von einem Tiererreger zu einem spezialisierten Humanpathogen zu wandeln. In der ersten Stufe ist ein Erreger in einem tierischen Wirt präsent, wird aber nicht in Menschen gefunden. In der 2. Stufe wird der Erreger von einem Tier auf einen Menschen übertragen. In Stufe 3 ist der Erreger in der Lage, gelegentlich zwischen Menschen übertragen zu werden. Kleine Ausbrüche bleiben selbstlimitierend. In Stufe 4 erfolgen Infektionen durch Übertragung vom Tier auf den Menschen, aber auch durch Übertragungen von Mensch zu Mensch, wobei diese Perioden und Infektketten immer länger werden. In der letzten Stufe 5 hat sich der Erreger soweit spezialisiert, dass er nur noch für den Menschen pathogen ist (Wolfe, Dunavan et al. 2007).

Neu auftretende Zoonosen stellen eine zunehmende und sehr bedeutende Bedrohung für die globale Gesundheit dar. Dies verdeutlicht den Bedarf für ein umfassendes Verständnis über Tiererreger und die Faktoren, die eine Übertragung vom Tier auf den Menschen begünstigen (Jones, Patel et al. 2008).

### 3.2.2 Zoonotisches Potential von Erregern aus Menschenaffen

Die enge stammesgeschichtliche Verwandtschaft von Menschenaffen und Menschen begünstigt den Austausch von Krankheitserregern, da davon auszugehen ist, dass eng verwandte Wirtsspezies sich ähnliche Gruppen von Krankheitserregern teilen. Erregeraustausch wird auch durch das immer weitere Vordringen des Menschen in die Lebensräume der Primaten begünstigt. Zoonosen, die von Menschenaffen übertragen werden oder wurden, nehmen eine zunehmende Bedeutung in der Forschung ein (Wolfe, Dunavan et al. 2007). Von den heutzutage meistprävalenten und hochpathogenen Erkrankungen der Menschheit haben zwei ihren Ursprung in Menschenaffen (Sharp, Rayner et al. 2013), HIV und Malaria. Das *Humane Immundefizienz-Virus* (HIV) ist ein Virus, das zur Familie der Retroviren und zur Gattung der Lentiviren gehört (Huet, Cheynier et al. 1990). Laut WHO lebten 2015 36,7 Millionen Menschen weltweit mit HIV, 2,1 Millionen Menschen infizierten sich neu und 1,1 Millionen Menschen starben an den Folgen dieser Infektion. Das *Simiane Immundefizienz-Virus* (SIV) gilt als Ursprung für das heutige HIV. Es wird davon ausgegangen, dass SIV vor mehreren Jahrzehnten von Schimpansen und Rauchmangabes auf den Mensch übertragen wurde (Hahn, Shaw et al. 2000).

Malaria ist eine Blutinfektion mit Parasiten der Gattung *Plasmodium*, die durch Mücken (*Anopheles ssp.*) übertragen wird (Carter und Mendis 2002). Von allen *Plasmodium*-Spezies, die den Menschen infizieren, verursacht *Plasmodium falciparum* bei weitem die größte Morbidität und Mortalität mit mehreren hundert Millionen Fällen von klinischer Malaria und mehr als einer Million Todesfälle pro Jahr (Snow, Guerra et al. 2005). *Plasmodium*-Infektionen von Affen sind weit verbreitet und hoch prävalent. Genomanalysen von mehr als 1000 *Plasmodium*-Spezies von Gorillas und Schimpansen gaben eindeutige Hinweise, dass der Ursprungswirt von *Plasmodium falciparum* der Gorilla ist (Liu, Li et al. 2010). Somit ist Malaria vermutlich zoonotischen Ursprungs, zählt jedoch nicht zu den Zoonosen, da es gegenwärtig nachweislich kein Erreger-Reservoir im Tier gibt.

Ebola und Anthrax sind ebenfalls zwei Infektionskrankheiten mit zunehmender Bedeutung für die öffentliche Gesundheit. Beide können von NHPs auf den Menschen übertragen werden, wobei das Ursprungsreservoir der beiden Erreger nicht in NHPs, sondern in anderen Tierarten liegt (Leendertz, Lankester et al. 2006). Das Ebola-Virus gehört zu den Filoviren und verursacht hämorrhagisches Fieber bei Menschen und nichtmenschlichen Primaten (Le Guenno, Formenty et al. 1995). Es gibt weder effektive Prophylaxe noch Therapiemöglichkeiten. Zoonotische Übertragungen von Menschenaffen können stattfinden, jedoch stellen Fledermausarten wahrscheinlich das Ursprungsreservoir von Ebola dar (Leroy, Gonzalez et al. 2011). Die Übertragung auf den Menschen erfolgt meist durch Kontakt mit infizierten Wildtierkadavern (Rouquet, Froment et al. 2005). Der kürzlich stattgefundenen Krankheitsausbruch in Westafrika ist der bisher größte Ausbruch von Ebolafieber. Er begann Ende Dezember 2013 in Guinea und breitete sich seither auch nach Liberia, Sierra Leone, Nigeria und Senegal aus. Laut WHO stieg die Zahl der Betroffenen exponentiell. Im Oktober

2015 wurde in Guinea der vorerst letzte Fall registriert. Alle anderen betroffenen Länder sind von der WHO nach Stand November 2015 als frei von Ebolafieber erklärt worden.

Anthrax wird durch *Bacillus anthracis* verursacht und infiziert hauptsächlich Paarhufer. Der Erreger kann aber auch Menschen infizieren, vor allem über verseuchte Tierkadaver und Früchte (Calvignac-Spencer, Leendertz et al. 2012). In Subsahara-Afrika wurden auch Gorillas und Schimpansen mit tödlichem Ausgang von einer variablen *Bacillus anthracis* Subgruppe (forest strain) infiziert (Leendertz, Yumlu et al. 2006).

Die Übertragung von Krankheitserregern kann einerseits von nichtmenschlichen Primaten auf den Menschen erfolgen oder andererseits vom Menschen auf die nichtmenschlichen Primaten. Zoonosen nehmen somit erheblichen Einfluss auf die Gesundheit des Menschen als auch auf den Artenschutz.

Zoonotische Übertragungen werden durch bestimmte Gegebenheiten stark begünstigt. Ökotourismus (z.B. Beobachtung von Gorillas), Haltung von Primaten in Zoos, Zirkussen oder Privathaushalten sowie Haltung von Primaten in Versuchstieranlagen oder Forschung an Gewebe und Körperflüssigkeiten von Primaten können eine Übertragung von Erregern begünstigen. Dies betrifft jedoch meist nur sehr kleine Gruppen in der Bevölkerung (Wolfe, Prosser et al. 2004). Der enge Kontakt zu einem übertragenden Wirt, begünstigt durch Jagen, Schlachten und Konsumieren von Wildtieren, ist in bestimmten Bevölkerungsgruppen jedoch weit verbreitet. In Afrika wird der Wald oft auch als "the bush" bezeichnet und somit das Fleisch, das daraus stammt als "bushmeat" (franz.: *viande de brousse*) bezeichnet. Dieser Begriff bezieht sich auf Fleisch aller Tierarten, einschließlich bedrohter und gefährdeter Spezies, wie Elefant, Affe und Menschenaffe, Krokodil, Buschschwein, Waran, Waldantilope usw. Problematisch ist hauptsächlich das Bushmeat, das illegal ist. Dieses ist gekennzeichnet durch illegale Jagd (Jagd mit illegalen Methoden; Jagd auf gefährdete, geschützte oder bedrohte Tierarten; Jagd in geschützten Bereichen) und illegalen Handel (Abzug für den gewerblichen Handel). Auch durch den zunehmenden illegalen Import von Bushmeat in europäische Länder ist das Risiko der Übertragung von tierischen Erregern aus Afrika für die öffentliche Gesundheit Europas nicht zu vernachlässigen (Smith, Anthony et al. 2012, Falk, Durr et al. 2013).

Die Jagd auf Menschenaffen wie Gorillas, Schimpansen und Bonobos sowie das Töten und Zerlegen von Menschenaffen und die Zubereitung ihres Fleisches stellt eine erhebliche Gefährdung für Mensch und Tier dar. Zum einen sind diese Menschenaffen vom Aussterben bedroht, zum anderen stellt das Erregerreservoir von Menschenaffen eine Gefährdung für den Menschen dar. Laut Weltnaturschutzunion (IUCN) ist der östliche Flachlandgorilla (*Gorilla beringei graueri*) stark gefährdet. Der westliche Flachlandgorilla (*Gorilla gorilla gorilla*), der Cross River Gorilla (*Gorilla gorilla diehli*) und der Berggorilla (*Gorilla beringei beringei*) sind laut IUCN vom Aussterben bedroht. Auch Bonobos (*Pan paniscus*) sowie Schimpansen (*Pan troglodytes ssp.*) sind laut IUCN stark gefährdet. Daran wird deutlich, wie wichtig der Schutz dieser Arten vor schweren Krankheitsausbrüchen ist.

### **3.2.3 Zoonotisches Potential von Adenoviren**

AdVs sind in der Regel streng wirtsspezifisch und infizieren Wirbeltiere von Fisch bis Menschen (Wold und Horowitz 2007). Für die große Mehrzahl der AdVs wird eine koevolutionäre Entwicklung mit dem Wirt angenommen, wobei die Phylogenie von AdV innerhalb einiger Genera auch Übertragungen von AdVs zwischen verschiedenen Wirten vermuten lässt (Davison, Benkö et al. 2003). AdVs sind bekannt für ihre Rekombinationsfähigkeit, was durch Ko-Infektionen begünstigt wird (Vora, Lin et al. 2006, Gray, McCarthy et al. 2007). Da vor allem AdVs mit rekombinierten Genomregionen detektiert wurden, deren enkodierte Proteine mit der Wirtszelle interagieren, ist die Entstehung rekombinanter AdVs, die sich an neue Wirte adaptieren können, nicht unwahrscheinlich (Robinson, Singh et al. 2013).

In den letzten Jahren wurden zunehmend Hinweise für das zoonotische Potential von AdVs veröffentlicht. In Japan wurde in einer Stuhlprobe eines Mädchens mit Gastroenteritis ein AdV detektiert, das Hexon- und Fibergene enthält, die denen eines felinen AdV nahezu identisch sind (Phan, Shimizu et al. 2006). Auch in Brasilien wurde ein AdV in dem nasopharyngealen Aspirat eines Kindes mit respiratorischer Erkrankung gefunden, das ein Hexon-Genfragment aus einem Katzenadenovirus besitzt (Luiz, Leite et al. 2010). Das humane HAdV-4 ist das Ergebnis eines Gentransfers zwischen einem HAdV-B Typ menschlichen Ursprungs und einem HAdV-E Typ aus Schimpansen. (Dehghan, Seto et al. 2013). Dieses Beispiel veranschaulicht die Fähigkeit der Entwicklung von SAdV zu humanen Pathogenen durch Übertragung und Rekombination.

In den USA wurde HAdV-52 aus der Stuhlprobe eines Patienten mit Gastroenteritis isoliert. Phylogenetische Analysen zeigten, dass HAdV-52 sich stark von allen anderen HAdVs unterscheidet, weshalb es einer neuen Spezies zugeordnet wurde (HAdV-G). Genomanalysen zeigen die höchste Ähnlichkeit von HAdV-52 zu diversen SAdV, isoliert aus Altweltaffen (Jones, Harrach et al. 2007). In China wurde aus einer Stuhlprobe eines symptomlosen Schimpansen ein neues AdV isoliert. In phylogenetischen Analysen wurde deutlich, dass es nicht mit anderen SAdV zusammen einzuordnen ist, dafür jedoch hohe Sequenzähnlichkeit zu HAdV-18, einem HAdV, hat (Zhou, Tian et al. 2014).

In einer Kotprobe eines wilden Schimpansen aus Uganda wurde eine AdV-Sequenz detektiert, die nahezu identisch mit Hexonsequenzen von HAdV-D-Typen ist und phylogenetisch in einem Cluster mit AdV-Sequenzen menschlichen Ursprungs liegt (Wevers, Metzger et al. 2011). In der gleichen Studie wurden auch Sequenzen in einem Schimpansen und einem Gorilla gefunden, die hohe Ähnlichkeit zu bzw. 100% Identität mit zu menschlichen AdV-Sequenzen der Spezies HAdV-F aufweisen. Außerdem wurde eine Sequenz von einem Schimpansen identifiziert, die in der phylogenetischen Analyse zusammen mit HAdV-A Sequenzen menschlichen Ursprungs gruppiert ist (Wevers, Metzger et al. 2011).

