

Filovirus – Auslöser von hämorrhagischem Fieber

Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern wird als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundheitsbl. 41, 53, 1998). Sämtliche Stellungnahmen sind verfügbar unter www.rki.de.

1. Wissensstand über den Erreger

Die Familie der *Filoviridae* wird in die Ordnung *Mononegavirales* eingeordnet, die sieben weitere Virusfamilien umfasst, wie die *Bornaviridae*, *Nyamiviridae* (nicht-humanpathogene Viren, die Ze-

cken und Vögel befallen), *Rhabdoviridae* und *Paramyxoviridae* [1]. Die Familie der *Filoviridae* wird wiederum in drei Genera unterteilt: *Cuevavirus*, *Ebolavirus* und *Marburgvirus*, die, wie in der **Tab. 1** gezeigt, in verschiedene Spezies unterteilt werden [2–9].

Die beiden Filovirus-Genera *Ebola* und *Marburg* werden in den Tropen zoonotisch von verschiedenen fruchtfressenden Fledermausspezies oder weiteren im Regenwald lebenden Tieren wie Ducker, Gorillas oder Schimpansen auf den Menschen übertragen. Wie der Ausbruch 2013 bis 2016 in West-Afrika zeigte, kann auch ein urbaner/humaner Zyklus zu einer hohen Zahl an Infizierten und Toten führen, ohne dass ein animaler Zwischenwirt notwendig ist [10]. Für das Restonvirus sind neben den Primaten auch Schweine ein häufiger Wirt [9]. Natürliche Wirte für das Lloviuvirus sind Insekten-fressende Fledermäuse (*Miniopterus schreibersii*), für die dieses Virus eine hohe Letalität hat, nicht jedoch für den Menschen [8].

Historische Ausbrüche von Filoviren

1967 wurde das erste Filovirus in Marburg charakterisiert, welches von afrikanischen Grünen Meerkatzen bei Arbeiten im Labor auf Menschen übertragen wurde [11]. Gleichzeitig fand eine weitere affeninduzierte Übertragung in Belgrad im damaligen Jugoslawien statt. 1976 ereignete sich ein großer Ausbruch von hämorrhagischem Fieber in Yambuku, Demokratische Republik Kongo (bis 1997 Zaire), der vor allem durch unzureichende Krankenhaushygiene insgesamt 318 Fälle umfasste, von denen 280 verstarben (**Tab. 2**; [12]). Das aus Patienten in Yambuku isolierte Virus wurde nach dem dortigen Fluss Ebola als Ebolavirus (EBOV) benannt. Ein weiterer Ausbruch mit dem Sudan Ebolavirus betraf 1976 insgesamt 284 Fälle [13, 14]. 1987 gab es eine tödlich verlaufende Infektion mit dem Ravnvirus (RAVV) in einem Nationalpark in Kenia [15]. 1994 wurde eine schweizerische Wissenschaftlerin, die eine Autopsie an einem ver-

Tab. 1 Taxonomie [3] und Übersicht über die verschiedenen Filoviren, ihr Vorkommen und ihre Pathogenität

Genus	Spezies	Virus (Abkürzung)	Vorkommen	Letalität (%) beim Menschen
Cuevavirus	Lloviu Cuevavirus	Lloviuvirus (LLOV)	Spanien, Frankreich, Portugal	Keine (0)
Ebolavirus	Zaire Ebolavirus	Ebolavirus (EBOV)	Tropisches Afrika	Hoch (40–90)
	Sudan Ebolavirus	Sudavirus (SUDV)	Tropisches Afrika	Hoch (40–70)
	Reston Ebolavirus	Restonvirus (RESTV)	Philippinen	Keine (0)
	Taï Forest Ebolavirus	Taï Forest Virus (TAFV)	Côte d’Ivoire	Niedrig (nur 1 Fall)
Marburgvirus	Bundibugyo Ebolavirus	Bundibugyovirus (BDVB)	Uganda	Mittel (30–40)
	Marburgvirus	Marburgvirus (MARV)	Uganda, Republik Kongo, Angola	Hoch (20–90)
		Ravnvirus (RAVV)	Kenia, Uganda	Mittel (30)

Tab. 2 Filovirus-Übertragung auf den Menschen		
Virus	Land	Zeit/Jahr
MARV	Kenia	1960–1967
MARV	Südafrika aus Zimbabwe/Gabun	1975, 1996
EBOV	Demokratische Republik Kongo (bis 1997 Zaire)	1976–2016
SUDV	Sudan	1976–2011
TAFV	Elfenbeinküste	1994 (nur 1 humaner Fall berichtet)
EBOV	Gabun	1994–2002
MARV	Demokratische Republik Kongo	1999–2000
EBOV	Uganda	2000–2013
EBOV	Republik Kongo	2001–2006
MARV	Angola	2005
MARV	Uganda	2007–2014, 2017

deten Schimpansen im Taï Regenwald/Elfenbeinküste durchführte, mit dem Taï Forest Virus (TAFV) infiziert und überlebte die Erkrankung [9, 16]. 1995 brach EBOV in Kikwit, Demokratische Republik Kongo, mit 317 Fällen und erhöhter nosokomialer Ausbreitung aus. Die Letalität lag bei 77 % [17].

Wird das Ausbruchsgeschehen in Afrika zusammengefasst, dann gibt es alle 2 bis 7 Jahre Filovirus-Ausbrüche mit 1 bis 400 Infizierten, wobei der Ausbruch mit dem EBOV Makona in West-Afrika 2013–2016 der bisher größte war mit etwa 30.000 Infizierten, von denen etwa 11.500 verstarben (Letalität 39 %) [5, 18]. Übersichten der bisher bekannten Ausbrüche beim Menschen und anderen Primaten durch Ebolavirus und Marburgvirus und der durch diese Viren potenziell gefährdeten Regionen liefern die Arbeiten von Pigott et al. [19–21] und Coltart et al. [22].

Das Restonvirus (RESTV) wurde 1989 in Virginia, USA, während eines Ausbruchs von hämorrhagischem Fieber bei aus den Philippinen stammenden Javaner-Affen (*Macaca fascicularis*) entdeckt [23]. RESTV kann Menschen infizieren, es ist bisher jedoch keine Erkrankung beim Menschen beschrieben worden.

Evolution der humanpathogenen Filoviren

Das Alter von Filoviren wird nach den analysierten Genommutationen der Nukleinsäuresequenzen der verschiedenen Viren über den MRCA (*most recent common*

ancestor) auf minimal etwa 70.000 Jahre berechnet [24]; andere Berechnungen kommen auf mehrere Millionen Jahre [25]. Filovirus-Nukleoprotein-Nukleinsäuresequenzen, die im Säugetiergenom gefunden wurden, weisen auf ein Alter von weniger als 10.000 Jahren hin [26].

Für Ebolaviren-Gensequenzen zeigte sich, dass die Virusproteine VP24 und VP40 stärker konserviert sind als die Sequenz der RNA-Polymerase L. Die größte Variabilität findet sich in den Sequenzen des Transmembranproteins GP, weshalb diese für die Berechnung von Mutationsraten herangezogen werden [27]. Für das Genus *Ebolavirus* errechnet sich eine Mutationsrate von 8 bis $23,1 \cdot 10^{-4}$ Substitutionen pro Position pro Jahr (*substitutions/site/year*). Die Raten zwischen EBOV, SUDV und RESTV sind mit 7,66 und 13,9 und $10,6 \cdot 10^{-4}$ nicht signifikant unterschiedlich [28]. Eine auf *whole genome*-Sequenzen aller Filovirus-Spezies basierende phylogenetische Analyse ermittelte ein Alter der Filoviren von etwa 10.400 Jahren. Während die divergierende Entwicklung der Marburgviren vermutlich erst vor ca. 1100 Jahren einsetzte, liegt die Aufspaltung der Ebolaviren bereits ca. 4400 Jahre zurück. Ein gemeinsamer phylogenetischer Vorfahre von Cuevaviren und Ebolaviren existierte vermutlich vor ca. 7600 Jahren [29].

Die Genomanalyse von EBOV Makona der Epidemie in West-Afrika zeigte anhand der häufigen Mutationen *intra*- und *inter*-host-Varianten [30], das Auftreten von Quasispezies [31] und ei-

nen wiederholten Wechsel des EBOV zwischen Guinea und Sierra Leone [32].

1.1 Erregerigenschaften

1.1.1 Virusstruktur

Filoviren bilden durch das Zusammenhaften einzelner Viruspartikel lange Fäden unterschiedlicher Länge mit einem Durchmesser von etwa 80 nm und einer Länge bis zu 800–1000 nm. Sie haben eine Hülle und ein negativ orientiertes Einzelstrang (ss) RNA-Genom. Das etwa 19 kb lange Genom wird am 3' und 5' Ende von sehr langen UTR (*untranslated region*) flankiert und besteht aus den Genen für 7 Proteine: NP (*nucleoprotein*), VP35 (*viral protein/virion protein*), VP40, GP/sGP (*glycoprotein/soluble glycoprotein*), VP30, VP24 und L (*large protein* oder *RNA-dependent RNA polymerase*) [9, 10]. Die Reihenfolge der Gene ist für Marburg-, Cueva- und Ebolavirus gleich (siehe **Abb. 1**). Das Genom des Marburgvirus unterscheidet sich von dem des Ebolavirus durch den Nukleinsäuren-Abstand zwischen den einzelnen Genen und durch Teile der Nukleinsäure-Sequenz. Im Gegensatz zum Marburgvirus wird im Ebolavirus- und Cuevavirus-GP-Gen neben einem strukturellen Glykoprotein (GP) zusätzlich ein lösliches (sGP) kodiert. Lösliches GP wird von virusinfizierten Zellen sezerniert, was durch einen *non-template*-Adenosineinbau in das Transkript durch die Polymerase L möglich wird; es wirkt immunsuppressiv (siehe unten) [10].

Die Funktionen der einzelnen Filovirus-Proteine sind [10, 36, 37]:

NP Aufbau des Kapsids, das sich um die virale RNA lagert und diese schützt.

VP35 bindet an das Nukleokapsid und bildet einen wichtigen Kofaktor der Polymerase L. Abhängig von der Phosphorylierung wird die Transkriptase und Replikase-Aktivität der Polymerase reguliert. VP35 wirkt immunsuppressiv. Es blockiert die Induktion von IFN- γ und die zelluläre Funktion durch die Faktoren RLR (*RIG-1-like receptors*) sowie die Phosphorylierung der Zytokine IRF3 und IRF7 (*interferon regulatory factor*) und folglich eine Ausreifung und damit volle Funktion der dendritischen Zellen.

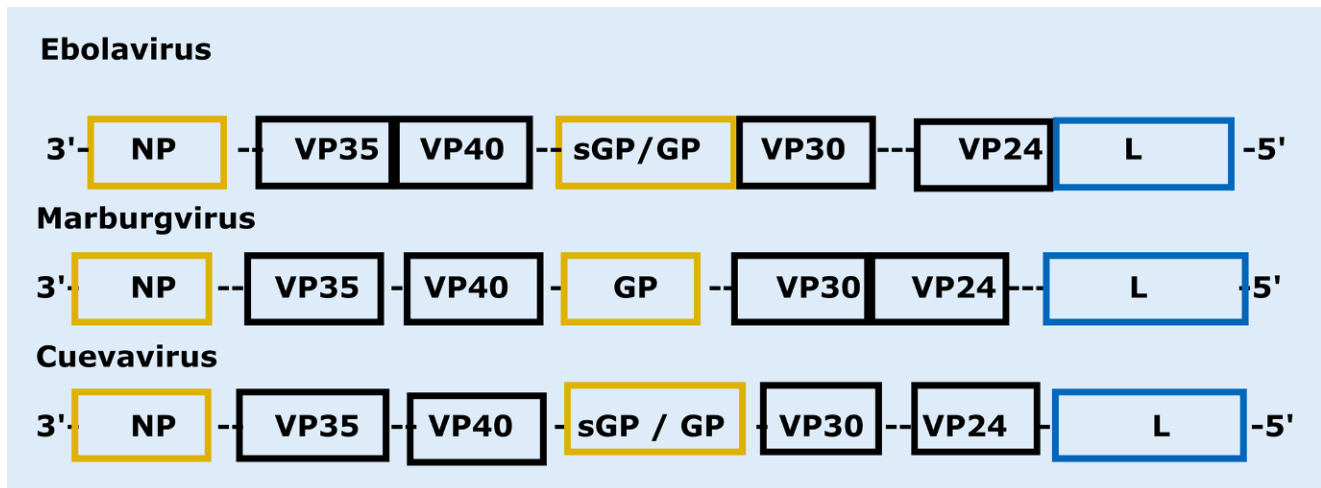


Abb. 1 ▲ Schematischer Genomaufbau von Ebolavirus, Marburgvirus und Cuevavirus. Das Genom besteht aus 7 Genen, die die gleiche Anordnung, aber unterschiedlichen Abstand voneinander haben, und ist ca. 19 kb lang. L steht für large protein entsprechend der RNA-abhängigen RNA-Polymerase mit zusätzlicher Methyltransferase- und Guanyltransferase-Aktivität (*in blau*). Hellbraun sind die Gene für die Strukturproteine. Schema in Anlehnung an [33–35]

VP40 ist das Matrix-Protein. VP40 trägt zur Integrität der Virusstruktur bei und ist notwendig für die Virusfreisetzung aus der Zelle durch Bildung von Aggregaten an der zytoplasmatischen Plasmamembran der Wirtszelle. Bei MARV ist es ein Antagonist der Interferon-Antwort.