Im Jahr 1997 ereignete sich ein Ausbruch einer akuten Atemwegserkrankung bei Pavianen im Primatenforschungszentrum in Texas. In Nasalabstrichen der Affen identifizierten

Forscher vier neue AdVs (BaAdVs) mittels Gesamtgenomsequenzierung. Zudem wurden anschließend Antikörper gegen diese Viren bei den Pavianen und beim Personal gefunden, was auf eine stattgefundene Übertragung zwischen Affe und Mensch schließen ließ (Chiu, Yagi et al. 2013). Während eines Krankheitsausbruches mit schweren Infektionen der Lunge und der Leber von Neuweltaffen in einem kalifornischen Primatenforschungszentrum wurde ein neues AdV isoliert. Die Springaffen mussten teilweise euthanisiert werden. Der Forscher, der den engsten Kontakt zu den kranken Affen hatte, entwickelte über 4 Wochen respiratorische Symptome. Eine anschließende Serumprobe des Forschers war seropositiv für das neu entdeckte Virus (Chen, Yagi et al. 2011).

Zum einen verdeutlichen diese Studien die zoonotische Übertragung von AdVs mit Ausbildung von Krankheitssymptomen und Entwicklung von Antikörpern, und zum anderen sind es Belege für das Auftreten von Mehrfachinfektionen verschiedener HAdV-Spezies, aus denen Inter-Spezies-Rekombinanten mit dem Potential zur Adaptation an neue Wirte entstehen. Zusammenfassend haben AdVs das Potential zur zoonotischen Übertragung und es besteht die Notwendigkeit weiterführender Studien.



## 4 PUBLIKATIONEN

---

### 4.1 PUBLIKATION 1

#### **Multiple cross-species transmission events of human adenoviruses (HAdV) during hominine evolution**

Publiziert in *Molecular Biology and Evolution* (Oxford Journals), Hoppe *et al.*, August 2015, Volume 32, Ausgabe 8, Seiten 2072–2084, DOI: 10.1093/molbev/msv090, PMID: 25862141

Eingereicht: 5. November 2014

Akzeptiert: 2. April 2015

Publiziert online: 9. April 2015

Publiziert: 1. August 2015

Diese Publikation steht Ihnen online kostenlos zur Verfügung.

<https://dx.doi.org/10.1093/molbev/msv090>

## 4.2 PUBLIKATION 2

### **Phylogenomic evidence for recombination of adenoviruses in wild gorillas**

Publiziert im Journal of General Virology, Hoppe *et al.*, Oktober 2015, Volume 96, Ausgabe 10, Seiten 3090-3098, DOI:10.1099/jgv.0.000250, PMID: 26219820

Eingereicht: 13. Mai 2015

Akzeptiert: 23. Juli 2015

Publiziert: 1. Oktober 2015

Diese Publikation steht Ihnen online kostenlos zur Verfügung.

<https://dx.doi.org/10.1099/jgv.0.000250>

### 5.1. HAdV-PRÄVALENZ

Um die Prävalenz von AdVs beim Menschen und bei NHPs in Subsahara-Afrika zu bestimmen, wurden vier verschiedene PCR-Systeme angewendet. Zum einen eine generische PCR, die die Gesamtheit der Mastadenoviren von Primaten mithilfe degenerierter Primer detektieren soll, und zum anderen drei spezies-spezifische PCRs, die mittels spezifischer (nicht-degenerierter) Primer Primaten-AdV der Spezies HAdV-B, -D oder -E detektieren. Es wurden insgesamt 860 Fäkalproben untersucht, wobei 568 Proben von acht Menschenaffen-Spezies aus neun Waldgebieten stammten, und 292 Proben von Menschen gesammelt wurden, die in naher Umgebung von vier der neun Waldgebiete leben (siehe Publikation 1 Fig. 1). Damit handelt es sich um die erste umfassende Studie zur AdV-Prävalenz in allen in Afrika vorkommenden Schimpansen- und Gorillaspezies sowie in Bonobos und sympatrischen Menschenpopulationen.

Die Untersuchungen ergaben eine allgemeine HAdV-Prävalenz von 51% (75/146) für Schimpansen, 94% (79/84) für Bonobos, 74% (251/338) für Gorillas und 69% (201/292) für Menschen (siehe Publikation 1 Table 1). Diese Ergebnisse weisen auf eine allgemeine hohe Infektionsquote mit HAdV in Subsahara-Afrika hin, womit vorherige Berichte zu hoher AdV-Prävalenz in Afrika bestätigt werden konnten (Wevers, Metzger et al. 2011).

HAdV-E konnte in keiner der Gorilla- und Menschenproben detektiert werden, aber in 25% der Schimpansen und 67% der Bonobos. Während in keiner der Primatenproben HAdV-D detektiert wurde, sind 43% der Menschenproben positiv für HAdV-D. HAdV-C wurde in allen Spezies mit relativ hoher Prävalenz gefunden. Die PCR-Systeme ergaben zudem eine Prävalenz von 55% HAdV-B für Gorillas, während in nur 11% der Schimpansen und in keiner der Proben von Menschen und Bonobos HAdV-B gefunden wurde (siehe Publikation 1 Table 1).

In einer weiterführenden Untersuchung zur Populationsentwicklung von HAdV-B wurde mittels Bayes factor (BF) Vergleich herausgefunden, dass die Populationsgröße von HAdV-B (getestet für 2 HAdV-B OTU) mit hoher Wahrscheinlichkeit über die Zeit konstant ist (siehe Publikation 2 Table 4). Dies ist ein Hinweis darauf, dass somit auch die Prävalenz von HAdV-B über große Zeiträume hinweg konstant sein könnte.

Alle momentan publizierten HAdV-B-Genome von Menschen stammen aus der USA, Japan, China, Argentinien und Ägypten. Daher wären Sequenzen von HAdV-B von Menschen aus West- und Zentralafrika eine wünschenswerte Ergänzung. Allerdings wurde kein HAdV-B in allen von uns untersuchten Humanproben aus vier Ländern in Sub-Sahara-Afrika gefunden. Dieses Ergebnis weist auf eine niedrige HAdV-B Prävalenz in Menschen hin, was mit einer Studie über geringe serologische Prävalenzen der HAdV-B Typen 11, 35 und 50 in Sub-Sahara-Afrika (Abbink, Lemckert et al. 2007) übereinstimmt.

Die verwendeten PCR-Systeme waren nicht komplett spezifisch, denn aufgrund der großen Ähnlichkeit der HAdV-B, -D und -E Sequenzen untereinander wurde bei Abwesenheit der DNA

der AdV-Ziel-Spezies die DNA anderer in der Probe anwesender AdV-Spezies amplifiziert. Dadurch konnte in einigen Proben eine Multiinfektion mit verschiedenen HAdV-Spezies identifiziert werden (siehe auch Abbildung 7).

## **5.2. GENETISCHE DIVERSITÄT UND WIRTSPEZIFITÄT**

Für die weiteren Ziele dieser Arbeit wurde umfangreicheres Sequenzmaterial von NHP aus dem bereits beschriebenen Probenpool (Tabelle 1) benötigt. Dazu wurden LD-PCR Systeme entwickelt, die jeweils spezifisch für HAdV-B, -C oder -D sind und mit denen alle AdV-positiven Proben untersucht wurden. Drei Nested-Primer-Sets amplifizierten jeweils einen 5,6 kb großen Genblock, der die konservierten Gene pV, pX und pVI sowie das variable Hexon-Gen umfasst.

Unter Verwendung eines GMYC-Ansatzes, einem Verfahren auf der Grundlage der Analyse der Verzweigungsmuster eines phylogenetischen Baumes, konnte gezeigt werden, dass die genetische Diversität der verschiedenen HAdV Spezies das Ergebnis verschiedener evolutionärer Prozesse wie Rekombination, Mutation, Extinktion usw. ist (siehe Publikation 1 Fig. 2). HAdV-D und HAdV-E entwickelten sich aus Prozessen, die rein innerhalb ihrer Wirtspezies stattgefunden haben, während die Diversität von HAdV-B und HAdV-C die Folge aus einer Kombination aus Prozessen zwischen verschiedenen Wirtspezies und Prozessen innerhalb einer Wirtspezies ist.

Mithilfe dieser Methode wurden für HAdV-B fünf operational taxonomic units (OTU) identifiziert, von denen drei Sequenzen mehrerer Wirtsarten beinhalten. Die beiden verbleibenden HAdV-B OTU beinhalten jeweils Sequenzen von nur einem einzelnen Wirt, zum einem Gorillas und zum anderen Menschen (siehe Publikation 1 Table 3).

Diese Ergebnisse haben aber keine direkte taxonomische Auswirkung, denn OTU steht für eine operationale Definition einer Gruppe von Arten, wenn, wie in dieser Studie, nur DNA-Sequenzdaten verfügbar sind. Für eine offizielle Spezies-Abgrenzung werden mehr Informationen über ein AdV benötigt als die genetische Information (Harrach, Benkö et al. 2011).

Der Pool der AdV-Sequenzen aus wilden Menschenaffen wurde im Rahmen dieser Arbeit erheblich erweitert, wodurch die Kenntnis zur Wirtspezifität der HAdVs vervollständigt werden konnte. Wie in früheren Studien (Roy, Vandenberghe et al. 2009, Wevers, Metzger et al. 2011) vermutet, konnte die Annahme über die Evolution von HAdV durch eine starke langfristige Assoziation mit ihren homininen Wirten bestätigt werden. Bei HAdV-C ist davon ausgehen, dass es mit seinen Wirten kodivergiert ist. Im Gegensatz dazu widerspricht die Verzweigungsreihenfolge von HAdV-B, -D und -E im Stammbaum einem reinen Kodivergenz-Schema. Die verschiedenen HAdV-Spezies unterscheiden sich somit in ihrem Diversifikationsprozess und die Evolution der HAdVs ist somit komplexer als bisher angenommen.

### 5.3. SPEZIESÜBERGREIFENDE ÜBERTRAGUNGEN

Der Gorilla wurde anhand einer Rekonstruktion des ursprünglichen Wirtes als letzter gemeinsamer Vorfahre aller HAdV-B identifiziert und somit wurde die anfängliche Hypothese dieser Arbeit bestätigt. Für alle drei HAdV-B OTU, die Sequenzen von Gorillas beinhalten, ist der Gorilla der Wirt mit der besten statistischen Unterstützung als letzter gemeinsamer Vorfahre (siehe Publikation 1 Table 3).

Es konnte belegt werden, dass HAdV-B von Gorillas auf Schimpansen und Menschen übertragen wurden und die Übertragungseignisse konnten quantifiziert werden. Am häufigsten fanden Wirtswechsel von Gorillas zu Schimpansen mit sechs bis sieben Übertragungen statt (siehe Publikation 1 Fig. 3). Zwei unabhängige HAdV-B Übertragungseignisse auf den Menschen sowie Hinweise für Übertragungen von Schimpansen auf Menschen konnten ermittelt werden.

Unter der Annahme, dass die Kalibrierung der gegenwärtigen phylogenetischen Analysen korrekt ist, scheint es, dass Übertragungen von HAdV-B zwischen den Homininen mit sehr niedriger Frequenz aufgetreten sind. Innerhalb der Spezies HAdV-B wurden etwa zehn Übertragungseignisse innerhalb von 4,5 Millionen Jahren abgeleitet (siehe Publikation 1 Fig. 4), von denen nur drei in Richtung der Menschen gingen. Da HAdV-B in keiner Menschenpopulation, die in der Nähe von Menschenaffen lebt, gefunden wurde, ist die Frequenz gegenwärtiger Übertragungseignisse wahrscheinlich äußerst niedrig. Diese Situation ist vergleichbar mit dem, was für *Plasmodium falciparum*, den humanen Malariaerreger, berichtet wurde. *Plasmodium falciparum* entstand vermutlich infolge einer einzigen Übertragung von Gorilla auf Mensch (Liu, Li et al. 2010, Rayner, Liu et al. 2011). *Plasmodium* spp. aus Menschenaffen inklusive des Gorilla-spezifischen Vorläufers von *Plasmodium falciparum* wurden bisher in keiner sympatrischen Menschenpopulation gefunden (Sundararaman, Liu et al. 2013). Im Gegensatz dazu gibt es bei den simianen Immundefizienzviren SIVcpz und SIVgor, die in den letzten 100 Jahren mindestens viermal auf Menschen übertragen wurden, eine sehr heterogene Verteilung in Populationen von Schimpansen und Gorillas, wobei die Nachweisquote in Fäzes viel niedriger ist als die bei HAdVs oder *Plasmodium falciparum* (Sharp und Hahn 2011). Diese drei Beispiele verdeutlichen, dass die Aussagekraft von Prävalenz und Wirtsspezifität über das zoonotische Potenzial von NHP-Erregern als gering einzuschätzen ist (Calvignac-Spencer, Leendertz et al. 2012).

Speziesübergreifende Übertragungen von Erregern zwischen Menschenaffen und Menschen werden durch effektive Exposition begünstigt, die wiederum von der Übertragungsweise des Erregers und von der Überschneidung der Habitate von Ursprungs- und Zielwirt abhängig ist (Rayner, Liu et al. 2011). In Zentralafrika gibt es eine erhebliche Überschneidung von Lebensraum und Nahrung von Schimpansen und Gorillas (Yamagiwa und Basabose 2006, Yamagiwa und Basabose 2009, Head, Boesch et al. 2011, Junker, Blake et al. 2012, Oelze, Head et al. 2014). Gruppen von Schimpansen und Gorillas wurden beispielsweise bei der Nahrungssuche auf demselben Obstbaum am gleichen Tag oder sogar

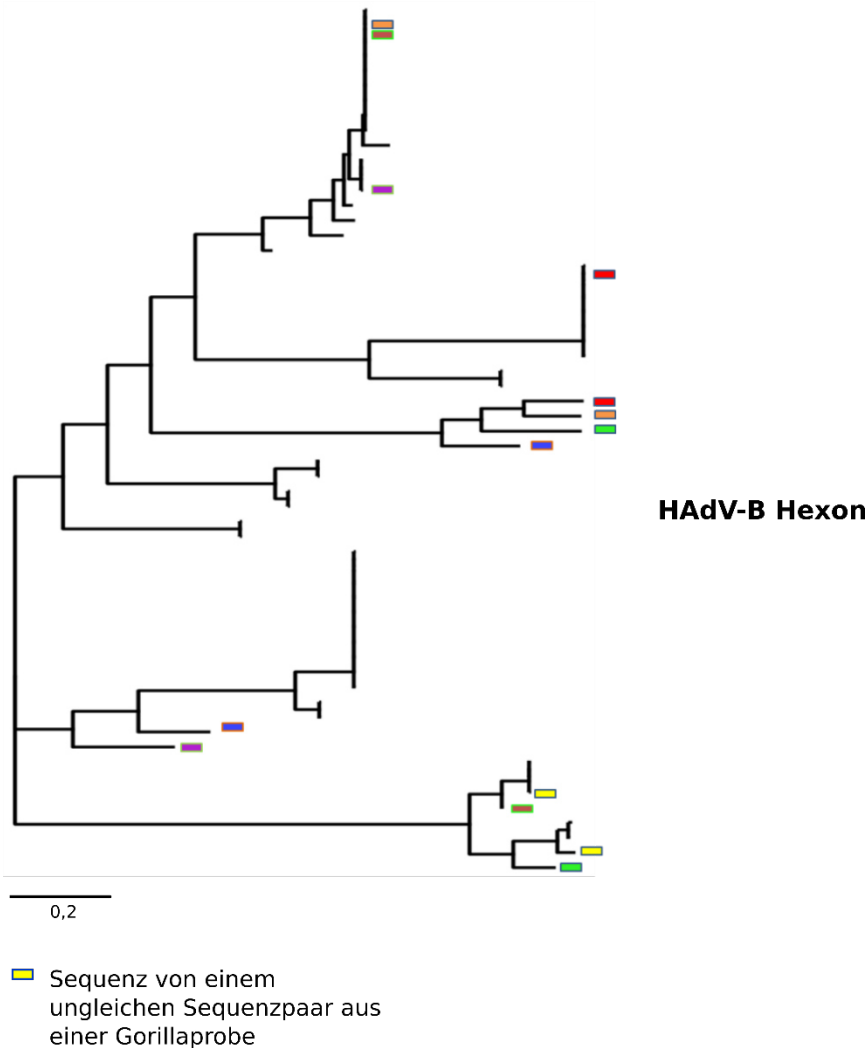
zur selben Zeit beobachtet (Walsh, Breuer et al. 2007). Für die Erregerübertragung zwischen Gorillas und Schimpansen über die Umwelt scheint es reichliche Möglichkeiten zu geben, wobei direktem Kontakt eine geringe Bedeutung zuzuschreiben ist. Über körperliche Auseinandersetzungen zwischen Schimpansen und Gorillas in der Wildnis wurden bisher nicht berichtet. HAdVs werden leicht von Mensch zu Mensch durch die Umwelt übertragen, vor allem über fäkal-orale und respiratorische Routen (Pina, Puig et al. 1998, van Heerden, Ehlers et al. 2005, Gray 2006, Russell, Broderick et al. 2006, Sibanda und Okoh 2012). Daher ist zu vermuten, dass zumindest ein Teil der hier beschriebenen sechs Übertragungsereignisse von Gorillas auf Schimpansen über die Umwelt stattgefunden hat. Für speziesübergreifende Übertragungen von HAdV ist das Teilen von Lebensräumen von großer Bedeutung.

Bevölkerungsgruppen, die im Regenwald oder in unmittelbarer Nähe zu diesem leben, waren wohl schon immer auf Buschfleisch, einschließlich Buschfleisch von Menschenaffen, zur Deckung ihres Proteinbedarfs angewiesen (Malhi, Adu-Bredu et al. 2013). Der Zugang zu gejagten Tieren und Buschfleisch resultiert in direktem Kontakt mit den Tieren und damit in eine mögliche Virusübertragung.

#### **5.4. REKOMBINATIONSPOTENTIAL**

Es ist bekannt, dass rekombinante HAdV-B in Menschenaffen zirkulieren (Roy, Vandenberghe et al. 2009, Dehghan, Seto et al. 2013). Diese Erkenntnis stammt jedoch ausschließlich von Tieren, die in Gefangenschaft gehalten wurden. Ein Austausch genetischer Informationen könnte daher auf Orte wie z. B. zoologische Gärten beschränkt sein, an denen bei Menschenaffen untereinander sowie mit Menschen in sehr engem Kontakt stehen und somit eine vergleichsweise starke Exposition gegenüber Viren anderer Wirte besteht. Aus diesem Grund sollte hier das Rekombinationspotential von HAdV-B bei wilden Menschenaffen untersucht werden.

Die Voraussetzung für eine mögliche Rekombination ist die Anwesenheit mindestens zweier unterschiedlicher AdVs in einem Wirt. In Rahmen der hier durchgeführten PCR-Screenings wurden in 24% eines Proben-Subsets (7/29) verschiedene HAdV-B in der jeweils gleichen Gorillaprobe identifiziert (siehe Abbildung 7). In einer anderen aktuellen Studie waren 16,4% der untersuchten wilden Gorillas und Schimpansen koinfiziert, wobei es sich dabei um eine Infektion mit verschiedenen HAdV-Spezies handelte (Seimon, Olson et al. 2015).



### Abbildung 7 Phylogenetische Analyse von Hexonsequenzen unterschiedlicher PCRs

Die PCR-Ergebnisse von 29 Kotproben wilder Gorillas lieferten Hinweise für das Vorkommen verschiedener HAdV-B in einer Probe. Sie waren HAdV B-positiv sowohl mit der Hexon-PCR (270 bp) als auch mit der LD-PCR (5,6 kb; pVII um HEX). Alle 58 PCR-Fragmente wurden sequenziert und ein phylogenetischer Baum mithilfe des Tree-Builders von Geneious Pro konstruiert. Zur einfachen Veranschaulichung sind die Sequenzen von Proben, die nach beiden PCRs identisch waren, nicht im Baum annotiert. Es wurden nur die Sequenzpaare im Baum markiert, die im Baum jeweils unterschiedliche Positionen eingenommen haben. Diese sind mit farbigen Rechtecken gekennzeichnet, 7 von 29 Sequenzpaare sind jeweils in verschiedenen Untergruppen des Baumes angeordnet, was darauf hindeutet, dass zwei verschiedene HAdV-B in einer Stuhlprobe bei 7 von 29 Gorillas auftreten (24%).

Für Rekombinationsanalysen wurde im Rahmen dieser Arbeit versucht, komplette Genome durch das Amplifizieren von weit überlappenden PCR-Produkten zu erhalten. Mit dieser Methode wurden zwei fast komplette Genomsequenzen und fünf weitere Teilgenome von HAdV-B aus wilden Gorillas generiert.

Für die vergleichende Untersuchung von bereits veröffentlichten HAdV-B Genomen von Gorillas mit den hier erzeugten Sequenzen aus wilden Gorillas wurde das Genom aus Probe #6759 verwendet, da bei dieser Genomsequenz an beiden Enden weniger als 100 bp fehlen und somit die äußersten kodierenden Sequenzen vollständig sind.

Um Sequenz-Ähnlichkeiten und -Unterschiede zu detektieren, wurden die Kompletengenome mit einem Programm (mVISTA) analysiert, das durch paarweise Alignments Sequenzen vergleicht und dies grafisch darstellt (siehe Publikation 2 Fig. 1). Dabei war das #6759-Genom einem HAdV-B-Genom aus einem Schimpansen am ähnlichsten, gefolgt von einem Gorilla-AdV- und einem weiteren Schimpansen-AdV-Genom. Der Vergleich mit allen anderen veröffentlichten AdV-Genomen aus Menschenaffen (Gorilla, Schimpanse und Bonobo), die sämtlich in Gefangenschaft gehalten wurden, ergab wesentlichere Unterschiede in den Bereichen der Gene Penton, Hexon, E3 und Fiber. Diese Ergebnisse gaben erste Hinweise für das Auftreten von genomweiten Rekombinationsereignissen zwischen HAdV-B von Schimpansen und Gorillas, die ihren Ursprung nicht nur in Gefangenschaft haben, sondern auch von wilden Tieren stammen.

Um die genetischen Beziehungen zwischen den verschiedenen HAdV-B-Mitgliedern besser zu verstehen und weitere Hinweise auf Rekombination zu finden, wurden vergleichende Stammbaum-Analysen durchgeführt, die auf Alignments vier verschiedener Genomregionen (Penton, pVII-pVI, Hexon, Fiber) basierten (siehe Publikation 2 Fig. 2). Dabei wurden je nach analysiertem Genomabschnitt Unterschiede in der generellen Baum-Topologie sowie in der Zusammensetzung der verschiedenen monophyletischen HAdV-B-Gruppen deutlich erkennbar.

Diese Studie und frühere Berichte, die Rekombination von HAdV-B von in Gefangenschaft lebenden Großaffen und Übertragung zwischen den Primatenarten zum Gegenstand hatten (Roy, Vandenberghe et al. 2009, Wevers, Leendertz et al. 2010, Dehghan, Seto et al. 2013, Robinson, Singh et al. 2013), zeigen, dass speziesübergreifende Übertragungen sowie anschließende genomweite Rekombination wahrscheinlich eine bedeutende Rolle während der Evolution von HAdV-B hatten.

## **5.5. SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK**

Frühere Vermutungen über die Rolle von natürlichen Wirtswechseln in der Evolution von Primaten-AdVs (Purkayastha, Ditty et al. 2005, Roy, Vandenberghe et al. 2009, Wevers, Metzger et al. 2011) konnten in dieser Arbeit bestätigt werden. So konnte gezeigt werden, dass Wirtwechsel innerhalb einer HAdV-Spezies die Folge langfristiger Assoziationen mit neuen homininen Wirten sind, wofür HAdV-B ein besonders gutes Beispiel ist. Die Annahme, dass die Mitglieder der sehr heterogenen HAdV-B Linie, die in den hier durchgeführten Analysen fünf OTUs umfasst, Gorillas über mehrere Millionen Jahre parasitiert haben müssen, wurde durch mehrere Feststellungen belegt. Erstens, alle Gorillaspezies sind mit hoher Prävalenz mit HAdV-B infiziert. Zweitens, drei der fünf HAdV-B OTUs beinhalten Gorilla-AdVs, und ihr rekonstruierter ursprünglicher Wirt ist der Gorilla. Drittens, die Populationsgrößen von



zwei dieser OTUs blieben über hunderttausend Jahre stabil, was möglicherweise auch auf eine hohe Prävalenz in diesem Zeitraum hindeutet. Des Weiteren ist der Gorilla der rekonstruierte Wirt des letzten gemeinsamen Vorfahren der gesamten HAdV-B-Linie.