GP ist ein Typ-1-Transmembran-Protein, das die äußere Hülle des Virus bildet und die protektiven antigenen Epitope trägt. GP lagert sich an den Niemann-Pick C1-Rezeptor von Zellen an und führt zur Fusion von Virus- und Zellmembran und zum Zelleintritt. GP erhöht die Geschwindigkeit des Ausknospens des Virus. Es moduliert die Immunfunktion; als sGP wird dieses Protein von der Wirtszelle sezerniert. Die Ebolavirus-GP sind je nach Stamm verschieden glykosyliert; es können allein 50 verschiedene N- oder O-Glykane unterschieden werden [38].

VP30 bindet an das Nukleokapsid, aktiviert die Transkription und fördert die Verpackung der ssRNA.

VP24 ist Kofaktor für ein funktionsfähiges Nukleokapsid. Es blockiert die Interferon-Antwort beim EBOV. Die beiden EBOV-Stämme Makona und Ecran (=Mayinga) zeigen einen unterschiedlichen Einfluss auf die Expression der Interferon stimulierenden Gene [39].

Polymerase L ist eine RNA-abhängige RNA-Polymerase. Sie wird benötigt zur Transkription und Translokation der Gene. NP, VP35 und VP30 werden als Kofaktoren bei der Synthese der viralen RNA benötigt. Die Methyltransferase- und Guanyltransferase-Aktivität sind in die cap-Bildung des 5'-Endes und zur Stabilisierung der viralen mRNA eingebunden.

1.1.2 Pathogenese

Filovirusinfektionen sind durch eine schnelle Virusreplikation und ausgeprägte Entzündungsreaktionen gekennzeichnet. Ursache für die schnelle Virusvermehrung ist die Unterdrückung des angeborenen (unspezifischen) Immunsystems durch Genprodukte wie VP35, sGP und VP24 der Filoviren. Es wurde gezeigt, dass Ebolavirus bevorzugt und initial in Makrophagen und dendritischen Zellen repliziert und mit diesen vor allem in Leber und Nieren transportiert wird, wo weitere Gewebsmakrophagen infiziert werden. Zudem lösen Filoviren die Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine und Chemokine aus, durch die weitere Makrophagen zu den Infektionsherden transportiert und infiziert werden. So sind Ebolavirusinfektionen von Monozyten, Makrophagen, dendritischen Zellen, Endothelzellen, Fibroblasten, Hepatozyten, Zellen der Nebennierenrinde und Epithelzellen belegt [40, 41].

Für die massive Störung der Funktion des Immunsystems sind verschiedene Viruseigenschaften und Mechanismen verantwortlich. Beispielsweise verhindert die Infektion von dendritischen Zellen deren Reifung, so dass eine Virusantigenpräsentation auf T-Zellen verhindert wird. Außerdem unterdrückt das virale Protein VP35 Signalwege des Immunsystems und hemmt antivirale Immunantworten, indem die Transkription von Interferon α/β blockiert wird. Tetherin – ein Protein, das normalerweise das Ausknospen und die Freisetzung von Viren aus infizierten Zellen verhindert – wird durch eine Interaktion mit dem viralen Glykoprotein (GP) gehemmt. Filovirusinfektionen verursachen durch Apoptose von Lymphozyten eine Lymphopenie – insbesondere von CD4⁺- und CD8⁺-T-Zellen, wodurch auch die adaptive Immunantwort beeinflusst wird [41].

Die für Filovirusinfektionen typische Blutgerinnungsstörung (intravasale Koagulation und Verbrauch von Gerinnungsfaktoren) und Hämorrhagie wird bereits im Infektionsfrühstadium nach ca. 2 Tagen initiiert. Die Patienten versterben unter dem Bild einer disseminierten intravasalen Koagulopathie [41].

1.1.3 Umweltstabilität von Filovirus

Die Stabilität von Filoviren hängt vom virushaltigen Medium, von Umweltbedin-

gungen und der Art der kontaminierten Oberflächen ab.

In Blutproben ist EBOV-RNA bei Temperaturen zwischen 22–29 °C für mindestens 18 Tage stabil. In Urinproben mit vergleichbaren Startviruskonzentrationen (*cycle threshold* $C_t=21$) war die RNA nur 10–14 Tage nachweisbar [42]. Während nach 8 Tagen der EBOV-Titer in Blut nur um ca. $1 \log_{10}$ TCID₅₀ abnimmt, reduziert sich EBOV in Wasser deutlich schneller mit einer Rate von $1 \log_{10}$ TCID₅₀ pro Tag. In (sterilisiertem) Abwasser wurde eine 99 %ige Titerabnahme innerhalb des ersten Tages beobachtet; die nachfolgende Reduktion lief deutlich langsamer ab und zeigte auch nach 8 Tagen persistente infektiöse EBOV [43–45]. Auch in getrocknetem Blut ist EBOV über längere Zeit infektiös. Unter tropischen Bedingungen konnte das Virus noch nach 6 bzw. 10 Tagen nachgewiesen werden (Starttiter ca. $4 \log_{10}$ TCID₅₀ mL⁻¹) [44, 46].

Untersuchungen zur Stabilität von Filoviren auf Oberflächen wurden vor allem mit klinisch relevanten Materialien (Edelstahl, Glas, Kunststoff, Baumwolle etc.) durchgeführt und zeigten divergierende Ergebnisse. Einerseits wurde auf Edelstahl eine geringere Stabilität von EBOV als auf Kunststoff beobachtet [44] – im Extremfall waren EBOV und MARV auf Edelstahl bereits nach 2 Tagen nicht mehr nachweisbar [47]. Im Gegensatz dazu wird beim Oberflächenvergleich auch die geringste Inaktivierung von EBOV auf Edelstahloberflächen berichtet [48]. Die unter vergleichbaren Umweltbedingungen ermittelten Zeitintervalle für die Virusreduktion auf Edelstahl um $4 \log_{10}$ -Stufen betragen ca. 5–6 Tage bzw. 15 Tage. Auf Kunststoffoberflächen wurden ca. 8 bzw. 12 Tage ermittelt. Von Baumwolloberflächen konnte EBOV nach 24 Stunden nicht mehr isoliert werden [44, 48, 49]. Schuit et al. [46] fanden keinen oberflächenbedingten Einfluss von Edelstahl, verschiedenen Kunststoffen und Nitril auf die Stabilität von EBOV.

Die Stabilität von Filoviren nimmt mit steigenden Temperaturen ab. Bei 4 °C in Flüssigmedium verringerte sich die TCID₅₀ von MARV bzw. EBOV um maximal $3 \log_{10}$ innerhalb von 46 Tagen – bei Raumtemperatur um $5 \log_{10}$ [47]. Auch in Wasser bleibt EBOV (Starttiter $4,5 \log_{10}$

TCID₅₀ mL⁻¹) bei niedrigeren Temperaturen länger infektiös (21 °C, 6 Tage) als bei höheren Temperaturen (27 °C, 3 Tage) [44]. Analog dazu wurde auch bei Experimenten auf verschiedenen Oberflächen gezeigt, dass Filovirus bei niedrigeren Temperaturen deutlich länger intakt bleiben: infektiöse MARV und EBOV waren auf Glasoberflächen bei 4 °C mindestens 26 Tage nachweisbar, bei Raumtemperatur weniger als 2 Tage [47]; intaktes EBOV war auf Kunststoffgewebe bei 21 °C mindestens 12 Tage nachweisbar, bei 27 °C dagegen nur 3 Tage [44].

Einen Einfluss auf die Stabilität von Filoviren hat offensichtlich auch die relative Luftfeuchtigkeit (RH). EBOV war in getrocknetem Blut (Starttiter ca. $3 \log_{10}$ TCID₅₀ mL⁻¹) bei 41 % RH 4 Tage nachweisbar, bei 17 % RH nur 2 Tage [46].

In Aerosol bei Raumtemperatur bleiben verschiedene Filoviren etwa 120 min intakt. RESTV zeigte in den Versuchen mit einer Abbaurate von $2,7 \text{ min}^{-1}$ eine signifikant höhere Stabilität als MARV ($4,8 \text{ min}^{-1}$) und EBOV ($4,3 \text{ min}^{-1}$) [47].

Auf der Oberfläche von Affenkadavern, die nach einer Ebolavirus-Inokulation nach 8 Tagen getötet wurden, konnte infektiöses Virus für etwa 7 Tage und virale RNA für etwa 10 Wochen nachgewiesen werden [50].

1.1.4 Desinfektion und Inaktivierung

Bei der Untersuchung zur Oberflächen-desinfektion mit den EBOV-Varianten Mayinga, Kikwit und Makona ließen sich alle 3 Stämme durch 5-minütige Behandlung mit 0,5 % Natriumhypochlorit oder eine 2,5-minütige Behandlung mit 70 % Ethanol inaktivieren. Die Makona-Variante zeigte sich gegenüber den Chemikalien am stabilsten. Die virale RNA-Menge korrelierte nicht mit der Restinfektiosität [51]. Fixierung von Objektträgern in 100 % Methanol für mindestens 15 min, wie sie zur Anfertigung mikroskopischer Präparate verwendet wird, inaktiviert EBOV [52]. Behandlung von Blut mit Essigsäure, wie sie bei der mikroskopischen Leukozytenzählung eingesetzt wird, inaktiviert ebenfalls EBOV.

In einer 10 %igen Öl-Wasser-Nanoemulsion wurde EBOV nach 20 min

inaktiviert [53]. Mit pulsierendem Xenon-UV-Licht wurde nach 5-minütiger Bestrahlung bei 1 m Abstand von kontaminierten Schutzmasken eine $>4 \log_{10}$ Reduktion der Virusmenge erreicht [54]. Die Zugabe von $10 \mu\text{L}$ 10 % Triton X-100 zu 1 mL Vollblut bei Raumtemperatur inaktiviert EBOV [55]. EBOV Makona mit einem Titer von etwa 10^{5-6} TCID₅₀ mL⁻¹ in humanem Serum lässt sich durch Behandlung mit 0,5 % Tween-20 und Inkubation für 1 h bei 56 °C inaktivieren [56]. Nach einer neueren Arbeit reicht 1 h mit 0,1 % SDS (*sodium dodecyl sulfate*) oder 0,1 % Triton X-100 mit unverdünntem Serum bzw. Plasma nicht aus um EBOV zu inaktivieren [57].

Ebolavirus wird inaktiviert durch Hitze bei 60 °C für 30 min, 65 °C und 70 °C für 15 min, 100 °C für 10 min, 120 °C für 5 min, in AVL-Puffer (Qiagen – Guanidin-Isothiocyanat) bei 20 °C für 10 min [58], nicht jedoch bei 4 °C [59]. Behandlung mit 7,5 % Formalin bei 4 °C für ca. 12 h, 2 % Glutaraldehyd bei 4 °C für etwa 12 h, 2,5 % Paraformaldehyd bei 4 °C für etwa 12 h, 1 % SDS mit und ohne 5 % 2-Mercaptoethanol bei 20 °C für 10 min inaktiviert etwa 10^6 TCID₅₀ mL⁻¹. Dies wurde auf Vero-Zellen oder im adaptierten Mausmodell geprüft [58].

1.2 Infektion und Infektionskrankheit

1.2.1 Übertragungswege

Mensch-zu-Mensch-Übertragung. Mit EBOV Infizierte scheinen während der asymptomatischen Inkubationszeit kaum Virus auszuscheiden, weshalb eine Übertragung während dieser Periode sehr selten ist [60]. Mit zunehmender Symptomatik steigt die Virusfreisetzung an und bei klinisch schwer Erkrankten wird die Übertragungswahrscheinlichkeit hoch [61]. Beim Menschen ist EBOV in Blut, Speichel, Conjunctiva, Tränen, Schweiß, Haut, Muttermilch, Erbrochenem, Urin, Fäzes, Rektalsekret, Ejakulat und Vaginalsekret über Zellkulturisolierung und/oder mittels PCR nachgewiesen worden [62, 63]. Freigesetztes EBOV kann mehrere Tage bis zu mehreren Wochen außerhalb des Körpers überleben (vgl.

1.1.3.). Zur Virusübertragung sind wahrscheinlich 10 oder weniger Partikel ausreichend [64].