Gegenwärtig sind HAdV-B Infektionen mit akuten Atemwegserkrankungen bei Menschen assoziiert, welche eine erhebliche Morbidität erreichen und teilweise tödlich verlaufen können (Kajon, Lu et al. 2010). Interessanterweise sind zwei HAdV-B-Spezies in relativ ferner Vergangenheit aufgetreten, eventuell sogar schon vor dem Auftreten der gegenwärtigen Spezies *Homo sapiens*. Unter der Annahme, dass sich HAdV-Infektionen in der Vergangenheit genauso ausgewirkt haben wie gegenwärtig, könnte HAdV-B somit über einen Großteil unserer kompletten Spezies-Lebenszeit ähnliche Konsequenzen auf die menschliche Gesundheit gehabt haben.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Rekombination von HAdV-B unter wilden Gorillas stattfindet und zwar unter natürlichen Lebensbedingungen und nicht nur an Orten mit künstlich hervorgerufenem engem Kontakt zwischen Primaten, wie beispielsweise in Zoos. Häufige Rekombinationsereignisse zwischen HAdVs, die aus einer Virusübertragung zwischen Menschenaffen und Menschen resultieren, erhöhen die genetische Diversität von HAdVs und die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten neuer pathogener HAdV-Varianten (Walsh, Chintakuntlawar et al. 2009, Robinson, Singh et al. 2013).

Die Wahrscheinlichkeit für eine Infektion mit solchen rekombinanten AdVs ist für Bevölkerungsgruppen erhöht, die in Regionen von Subsahara-Afrika leben, zum einen aufgrund der hohen Prävalenz von HAdVs in Menschenaffen und zum anderen aufgrund überlappender Lebensräume von Menschen und Menschenaffen (durch mögliche fäkale Kontamination von Trinkwasser sowie durch die Jagd, das Schlachten und den Handel von Buschfleisch (Woolhouse und Gaunt 2007, Parrish, Holmes et al. 2008)).

Betrachtet man die Entwicklung von HIV und aktuell Ebola, so wird deutlich, welche Bedeutung Zoonosen für die Weltgesundheit darstellen und welche weitreichende Bedeutung solche Epidemien für die öffentliche Gesundheit besitzen. Da einige AdVs ein nachgewiesenes zoonotisches Potential besitzen und schwere Ausbrüche von Atemwegserkrankungen bei Menschen und Affen (Sanchez, Binn et al. 2001, Kandel, Srinivasan et al. 2010, Chen, Yagi et al. 2011, Chiu, Yagi et al. 2013) auslösen können, sollten weitere Untersuchungen an Primaten-AdVs in Sub-Sahara-Afrika durchgeführt werden, um aktuelle Übertragungsereignisse zu beobachten und die Faktoren zu ermitteln, die diese ermöglicht haben.

### Diversität und Evolution von Adenoviren bei Primaten in Subsahara-Afrika

Humane Adenoviren (HAdV A-G) sind in der Bevölkerung sowie bei nichthumanen Primaten (NHP) weit verbreitet. HAdV-B ist ein bedeutender Erreger bei Respirationstrakt-, Augen- und Harnwegsinfektionen des Menschen und wurde auch im Kot von NHP in großen Mengen nachgewiesen. Die Biodiversität und Evolution von HAdV-B wurde bisher nicht im Detail untersucht.

Ziel der vorliegenden Studie war es, die molekulare Epidemiologie von HAdV von Menschenaffen und Menschen im tropischen Afrika mit Schwerpunkt auf HAdV-B zu untersuchen, die Art und Häufigkeit der Übertragungen von HAdV-B zu bestimmen und rekombinante HAdV-B in wilden Menschenaffen zu identifizieren. Hierzu wurden 568 Kotproben von acht wilden Menschenaffen-Unterarten aus neun Waldgebieten in ganz Afrika südlich der Sahara in die Studie eingeschlossen. Zusätzlich wurden 292 Stuhlproben von Menschen untersucht, die in benachbarten Dörfern von vier der Waldgebiete lebten. Die Analyse aller Proben mit generischen und spezifischen PCR-Systemen ergab eine hohe HAdV-Prävalenz für alle Wirte: Die kumulative Primaten-AdV-Prävalenz lag bei 51% (75/146) bei Schimpansen, 94% (79/84) bei Bonobos, 74% (251/338) bei Gorillas, und 69% (201/292) beim Menschen. Während HAdV-C in allen untersuchten Spezies gefunden wurden, wurde HAdV-D nur bei Menschen und HAdV-E nur bei Schimpansen und Bonobos gefunden. HAdV-B wurde bei 55% aller untersuchten Gorillaspezies und in wenigen Schimpansen detektiert. HAdV-B wurden nicht bei Menschen und Bonobos gefunden.

Um die evolutionären Beziehungen von HAdV der Menschenaffen und Menschen zu untersuchen, wurde umfangreicheres Sequenzmaterial mittels Durchführung von Long Distance PCR erfasst, die einen Block aus 4 Genen (V, pX, pVI, Hexon) amplifiziert. Zuerst wurde die genetische Vielfalt mittels PhyML (maximum likelihood phylogenies) untersucht und dabei eine hohe Diversität in HAdV-B von Gorillas gefunden. In einem nächsten Schritt wurden im Rahmen einer Bayes-Analyse Gorillas als statistisch bestgestützte Wirtsvorfahren der gesamten HAdV-B-Gruppe identifiziert. Der Ursprung der Spezies HAdV-B in Gorillas geht einher mit Übertragungsereignissen auf Menschen und Schimpansen. Diese Übertragungsereignisse sind quantifiziert worden mit 6-7 Wirtswechseln vom Gorilla auf den Schimpansen sowie 2 Wirtswechseln vom Gorilla auf den Menschen.

Mithilfe eines Bayes-Chronogramms konnten die Übertragungen zeitlich eingeordnet werden, wobei eine niedrige HAdV-B-Übertragungsrate von Gorillas mit einem Mittelwert von 2,2 Übergängen zu Schimpansen pro Mio. J. und 0,7 Übergänge auf den Menschen pro Mio. J. errechnet wurde. Interessanterweise wurden Übertragungsereignisse ermittelt, die stattgefunden haben müssen bevor der moderne *Homo sapiens* auftrat, sodass schlussgefolgert werden kann, dass HAdV-B-Viren die Gesundheit des Menschen schon frühe Vorfahren des modernen Menschen beeinflusst haben müssen.

Wenn Übertragungen von HAdV-B zwischen Mensch und NHP auftreten, liegt die Vermutung nahe, dass auch eine Rekombination zwischen ihnen auftritt. Für Rekombinationsstudien von HAdV-B von wilden Gorillas wurden größere Genomfragmente mittels Amplifikation weit überlappender PCR-Fragmente erzeugt. Ein nahezu vollständiges HAdV-B-Genom von einem wilden Gorilla und bisher veröffentlichte HAdV-B Genome von NHP wurden mit einer mVISTA Analyse mittels paarweiser Genomvergleiche untersucht. Während der zentrale Teil des Genoms am ähnlichsten zu einem HAdV-B-Genom von einem in Gefangenschaft gehaltenen Gorilla (SAdV-28.2) ist, waren die äußeren Abschnitte am ehesten mit einem HAdV-B-Genom von einem in Gefangenschaft gehaltenen Schimpansen (SAdV-33) verwandt.

Nachfolgend wurden vergleichende phylogenetische Analysen durchgeführt, bei der allgemeine Hotspots (Pentonbasis, Hexon-Gen; Fiber-Gen) der AdV Rekombination untersucht wurden. Die ermittelten phylogenetischen Bäume zeigen Diskordanz in Form und Subgruppenkomposition des HAdV-B-Baums, was auf genomweite Rekombination während der Evolution der Mitglieder der Spezies HAdV-B in wilden Gorillas hindeutet. Es konnte aufgezeigt werden, dass Rekombination zwischen HAdV-B auch in natürlichen Lebensräumen und nicht nur unter Lebensbedingungen mit künstlich erzeugter Nähe zwischen Primaten, wie in Zoologischen Gärten, auftritt. Gegenwärtige Übertragungen von HAdV-B von Menschenaffen auf den Menschen mit anschließender Entstehung von pathogenen Rekombinanten kann somit nicht ausgeschlossen werden. Die Wahrscheinlichkeit für eine Infektion mit derartigen rekombinanten AdVs ist für Menschen in einigen Regionen Afrikas südlich der Sahara aufgrund der hohen Prävalenz von HAdV in NHP und der überlappenden Lebensräume von Mensch und Menschenaffen sowie der Jagd und dem Handel von Buschfleisch erhöht.

Aus den Erkenntnissen dieser Studie ist zu schlussfolgern, dass beim Menschen zirkulierende HAdV-B zoonotischen Ursprungs sind. Im Hinblick auf die erhebliche Bedeutung von Zoonosen für die öffentliche Gesundheit sind weitere Untersuchungen zu AdVs in Subsahara notwendig.

### **Diversity and evolution of adenoviruses in primates of sub-Saharan Africa**

Human adenoviruses (HAdV A-G) are highly prevalent in the human and nonhuman primate (NHP) population. HAdV-B is an important human pathogen causing respiratory tract-, eye- and urinary tract infections and also was detected in feces of great apes in large quantity. The origin and evolution of HAdV-B has so far not been studied in detail.

The goals of the present study were to study the molecular epidemiology of HAdV infecting great apes and humans in tropical Africa with focus on HAdV-B, to investigate the cross-species transmission frequency of HAdV-B and to explore HAdV-B recombination in wild great apes.

568 fecal samples were collected in the wild from eight great ape species and subspecies of nine forest sites throughout sub-Saharan Africa. In addition, 292 samples from people living in neighboring villages at four of these sites were tested. All samples were analyzed with generic and specific PCR systems. High prevalence of HAdVs was detected in all hosts. Cumulative primate AdV prevalence was 51% (75/146) in chimpanzees, 94% (79/84) in bonobos, 74% (251/338) in gorillas, and 69% (201/292) in humans. While we identified HAdV-C in all investigated species, HAdV-D was detected only in humans and HAdV-E in chimpanzees and bonobos. HAdV-B was found in 55% of all investigated gorilla samples and in some chimpanzee samples. Humans and bonobos were HAdV-B negative.

To examine the evolutionary relationships of great ape and human members of HAdV-species, additional sequence information was created by long-distance PCR amplifying a block of 4 genes (V, pX, pVI, hexon). First the genetic diversity comprised in this dataset was explored by performing a ML analysis using PhyML. A high HAdV-B diversity was found in gorillas. In a next step, gorillas were identified as the best supported ancestral host of the entire HAdV-B group performing a Bayesian framework followed by assumption that transmissions from gorillas to humans and chimpanzees must have occur. By quantifying these transmission events, the most frequent host switches were those from gorillas to chimpanzees with 6 to 7 transmissions. Two HAdV-B transmission events from gorillas to humans were identified.

With a Bayesian chronogram transmissions were located in time. The inferred rate of gorilla-derived HAdV-B transmission events was low, with a mean of 2.2 transitions to chimpanzees per My and 0.7 transitions to humans per My. Interestingly, some transmission events occurred before our species emerged. This indicated that HAdV-B affected human health for the entire lifetime of our species.

To identify recombinants of HAdV-B from wild gorillas larger genome fragments and a near complete genome were determined and in mVISTA analysis pairwise aligned. While the central part of the wild gorilla's HAdV-B genome was most similar to a captive gorilla's HAdV-B genome (SAdV-28.2) the outer portions were most closely related to a captive's chimpanzee HAdV-B genome (SAdV-33). In addition, a comparative phylogenomic approach was performed analyzing general hot spots (penton base to hexon gene; fiber gene) of AdV

recombination. The phylogenetic trees revealed discordance in HAdV-B tree shape and subclade composition indicating that genome-wide recombination occurred during evolution of wild gorilla's members of species HAdV-B. It was concluded that AdV recombination occurs also in natural habitats and not only in sites of artificially close inter-primate contact like zoological gardens.

The generated data show that current-day transmissions of HAdV-B members from great apes to humans with subsequent emergence of recombinants cannot be excluded. The likelihood for infection with such recombinant AdVs increases for people in some regions of sub-Saharan Africa, because of the high AdV prevalence in NHP, overlapping habitats of humans and great apes and bush meat hunting and trade.

Based on the data presented here it can be concluded that HAdV-B circulating in humans are of zoonotic origin. With regard to the importance of zoonoses for public health further investigations on primate AdVs in sub-Saharan disease outbreaks are needed.

Abbink, P., Lemckert, A. A., Ewald, B. A., Lynch, D. M., Denholtz, M., Smits, S., Holterman, L., Damen, I., Vogels, R., Thorner, A. R., O'Brien, K. L., Carville, A., Mansfield, K. G., Goudsmit, J., Havenga, M. J. und Barouch, D. H. (2007). "Comparative seroprevalence and immunogenicity of six rare serotype recombinant adenovirus vaccine vectors from subgroups B and D." J Virol **81**(9): 4654-4663.

Akusjärvi, G., Pettersson, U. & Roberts, R. J. (1986). Structure and function of the adenovirus-2 genome. Developments in Molecular Virology. Doerfler, W. Boston, Martinus Nijhoff. **8**: 53–95.

Atchison, R. W., Casto, B. C. und Hammon, W. M. (1965). "Adenovirus-associated defective virus particles." Science **149**(3685): 754-756.

Atkinson, R. L., Dhurandhar, N. V., Allison, D. B., Bowen, R. L., Israel, B. A., Albu, J. B. und Augustus, A. S. (2005). "Human adenovirus-36 is associated with increased body weight and paradoxical reduction of serum lipids." International journal of obesity **29**(3): 281-286.

Aulisio, C. G., Wong, D. C. und Morris, J. A. (1964). "Neutralizing antibodies against simian viruses SV5 and SV20 in human sera." Proc Soc Exp Biol Med **117**: 6-11.

Badger, G. F., Curtiss, C., Dingle, J. H., Ginsberg, H. S., Gold, E. und Jordan, W. S., Jr. (1956). "A study of illness in a group of Cleveland families. X. The occurrence of adenovirus infections." Am J Hyg **64**(3): 336-348.

Bailey, A. und Mautner, V. (1994). "Phylogenetic relationships among adenovirus serotypes." Virology **205**(2): 438-452.

Banyai, K., Esona, M. D., Liu, A., Wang, Y., Tu, X. und Jiang, B. (2010). "Molecular detection of novel adenoviruses in fecal specimens of captive monkeys with diarrhea in China." Vet Microbiol **142**(3-4): 416-419.

Benkö, M. und Harrach, B. (1998 ). "A proposal for a new (third) genus within the family Adenoviridae." Arch Virol. **143**((4)): 829-837.

Benkö, M., Harrach, B. und Russell, W. C. (2000). Family Adenoviridae. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. M. H. V. van Regenmortel, C. M. F., D. H. L. Bishop, E. B. Carstens, M. K. Estes, S. M. Lemon, J. Maniloff, M. A. Mayo, D. J. McGeoch, C. R. Pringle & R. B. Wickner. San Diego, Academic Press.

Benkö, M., Elo, P., Ursu, K., Ahne, W., LaPatra, S. E., Thomson, D. und Harrach, B. (2002). "First molecular evidence for the existence of distinct fish and snake adenoviruses." J Virol **76**(19): 10056-10059.

Benkö, M. und Harrach, B. (2003). "Molecular evolution of adenoviruses." Curr Top Microbiol Immunol **272**: 3-35.

- Benkö, M. und Harrach, B. (2011). Molecular evolution of adenoviruses. Adenoviruses: model and vectors in virus host interactions. Doerfler, W. New York, NY, Springer: 3-35.
- Berget, S. M., Moore, C. und Sharp, P. A. (1977). "Spliced segments at the 5' terminus of adenovirus 2 late mRNA." Proc Natl Acad Sci USA **74**(8): 3171-3175.
- Both, G. W. (2002). "Identification of a unique family of F-box proteins in adenoviruses." Virology **304**(2): 425-433.
- Bournsnel, M. E. G. und Mautner, V. (1981). "Recombination in adenovirus: Crossover sites in intertypic recombinants are located in regions of homology." Virology **112**(1): 198-209.
- Brandt, C. D., Kim, H. W., Vargosko, A. J., Jeffries, B. C., Arrobio, J. O., Rindge, B., Parrott, R. H. und Chanock, R. M. (1969). "Infections in 18,000 infants and children in a controlled study of respiratory tract disease. I. Adenovirus pathogenicity in relation to serologic type and illness syndrome." Am J Epidemiol **90**(6): 484-500.
- Cabasso, V. J. und Wilner, B. I. (1969). "Adenoviruses of animals other than man." Advances in veterinary science and comparative medicine **13**: 159-217
- Calvignac-Spencer, S., Leendertz, S. A., Gillespie, T. R. und Leendertz, F. H. (2012). "Wild great apes as sentinels and sources of infectious disease." Clin Microbiol Infect **18**(6): 521-527.
- Carter, R. und Mendis, K. N. (2002). "Evolutionary and historical aspects of the burden of malaria." Clin Microbiol Rev **15**(4): 564-594.
- Chen, E. C., Yagi, S., Kelly, K. R., Mendoza, S. P., Maninger, N., Rosenthal, A., Spinner, A., Bales, K. L., Schnurr, D. P., Lerche, N. W. und Chiu, C. Y. (2011). "Cross-Species Transmission of a Novel Adenovirus Associated with a Fulminant Pneumonia Outbreak in a New World Monkey Colony." PLoS Pathogens **7**: e1002155.
- Cheong, S., Lee, C., Song, S. W., Choi, W. C., Lee, C. H. und Kim, S. J. (2009). "Enteric viruses in raw vegetables and groundwater used for irrigation in South Korea." Appl Environ Microbiol **75**(24): 7745-7751.
- Chiu, C. Y., Yagi, S., Lu, X., Yu, G., Chen, E. C., Liu, M., Dick, E. J., Jr., Carey, K. D., Erdman, D. D., Leland, M. M. und Patterson, J. L. (2013). "A novel adenovirus species associated with an acute respiratory outbreak in a baboon colony and evidence of coincident human infection." MBio **4**(2): e00084.
- Chow, L. T., Gelinas, R. E., Broker, T. R. und Roberts, R. J. (1977). "An amazing sequence arrangement at the 5' ends of adenovirus 2 messenger RNA." Cell **12**(1): 1-8.
- Chroboczek, J., Ruigrok, R. W. und Cusack, S. (1995). "Adenovirus fiber." Curr Top Microbiol Immunol **199 ( Pt 1)**: 163-200.
- Crawford-Miksza, L. K. und Schnurr, D. P. (1996). "Adenovirus serotype evolution is driven by illegitimate recombination in the hypervariable regions of the hexon protein." Virology **224**(2): 357-367.

Cullen, B. R. (2001). "Journey to the center of the cell." Cell **105**(6): 697-700.

Curlin, M. E., Huang, M. L., Lu, X., Celum, C. L., Sanchez, J., Selke, S., Baeten, J. M., Zuckerman, R. A., Erdman, D. D. und Corey, L. (2010). "Frequent detection of human adenovirus from the lower gastrointestinal tract in men who have sex with men." PLoS One **5**(6): e11321.

Davison, A. J., Wright, K. M. und Harrach, B. (2000). "DNA sequence of frog adenovirus." J Gen Virol **81**(Pt 10): 2431-2439.

Davison, A. J., Benkö, M. und Harrach, B. (2003). "Genetic content and evolution of adenoviruses." J Gen Virol **84**(Pt 11): 2895-2908.

Dehghan, S., Seto, J., Jones, M. S., Dyer, D. W., Chodosh, J. und Seto, D. (2013). "Simian adenovirus type 35 has a recombinant genome comprising human and simian adenovirus sequences, which predicts its potential emergence as a human respiratory pathogen." Virology **447**(1-2): 265-273.

Dehghan, S., Seto, J., Liu, E. B., Walsh, M. P., Dyer, D. W., Chodosh, J. und Seto, D. (2013). "Computational analysis of four human adenovirus type 4 genomes reveals molecular evolution through two interspecies recombination events." Virology **443**(2): 197-207.

Dhurandhar, N. V., Israel, B. A., Kolesar, J. M., Mayhew, G. F., Cook, M. E. und Atkinson, R. L. (2000). "Increased adiposity in animals due to a human virus." Int J Obes Relat Metab Disord **24**: 989–996.

Dhurandhar, N. V., Israel, B. A., Kolesar, J. M., Mayhew, G. F., Cook, M. E. und Atkinson, R. L. (2001). "Transmissibility of adenovirus- induced adiposity in a chicken mode." Int J Obes Relat Metab Disord **25**: 990–996.

Dhurandhar, N. V., Whigham, L. D., Abbott, D. H., Schultz-Darken, N. J., Israel, B. A., Bradley, S. M., Kemnitz, J. W., Allison, D. B. und Atkinson, R. L. (2002). "Human adenovirus Ad 36 promoted weight gain in male rhesus and marmoset monkeys." J Nutr **132**: 3155–3160.

Dhurandhar, N. V. (2011). "A framework for identification of infections that contribute to human obesity." Lancet Infect Dis **11**(12): 963-969.

Dudding, B. A., Top, F. H., Jr., Winter, P. E., Buescher, E. L., Lamson, T. H. und Leibovitz, A. (1973). "Acute respiratory disease in military trainees: the adenovirus surveillance program, 1966-1971." Am J Epidemiol **97**(3): 187-198.

Duncan, M., Cranfield, M. R., Torano, H., Kuete, H. M., Lee, G. P., Glenn, A., Bruder, J. T., Rangel, D., Brough, D. E. und Gall, J. G. (2013). "Adenoviruses isolated from wild gorillas are closely related to human species C viruses." Virology **444**(1-2): 119-123.

Durepaire, N. (1997). "Detection of Adenovirus DNA by Polymerase Chain Reaction in Peripheral Blood Lymphocytes from HIV-Infected Patients and a Control Group: Preliminary Results." Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes & Human Retrovirology **14**: 189-190.



- Echavarria, M. (2008). "Adenoviruses in immunocompromised hosts." Clin Microbiol Rev **21**(4): 704-715.
- Enders, J. F., J. A. Bell, J. H. Dingle, T. Francis, Jr., M. R. Hilleman, R. J. Huebner, and A. M. Payne (1956). "Adenoviruses: group name proposed for new respiratory-tract viruses." Science **124**: 119-120.
- Falk, H., Durr, S., Hauser, R., Wood, K., Tenger, B., Lortscher, M. und Schupbach-Regula, G. (2013). "Illegal import of bushmeat and other meat products into Switzerland on commercial passenger flights." Rev Sci Tech **32**(3): 727-739.
- Fallaux, F. J., van der Eb, A. J. und Hoeben, R. C. (1999). "Who's afraid of replication-competent adenoviruses?" Gene Ther **6**(5): 709-712.
- Farina, S. F., Gao, G. P., Xiang, Z. Q., Rux, J. J., Burnett, R. M., Alvira, M. R., Marsh, J., Ertl, H. C. und Wilson, J. M. (2001). "Replication-defective vector based on a chimpanzee adenovirus." J Virol **75**(23): 11603-11613.
- Fong, T. T., Phanikumar, M. S., Xagorarakis, I. und J.B., R. (2010). "Quantitative detection of human adenoviruses in wastewater and combined sewer overflows influencing a Michigan river." Applied and Environmental Microbiology **76**(3): 715–723.
- Frauendorf, E. und Henke, W. (1999). Von Zoonosen zu Zooanthroponosen - faktorielle Voraussetzungen für Krankheiten und Epidemien früher menschlicher Populationen. Beiträge zur Archäozoologie und Prähistorischen Anthropologie **2**. May, E.: 246-250.
- Gallimore, P. H. (1972). "Tumour production in immunosuppressed rats with cells transformed in vitro by adenovirus type 2." J Gen Virol **16**(1): 99-102.
- Ganzenmueller, T., Buchholz, S., Harste, G., Dammann, E., Trenscher, R. und Heim, A. (2011). "High lethality of human adenovirus disease in adult allogeneic stem cell transplant recipients with high adenoviral blood load." J Clin Virol **52**(1): 55-59.
- Ganzenmueller, T. und Heim, A. (2012). "Adenoviral load diagnostics by quantitative polymerase chain reaction: techniques and application." Rev Med Virol **22**(3): 194-208.
- Garnett, C. T., Erdman, D., Xu, W. und Gooding, L. R. (2002). "Prevalence and quantitation of species C adenovirus DNA in human mucosal lymphocytes." J Virol **76**(21): 10608-10616.
- Gebreyes, W. A., Dupouy-Camet, J., Newport, M. J., Oliveira, C. J., Schlesinger, L. S., Saif, Y. M., Kariuki, S., Saif, L. J., Saville, W., Wittum, T., Hoet, A., Quessy, S., Kazwala, R., Tekola, B., Shryock, T., Bisesi, M., Patchanee, P., Boonmar, S. und King, L. J. (2014). "The global one health paradigm: challenges and opportunities for tackling infectious diseases at the human, animal, and environment interface in low-resource settings." PLoS Negl Trop Dis **8**(11): e3257.
- Ghebremedhin, B. (2014). "Human adenovirus: Viral pathogen with increasing importance." Eur J Microbiol Immunol (Bp) **4**(1): 26-33.