Sehr effektive Übertragungen wurden bei der Epidemie in West-Afrika bei Beredigungen mit direktem Körperkontakt zum Toten, Kontakt mit Körperflüssigkeiten von Ebola-Patienten, Aufenthalt in Krankenhäusern, in denen Ebola-Patienten verstarben und bei Kontakt mit Pflegepersonal von Ebola-Patienten beobachtet [63, 65]. Eine Metaanalyse mehrerer Ebola-Ausbrüche ergab, dass EBOV unter Haushaltsangehörigen mit einer Wahrscheinlichkeit von etwa 12,5 % übertragen wurden und dass das Infektionsrisiko unter diesen bei direkter Pflege von Infizierten am höchsten war [66].

Auswertungen von Seroprävalenzstudien weisen auf einen nicht unerheblichen Anteil von asymptomatisch verlaufenden Infektionen mit EBOV hin – Dean et al. [66] ermittelten einen Anteil von 27 %. Eine Metaanalyse der Daten von Kontaktpersonen von EBOV-Erkrankten zeigte eine Seroprävalenz von 3,3 % unter asymptomatischen Kontaktpersonen [67]. Auch in Regionen, in denen keine Erkrankungsfälle berichtet wurden, wurden substantielle Bevölkerungsanteile seropositiv getestet, z. B. lag die Seroprävalenz in Gabun bei etwa 20 % [68]. Inwieweit asymptomatische Infektionen ein Transmissionsrisiko bergen, ist bisher nicht bekannt.

Zoonotische Transmissionen. RESTV ist für Affen auf den Philippinen wie Javaneraffe (*Macaca fascicularis*) pathogen und potenziell tödlich [69]. Werden z. B. Rhesusaffen mit RESTV infiziert, entwickeln sie immer eine symptomatische Infektion. Menschen, die Kontakt mit diesen Affen hatten, blieben asymptomatisch, entwickelten eine serologisch messbare Immunantwort und in einem Fall konnte Virus isoliert werden [70, 71]. Welche Rolle Schweine, bei denen serologisch RESTV-Antikörper nachgewiesen und auch Virus isoliert werden konnten, als Überträger von RESTV in Asien spielen, ist unklar. Bei Farmern und Schlachthausmitarbeitern, die bei einem Ausbruch auf den Philippinen Kontakt mit erkrankten Tieren hatten, wurden Antikörper detektiert [72].

Aerosol-Übertragung. Eine Übertragung durch Aerosol bzw. Tröpfchen und deren respiratorische Aufnahme ist für die Virusverbreitung relevant [22, 73, 74]. In Aerosol kann EBOV länger als 120 min und RESTV länger als 160 min infektiös bleiben [47]. EBOV kann bei Infektion des Respirationstraktes beim Husten aerosolisiert werden, ebenfalls bei blutigem Erbrechen. EBOV wurde über Aerosol artifiziell auf Mäuse und Affen übertragen, wobei elektronenmikroskopisch Viren im Alveolargewebe nachgewiesen wurden [75–77].

Eine wahrscheinliche Infektion durch virushaltige Aerosole wurde bei Rhesusaffen vermutet [78]. Zwei von 3 Rhesusaffen, die als Kontrolltiere zusammen mit EBOV-infizierten, verstorbenen Affen im gleichen Raum gehalten wurden und deren Käfige 3 m von dem der infizierten Tiere entfernt standen, verstarben an Ebola-hämorrhagischem Fieber. Eine Virusübertragung über Gebrauchsgegenstände konnte nicht ausgeschlossen werden [78].

Übertragung über Nahrung. Eine Übertragung kann beim Fangen und Schlachten infizierter Tiere und auch beim Sammeln von kontaminierten Pflanzen und Früchten erfolgen. Eine Übertragung über die Nahrungsaufnahme ist möglich, wenn bei der Nahrungszubereitung keine ausreichend hohe Temperatur von z. B. 70 °C für 30 min erreicht wird [56]. Es wird vermutet, dass eine Übertragung über kontaminierte Nahrung häufiger vorkommt und EBOV auch über Transport und Handel in West-Afrika verbreitet wurde [79].

1.2.2 Krankheitsbild

Die verschiedenen Infektionen mit EBOV und MARV zeigen einen ähnlichen Krankheitsverlauf. Bei der durch EBOV verursachten Infektion beträgt die Inkubationszeit im Mittel 4 bis 10 Tage, mit einem Bereich von 2 bis 45 Tagen [80, 81]. Die Krankheit beginnt sehr plötzlich mit Fieber, Schüttelfrost, Abgeschlagenheit und Myalgie [41]. Alle Organe sind betroffen. Häufig entwickeln sich Diarrhoe und/oder respiratorische Symptome wie Atembeschwerden, Brustschmerzen und Husten. Neurologische Symptome sind Kopfschmerzen und Verwirrtheit bis zum Koma. Ein papuläres Exanthem

kann nach 5–7 Tagen auftreten und führt bei Überlebenden zur Hautabschuppung. Typisch sind abdominale Schmerzen teils mit dem Bild einer Pankreatitis [41]. Die hämorrhagische Manifestation beginnt mit Petechien, Blutungen in Schleimhaut, Haut und inneren Organen, begleitet von Blutdruckabfall und Hypovolämie bis zum hypovolämischen Schock, der von einem durch Darmbakterien verursachten Endotoxin-Schock begleitet wird. Häufig betroffene Organe sind Leber, Lunge und Niere, deren Funktionseinschränkung einen Teil des klinischen Bildes prägt [36, 41, 82]. Multiorganversagen und Blutungskomplikationen sind die häufigsten Todesursachen.

Zum Management von Ausbruchssituationen wurde die Ebola-Erkrankung in drei Stadien eingeteilt [83]. Stadium 1: Influenza-ähnliche Krankheit mit Fieber, Myalgie, Arthralgie, Lethargie, Abgeschlagenheit, Kopfschmerzen, Pharyngitis, Konjunktivitis. Stadium 2: multisystemische Symptome mit Erbrechen, blutiger Diarrhoe, Kopfschmerzen, Verwirrtheit, Hämorrhagie, Hypotension, Atembeschwerden und Exanthem. Stadium 3: innere und äußere Blutungen, Multiorganversagen, Schock, Tod.

Der Übertragungsweg scheint den Verlauf der Krankheit zu beeinflussen. Beim Ebola-Ausbruch 1976 in Zaire starben alle diejenigen 85 Infizierten, bei denen das Virus wahrscheinlich durch Injektion übertragen wurde, während die Letalität bei Infizierten, die einer Kontaktexposition ausgesetzt waren, ca. 80 % betrug (119 von 149) [41].

Des Weiteren können Koinfektionen und genetische Faktoren des Wirtes für den Schweregrad der Erkrankung verantwortlich sein. Ein infektiöser Kofaktor ist eine bestehende Malaria-Infektion, die das Todesrisiko etwa 2,5-fach erhöht, begleitet von einem Anstieg der Virusmenge im Blut [84, 85]. Vorhandene Tuberkulose ist ein weiterer Kofaktor [86]. Ein Alter von <2 und >30 Jahren erhöht die Schwere der Krankheit und die Letalität [87]. Die initiale infektiöse Dosis war für die Schwere der Krankheit in Sierra Leone unbedeutend [86].

Genetisch determinierte humane Faktoren beeinflussen die Interferon-Antwort, Aktivierung von Gerinnungsfakto-

ren, Gefäßschädigung, Einschränkung der angeborenen Immunität, proinflammatorische Zytokinausschüttung, Ubiquitinierung von VP40 und andere [88].

Post-Ebola-Syndrom. Wochen nach Überwinden der Krankheit können folgende Symptome persistieren oder neu auftreten: chronisches Müdigkeitssyndrom, Myelitis, Myalgie, Arthralgie, Hepatitis, Sehstörungen mit Uveitis, Nervenlähmung, Psychosyndrom [41, 83]. Arthralgie, Anämie, Hautabschuppung, Uveitis und Unterernährung wurden in einer weiteren Studie in Sierra Leone ca. 6 Monate nach EBOV-Infektion gefunden [89].

Solche Syndrome wurden auch nach überstandener MARV-Infektionen beobachtet [90].

Virämie. Patienten, die an einer EBOV-Infektion verstarben, hatten im Mittel eine Virämie von etwa 10^8 Genomäquivalenten mL^{-1} (Bereich 10^6 – 10^{10}), die nach Symptombeginn über 2 Wochen andauerte. Überlebende Patienten zeigten eine geringere maximale Virämie von etwa 10^6 Genomäquivalente mL^{-1} (Bereich 10^5 – 10^9), die im Verlauf von etwa 2 Wochen auf $<10^3$ – 10^4 Genomäquivalente mL^{-1} abnahm [91–93]. Im Blut eines EBOV-infizierten Patienten mit hämorrhagischem Fieber wurden 24 h vor seinem Tod $6 \cdot 10^9$ Genomäquivalente mL^{-1} , im *Liquor cerebrospinalis* (CSF) 10^5 Genomäquivalent mL^{-1} nachgewiesen [94]. Während bei einem Patienten am Tag 18 der Krankheit keine EBOV-RNA im Blut mehr nachweisbar war (Nachweisgrenze 600 Genomäquivalente mL^{-1}), blieb EBOV-RNA in Sputum bis Tag 24, in Konjunktivalflüssigkeit bis Tag 27 und in Schweiß bis Tag 29 nachweisbar [95].

1.2.3 Persistenz von Filoviren bei Rekonvaleszenten

Persistenz von Filovirus ist in verschiedenen Körperflüssigkeiten überlebender Patienten nachgewiesen worden [96]. EBOV-RNA war im Ejakulat von Überlebenden über einen längeren Zeitraum nachweisbar: in einer Patientenkohorte in Sierra Leone konnte bei ca. der Hälfte der Männer (46/93) nach deren Rekonvaleszenz Virus-RNA im Ejakulat nach-

gewiesen werden – ein relevanter Anteil (26 %) war noch 9 Monate nach Erkrankungsbeginn RNA-positiv [97]. Longitudinalstudien zeigten, dass Virus-RNA im Ejakulat von Patienten ca. 300 Tage über die RT-PCR nachgewiesen werden, aber das Virus nur für ca. 75 Tage über Kulturzellen isoliert werden konnte [98]. In einer weiteren Studie war Ejakulat eines rekonvaleszenten Ebola-Patienten noch 240 Tage nach Symptombeginn infektiös [99].

Neben der Persistenz von EBOV im männlichen Genitaltrakt wurde das Virus im Vaginalsekret einer Überlebenden nachgewiesen [81, 100]. Ein weiteres Kompartiment für EBOV-Persistenz ist das Auge: 9 Wochen nach Ende der Virämie konnte bei einem Überlebenden mit Uveitis noch Virus im Kammerwasser nachgewiesen werden [101]. Eine Persistenz im zentralen Nervensystem wird diskutiert. Schließlich wurde EBOV in der Muttermilch einer asymptomatisch infizierten Mutter aus Guinea als vermutliche Ursache der Infektion ihres Säuglings nachgewiesen [102].

Die Persistenz von MARV in rekonvaleszenten Patienten konnte durch die Isolierung des Virus aus Kammerwasser zwei Monate nach überstandener Infektion nachgewiesen werden [90].

1.3 Epidemiologie

EBOV und MARV kommen in den tropischen Regionen Afrikas vor und RESTV in tropischen Regionen Südost-Asiens. Ihre Verbreitung ist an das Vorkommen von fruchtfressenden Flughunden der *Pteropodidae*-Spezies gebunden, die eine Infektion soweit bekannt überleben. Für die Verbreitung von Filoviren außerhalb der Endemiegebiete war u. a. die Einfuhr infizierter Affen nach Deutschland, Jugoslawien, Italien und in die USA ursächlich. Des Weiteren gelangten die Viren durch infizierte Patienten oder Mitarbeiter im Gesundheitswesen auch in andere Länder wie Nigeria, Mali, USA, Italien, UK, Senegal und Spanien bzw. durch eine infizierte Veterinärin in die Schweiz.

Meldepflicht

Nach § 6 Absatz 1 Infektionsschutzgesetz (IfSG) sind der Verdacht, die Erkrankung

und der Tod an viralem hämorrhagischem Fieber namentlich meldepflichtig an das Gesundheitsamt. Nach § 7 Absatz 1 IfSG besteht eine Labormeldepflicht für den Nachweis von EBOV und MARV.

Filovirus in Fledermäusen/ Flughunden als Ursprung der zoonotischen Ausbrüche

Flughunde sind das Hauptreservoir von EBOV und MARV. Filoviren werden in verschiedenen Fledermaus- und Flughunden-Arten gefunden, die entweder selbst erkranken können oder asymptomatisch als Wirtstiere fungieren [21, 103, 104]. Es sind >300 Fledertierspezies bekannt, die MARV und EBOV übertragen können [19–21]. Das Virus kann in Lunge, Niere, Colon und den Geschlechtsorganen der Tiere nachgewiesen werden und ist potenziell oral, fäkal, sexuell und über Urin innerhalb der Spezies übertragbar [103, 105]. Für Infektionsketten und Übertragungen von EBOV und MARV bedeutende Spezies sind in **Tab. 3** zusammengefasst.