- Ginn, S. L., Alexander, I. E., Edelstein, M. L., Abedi, M. R. und Wixon, J. (2013). "Gene therapy clinical trials worldwide to 2012 - an update." J Gene Med **15**(2): 65-77.
- Gray, G. C., Callahan, J. D., Hawksworth, A. W., Fisher, C. A. und Gaydos, J. C. (1999). "Respiratory diseases among U.S. Military personnel: Countering emerging threats." Emerging Infectious Diseases **5**(3): 379-387.
- Gray, G. C. (2006). "Adenovirus transmission--worthy of our attention." J Infect Dis **194**(7): 871-873.
- Gray, G. C., McCarthy, T., Lebeck, M. G., Schnurr, D. P., Russell, K. L., Kajon, A. E., Landry, M. L., Leland, D. S., Storch, G. A., Ginocchio, C. C., Robinson, C. C., Demmler, G. J., Saubolle, M. A., Kehl, S. C., Selvarangan, R., Miller, M. B., Chappell, J. D., Zerr, D. M., Kiska, D. L., Halstead, D. C., Capuano, A. W., Setterquist, S. F., Chorazy, M. L., Dawson, J. D. und Erdman, D. D. (2007). "Genotype prevalence and risk factors for severe clinical adenovirus infection, United States 2004-2006." Clin Infect Dis **45**(9): 1120-1131.
- Greber, U. F., Willetts, M., Webster, P. und Helenius, A. (1993). "Stepwise dismantling of adenovirus 2 during entry into cells." Cell **75**(3): 477-486.
- Greber, U. F., Suomalainen, M., Stidwill, R. P., Boucke, K., Ebersold, M. W. und Helenius, A. (1997). "The role of the nuclear pore complex in adenovirus DNA entry." Embo j **16**(19): 5998-6007.
- Grodzicker, T., Anderson, C., Sharp, P. A. und Sambrook, J. (1974). "Conditional lethal mutants of adenovirus 2-simian virus 40 hybrids. I. Host range mutants of Ad2+ND1." J Virol **13**(6): 1237-1244.
- Gruss, A., Moretto, V., Ehrlich, S. D., Duwat, P. und Dabert, P. (1991). "GC-rich DNA sequences block homologous recombination in vitro." J Biol Chem **266**(11): 6667-6669.
- Hahn, B. H., Shaw, G. M., De Cock, K. M. und Sharp, P. M. (2000). "AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications." Science **287**(5453): 607-614.
- Hall, N. H., Archer, L. L., Childress, A. L. und Wellehan, J. F. J. (2012). "Identification of a novel adenovirus in a cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus*)." J Vet Diagn Invest **24**(2): 359-363.
- Haramoto, E., Kitajima, M., Katayama, H. und Ohgak, S. (2010). "Real-time PCR detection of adenoviruses, polyomaviruses, and torque teno viruses in river water in Japan." Water Research **44**(6): 1747-1752.
- Harrach, B. und Benkö, M. (2007). "Phylogenetic analysis of adenovirus sequences." Methods in molecular medicine **131**: 299-334.
- Harrach, B. (2008). Adenoviruses. General features. Encyclopedia of Virology. Mahy, B. W. J. and van Regenmortel, M. H. V. Oxford, Elsevier. **5**: 1-9.
- Harrach, B., Benkö, M., Both, G. W., Brown, M., Davison, A. J., Echavarría, M., Hess, M., Jones, M. S., Kajon, A., Lehmkuhl, H. D., Mautner, V., Mittal, S. K. und Wadell, G. (2011). Family Adenoviridae. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth

Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. King, A. M. Q., Adams, M. J., Carstens, E. B. and Lefkowitz, E. J. San Diego, Elsevier.

Hayashi, S. und Hogg, J. C. (2007). "Adenovirus infections and lung disease." Curr Opin Pharmacol **7**(3): 237-243.

Head, J., Boesch, C., Makaga, L. und Robbins, M. (2011). "Sympatric Chimpanzees (*Pan troglodytes troglodytes*) and Gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) in Loango National Park, Gabon: Dietary Composition, Seasonality, and Intersite Comparisons." International Journal of Primatology **32**: 755-775.

Hilleman, M. R. W., J. R. (1954). "Recovery of new agent from patients with acute respiratory illness." Proc Soc Exp Biol Med **85**(1): 183–188.

Huang, G. H. und Xu, W. B. (2013). "Recent advance in new types of human adenovirus." Bing Du Xue Bao **29**(3): 342-348.

Huebner, R. J., Rowe, W. P., Ward, T. G., Parrot, R. H. und Bell, J. A. (1954). "Adenoidal-pharyngeal-conjunctival agents: a newly recognized group of common viruses of the respiratory system." N Engl J Med **251**(27): 1077–1086.

Huet, T., Cheynier, R., Meyerhans, A., Roelants, G. und Wain-Hobson, S. (1990). "Genetic organization of a chimpanzee lentivirus related to HIV-1." Nature **345**(6273): 356-359.

Hull, R. N., Minner, J. R. und Smith, J. W. (1956). "New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells. I. Origin and properties of cytopathogenic agents S.V.1, S.V.2, S.V.4, S.V.5, S.V.6, S.V.11, S.V.12 and S.V.15." Am J Hyg **63**(2): 204-215.

Hull, R. N. und Minner, J. R. (1957). "New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells. II. Problems of isolation and identification." Ann N Y Acad Sci **67**(8): 413-423.

Hull, R. N., Minner, J. R. und Mascoli, C. C. (1958). "New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells. III. Recovery of additional agents both from cultures of monkey tissues and directly from tissues and excreta." Am J Hyg **68**(1): 31-44.

Hull, R. N., Johnson, I. S., Culbertson, C. G., Reimer, C. B. und Wright, H. F. (1965). "Oncogenicity of the simian adenoviruses." Science **150**(3699): 1044-1046.

Ishiko, H., Shimada, Y., Konno, T., Hayashi, A., Ohguchi, T., Tagawa, Y., Aoki, K., Ohno, S. und Yamazaki, S. (2008). "Novel human adenovirus causing nosocomial epidemic keratoconjunctivitis." Journal of Clinical Microbiology **46**(6): 2002-2008.

Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L. und Daszak, P. (2008). "Global trends in emerging infectious diseases." Nature **451**: 990-993.

Jones, M. S., 2nd, Harrach, B., Ganac, R. D., Gozum, M. M., Dela Cruz, W. P., Riedel, B., Pan, C., Delwart, E. L. und Schnurr, D. P. (2007). "New adenovirus species found in a patient presenting with gastroenteritis." J Virol **81**(11): 5978-5984.

- Junker, J., Blake, S., Boesch, C., Campbell, G., Toit Ld., Duvall, C., Ekobo, A., Etoga, G., Galat-Luong, A., . und Gamys, J. (2012). "Recent decline in suitable environmental conditions for African great apes." Diversity and Distributions **18**: 1077-1091.
- Kaján, G. L., Davison, A. J., Palya, V., Harrach, B. und Benkő, M. (2012). "Genome sequence of a waterfowl aviadenovirus, goose adenovirus 4." The Journal of general virology **93**: 2457-2465.
- Kajon, A. E., Lu, X., Erdman, D. D., Louie, J., Schnurr, D., George, K. S., Koopmans, M. P., Allibhai, T. und Metzgar, D. (2010). "Molecular epidemiology and brief history of emerging adenovirus 14-associated respiratory disease in the United States." J Infect Dis **202**(1): 93-103.
- Kampmann, B., Cubitt, D., Walls, T., Naik, P., Depala, M., Samarasinghe, S., Robson, D., Hassan, A., Rao, K., Gaspar, H., Davies, G., Jones, A., Cale, C., Gilmour, K., Real, M., Foo, M., Bennett-Rees, N., Hewitt, A., Amrolia, P. und Veys, P. (2005). "Improved outcome for children with disseminated adenoviral infection following allogeneic stem cell transplantation." Br J Haematol **130**(4): 595-603.
- Kandel, R., Srinivasan, A., D'Agata, E. M., Lu, X., Erdman, D. und Jhung, M. (2010). "Outbreak of adenovirus type 4 infection in a long-term care facility for the elderly." Infect Control Hosp Epidemiol **31**(7): 755-757.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P. und Drummond, A. (2012). "Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data." Bioinformatics **28**(12): 1647-1649.
- Kojaoghlanian, T., Flomenberg, P. und Horwitz, M. S. (2003). "The impact of adenovirus infection on the immunocompromised host." Rev Med Virol **13**(3): 155-171.
- Kosulin, K., Haberler, C., Hainfellner, J. A., Amann, G., Lang, S. und Lion, T. (2007). "Investigation of adenovirus occurrence in pediatric tumor entities." J Virol **81**(14): 7629-7635.
- Kosulin, K., Hoffmann, F., Clauditz, T. S., Wilczak, W. und Dobner, T. (2013). "Presence of adenovirus species C in infiltrating lymphocytes of human sarcoma." PLoS One **8**(5): e63646.
- Le Guenno, B., Formenty, P., Wyers, M., Gounon, P., Walker, F. und Boesch, C. (1995). "Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus." Lancet **345**(8960): 1271-1274.
- Leen, A. M., Bollard, C. M., Myers, G. D. und Rooney, C. M. (2006). "Adenoviral infections in hematopoietic stem cell transplantation." Biol Blood Marrow Transplant **12**(3): 243-251.
- Leendertz, F. H., Lankester, F., Guislain, P., Neel, C., Drori, O., Dupain, J., Speede, S., Reed, P., Wolfe, N., Loul, S., Mpoudi-Ngole, E., Peeters, M., Boesch, C., Pauli, G., Ellerbrok, H. und Leroy, E. M. (2006). "Anthrax in Western and Central African great apes." Am J Primatol **68**(9): 928-933.

- Leendertz, F. H., Yumlu, S., Pauli, G., Boesch, C., Couacy-Hymann, E., Vigilant, L., Junglen, S., Schenk, S. und Ellerbrok, H. (2006). "A new *Bacillus anthracis* found in wild chimpanzees and a gorilla from West and Central Africa." *PLoS Pathog* **2**(1): e8.
- Leroy, E. M., Gonzalez, J. P. und Baize, S. (2011). "Ebola and Marburg haemorrhagic fever viruses: major scientific advances, but a relatively minor public health threat for Africa." *Clin Microbiol Infect* **17**(7): 964-976.
- Lewis, P. F., Schmidt, M. A., Lu, X., Erdman, D. D., Campbell, M., Thomas, A., Cieslak, P. R., Grenz, L. D., Tsaknaris, L., Gleaves, C., Kendall, B. und Gilbert, D. (2009). "A community-based outbreak of severe respiratory illness caused by human adenovirus serotype 14." *J Infect Dis* **199**(10): 1427-1434.
- Lion, T., Kosulin, K., Landlinger, C., Rauch, M., Preuner, S., Jugovic, D. und Pötschger, U. (2010). "Monitoring of adenovirus load in stool by real-time PCR permits early detection of impending invasive infection in patients after allogeneic stem cell transplantation ." **24**: 20147979.
- Lion, T., Kosulin, K., Landlinger, C., Rauch, M., Preuner, S., Jugovic, D., Pötschger, U., Lawitschka, A., Peters, C., Fritsch, G. und Matthes-Martin, S. (2010). "Monitoring of adenovirus load in stool by real-time PCR permits early detection of impending invasive infection in patients after allogeneic stem cell transplantation." *Leukemia* **24**(4): 706-714.
- Lion, T. (2014). "Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients." *Clin Microbiol Rev* **27**(3): 441-462.
- Liu, W., Li, Y., Learn, G. H., Rudicell, R. S., Robertson, J. D., Keele, B. F., Ndjango, J. B., Sanz, C. M., Morgan, D. B., Locatelli, S., Gonder, M. K., Kranzusch, P. J., Walsh, P. D., Delaporte, E., Mpoudi-Ngole, E., Georgiev, A. V., Muller, M. N., Shaw, G. M., Peeters, M., Sharp, P. M., Rayner, J. C. und Hahn, B. H. (2010). "Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas." *Nature* **467**(7314): 420-425.
- Lonberg-Holm, K. und Philipson, L. (1969). "Early events of virus-cell interaction in an adenovirus system." *J Virol* **4**(4): 323-338.
- Lu, J., Wang, Q., Wang, H., Li, G. und Gao, G. (2011). "Molecular characterization of adenoviruses in fecal samples of captive bred rhesus macaques in China." *Vet Microbiol* **149**(3-4): 461-466.
- Luiz, L. N., Leite, J. P., Yokosawa, J., Carneiro, B. M., Pereira Filho, E., Oliveira, T. F., Freitas, G. R., Costa, L. F., Paula, N. T., Silveira, H. L., Nepomuceno, J. C. und Queiroz, D. A. (2010). "Molecular characterization of adenoviruses from children presenting with acute respiratory disease in Uberlandia, Minas Gerais, Brazil, and detection of an isolate genetically related to feline adenovirus." *Mem Inst Oswaldo Cruz* **105**(5): 712-716.
- Lukashev, A. N., Ivanova, O. E., Eremeeva, T. P. und Iggo, R. D. (2008). "Evidence of frequent recombination among human adenoviruses." *Journal of General Virology* **89**(2): 380-388.

- Malhi, Y., Adu-Bredu, S., Asare, R. A., Lewis, S. L. und Mayaux, P. (2013). "African rainforests: past, present and future." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **368**(1625): 20120312.
- Maluquer de Motes, C., Hundesa, A., Almeida, F. C., Bofill-Mas, S. und Girones, R. (2011). "Isolation of a novel monkey adenovirus reveals a new phylogenetic clade in the evolutionary history of simian adenoviruses." Virology **8**: 125.
- Mogabgab, W. J. (1968). "Acute respiratory illnesses in university (1962-1966), military and industrial (1962-1963) populations." Am Rev Respir Dis **98**(3): 359-379.
- Oelze, V. M., Head, J. S., Robbins, M. M., Richards, M. und Boesch, C. (2014). "Niche differentiation and dietary seasonality among sympatric gorillas and chimpanzees in Loango National Park (Gabon) revealed by stable isotope analysis." J Hum Evol **66**: 95-106.
- Parrish, C. R., Holmes, E. C., Morens, D. M., Park, E. C., Burke, D. S., Calisher, C. H., Laughlin, C. A., Saif, L. J. und Daszak, P. (2008). "Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases." Microbiol Mol Biol Rev **72**(3): 457-470.
- Pedersen, A. B. und Davies, T. J. (2009). "Cross-Species Pathogen Transmission and Disease Emergence in Primates." EcoHealth **6**(4): 496-508.
- Phan, T. G., Shimizu, H., Nishimura, S., Okitsu, S., Maneekarn, N. und Ushijima, H. (2006). "Human adenovirus type 1 related to feline adenovirus: evidence of interspecies transmission." Clin Lab **52**(9-10): 515-518.
- Pina, S., Puig, M., Lucena, F., Jofre, J. und Girones, R. (1998). "Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses." Appl Environ Microbiol **64**(9): 3376-3382.
- Purkayastha, A., Ditty, S. E., Su, J., McGraw, J., Hadfield, T. L., Tibbetts, C. und Seto, D. (2005). "Genomic and bioinformatics analysis of HAdV-4, a human adenovirus causing acute respiratory disease: implications for gene therapy and vaccine vector development." J Virol **79**(4): 2559-2572.
- Rapoza, N. P. (1967). "A classification of simian adenoviruses based on hemagglutination." Am J Epidemiol **86**(3): 736-745.
- Rapoza, N. P. und Atchinson, R. W. (1967). "Association of AAV-1 with simian adenoviruses." Nature **215**(5106): 1186-1187.
- Rayner, J. C., Liu, W., Peeters, M., Sharp, P. M. und Hahn, B. H. (2011). "A plethora of Plasmodium species in wild apes: a source of human infection?" Trends Parasitol **27**(5): 222-229.
- Robinson, C. M., Seto, D., Jones, M. S., Dyer, D. W. und Chodosh, J. (2011). "Molecular evolution of human species D adenoviruses." Infect Genet Evol **11**(6): 1208-1217.
- Robinson, C. M., Singh, G., Henquell, C., Walsh, M. P., Peigue-Lafeuille, H., Seto, D., Jones, M. S., Dyer, D. W. und Chodosh, J. (2011). "Computational analysis and identification of an

emergent human adenovirus pathogen implicated in a respiratory fatality." *Virology* **409**(2): 141-147.

Robinson, C. M., Singh, G., Lee, J. Y., Dehghan, S., Rajaiya, J., Liu, E. B., Yousuf, M. A., Betensky, R. A., Jones, M. S., Dyer, D. W., Seto, D. und Chodosh, J. (2013). "Molecular evolution of human adenoviruses." *Sci Rep* **3**: 1812.

Rosen, L. (1958). "Hemagglutination by adenoviruses." *Virology* **5**(3): 574-577.

Rouquet, P., Froment, J. M., Bermejo, M., Kilbourn, A., Karesh, W., Reed, P., Kumulungui, B., Yaba, P., Delicat, A., Rollin, P. E. und Leroy, E. M. (2005). "Wild animal mortality monitoring and human Ebola outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001-2003." *Emerg Infect Dis* **11**(2): 283-290.

Rowe, W. P., Huebner, R. J., Gilmore, L. K., Parrot, R. H. und Ward, T. G. (1953). "Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture." *Proc Soc Exp Biol Med* **84**(3): 570-573.

Rowe, W. P., Hartley, J. W. und Huebner, R. J. (1958). "Serotype composition of the adenovirus group." *Proc Soc Exp Biol Med* **97**(2): 465-470.

Roy, S., Gao, G., Clawson, D. S., Vandenberghe, L. H., Farina, S. F. und Wilson, J. M. (2004). "Complete nucleotide sequences and genome organization of four chimpanzee adenoviruses." *Virology* **324**(2): 361-372.

Roy, S., Vandenberghe, L. H., Kryazhimskiy, S., Grant, R., Calcedo, R., Yuan, X., Keough, M., Sandhu, A., Wang, Q., Medina-Jaszek, C. A., Plotkin, J. B. und Wilson, J. M. (2009). "Isolation and characterization of adenoviruses persistently shed from the gastrointestinal tract of non-human primates." *PLoS Pathog* **5**(7): e1000503.

Roy, S., Calcedo, R., Medina-Jaszek, A., Keough, M., Peng, H. und Wilson, J. M. (2011). "Adenoviruses in lymphocytes of the human gastro-intestinal tract." *PLoS One* **6**(9): e24859.

Russell, K. L., Broderick, M. P., Franklin, S. E., Blyn, L. B., Freed, N. E., Moradi, E., Ecker, D. J., Kammerer, P. E., Osuna, M. A., Kajon, A. E., Morn, C. B. und Ryan, M. A. (2006). "Transmission dynamics and prospective environmental sampling of adenovirus in a military recruit setting." *J Infect Dis* **194**(7): 877-885.

Sanchez, J. L., Binn, L. N., Innis, B. L., Reynolds, R. D., Lee, T., Mitchell-Raymundo, F., Craig, S. C., Marquez, J. P., Shepherd, G. A., Polyak, C. S., Conolly, J. und Kohlhasse, K. F. (2001). "Epidemic of adenovirus-induced respiratory illness among US military recruits: epidemiologic and immunologic risk factors in healthy, young adults." *J Med Virol* **65**(4): 710-718.

Scheiner, O. (2002). *Pathophysiologie viraler Infektionskrankheiten*, Facultas.

Schmitz, H., Wigand, R. und Heinrich, W. (1983). "Worldwide epidemiology of human adenovirus infections." *American Journal of Epidemiology* **117**(4): 455-466.

- Segerman, A., Arnberg, N., Erikson, A., Lindman, K. und Wadell, G. (2003). "There are two different species B adenovirus receptors: sBAR, common to species B1 and B2 adenoviruses, and sB2AR, exclusively used by species B2 adenoviruses." J Virol **77**(2): 1157-1162.
- Seimon, T. A., Olson, S. H., Lee, K. J., Rosen, G., Ondzie, A., Cameron, K., Reed, P., Anthony, S. J., Joly, D. O., McAloose, D. und Lipkin, W. I. (2015). "Adenovirus and herpesvirus diversity in free-ranging great apes in the Sangha region of the Republic Of Congo." PLoS One **10**(3): e0118543.
- Seth, P., Pastan, I. und Willingham, M. C. (1987). "Adenovirus-dependent changes in cell membrane permeability: role of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase." J Virol **61**(3): 883-888.
- Sharma, A., Li, X., Bangari, D. S. und Mittal, S. K. (2009). "Adenovirus receptors and their implications in gene delivery." Virus Res **143**(2): 184-194.
- Sharp, P. M. und Hahn, B. H. (2011). "Origins of HIV and the AIDS pandemic." Cold Spring Harb Perspect Med **1**(1): a006841.
- Sharp, P. M., Rayner, J. C. und Hahn, B. H. (2013). "Evolution. Great apes and zoonoses." Science **340**(6130): 284-286.
- Sibanda, T. und Okoh, A. I. (2012). "Assessment of the incidence of enteric adenovirus species and serotypes in surface waters in the eastern cape province of South Africa: Tyume River as a case study." ScientificWorldJournal **2012**: 949216.
- Smith, K. M., Anthony, S. J., Switzer, W. M., Epstein, J. H., Seimon, T., Jia, H., Sanchez, M. D., Huynh, T. T., Galland, G. G., Shapiro, S. E., Sleeman, J. M., McAloose, D., Stuchin, M., Amato, G., Kolokotronis, S. O., Lipkin, W. I., Karesh, W. B., Daszak, P. und Marano, N. (2012). "Zoonotic viruses associated with illegally imported wildlife products." PLoS One **7**(1): e29505.
- Snow, R. W., Guerra, C. A., Noor, A. M., Myint, H. Y. und Hay, S. I. (2005). "The global distribution of clinical episodes of Plasmodium falciparum malaria." Nature **434**(7030): 214-217.
- Sundararaman, S. A., Liu, W., Keele, B. F., Learn, G. H., Bittinger, K., Mouacha, F., Ahuka-Mundeke, S., Manske, M., Sherrill-Mix, S., Li, Y., Malenke, J. A., Delaporte, E., Laurent, C., Mpoudi Ngole, E., Kwiatkowski, D. P., Shaw, G. M., Rayner, J. C., Peeters, M., Sharp, P. M., Bushman, F. D. und Hahn, B. H. (2013). "Plasmodium falciparum-like parasites infecting wild apes in southern Cameroon do not represent a recurrent source of human malaria." Proc Natl Acad Sci U S A **110**(17): 7020-7025.
- Suparno, C., Milligan, D. W., Moss, P. A. und Mautner, V. (2004). "Adenovirus infections in stem cell transplant recipients: recent developments in understanding of pathogenesis, diagnosis and management." Leuk Lymphoma **45**(5): 873-885.
- Tatsis, N. und Ertl, H. C. (2004). "Adenoviruses as vaccine vectors." Mol Ther **10**(4): 616-629.
- Taylor, L. H., Latham, S. M. und Woolhouse, M. E. (2001). "Risk factors for human disease emergence." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **356**(1411): 983-989.