Das nicht humanpathogene Cuevavirus wird durch *Miniopterus schreibersii* (*common bent-wing bat*; Europäische Langflügel-Fledermaus) übertragen – eine Spezies, welche im mediterranen Raum vorkommt und bisher nicht mit MARV oder EBOV infiziert ist. Als Virusreservoir von RESTV auf den Philippinen werden fruchtfressende Flughunde angesehen, da serologisch positive Tiere gefunden wurden [71].

Die Übertragung von MARV auf den Menschen in Zentral-Afrika koinzidiert mit dem 6 Monate dauernden Vermehrungszyklus von *Rousettus aegyptiacus* [103]; d. h. die juvenilen Flughunde werden neu infiziert und scheiden das Virus aus, bis eine Immunität erreicht ist. Ein Indiz für eine von Fledertieren ausgehende Virusübertragung sind die beobachteten EBOV-Ausbrüche in Menschenaffen, die sich etwa halbjährlich im Dezember und Juli ereignen [106], was mit dem oben erwähnten Fortpflanzungszyklus vieler Fledertiere korreliert.

Infektion von Primaten und Ducker (Duiker)-Antilope

Aufgrund der überlappenden Lebensräume mit Fledertieren sind auch Pri-

Tab. 3 Fledermaus-/Flughund-Spezies, die sehr häufig mit Filovirus infiziert sind

Spezies	Englischer Name	Deutscher Name
<i>Eidolon helvum</i>	Straw coloured fruit bat	Palmenflughund
<i>Epomops franqueti</i>	Franquet's epauletted fruit bat	Epaulettenflughund
<i>Hypsignathus monstrosus</i>	Hammer headed bat	Hammerkopfflughund
<i>Miniopterus inflatus</i>	Greater long fingered bat	Kronen-Langflügelfledermaus
<i>Miniopterus africanus</i>	Long winged bat Bent-wing bat	Ostafrikanische Kronen-Langflügelfledermaus
<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Egyptian rousette bat	Nilflughund

maten wie Gorilla, Schimpanse, Pavian und kleinere Affen, in Asien auch Orang-Utan, epidemiologisch bedeutende Wirte für EBOV und MARV. Auch Neuweltaffen können durch Inhalation der Viren infiziert werden [107] und entwickeln wie der Mensch zum Teil eine tödliche Erkrankung. Im Regenwald können die zahlreichen Spezies der Ducker-Antilope von Filoviren tödlich infiziert werden und über Exkrete und Kontakt das Virus übertragen [106, 108].

Etwa 20 % der Einwohner des Regenwaldes in Nordost-Gabun haben IgG-Antikörper gegen EBOV, ohne jemals eine Krankheit mit hämorrhagischem Fieber erlitten zu haben. Bei Kindern fand sich eine Antikörper-Prävalenz von etwa 2 %, im Alter von 20–30 Jahren wurden 20–23 % erreicht und mit höherem Alter war kein weiterer Anstieg messbar. Einwohner der Savanne von Gabun hatten im Mittel nur 11 % EBOV-spezifische Antikörper [68]. Diese Daten zeigen, dass wahrscheinlich niedrig- oder nicht-pathogene Quasispezies von EBOV im tropischen Regenwald zirkulieren, die eine serologische und zelluläre Immunantwort auslösen, ohne eine Erkrankung zu verursachen [68]. Nach der postulierten zoonotischen Übertragung der EBOV-Variante Makona auf den Menschen (*spill-over infection*) in Guinea 2013 hat eine Virusadaptation über Mutationen im Glykoprotein (GP) stattgefunden, verbunden mit einem höheren Tropismus für menschliche und einem verminderten Tropismus für Flughund-Zellen [109]. Diese Adaptation mit insgesamt 104 gefundenen Aminosäure-Austauschen war vermutlich eine der Ursachen für eine sehr effektive Mensch-zu-Mensch-Übertragung in West-Afrika [110].

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Die klinische Abklärung eines viralen Fiebers, ausgelöst durch EBOV oder MARV, ist facettenreich und umfasst differentialdiagnostisch Krankheiten wie: Malaria, Typhus, Shigellose, Sepsis durch Meningokokken, Pest, Leptospirose, Milzbrand (Anthrax), Rückfallfieber, Salmonellose, Rickettsiose, Gelbfieber, Chikungunya-Fieber, fulminante Hepatitis und weitere [41].

Wie der Ausbruch in West-Afrika 2013–2016 gezeigt hat, sollte die Mehrzahl der Tests schnell und unter einfachen technischen Bedingungen in mobilen Laboren durchführbar sein. Tests und die Vorbereitung der Proben sollten möglichst unter den erforderlichen Sicherheitsbedingungen in Sicherheitswerkbanken (*safety cabinets*) durchgeführt werden [111]. Aufgrund der Infektiosität und Pathogenität der Viren sollten diagnostische Tests mit zu geringer Sensitivität vermieden werden, da infizierte Patienten mit nur gering ausgeprägter Symptomatik nicht erkannt werden und demzufolge das Virus weiterhin streuen. Bei zu geringer Spezifität werden Nicht-Infizierte hospitalisiert mit dem Risiko, im Hospital infiziert zu werden und die Bürde von Schutzmaßnahmen und Personalzuwendung unnötig zu erhöhen [112].

Virusisolierung

Die Isolierung von Filovirus in Zellkultur muss in Hochsicherheitslaboratorien (BSL4) erfolgen. Sie kann aus Blut und Organen wie Leber, Lunge und Milz auf Vero E6- oder MA104-Zellen durchgeführt werden. Das Virus erzeugt einen zytopathischen Effekt und kann über ei-

nen Antigentest oder NAT nachgewiesen werden [113, 114].

Serologischer Nachweis

Blut und Körperflüssigkeiten von Filovirus-Infizierten können große Mengen an Virus enthalten und sollten vor Durchführung der serologischen Tests in S2-Laboren z. B. durch Hitze oder eine Behandlung mit γ -Strahlen inaktiviert werden.

Antikörper-Test. IgM-Antikörper können schon 2 Tage nach Auftreten der ersten Symptome nachweisbar sein und nach 30 bis 170 Tagen wieder unter die Nachweisgrenze absinken. Verwendet werden ELISA oder IgM capture ELISA. IgG-Antikörper lassen sich 6 bis 18 Tage nach den ersten Symptomen und dann für viele Jahre nachweisen [41, 115].

Antigen-Test. Für den von der WHO für Notfalleinsätze als Schnelltest gelisteten ReEBOV™ Antigen Rapid Test, der VP40 erkennt, wurden Leistungsparameter in Vergleichstesten gegenüber RT-PCR-Assays (Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion) ermittelt. Die Hersteller geben eine Sensitivität von 62,1 % und Spezifität von 96,7 % an; eine WHO-Studie berichtet eine Sensitivität von 91,8 % und Spezifität von 84,6 % [114], eine weitere Studie eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 92 % [116]. Dieser Schnelltest kann am Krankenbett (*point-of-care*) durchgeführt werden [117].

Ein Antigen-Test, der murine monoklonale Antikörper und Kaninchen-Hyperimmunserum verwendet, zeigte im Vergleich mit der Virusisolierung in Lebergewebe eine Sensitivität von 97,7 % und Spezifität von 92,7 % [113]. Ein Schnelltest (Quick-Navi-Ebola), der über monoklonale Antikörper EBOV NP im-

munchromatographisch nachweist, erreichte eine Sensitivität von 10^3 – 10^4 ffu mL⁻¹ (*focus forming units* – entspricht etwa 10^5 Genomäquivalenten mL⁻¹) [118, 119].

Virusgenomnachweis

Kommerziell erhältliche Nukleinsäure-Teste werden von verschiedenen Herstellern angeboten. Die Sensitivität kommerzieller Tests ist gleichwertig zu den in Laboren entwickelten Tests (*in-house tests*) [120] – die Vergleichbarkeit ist jedoch nicht gegeben in Ermangelung eines internationalen Filovirus-Standards.

Über RT-PCR wurde ein Nachweisverfahren für EBOV entwickelt, das mit einem Antigentest verglichen wurde. Der PCR-Nachweis gelang ab 10^3 Kopien mL⁻¹ Blut, d. h. Sudanvirus konnte in Infizierten 24 h bis 48 h vor Positivität des Antigentests nachgewiesen werden [121].

Des Weiteren wurden Kassetten-Teste mit zur RT-PCR vergleichbaren Sensitivität entwickelt, um direkt beim Patienten (*point-of-care test*) eingesetzt zu werden [122–124]. Dieser kann auch für die Bestimmung der Virusmenge im Ejakulat eingesetzt werden [125]. Zum schnellen und quantitativen Nachweis von EBOV-RNA wurde eine Einschnitt-real-time RT-PCR mit einer Sensitivität von 10^2 – 10^3 Genomkopien pro Reaktion entwickelt [126].

Über isotherme Amplifikation (LAMP, *loop mediated amplification assay*) ließen sich $>10^4$ TCID₅₀ MARV nachweisen, bei einer 78 % Übereinstimmung mit der RT-PCR. Der Test ließ sich innerhalb von 40 min durchführen [127]. Ein modifizierter LAMP-Test zum Nachweis des EBOV aus dem GP-Gen auf einem Nukleinsäure-nachweis-Streifen (*lateral flow test*) zeigte eine Sensitivität von 10^2 TCID₅₀ rekombinanter Viruspartikel [128].

Um alle Filoviren über die NAT nachzuweisen, wurde eine RT-FRET-PCR (FRET – *fluorescence resonance energy transfer*) entwickelt, die eine Sensitivität von 320 Genomäquivalenten mL⁻¹ Blut erreichte [129], und ein Suspension-Kügelchen Test (*suspension bead assay*) mit vergleichbarer Sensitivität wie die der RT-PCR [130].

1.5. Prävention

Durch strikte Hygiene, durch Schulung und Kontrolle von Patienten und Personal kann eine nosokomiale Übertragung von Filovirus eingeschränkt bzw. verhindert werden. Die Maßnahmen sind: Isolierung Infizierter, sichere und würdige Bestattung, schnelle Erkennung und Diagnostik von Verdachtsfällen, Ermittlung von Kontaktketten, Überwachung von Maßnahmen, Information der Bevölkerung und das Impfen von Kontaktpersonen [131, 132]. Welchen Effekt die Einhaltung der persönlichen Schutzmaßnahmen und das Anlegen von Schutzanzügen hat, wurde bisher nicht quantifiziert [133, 134]. Heute stehen zur Prävention mehrere Impfstoffe zur Verfügung – siehe 3.4.

Eine Zusammenfassung der Maßnahmen für Deutschland ist 2001 publiziert worden [135]. Die Falldefinition für einen begründeten Verdacht auf die Infektion mit Ebolavirus ist im September 2014 publiziert worden [136]. Verdachtszeichen sind im Wesentlichen: Einreise aus einem Endemiegebiet, Kontakt mit an Ebola Erkrankten oder infizierten Tieren oder EBOV-kontaminiertem Material. Fieber, Durchfall, Erbrechen und Hämorrhagien innerhalb der Inkubationszeit von 2 bis 45 Tagen sind hinweisende Symptome.

Eine Auflistung von Schutzkleidung, Desinfektion und Dekontamination findet sich unter: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Biosicherheit/Schutzmassnahmen/Schutzmassnahmen_node.

2. Blut- und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Seroprävalenzstudien zu Filovirus unter Blutspendern in Deutschland wurden bisher nicht durchgeführt – ein Vorhandensein von Filovirus-Antikörpern in Spendern ist aufgrund der epidemiologischen Situation nicht zu erwarten.

Eine Untersuchung von Blutspendern auf IgG-Antikörper gegen EBOV und MARV im Jahr 2011 in Städten der Republik Kongo ergab eine Seroprävalenz von MARV von 0,5 % (4/809) ausschließlich in männlichen Spendern. In der urbanen Population waren 2,5 % der Blutspender

EBOV-seropositiv (20/809), in ländlichen Regionen jedoch 4 % (9/225) [137].

In der Allgemeinbevölkerung wurden in Nigeria bzw. in der Demokratischen Republik Kongo Antikörper gegen MARV bei 1,7 % (29/1677) der Probanden gefunden, und 1,8 % (30/1677) waren EBOV-seropositiv [138]. Bei 1517 Getesteten in Kamerun lag die Seroprävalenz bei 9,7 %. Am höchsten war die Seroprävalenz dort unter Pygmäen (14,5 %), gefolgt von Regenwaldbauern (13 %) und jugendlichen Erwachsenen (11,6 %) [139]. Die hohe Seroprävalenz (etwa 20 %) in den Regenwald-Regionen von Gabun [68] wurde unter 1.2 beschrieben. Die Limitationen von Seroprävalenz-Studien wurden in einer Analyse von Bower und Glynn aufgezeigt, die vor allem die Ergebnisse von serologischen Untersuchungen bei Kontaktpersonen einschlossen. Eine Schlussfolgerung der Autoren betraf die mangelnde Standardisierung und damit auch Vergleichbarkeit der Ergebnisse serologischer Untersuchungen [67].

2.2 Definition von Ausschlusskriterien

An Filovirusinfektionen Erkrankte werden aufgrund der Symptome, an erster Stelle Fieber, Kopfschmerzen, Unwohlsein und Diarrhoe, von der Spende zurückgestellt. Potenziell Infizierte werden bei Rückkehr aus der Region, in der Filovirusausbrüche vorkommen, von der Spende zurückgestellt. Bei Ausbrüchen, besonders auf dem afrikanischen Kontinent, ist die Reiseanamnese für eine Rückstellung entscheidend.

2.3 Spendertesting und Aussagekraft

Aufgrund der derzeitigen epidemiologischen Situation in Mitteleuropa ist eine Spendertesting auf Filoviren nicht erforderlich.

Bei Bedarf kann Blut eines Spenders mit einem Antikörper- und/oder Nukleinsäure-Nachweistest untersucht werden (siehe 1.4).

2.4 Spenderbefragung

Aufgrund der epidemiologischen Situation ist eine spezifische Befragung von potenziellen Blutspendern in Deutschland nach MARV- oder EBOV-Infektion nicht sinnvoll. Spender werden nach ihrer Reiseanamnese sowie nach Fieber und Diarrhoe befragt.

2.5 Spenderinformation und -beratung

Informationen über Filovirusinfektionen können im Blutspendedienst, infektionsmedizinischen Zentren und Tropeninstituten gegeben werden.

2.6. Spender von Rekonvaleszentenplasma (*convalescent plasma*)

Eine mögliche Therapieoption ist die Gabe von Plasma von Rekonvaleszenten einer EBOV-Infektion [140], wenn das Plasma mit einem Pathogeninaktivierungsverfahren behandelt wurde [95, 141]. In einer in Guinea durchgeführten Studie zeigten 84 EBOV-Makona-infizierte Patienten, denen 500 mL Rekonvaleszentenplasma mit unbekanntem neutralisierenden Titer transfundiert wurden, keine Überlebensverbesserung [142]. Die Wirkung von Rekonvaleszentenplasma ist vom EBOV-GP IgG-Titer abhängig [143]. Eine Übersicht zur Herstellung und Wirkung von monoklonalen Antikörpern und Rekonvaleszentenplasma findet sich bei Moekotte et al. [144] und Rojek et al. [145]. Der wirkliche Nutzen von Rekonvaleszentenplasma bleibt zurzeit unklar, da die Präparate wegen der abflauenden Epidemie nur an einzelnen Patienten getestet werden konnten [95, 146, 147]. Deswegen besteht Forschungsbedarf für die Evaluation der Zeit der Abnahme von Plasma beim gesunden Patienten, der Wirksamkeit, der Dosierung und der Genotyp-Neutralisation [147, 148].

3 Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Übertragungen von EBOV und MARV sind in Empfängern von Blut und Blutprodukten oder Plasma und Plasmaprodukten in Mitteleuropa nicht berichtet. Die Datenlage in afrikanischen Staaten ist hierzu unterschiedlich und wurde unter 2.1 beschrieben.

3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Für eine EBOV-Infektion sind alle Menschen empfänglich – wahrscheinliche Ausnahme bei Fehlen des Niemann-Pick-Rezeptors. Altersabhängig besteht eine ansteigende Todesrate (siehe 1.2). Immunität und Resistenz sind in Mitteleuropa nicht vorhanden.

3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Die Infektion mit EBOV oder MARV verläuft im Mittel zu 40–90 % tödlich (siehe **Tab. 1**). Die Schwere der Krankheit kann durch Medikamente bisher wenig beeinflusst werden (siehe 3.4).

3.4 Therapie und Prophylaxe

Wegen des sporadischen Auftretens von EBOV- und MARV-Infektionen in Zentral-Afrika und der häufig kleinen Zahl von erkrankten Patienten hat in der Vergangenheit nur ein geringes Interesse bestanden, Therapeutika und Impfstoffe gegen Filoviren zu entwickeln. Mit der Epidemie 2013–2016 in West-Afrika sind große Anstrengungen unternommen worden, um ein besseres Überleben der Erkrankten zu erreichen [22, 145, 149].

Symptomatische Therapie

Eine symptomatische Therapie besteht in Flüssigkeitszufuhr und bei bakterieller Superinfektion der Lunge oder Penetration der Bakterien aus dem Darm in einer

frühzeitigen breiten antibiotischen Therapie [150].

Immunmodulatorische Therapie

Interferon: Die blockierende Funktion von VP35 und VP24 auf die Interferon gamma (IFN- γ)-Freisetzung wurde unter 1.1 beschrieben. Durch Gabe von IFN- γ 24 h vor oder nach Infektion mit EBOV wurden Mäuse vor der tödlichen Infektion geschützt [151]. Die tägliche Gabe von 6×10^6 IU IFN- β -1a subkutan an 9 Patienten in Guinea verminderte die Virämie und erhöhte das Überleben von 19 % auf 67 %. Der Wert der Studie ist durch die sehr kleine Zahl von Patienten limitiert [152].

Monoklonale Antikörper: ZMapp™ ist ein Cocktail von drei monoklonalen Antikörpern (c2G4, c4G7, c13C6), die gegen das EBOV-GP gerichtet sind [153]. In Rhesusaffen verhindert dieser intravenös verabreichte Cocktail bis zu fünf Tage nach EBOV-Infektion eine tödliche Krankheit [154]. ZMapp™-Antikörper behindern sich teils gegenseitig und neutralisieren nicht die zirkulierenden Escape-Varianten [155]. Ob die Gabe von ZMapp™ für das Überleben der Patienten ein Zugewinn ist, bleibt wegen der intensiven Begleittherapien offen [156].

Auch menschliche geklonte Antikörper (mAb114) von Überlebenden des Ausbruchs in Kikwit neutralisierten EBOV in infizierten Rhesusaffen [157]. Weitere monoklonale Antikörper wie 6D8 und 13F6 binden sehr stark an die mucinähnliche Domäne des GP, aber neutralisieren das Virus nicht [158]. Ein neu synthetisierter monoklonaler Antikörper, 6D6, bindet an GP von EBOV, SUDV und RESTV und scheint auch für die Neutralisation unbekannter Ebolaviren besser geeignet [159]. Nach Impfung mit rVSV-EBOV wurden neue neutralisierende Epitope identifiziert, die die Möglichkeit der Therapie mit monoklonalen Antikörpern erweitern [160].

Die Therapieoption mit Rekonvaleszentenplasma wurde unter 2.6 beschrieben.

Chemotherapie

Eine Chemotherapie zur Einschränkung der Virusvermehrung ist mit verschiedenen Substanzen möglich, jedoch ist keine

dieser Substanzen bisher fähig, die Virusfreisetzung schnell zu beenden [22, 134, 149, 161].

Von den verschiedenen getesteten Substanzen bleiben nur zwei aussichtsreich:

BCX4430: Die Substanz ist ein Nucleosidanalogen, welches die RNA Polymerase-Aktivität einschränkt, sodass es zum Kettenabbruch kommt. In mit MARV infizierten Javaneraffen (*Cynomolgus macaques*) konnte mit der Gabe von BCX4430 48 h nach Infektion ein kompletter Schutz (100 %) erreicht werden [162].

GS-5734: Dabei handelt es sich um ein Monophosphoramidat eines Adenosin-Analogs, welches in Triphosphat umgewandelt wird, eine Halbwertszeit von 14 h hat und Rhesusaffen bei Gabe bis zu 3 Tage nach einer tödlichen EBOV-Infektion vor der tödlichen Erkrankung schützte [163].

Brincidofovir, Chloroquin, Favipiravir, RNAi, AVI-7537, U18666A, Clomiphen, FGI-103 und die anti-retroviralen Medikamente Lamivudin und Zidovudin sind für eine Therapie nicht geeignet [22, 149, 164].

Impfung

Die EBOV-Epidemie in West-Afrika wurde bei unzureichender Hygiene und defizitärem Verhalten eines Teils der Bevölkerung letztendlich 2016 durch die Riegelimpfung (synonym Riegelungsimpfung, *ring vaccination*) mit einem effizient wirkenden Impfstoff beendet [165, 166]. Übersichten über konfektionierte Impfstoffe, ihre Wirksamkeit und Einschränkungen sind publiziert [167–169].

Neutralisierende Epitope, die auch zur Immunität von überlebenden Infizierten führen, liegen auf dem Core-Anteil und dem Glycan-Cap von GP1 und sind zur Konfektion von Impfstoffen [167] oder für die Herstellung neutralisierender monoklonaler Antikörper verwendet worden [170]. Zu den Impfstoff-Kandidaten zählen z. B. DNA-Vakzine, *virus like particles* (VLP), rekombinantes humanes Parainfluenzavirus und MVA-BN-EBOV-VLP (MVA – *modified virus* Ankara) [171]. Eine auf Rabiesvirus basierte bivalente Vakzine wurde entwickelt [172]. Außerdem gibt es inzwischen zwei weitere kommerziell hergestellte, sehr wirk-

same Impfstoffe: Vesiculostomatitisvirus (VSV) mit eingeklontem EBOV-GP (rVSV-ZEBOV *vaccine*) [41, 173] und das mit GP rekombinante Adenovirus 3 (ChAd3-EBO-Z) des Schimpansen [174, 175]. Eine weitere Prüfung von Wirksamkeit und Verträglichkeit ist ausgesetzt, da mit dem Abebben der Epidemie in West-Afrika keine geeigneten Impfkandidaten mehr zur Verfügung stehen [169]. Der VSV-EBOV-Impfstoff ist in der Demokratischen Republik Kongo seit Juli 2017 zugelassen. Ein weiterer Impfstoff, der aus VSV-EBOV und menschlichem Adenovirus-5 exprimierendes GP enthält und in 93 % der Geimpften zur Bildung neutralisierender Antikörper führte, ist in Russland entwickelt worden [176].

Eine Kombination rekombinanter Antigene aus GP, VP24 und VP40, zur Immunisierung intramuskulär verabreicht, schützte Mäuse zu 100 % vor einer tödlichen EBOV-Infektionsdosis [177].

3.5 Übertragbarkeit

Eine Übertragung auf den Empfänger über Bluttransfusion ist in Deutschland nach jetzigem Ermessen ausgeschlossen. Nosokomiale Übertragungen sind bei strikter Einhaltung der sehr strengen Hygienemaßnahmen verhinderbar. Bei der nicht vorhandenen Inzidenz von EBOV in Deutschland und dem fehlenden infizierten Tierreservoir ist eine Übertragung auf Empfänger von Blut und Blutprodukten ausgeschlossen. Amotosalen + UVA- oder Riboflavin + UVB-inaktiviertes Plasma kann Filovirus nicht übertragen (siehe 4.2). Plasmaprodukte werden in Deutschland mit zwei Inaktivierungsverfahren behandelt und können somit das umhüllte Filovirus nicht übertragen.

3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Nachdem Filoviren in Deutschland wegen der Spenderselektion und durch die sogenannte Tropensperre zur Verhinderung der Übertragung von Malaria in Blut nicht vorkommen, sind Häufigkeit und Applikation von Blutprodukten unbedeutend.

4 Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Das Ausgangsmaterial in Deutschland ist nicht mit EBOV und MARV belastet. Wenn ein Verdacht bestehen würde, kann die Exposition eines Blutspenders über die Bestimmung der Filovirus-Antikörper und die Präsenz des Virus in der Spende über die NAT getestet werden, wie unter 1.4 beschrieben.

4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Inaktivierung: Die Stabilität von Filoviren unter Umweltbedingungen wurde unter 1.1 beschrieben.

Physikalische und chemische Behandlung

Bestrahlung. Über Cobalt 60 (^{60}Co) erzeugte γ -Strahlen inaktivierten $6,5 \log_{10}$ TCID₅₀ mL⁻¹ EBOV und $6,8 \log_{10}$ TCID₅₀ mL⁻¹ MARV, die mit etwa 140×10^4 Rad (entspricht 14 kGy) in PBS (*phosphate buffered saline*) oder humanem Serum bestrahlt wurden [178]. Bei der Bestrahlung einer auf einer Glasoberfläche getrockneten EBOV-Suspension mit einem Ausgangstitel von $1,2 \times 10^{10}$ TCID₅₀ mL⁻¹ mit UVC-Licht (4 W/m^2) für 30 sec bei 20 °C wurden etwa 90 % der Viren inaktiviert [179].

Chemische Behandlung. Pathogeninaktivierungsverfahren wie INTERCEPT™ und MIRASOL® können EBOV inaktivieren. Die Transfusion von mit INTERCEPT™ behandeltem Plasma in einen Patienten zeigte keine Nebenwirkungen. Der Titer (*geometric mean titre*) neutralisierender EBOV-Antikörper blieb nach Behandlung mit 32 unverändert [95].

Wird mit EBOV versetztes Vollblut oder Plasma mit Riboflavin plus UVB-Licht für ca. 10 min behandelt (MIRASOL®-Verfahren), so können $>3 \log_{10}$ Stufen EBOV inaktiviert werden [180].