- Tong, S., Singh, J., Ruone, S., Humphrey, C., Yip, C. C., Lau, S. K., Anderson, L. J. und Kaur, T. (2010). "Identification of adenoviruses in fecal specimens from wild chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) in western Tanzania." Am J Trop Med Hyg **82**(5): 967-970.
- Top, F. H., Jr., Dudding, B. A., Russell, P. K. und Buescher, E. L. (1971). "Control of respiratory disease in recruits with types 4 and 7 adenovirus vaccines." Am J Epidemiol **94**(2): 142-146.
- Trentin, J. J., Yabe, Y. und Taylor, G. (1962). "The quest for human cancer viruses." Science **137**: 835-841
- van Heerden, J., Ehlers, M. M., Heim, A. und Grabow, W. O. (2005). "Prevalence, quantification and typing of adenoviruses detected in river and treated drinking water in South Africa." J Appl Microbiol **99**(2): 234-242.
- Vora, G. J., Lin, B., Gratwick, K., Meador, C., Hansen, C., Tibbetts, C., Stenger, D. A., Irvine, M., Seto, D., Purkayastha, A., Freed, N. E., Gibson, M. G., Russell, K. und Metzgar, D. (2006). "Co-infections of adenovirus species in previously vaccinated patients." Emerg Infect Dis **12**(6): 921-930.
- Wadell, G., Varsanyi, T. M., Lord, A. und Sutton, R. N. (1980). "Epidemic outbreaks of adenovirus 7 with special reference to the pathogenicity of adenovirus genome type 7b." Am J Epidemiol **112**(5): 619-628.
- Wadell, G. (1984). "Molecular epidemiology of human adenoviruses." Curr Top Microbiol Immunol **110**: 191-220.
- Walsh, M. P., Chintakuntlawar, A., Robinson, C. M., Madisch, I., Harrach, B., Hudson, N. R., Schnurr, D., Heim, A., Chodosh, J., Seto, D. und Jones, M. S. (2009). "Evidence of molecular evolution driven by recombination events influencing tropism in a novel human adenovirus that causes epidemic keratoconjunctivitis." PLoS ONE **4**(6): e5635.
- Walsh, M. P., Seto, J., Jones, M. S., Chodosh, J., Xu, W. und Seto, D. (2010). "Computational analysis identifies human adenovirus type 55 as a re-emergent acute respiratory disease pathogen." J Clin Microbiol **48**(3): 991-993.
- Walsh, P. D., Breuer, T., Sanz, C., Morgan, D. und Doran-Sheehy, D. (2007). "Potential for Ebola transmission between gorilla and chimpanzee social groups." Am Nat **169**(5): 684-689.
- Wang, Y., Tu, X., Humphrey, C., McClure, H., Jiang, X., Qin, C., Glass, R. I. und Jiang, B. (2007). "Detection of viral agents in fecal specimens of monkeys with diarrhea." J Med Primatol **36**(2): 101-107.
- Wevers, D., Leendertz, F. H., Scuda, N., Boesch, C., Robbins, M. M., Head, J., Ludwig, C., Kuhn, J. und Ehlers, B. (2010). "A novel adenovirus of Western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*)." Virology **7**: 303.
- Wevers, D., Metzger, S., Babweteera, F., Bieberbach, M., Boesch, C., Cameron, K., Couacy-Hymann, E., Cranfield, M., Gray, M., Harris, L. A., Head, J., Jeffery, K., Knauf, S., Lankester, F., Leendertz, S. A., Lonsdorf, E., Mugisha, L., Nitsche, A., Reed, P., Robbins, M.,

- Travis, D. A., Zommers, Z., Leendertz, F. H. und Ehlers, B. (2011). "Novel adenoviruses in wild primates: a high level of genetic diversity and evidence of zoonotic transmissions." J Virol **85**(20): 10774-10784.
- Williams, J., Grodzicker, T., Sharp, P. und Sambrook, J. (1975). "Adenovirus recombination: physical mapping of crossover events." Cell **4**(2): 113-119.
- Wold, W. S. M. und Horowitz, M. S. (2007). Adenoviridae. Fields virology. al., D. M. K. e. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins. **2**: 2395–2436.
- Wolfe, N. D., Prosser, T. A., Carr, J. K., Tamoufe, U., Mpoudi-Ngole, E., Torimiro, J. N., LeBreton, M., McCutchan, F. E., Birx, D. L. und Burke, D. S. (2004). "Exposure to nonhuman primates in rural Cameroon." Emerg Infect Dis **10**(12): 2094-2099.
- Wolfe, N. D., Dunavan, C. P. und Diamond, J. (2007). "Origins of major human infectious diseases." Nature **447**(7142): 279-283.
- Woolhouse, M. und Gaunt, E. (2007). "Ecological origins of novel human pathogens." Crit Rev Microbiol **33**(4): 231-242.
- Yabe, Y., Trentin, J. J. und Taylor, G. (1962). "Cancer induction in hamsters by human type 12 adenovirus. Effect of age and of virus dose." Proc Soc Exp Biol Med **111**: 343–344.
- Yabe, Y., Samper, L., Bryan, E., Taylor, G. und Trentin, J. J. (1964). "Oncogenic effect of human adenovirus type 12 in mice." Science **143**: 46–47.
- Yamagiwa, J. und Basabose, A. K. (2006). "Diet and seasonal changes in sympatric gorillas and chimpanzees at Kahuzi-Biega National Park." Primates **47**(1): 74-90.
- Yamagiwa, J. und Basabose, A. K. (2009). "Fallback foods and dietary partitioning among Pan and Gorilla." Am J Phys Anthropol **140**(4): 739-750.
- Yu, G., Yagi, S., Carrion, R., Chen, E. C., Liu, M., Brasky, K. M., Lanford, R. E., Kelly, K. R., Bales, K. L., Schnurr, D. P., Canfield, D. R., Patterson, J. L. und Chiu, C. Y. (2013). "Experimental cross-species infection of common marmosets by titi monkey adenovirus." PloS one **8**(7): e68558.
- Zhou, C., Tian, H., Wang, X., Liu, W., Yang, S., Shen, Q., Wang, Y., Ni, B., Chen, S., Fu, X., Fei, R. und Zhang, W. (2014). "The genome sequence of a novel simian adenovirus in a chimpanzee reveals a close relationship to human adenoviruses." Arch Virol **159**(7): 1765-1770.

Publikationen

**1. Multiple cross-species transmission events of human adenoviruses (HAdV) during hominine evolution**

Autoren: Eileen Hoppe, Maude Pauly, Thomas R. Gillespie, Chantal Akoua-Koffi, Gottfried Hohmann, Barbara Fruth, Stomy Karhemere, Nadège F. Madinda, Lawrence Mugisha, Jean-Jacques Muyembe, Angelique Todd, Klara J. Petrzekova, Maryke Gray, Martha Robbins, Richard A. Bergl, Roman M. Wittig, Klaus Zuberbühler, Christophe Boesch, Grit Schubert, Fabian H. Leendertz, Bernhard Ehlers und Sébastien Calvignac-Spencer

Journal: Molecular Biology and Evolution (Impact factor: 9.105)  
Volume 32, Ausgabe 8, Seiten 2072–2084  
Veröffentlicht: August 2015

DOI: 10.1093/molbev/msv090

Eigene Beiträge: Mein Anteil an dieser Veröffentlichung war die selbständige Planung und Etablierung aller dargestellten molekularbiologischen Untersuchungen, die Testung der Proben und die Sequenzgenerierung der Teilgenome. Für die molekularbiologischen Untersuchungen erhielt ich Unterstützung von S. Liebmann und N. Yasmum. Ich war maßgeblich an der Datenauswertung und am Erstellen des Manuskripts beteiligt.

**2. Phylogenomic evidence for recombination of adenoviruses in wild gorillas**

Autoren: Eileen Hoppe, Maude Pauly, Martha Robbins, Maryke Gray, Deo Kujirakwinja, Radar Nishuli, Dieu-donné Boji Mungu-Akonkwa, Fabian H. Leendertz, Bernhard Ehlers

Journal: Journal of General Virology (Impact factor: 3.183)  
Volume 96, Ausgabe 10, Seiten 3090-3098  
Veröffentlicht: Oktober 2015

DOI: 10.1099/jgv.0.000250

Eigene Beiträge: Mein Anteil an dieser Veröffentlichung war die selbständige Planung und Etablierung aller dargestellten molekularbiologischen Untersuchungen, die Testung der Proben, die Sequenzgenerierung der Teilgenome und Kompletengenome, die Auswertung der Daten und das Erstellen des Manuskripts.

**3. High prevalence and diversity of species D adenoviruses (HAdV-D) in human populations of four Sub-Saharan countries.**

Autoren: Maude Pauly, Eileen Hoppe, Lawrence Mugisha, Klara Petrzekova, Chantal Akoua-Koffi, Emmanuel Couacy-Hymann, Augustin Etile Anoh, Arsène Mossoun, Grit Schubert, Lidewij Wiersma, Sabwe Pascale, Jean-Jacques Muyembe, Stomy Karhemere, Sabrina Weiss, Siv Aina Leendertz, Sébastien Calvignac-Spencer, Fabian H Leendertz und Bernhard Ehlers

Journal: Virology Journal (Impact factor: 2.18)  
Volume 11, Ausgabe 25  
Veröffentlicht: Februar 2014

DOI: 10.1186/1743-422X-11-25

Eigene Beiträge: Bei dieser Veröffentlichung war ich an der Planung und Etablierung der dargestellten molekularbiologischen Untersuchungen, der Testung der Proben und der Sequenzgenerierung der Teilgenome beteiligt.

Vorträge

**1. Primate Adenoviruses in Subsaharan Africa**

Autoren: Eileen Hoppe  
Veranstaltung: Virologisches Seminar (Robert Koch-Institut Berlin)  
Datum: 18.02.2013

Poster

**1. Do Human Adenoviruses of Species B originate from Gorillas?**

Autoren: Eileen Hoppe, Nadège F. Madinda, Martha Robbins, Maryke Gray, Lawrence Mugisha, Klara J. Petrzekova, Zinta Zommers, Gottfried Hohmann, Christophe Boesch, K.A. Shutt, Angelique Todd, Fabian H. Leendertz, Bernhard Ehlers

Veranstaltung: National Symposium on Zoonoses Research (Berlin)  
Datum: 11.10.2012

**2. Do Human Adenoviruses of Species B originate from Gorillas?**

Autoren: Eileen Hoppe, Nadège F. Madinda, Martha Robbins, Maryke Gray, Lawrence Mugisha, Klara J. Petrzekova, Z. Zommers, Gottfried Hohmann, Christophe Boesch, K.A. Shutt, Angelique Todd, Fabian H. Leendertz, Bernhard Ehlers

Veranstaltung: Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie (Kiel)  
Datum: 08.03.2013

**3. Do Human Adenoviruses of Species B originate from Gorillas?**

Autoren: Eileen Hoppe

Veranstaltung: Diplomanden-Doktoranden-Treffen (Robert Koch-Institut Berlin)

Datum: 16.11.2012

**4. Human Adenovirus B originate from Gorillas**

Autoren: Eileen Hoppe

Veranstaltung: Diplomanden-Doktoranden-Treffen (Robert Koch-Institut Berlin)

Datum: 13.12.2013

## **10 DANKSAGUNG**

---

Mein besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Kerstin Borchers für ihre Bereitschaft, diese Arbeit zu betreuen, zu unterstützen und zu begutachten.

Ein großer Dank gebührt Herrn Dr. Bernhard Ehlers für die Bereitstellung des hochinteressanten Themas und für die weitreichende Betreuung der Dissertation, die sich durch zahlreiche konstruktive Fachgespräche und ständige Ansprechbarkeit ausgezeichnet hat.

Des Weiteren danke ich Dr. Fabian Leendertz für die kooperative Zusammenarbeit und vor allem für die Bereitstellung des einzigartigen Probenmaterials.

Mein gebührender Dank für das mir zur Verfügung gestellte Probenmaterial gilt auch Herrn Prof. Dr. Christophe Boesch aus dem Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie sowie einer Vielzahl von Arbeitsgruppen in Afrika. Eine genaue Auflistung dieser, ist den Danksagungen der Veröffentlichungen im Publikationsteil zu entnehmen.

Ein großes Dankeschön geht an Dr. Sebasti n Calvignac-Spencer für seine geduldigen Erklärungen und Hilfestellungen sowie die Durchführung der umfangreichen phylogenetischen Analysen.

Frau Prof. Dr. Anette Mankertz danke ich herzlich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Ein großer Dank geht ebenso an alle Mitarbeiter der Arbeitsgruppe FG12, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen. Insbesondere danke ich Nezlisah Yasmum, Sonja Liebmann und Sarah-Verena Korup-Schulz, die mir das Vollenden dieser Arbeit sowohl mit einer angenehmen Arbeitsatmosphäre als auch mit zahlreichen Ratschlägen und tatkräftiger Unterstützung erleichtert haben.

Herzlich danke ich meinem Ehemann und meiner Familie, die mir während der Anfertigung der Doktorarbeit immerzu unterstützend und liebevoll zur Seite standen.

## **11 SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG**

---

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 20.10.2016

Eileen Hoppe