4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Eliminierung/Inaktivierung von Infektionserregern

Filovirus kann in ausreichender Menge und hohem Titer auf Vero-Zellen unter BSL4-Bedingungen gezüchtet werden. Die Titration der Virussuspensionen in Zellkultur ermöglicht die Quantifizierung der Menge infektiöser Viren. Somit sind die Voraussetzungen für Untersuchungen zur Abtrennung, Eliminierung und Inaktivierung von EBOV und MARV prinzipiell gegeben. Da für die Versuche BSL4-Bedingungen eingehalten werden müssen, ist der Aufwand zum Testen sehr hoch.

5 Bewertung

Ebolavirus (EBOV) und Marburgvirus (MARV) werden sporadisch im tropischen Afrika zoonotisch auf den Menschen übertragen. Nach kurzer Adaptation des Virus an den Menschen kann sich ein menschlicher urbaner Infektionszyklus ausbilden, der, wie die Epidemie 2013–2016 in West-Afrika gezeigt hat, über 30.000 Infizierte mit einer Letalität von etwa 40 % oder höher verursachen kann. Etwa 3 %, möglicherweise bis zu 20 %, der EBOV-Infizierten entwickeln keine Krankheit. Ein natürliches Tierreservoir für EBOV oder MARV liegt in Mitteleuropa nicht vor, ebenso fehlen die für die sylvane Verbreitung verantwortlichen Flughund- und Fledermaus-Spezies.

Aus Ausbruchregionen kann Filovirus durch infizierte Menschen auch nach Deutschland importiert werden. Die Behandlung der Kranken hat unter BSL4-Sicherheitsbedingungen zu erfolgen, die Diagnostik über Antikörper-Testung und NAT nach Inaktivierung des Filovirus. Kranke sind sehr kontagiös, da EBOV und MARV über Blut, Speichel, Konjunktivalflüssigkeit, Schweiß und weitere Körpersekrete in großen Mengen freigesetzt werden. Im Genitalbereich kann EBOV persistieren und EBOV-RNA länger als 250 Tage über eine RT-PCR nachgewiesen werden. Forschungsbedarf besteht zur Frage, wie lange verschiedene EBOV- oder MARV-Quasispezies über Blut übertragbar sind und ob bei bestehender Per-

sistenz in einem Kompartiment das Virus aus diesem ins Blut rezirkulieren kann.

Die Therapie ist derzeit vorwiegend supportiv. Verschiedene Substanzen zeigen *in vitro* hinreichende Aktivität, die Vermehrung von Filovirus zu hemmen. Die Ermittlung ihrer Effektivität *in vivo* ist noch nicht abgeschlossen; hierzu besteht weiter Forschungsbedarf. Die Spende von Rekonvaleszentenplasma kann nach individueller ärztlicher Beurteilung, nach Ausschluss von Infektiosität durch Pathogeninaktivierung, im Rahmen von Studien oder individuellen Heilversuchen erfolgen. Die Wirksamkeit von Rekonvaleszentenplasma bleibt wegen der unterschiedlichen Neutralisationstiter und der zirkulierenden Mutanten von z. B. EBOV zurzeit offen.

Zwei Impfstoffe mit guter protektiver Wirkung gegen EBOV sind entwickelt worden; ihre Zulassung in Europa steht noch aus.

Erneute Ausbrüche von EBOV und MARV sind in der tropischen Region Afrikas zu erwarten. Bei Einhaltung von strikten Hygienemaßnahmen können derartige Ausbrüche und die Ausbreitung und die Zahl der Erkrankten begrenzt werden. Eine schnelle Ausbreitung des Virus kann über Riegelimpfung verzögert bzw. verhindert werden.

In der Inkubationszeit kann EBOV oder MARV bei asymptomatischen Spendern theoretisch über Blut übertragen werden. Die Dauer der Virämie kann länger als 4 Wochen betragen. Potenzielle Spender werden als Reiserückkehrer aus tropischen Regionen und bei möglicher beruflicher Exposition gemäß Hämotherapierichtlinien von der Spende zurückgestellt. Eine spezifisch auf EBOV oder MARV bezogene Spenderrückstellung ist daher nicht erforderlich. Solange EBOV oder MARV wie bisher selten und regional begrenzt auftreten, ist ein Testen von Blutspenden in Deutschland nicht notwendig.

Dieses Papier wurde fertiggestellt am 18.01.2018 und vom Arbeitskreis Blut am 18.04.2018 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut: Prof. Dr. Lutz Gürtler, Prof. Dr. Martin Aepfelbacher, Dr. Ursula Bauerfeind, Prof. Dr.

Isabelle Bekeredjian-Ding, PD Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Dr. Manfred Doll, Prof. Dr. Markus Funk, Dr. Albrecht Gröner, Dr. Margarethe Heiden, Prof. Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Ruth Offergeld, Prof. Dr. Georg Pauli, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Volkmar Schottstedt, Prof. Dr. Rainer Seitz, PD Dr. Dorothea Stahl, Dr. Johanna Strobel, Dr. Hannelore Willkommen.

Literatur

- Mihindukulasuriya KA, Nguyen NL, Wu G et al (2009) Nyamanini and midway viruses define a novel taxon of RNA viruses in the order Mononegavirales. *J Virol* 83:5109–5116
- Anthony SM, Bradfute SB (2015) Filoviruses: One of these things is (not) like the other. *Viruses* 7:5172–5190
- Bào Y, Amarasinghe GK, Basler CF et al (2017) Implementation of objective PASC-derived taxon demarcation criteria for official classification of filoviruses. *Viruses* 9:E106
- Brauburger K, Hume AJ, Mühlberger E, Olejnik J (2012) Forty-five years of Marburg virus research. *Viruses* 4:1878–1927
- Burk R, Bollinger L, Johnson JC et al (2016) Neglected filoviruses. *FEMS Microbiol Rev* 40:494–519
- Kuhn JH, Becker S, Ebihara H et al (2010) Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Arch Virol* 155:2083–2103
- Kuhn JH, Andersen KG, Bào Y et al (2014) Filovirus RefSeq entries: evaluation and selection of filovirus type variants, type sequences, and names. *Viruses* 6:3663–3682
- Negredo A, Palacios G, Vázquez-Morón S et al (2011) Discovery of an Ebolavirus-like filovirus in Europe. *Plos Pathog* 7:e1002304
- Rougeron V, Feldmann H, Grard G, Becker S, Leroy EM (2015) Ebola and Marburg haemorrhagic fever. *J Clin Virol* 64:111–119
- Messaoudi I, Amarasinghe GK, Basler CF (2015) Filovirus pathogenesis and immune evasion: insights from Ebola virus and Marburg virus. *Nat Rev Microbiol* 13:663–676
- Siegert R, Shu HL, Slenczka W, Peters D, Müller G (1967) Zur Ätiologie einer unbekanntenen, von Affen ausgegangenen menschlichen Infektionskrankheit. *Dtsch Med Wochenschr* 92:2341–2343
- WHO-Zaire (1978) Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. *Bull World Health Organ* 56:271–293
- Johnson KM, Lange JV, Webb PA, Murphy FA (1977) Isolation and partial characterisation of a new virus causing acute haemorrhagic fever in Zaire. *Lancet* 309:569–571
- WHO-Sudan (1978) Ebola haemorrhagic fever in Sudan, 1976. Report of a WHO/International Study Team. *Bull World Health Organ* 56:247–270
- Johnson ED, Johnson BK, Silverstein D et al (1996) Characterization of a new Marburg virus

- isolated from a 1987 fatal case in Kenya. *Arch Virol Suppl* 11:S101–S114
16. Le Guenno B, Formenty P, Wyers M, Gounon P, Walker F, Boesch C (1995) Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. *Lancet* 345:1271–1274
 17. Muyembe-Tamfum JJ, Kipasa M, Kiyungu C, Colebunders R (1999) Ebola outbreak in Kikwit, Democratic Republic of the Congo: discovery and control measures. *J Infect Dis* 179 Suppl 1:259–262
 18. Formella M, Gatherer D (2016) The serology of Ebolavirus – a wider geographical range, a wider genus of viruses or a wider range of virulence? *J Gen Virol* 97:3120–3130
 19. Pigott DM, Golding N, Mylne A et al (2014) Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *Elife* 3:e04395
 20. Pigott DM, Golding N, Mylne A et al (2015) Mapping the zoonotic niche of Marburg virus disease in Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 109:366–378
 21. Pigott DM, Millier AI, Earl L et al (2016) Updates to the zoonotic niche map of Ebola virus disease in Africa. *Elife* 5:e16412
 22. Coltart CEM, Lindsey B, Ghinai I, Johnson AM, Heyman DL (2017) The Ebola outbreak, 2013–2016: old lessons for new epidemics. *Philos Trans R Soc London B Biol Sci* 372:20160297
 23. Geisbert TW, Jahrling PB (1990) Use of immunoelectron microscopy to show Ebola virus during the 1989 United States epizootic. *J Clin Pathol* 43:813–816
 24. Wertheim JO, Kosakovsky Pond SL (2011) Purifying selection can obscure the ancient age of viral lineages. *Mol Biol Evol* 28:3355–3365
 25. Belyi VA, Levine AJ, Skalka AM (2010) Unexpected inheritance: multiple integrations of ancient barnavirus and Ebolavirus/Marburgvirus sequences in vertebrate genomes. *Plos Pathog* 6:e1001030
 26. Taylor DJ, Leach RW, Bruenn J (2010) Filoviruses are ancient and integrated into mammalian genomes. *BMC Evol Biol* 10:193
 27. De La Vega MA, Stein D, Kobinger GP (2015) Ebolavirus evolution: past and present. *Plos Pathog* 11:e1005221
 28. Li YH, Chen SP (2014) Evolutionary history of Ebola virus. *Epidemiol Infect* 142:1138–1145
 29. Carroll SA, Towner JS, Sealy TK et al (2013) Molecular evolution of viruses of the family Filoviridae based on 97 whole-genome sequences. *J Virol* 87:2608–2616
 30. Gire SK, Goba A, Andersen KG et al (2014) Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science* 345:1369–1372
 31. Dudas G, Carvalho LM, Bedford T et al (2017) Virus genomes reveal factors that spread and sustained the Ebola epidemic. *Nature* 544:309–315
 32. Simon-Loriere E, Faye O, Faye O et al (2015) Distinct lineages of Ebola virus in Guinea during the 2014 West African epidemic. *Nature* 524:102–104
 33. Mühlberger E (2007) Filovirus replication and transcription. *Future Virol* 2:205–215
 34. Jun SR, Leuze MR, Nookaew I et al (2015) Ebolavirus comparative genomics. *FEMS Microbiol Rev* 39:764–778
 35. Yusim K, Yoon H, Foley B et al (2016) Integrated sequence and immunology filovirus database at Los Alamos. *Database (Oxford)* 2016:baw47
 36. Falasca L, Agrati C, Petrosillo N et al (2015) Molecular mechanisms of Ebola virus pathogenesis: focus on cell death. *Cell Death Differ* 22:1250–1259
 37. Banadyga L, Dolan MA, Ebihara H (2016) Rodent-adapted filoviruses and the molecular basis of pathogenesis. *J Mol Biol* 428:3449–3466
 38. Collar AL, Clarke EC, Anaya E et al (2017) Comparison of N- and O-linked glycosylation patterns of ebolavirus glycoproteins. *Virology* 502:39–41
 39. Bosworth A, Dowall SD, Garcia-Dorival I et al (2017) A comparison of host gene expression signatures associated with infection in vitro by the Makona and Ecran (Mayinga) variants of Ebola virus. *Sci Rep* 7:43144
 40. Geisbert TW, Hensley LE, Larsen T et al (2003) Pathogenesis of Ebola hemorrhagic fever in *Cynomolgus* macaques: evidence that dendritic cells are early and sustained targets of infection. *Am J Pathol* 163:2347–2370
 41. Feldmann H, Geisbert TW (2011) Ebola hemorrhagic fever. *Lancet* 377:849–862
 42. Janvier F, Delaune D, Poyot T et al (2016) Ebola virus RNA stability in human blood and urine in West Africa's environmental conditions. *Emerg Infect Dis* 22:292–294
 43. Bibby K, Fischer PJ, Casson LW, Stachler E, Haas CN, Munster VJ (2015) Persistence of Ebola virus in sterilized wastewater. *Environ Sci Technol Lett* 2:245–249
 44. Fischer RJ, Judson SD, Miazgowiec K, Bushmaker T, Prescott JB, Munster VJ (2015) Ebola virus stability on surfaces and in fluids in simulated outbreak environments. *Emerg Infect Dis* 21:1243–1246
 45. Westhoff Smith D, Hill-Batorski L, N'jai A et al (2016) Ebola virus stability under hospital and environmental conditions. *J Infect Dis* 214(suppl 3):S142–S144
 46. Schuit M, Miller DM, Reddick-Elick MS et al (2016) Differences in the comparative stability of Ebola virus Makona-C05 and Yambuku-Mayinga in blood. *PLoS ONE* 11:e0148476
 47. Piercy TJ, Smither SJ, Steward JA, Eastaugh L, Lever MS (2010) The survival of filoviruses in liquids, on solid substrates and in a dynamic aerosol. *J Appl Microbiol* 109:1531–1539
 48. Cook BWM, Cutts TA, Nikiforuk AM et al (2015) Evaluating environmental persistence and disinfection of the Ebola virus Makona variant. *Viruses* 7:1975–1986
 49. Sagripanti JL, Rom AM, Holland LE (2010) Persistence in darkness of virulent alphaviruses, Ebola virus, and Lassa virus deposited on solid surfaces. *Arch Virol* 155:2035–2039
 50. Prescott JB, Bushmaker T, Fischer RJ, Miazgowiec K, Judson SD, Munster VJ (2015) Post-mortem stability of Ebola virus. *Emerg Infect Dis* 21:856–859
 51. Cook BWM, Cutts TA, Nikiforuk AM, Leung A, Kobasa D, Theriault SS (2016) The disinfection characteristics of Ebola virus outbreak variants. *Sci Rep* 6:38293
 52. Cutts T, Cook B, Poliquin G, Strong J, Theriault S (2016) Inactivating Zaire Ebolavirus in whole-blood thin smears used for malaria diagnosis. *J Clin Microbiol* 54:1157–1159
 53. Chepurinov AA, Bakulina LF, Dadaeva AA, Ustinova EN, Chepurnova TS, Baker JR Jr (2003) Inactivation of Ebola virus with a surfactant nanoemulsion. *Acta Trop* 87:315–320
 54. Jinadatha C, Simmons S, Dale C et al (2015) Disinfecting personal protective equipment with pulsed xenon ultraviolet as a risk mitigation strategy for health care workers. *Am J Infect Control* 43:412–414
 55. Mifsud A, Peelen D, Brincat P et al (2016) A feasibility study on the effects of Triton X-100 for the in vitro inactivation of Ebola virus on haematological assays. *J Clin Pathol* 69:637–642
 56. Cutts T, Grolla A, Jones S, Cook BWM, Qiu X, Theriault SS (2016) Inactivation of Zaire ebolavirus variant Makona in human serum samples analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Infect Dis* 214 Suppl 3:218–S221
 57. van Kampen JJA, Tintu A, Russcher H et al (2017) Ebola Virus Inactivation by Detergents Is Annulled in Serum. *J Infect Dis* 216:859–866
 58. Haddock E, Feldmann F, Feldmann H (2016) Effective chemical inactivation of Ebola virus. *Emerg Infect Dis* 22:1292–1294
 59. Smither SJ, Weller SA, Phelps A et al (2015) Buffer AVL alone does not inactivate Ebola virus in a representative clinical sample type. *J Clin Microbiol* 53:3148–3154
 60. Leroy EM, Baize S, Volchkov VE et al (2000) Human asymptomatic Ebola infection and strong inflammatory response. *Lancet* 355:2210–2215
 61. Francesconi P, Yoti Z, Declich S et al (2003) Ebola hemorrhagic fever transmission and risk factors of contacts, Uganda. *Emerg Infect Dis* 9:1430–1437
 62. Bausch DG, Towner JS, Dowell SF et al (2007) Assessment of the risk of Ebola virus transmission from bodily fluids and fomites. *J Infect Dis* 196 Suppl 2:142–S147
 63. Osterholm MT, Moore KA, Kelley NS et al (2015) Transmission of Ebola viruses: what we know and what we do not know. *MBio* 6:e00137–15
 64. Franz DR, Jahrling PB, Friedlander AM et al (1997) Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents. *J Am Med Assoc* 278:399–411
 65. Faye O, Boëlle PY, Heleze E et al (2015) Chains of transmission and control of Ebola virus disease in Conakry, Guinea, in 2014: an observational study. *Lancet Infect Dis* 15:320–326
 66. Dean NE, Halloran ME, Yang Y, Longini IM (2016) Transmissibility and pathogenicity of Ebola virus: A systematic review and meta-analysis of household secondary attack rate and asymptomatic infection. *Clin Infect Dis* 62:1277–1286
 67. Bower H, Glynn JR (2017) A systematic review and meta-analysis of seroprevalence surveys of ebolavirus infection. *Sci Data* 4:160133
 68. Becquart P, Wauquier N, Mahlaköiv T et al (2010) High prevalence of both humoral and cellular immunity to Zaire ebolavirus among rural populations in Gabon. *PLoS ONE* 5:e0009126
 69. Hayes CG, Burans JP, Ksiazek TG et al (1992) Outbreak of fatal illness among captive macaques in the Philippines caused by an Ebola-related filovirus. *Am J Trop Med Hyg* 46:664–671
 70. Harrod KS (2015) Ebola: history, treatment, and lessons from a new emerging pathogen. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 308:L307–L313
 71. Cantoni D, Hamlet A, Michaelis M, Wass MN, Rossman JS (2016) Risks posed by Reston, the forgotten Ebolavirus. *mSphere* 1:e00322–16
 72. Miranda MEG, Miranda NLJ (2011) Reston ebolavirus in humans and animals in the Philippines: a review. *J Infect Dis* 204 Suppl 3:S757–S760
 73. Gralton J, Tovey E, McLaws ML, Rawlinson WD (2011) The role of particle size in aerosolised pathogen transmission: a review. *J Infect* 62:1–13
 74. Glynn JR, Bower H, Johnson S et al (2017) Asymptomatic infection and unrecognised Ebola

- virus disease in Ebola-affected households in Sierra Leone: a cross-sectional study using a new non-invasive assay for antibodies to Ebola virus. *Lancet Infect Dis* 17:645–653
75. Johnson E, Jaax N, White J, Jahrling P (1995) Lethal experimental infections of rhesus monkeys by aerosolized Ebola virus. *Int J Exp Pathol* 76:227–236
 76. Reed DS, Lackemeyer MG, Garza NL, Sullivan LJ, Nichols DK (2011) Aerosol exposure to Zaire ebolavirus in three nonhuman primate species: differences in disease course and clinical pathology. *Microbes Infect* 13:930–936
 77. Zumbrun EE, Abdeltawab NF, Bloomfield HA et al (2012) Development of a murine model for aerosolized ebolavirus infection using a panel of recombinant inbred mice. *Viruses* 4:3468–3493
 78. Jaax N, Jahrling P, Geisbert T et al (1995) Transmission of Ebola virus (Zaire strain) to uninfected control monkeys in a biocontainment laboratory. *Lancet* 346:1669–1671
 79. Mann E, Streng S, Bergeron J, Kircher A (2015) A review of the role of food and the food system in the transmission and spread of Ebolavirus. *Plos Negl Trop Dis* 9:e0004160
 80. Aylward B, Barboza P, Bawo L et al, WHO Ebola Response Team (2014) Ebola virus disease in West Africa – the first 9 months of the epidemic and forward projections. *N Engl J Med* 371:1481–1495
 81. Fischer WA 2nd, Wohl DA (2016) Confronting Ebola as a sexually transmitted infection. *Clin Infect Dis* 62:1272–1276
 82. El Sayed SM, Abdelrahman AA, Ozbak HA et al (2015) Updates in diagnosis and management of Ebola hemorrhagic fever. *J Res Med Sci* 21:84
 83. Scott JT, Sesay FR, Massaquoi TA, Idriss BR, Sahr F, Semple MG (2016) Post-Ebola syndrome, Sierra Leone. *Emerg Infect Dis* 22:641–646
 84. Hartley MA, Young A, Tran AM et al (2017) Predicting Ebola severity: a clinical prioritization score for Ebola virus disease. *PLoS Negl Trop Med* 11:e0005265
 85. Waxman M, Aluisio AR, Rege S, Levine AC (2017) Characteristics and survival of patients with Ebola virus infection, malaria, or both in Sierra Leone: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 17:654–660
 86. Bower H, Smout E, Bangura MS et al (2016) Deaths, late deaths, and role of infecting dose in Ebola virus disease in Sierra Leone: retrospective cohort study. *Br Med J* 353:i2403
 87. Garske T, Cori A, Ariyarahaj A et al (2017) Heterogeneities in the case fatality ratio in the West African Ebola outbreak 2013–2016. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 372:20160308
 88. Rasmussen AL (2016) Host factors in Ebola infection. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 17:333–351
 89. Tiffany A, Vetter P, Mattia J et al (2016) Ebola virus disease complications as experienced by survivors in Sierra Leone. *Clin Infect Dis* 62:1360–1366
 90. Gear JSS, Cassel GA, Gear AJ et al (1975) Outbreak of Marburg virus disease in Johannesburg. *Br Med J* 4:489–493
 91. McElroy AK, Erickson BR, Flietstra TD et al (2014) Ebola hemorrhagic fever: novel biomarker correlates of clinical outcome. *J Infect Dis* 210:558–566
 92. Lanini S, Portella G, Vairo F et al (2015) Blood kinetics of Ebola virus in survivors and nonsurvivors. *J Clin Invest* 125:4692–4698
 93. Rudolf F, Damkjaer M, Lunding S et al (2017) Influence of referral pathway on Ebola virus disease case–fatality rate and effect of survival selection bias. *Emerg Infect Dis* 23:597–600
 94. Sagui E, Janvier F, Baize S et al (2015) Severe Ebola virus infection with encephalopathy: evidence for direct virus involvement. *Clin Infect Dis* 61:1627–1628
 95. Geisen C, Kann G, Strecker T et al (2016) Pathogen-reduced Ebola virus convalescent plasma: first steps towards standardization of manufacturing and quality control including assessment of Ebola-specific neutralizing antibodies. *Vox Sang* 110:329–335
 96. Brainard J, Pond K, Hooper L, Edmunds K, Hunter P (2016) Presence and persistence of Ebola or Marburg virus in patients and survivors: a rapid systematic review. *Plos Negl Trop Dis* 10:e0004475
 97. Deen GF, Broutet N, Xu W et al (2017) Ebola RNA persistence in semen of Ebola virus disease survivors – final report. *N Engl J Med* 377:1428–1437
 98. Uyeki TM, Erickson BR, Brown S et al (2016) Ebola virus persistence in semen of male survivors. *Clin Infect Dis* 62:1552–1555
 99. Sissoko D, Duraffour S, Kerber R et al (2017) Persistence and clearance of Ebola virus RNA from seminal fluid of Ebola virus disease survivors: a longitudinal analysis and modelling study. *Lancet Glob Health* 5:e80–e88
 100. Vetter P, Kaiser L, Schibler M, Ciglenecki I, Bausch DG (2016) Sequelae of Ebola virus disease: the emergency within the emergency. *Lancet Infect Dis* 16:e82–e91
 101. Varkey JB, Shantha JG, Crozier I et al (2015) Persistence of Ebola virus in ocular fluid during convalescence. *N Engl J Med* 372:2423–2427
 102. Sissoko D, Keita M, Diallo B et al (2017) Ebola virus persistence in breast milk after no reported illness: a likely source of virus transmission from mother to child. *Clin Infect Dis* 64:513–516
 103. Amman BR, Carrol SA, Reed ZD et al (2012) Seasonal pulses of Marburg virus circulation in juvenile Rousettus aegyptiacus bats coincide with periods of increased risk of human infection. *Plos Pathog* 8:e1002877
 104. Olival KJ, Hayman DTS (2014) Filoviruses in bats: current knowledge and future directions. *Viruses* 6:1759–1788
 105. Jones MEB, Schuh AJ, Amman BR et al (2015) Experimental inoculation of Egyptian Rousette bats (*Rousettus aegyptiacus*) with viruses of the Ebolavirus and Marburgvirus genera. *Viruses* 7:3420–3442
 106. Leroy EM, Rouquet P, Formenty P et al (2004) Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife. *Science* 303:387–390
 107. Smither SJ, Nelson M, Eastaugh L, Nunez A, Salguero FJ, Lever MS (2015) Experimental respiratory infection of marmosets (*Callithrix jacchus*) with Ebola virus Kikwit. *J Infect Dis* 212 (Suppl 2):S336–S345
 108. Swanepoel R, Leman PA, Burt FJ et al (1996) Experimental inoculation of plants and animals with Ebola virus. *Emerg Infect Dis* 2:321–325
 109. Urbanowicz RA, McClure CP, Sakuntabhai A et al (2016) Human adaptation of Ebola virus during the West African outbreak. *Cell* 167:1079–1087
 110. Holmes EC, Dudas G, Rambaut A, Andersen KG (2016) The evolution of Ebola virus: Insights from the 2013–2016 epidemic. *Nature* 538:193–200
 111. Smith DW, Rawlinson WD, Kok J, Dwyer DE, Catton M (2015) Virological diagnosis of Ebolavirus infection. *Pathology* 47:410–413
 112. Su S, Wong G, Qiu X, Kobinger G, Bi Y, Zhou J (2016) Diagnostic strategies for Ebola virus detection. *Lancet Infect Dis* 16:294–295
 113. Ksiazek TG, Rollin PE, Jahrling PB, Johnson E, Dalgard DW, Peters CJ (1992) Enzyme immuno-sorbent assay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. *J Clin Microbiol* 30:947–950
 114. Urassa W, Meurant R, Wood D (2015) ReEBOV Antigen Rapid Test kit for Ebola. *Lancet* 386:2253–2254
 115. Rowe AK, Bertolli J, Khan AS et al (1999) Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. Commission de Lutte contre les épidémies à Kikwit. *J Infect Dis* 179 (Suppl 1):S28–S35
 116. Broadhurst MJ, Kelly JD, Miller A et al (2015) ReEBOV antigen rapid test kit for point-of-care and laboratory-based testing for Ebola virus disease: a field validation study. *Lancet* 386:867–874
 117. Cross RW, Boisen ML, Millett MM et al (2016) Analytical validation of the ReEBOV antigen rapid test for point-of-care diagnosis of Ebola virus infection. *J Infect Dis* 214 (Suppl 3):S210–S217
 118. Yoshida R, Muramatsu S, Akita H et al (2016) Development of an immunochromatography assay (QuickNavi-Ebola) to detect multiple species of Ebolaviruses. *J Infect Dis* 214 (Suppl 3):S185–S191
 119. Spinner ML, di Giovanni GD (2001) Detection and identification of mammalian reoviruses in surface water by combined cell culture and reverse transcription-PCR. *Appl Environ Microbiol* 67:3016–3020
 120. Cherpillod P, Schibler M, Vieille G et al (2016) Ebola virus disease diagnosis by real-time RT-PCR: a comparative study of 11 different procedures. *J Clin Virol* 77:9–14
 121. Towner JS, Rollin PE, Bausch DG et al (2004) Rapid diagnosis of Ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J Virol* 78:4330–4341
 122. Jansen van Vuren P, Grobbelaar A, Storm N et al (2016) Comparative evaluation of the diagnostic performance of the prototype Cepheid GeneXpert Ebola assay. *J Clin Microbiol* 54:359–367
 123. Van den Bergh R, Chaillet P, Sow MS et al (2016) Feasibility of Xpert Ebola assay in Médecins Sans Frontières Ebola Program, Guinea. *Emerg Infect Dis* 22:210–216
 124. Semper AE, Broadhurst MJ, Richards J et al (2016) Performance of the GeneXpert Ebola assay for diagnosis of Ebola virus disease in Sierra Leone: a field evaluation study. *Plos Med* 13:e1001980
 125. Loftis AJ, Quelli S, Chason K et al (2017) Validation of the Cepheid GeneXpert for detecting Ebola virus in semen. *J Infect Dis* 215:344–350
 126. Ro YT, Ticer A, Carrion R Jr, Patterson JL (2017) Rapid detection and quantification of Ebola Zaire virus by one-step real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *Microbiol Immunol* 61:130–137
 127. Kurosaki Y, Grolla A, Fukuma A, Feldmann H, Yasuda J (2010) Development and evaluation of a simple assay for Marburg virus detection using a reverse transcription-loop-mediated iso-

- thermal amplification method. *J Clin Microbiol* 48:2330–2336
128. Xu C, Wang H, Jin H et al (2016) Visual detection of Ebola virus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification combined with nucleic acid strip detection. *Arch Virol* 161:1125–1133
 129. Lu G, Zhang J, Zhang C et al (2015) One-step reverse-transcription FRET-PCR for differential detection of five Ebolavirus species. *PLoS ONE* 10:e0126281
 130. Bergqvist C, Holmström P, Lindegren G, Lagerqvist N, Leijon M, Falk KI (2015) Multiplex nucleic acid suspension bead arrays for detection and subtyping of filoviruses. *J Clin Microbiol* 53:1368–1370
 131. Fang LQ, Yang Y, Jiang JF et al (2016) Transmission dynamics of Ebola virus disease and intervention effectiveness in Sierra Leone. *Proc Natl Acad Sci USA* 113:4488–4493
 132. Agua-Agum J, Allegranzi B et al, WHO Ebola Response Team (2016) After Ebola in West Africa – unpredictable risks, preventable epidemics. *N Engl J Med* 375:587–596
 133. Hersi M, Stevens A, Quach P et al (2015) Effectiveness of personal protective equipment for healthcare workers caring for patients with filovirus disease: a rapid review. *PLoS ONE* 10:e0140290
 134. Wong G, Kobinger GP (2015) Backs against the wall: novel and existing strategies used during the 2014–2015 Ebola virus outbreak. *Clin Microbiol Rev* 28:593–601
 135. Fock R, Koch U, Wirtz A, Peters M, Ruf B, Grünwald T (2001) Erste medizinische und antiepidemische Maßnahmen bei Verdacht auf virales hämorrhagisches Fieber. *Med Welt* 52:126–132
 136. Robert Koch-Institut (2014) Zum Ebola-fieber-Ausbruch in Afrika. *Epid Bull* 35(Supplement):S1–S2
 137. Moyon N, Thirion L, Emmerich P et al (2015) Risk factors associated with Ebola and Marburg viruses seroprevalence in blood donors in the Republic of Congo. *Plos Negl Trop Dis* 9:e0003833
 138. Tomori O, Fabiyi A, Sorungbe A, Smith A, McCormick JB (1988) Viral hemorrhagic fever antibodies in Nigerian populations. *Am J Trop Med Hyg* 38:407–410
 139. Bouree P, Bergmann JF (1983) Ebola virus infection in man: a serological and epidemiological survey in the Cameroons. *Am J Trop Med Hyg* 32:1465–1466
 140. Van Griensven J, Edwards T, de Lamballerie X et al (2016) Evaluation of convalescent plasma for Ebola virus disease in Guinea. *N Engl J Med* 374:33–42
 141. Kreil TR (2015) Treatment of Ebola virus infection with antibodies from reconvalescent donors. *Emerg Infect Dis* 21:521–523
 142. van Griensven J, De Weigheleire A, Delamou A et al (2016) The Use of Ebola Convalescent Plasma to Treat Ebola Virus Disease in Resource-Constrained Settings: A Perspective From the Field. *Clin Infect Dis* 62:69–74
 143. Arribas JR, Luczkowiak J, Delgado R (2016) Convalescent plasma for Ebola virus disease. *N Engl J Med* 374:2498–2499
 144. Moekotte AL, Huson MAM, van der Ende AJ et al (2016) Monoclonal antibodies for the treatment of Ebola virus disease. *Expert Opin Investig Drugs* 25:1325–1335
 145. Rojek A, Horby P, Dunning J (2017) Insights from clinical research completed during the west African Ebola virus disease epidemic. *Lancet Infect Dis* 17:e280–e292
 146. Kraft CS, Hewlett AL, Koepsell S et al (2015) The use of TKM-100802 and convalescent plasma in 2 patients with Ebola virus disease in the United States. *Clin Infect Dis* 61:496–502
 147. Garraud O (2017) Use of convalescent plasma in Ebola virus infection. *Transfus Apher Sci* 56:31–34
 148. Koepsell SA, Winkler AM, Roback JD (2017) The role of the laboratory and transfusion service in the management of Ebola virus disease. *Transfus Med Rev* 31:149–153
 149. Bixler SL, Duplantier AJ, Bavari S (2017) Discovering drugs for the treatment of Ebola virus. *Curr Treat Options Infect Dis* 9:299–317
 150. Mora-Rillo M, Arsuaga M, Ramirez-Olivencia G et al (2015) Acute respiratory distress syndrome after convalescent plasma use: treatment of a patient with Ebola virus disease contracted in Madrid, Spain. *Lancet Respir Med* 3:554–562
 151. Rhein BA, Powers LS, Rogers K et al (2015) Interferon- γ inhibits Ebola virus infection. *Plos Pathog* 11:e1005263
 152. Konde MK, Baker DP, Traore FA et al (2017) Interferon β -1a for the treatment of Ebola virus disease: a historically controlled, single-arm proof-of-concept trial. *PLoS ONE* 12:e0169255
 153. Tran EEH, Nelson EA, Bonagiri P et al (2016) Mapping of Ebolavirus neutralization by monoclonal antibodies in the ZMapp cocktail using cryo-electron tomography and studies of cellular entry. *J Virol* 90:7618–7627
 154. Qiu X, Wong G, Audet J et al (2014) Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature* 514:47–53
 155. Murin CD, Fusco ML, Bornholdt ZA et al (2014) Structures of protective antibodies reveal sites of vulnerability on Ebola virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:17182–17187
 156. Lyon GM, Mehta AK, Varkey JB et al (2014) Clinical care of two patients with Ebola virus disease in the United States. *N Engl J Med* 371:2402–2409
 157. Corti D, Misasi J, Mulangu S et al (2016) Protective monotherapy against lethal Ebola virus infection by a potentially neutralizing antibody. *Science* 351:1339–1342
 158. Davidson E, Bryan C, Fong RH et al (2015) Mechanism of binding to Ebola virus glycoprotein by the ZMapp, ZMAb, and MB-003 cocktail antibodies. *J Virol* 89:10982–10992
 159. Furuyama W, Marzi A, Nanbo A et al (2016) Discovery of an antibody for pan-ebolavirus therapy. *Sci Rep* 6:20514
 160. Khurana S, Fuentes S, Coyle EM, Ravichandran S, Davey RT Jr, Beigel JH (2016) Human antibody repertoire after VSV-Ebola vaccination identifies novel targets and virus-neutralizing IgM antibodies. *Nat Med* 22:1439–1447
 161. Haque A, Hober D, Blondiaux J (2015) Addressing therapeutic options for Ebola virus infection in current and future outbreaks. *Antimicrob Agents Chemother* 59:5892–5902
 162. Warren TK, Wells J, Panchal RG et al (2014) Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature* 508:402–405
 163. Warren TK, Jordan R, Lo MK et al (2016) Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature* 531:381–385
 164. Cong Y, Dyall J, Hart BJ et al (2016) Evaluation of the activity of lamivudine and zidovudine against Ebola virus. *PLoS ONE* 11:e0166318
 165. Falzarano D (2016) Ebola vaccines: we have options. *Lancet Infect Dis* 16:267–268
 166. Henao-Restrepo AM, Longini IM, Egger M et al (2015) Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. *Lancet* 386:857–866
 167. Friedrich BM, Trefry JC, Biggins JE et al (2012) Potential vaccines and post-exposure treatments for filovirus infections. *Viruses* 4:1619–1650
 168. Mire CE, Geisbert TW, Feldmann H, Marzi A (2016) Ebola virus vaccines – reality or fiction? *Expert Rev Vaccines* 15:1421–1430
 169. Venkatraman N, Silman D, Folegatti PM, Hill AVS (2017) Vaccines against Ebola virus. *Vaccine*. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.07.054>
 170. Holtsberg FW, Shulenin S, Vu H et al (2016) Pan-ebolavirus and pan-filovirus mouse monoclonal antibodies: protection against Ebola and Sudan viruses. *J Virol* 90:266–278
 171. Schwenker M, Laimbacher AS, Zimmer G et al (2017) Recombinant modified vaccinia virus Ankara generating Ebola virus-like particles. *J Virol* 91:e00343–17
 172. Blaney JE, Marzi A, Willet M et al (2013) Antibody quality and protection from lethal Ebola virus challenge in nonhuman primates immunized with rabies virus based bivalent vaccine. *Plos Pathog* 9:e1003389
 173. Huttner A, Dayer JA, Yerly S et al (2015) The effect of dose on the safety and immunogenicity of the VSV Ebola candidate vaccine: a randomised double-blind, placebo-controlled phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis* 15:1156–1166
 174. De Santis O, Audran R, Pothin E et al (2016) Safety and immunogenicity of a chimpanzee adenovirus-vectored Ebola vaccine in healthy adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-finding, phase 1/2a study. *Lancet Infect Dis* 16:311–320
 175. Tapia MD, Sow SO, Lyke KE et al (2016) Use of CHAd3-EBO-Z Ebola virus vaccine in Malian and US adults, and boosting of Malian adults with MVA-BN-Filo: a phase 1, single-blind, randomised trial, a phase 1b, open-label and double-blind, dose-escalation trial, and a nested, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Infect Dis* 16:31–42
 176. Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tukhvatulin AI et al (2017) Safety and immunogenicity of GamEvac-Combi, a heterologous VSV- and Ad5-vectored Ebola vaccine: an open phase I/II trial in healthy adults in Russia. *Hum Vaccin Immunother* 13:613–620
 177. Lehrer AT, Wong TS, Lieberman MM et al (2018) Recombinant proteins of Zaire ebolavirus induce potent humoral and cellular immune responses and protect against live virus infection in mice. *Vaccine* 36:3090–3100
 178. Elliott LE, McCormick JB, Johnson KM (1982) Inactivation of Lassa, Marburg, and Ebola viruses by gamma irradiation. *J Clin Microbiol* 16:704–708
 179. Sagripanti JL, Lytle CD (2011) Sensitivity to ultraviolet radiation of Lassa, vaccinia, and Ebola viruses dried on surfaces. *Arch Virol* 156:489–494
 180. Cap AP, Pidcock HF, Keil SD et al (2016) Treatment of blood with a pathogen reduction technology using ultraviolet light and riboflavin inactivates Ebola virus in vitro. *Transfusion* 56 Suppl 1:56–515