

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung der Familie *Marseilleviridae*
als Spender- oder Empfängerorganismen
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Die Familie *Marseilleviridae* beinhaltet Viren mit einem großen Genom, die zu den *nucleocytoplasmic large DNA viruses* (NCLDV) gehören [1]. Der erste Vertreter der NCLDV, das *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (ApMV), wurde 2003 aus der gleichnamigen Amöbe isoliert [2]. NCLDV unterscheiden sich von anderen Viren insofern, dass sie ein großes Kapsid mit einem Durchmesser von 150-500 nm sowie ein großes Genom von 103-1.259 kb besitzen, das somit größer als das einiger Bakterien ist [1]. Zudem trägt das Genom einiger Vertreter der *Mimiviridae* und der *Marseilleviridae* Gene für an der Translation beteiligte Proteine [3, 4]. Es wurde vorgeschlagen, diese Viren in die neue Ordnung Megavirales einzuordnen [1].

Die namensgebende Art der *Marseilleviridae* stellt das *Marseillevirus marseillevirus* (APMaV) dar. Dieses Virus wurde 2007 mithilfe einer Ko-Kultur von *A. polyphaga* aus dem Wasser einer Pariser Kühlanlage isoliert. Das Virus besitzt ein ikosaedrisches Kapsid mit einer Größe von etwa 250 nm, welches ein inneres Nukleokapsid (eventuell umschlossen von einer Membran) umhüllt. Das Kapsid wird von 12 nm langen Fasern mit kugelförmigen Enden eingefasst. Das Genom von APMaV hat eine Größe von 368.454 bp mit einem G/C-Gehalt von 44,73 % und 457 vorhergesagten *open reading frames* [4]. Der zweite Vertreter der Familie wurde 2011 beschrieben. Dabei handelte es sich um das *Acanthamoeba castellanii lausannevirus* (ACLaV), welches mithilfe einer *A. castellanii*-Ko-Kultur aus einer Wasseraufbereitungsanlage in der Nähe von Paris isoliert wurde, die mit Wasser aus der Seine gespeist wurde [5]. Weitere Vertreter sind das *Cannes 8 virus* (Ca8V, aus einer Kühlanlage in Cannes) [6], das *Tunisvirus* und das *Fontaine Saint-Charles virus* (aus Zierbrunnen in einem Vorort von Tunis und Marseille) [7, 8], das *Brazilian marseillevirus* (BrMV, aus einer Kläranlage in Belo Horizonte) [9, 10] und das *Melbournevirus* (aus schlammigem Süßwasser in Melbourne) [11]. Das *Insectomime virus* wurde aus den inneren Organen und dem Verdauungstrakt einer Mistbienenlarve (*Eristalis tenax*) isoliert, die aus stehendem Gewässer in Tunis entnommen wurde [12].

Auch aus humanen Proben konnten bereits Vertreter der *Marseilleviridae* isoliert werden. Das *Senegalvirus marseillevirus* (SNGV) wurde in einer Stuhlprobe im Rahmen der metagenomischen Analyse der Darmflora eines untergewichtigen, gesunden Probanden aus dem Senegal entdeckt. Erste Analysen ließen auch auf Antikörper gegen SNGV in Stuhl und Serum dieses Individuums schließen [13]. Ein weiteres Virus der Familie, das *Giant Blood Marseillevirus* (GBM), wurde ebenfalls in einer viralen Metagenomanalyse in Proben von zehn gesunden Blutspendern aus Marseille nachgewiesen [14]. Alle Vertreter der *Marseilleviridae* weisen ein zirkuläres, (ds)-DNA-Genom mit einer Größe zwischen 346 und 386 kbp und einem G/C-Gehalt von 43-35 % auf, wobei das Genom von ACLaV auch linearisiert vorliegen kann [5, 15]. Zudem ist den Genomen der *Marseilleviridae* ein gewisser Mosaizismus gemein, was auf einen regen Genomaustausch zwischen den Viren einerseits und mit Bakterien, Archaea bzw. Eukaryoten wie der Wirtsamöbe andererseits zurückzuführen ist [4].

Die Aufnahme der Vertreter der *Marseilleviridae* in eine Amöbenzelle kann über Phagozytose oder Endozytose erfolgen. Phagozytierte Partikel befinden sich dazu zu Tausenden in Vesikeln, wodurch die Phagozytose stimuliert wird. Mehrere gruppierte Partikel ohne Hüllmembran oder einzelne Partikel werden endozytiert [16]. Die Replikation von APMaV erfolgt im Zytoplasma der Amöbe in sogenannten viralen Fabriken in der Nähe des Zellkerns, wobei die Kapsidbildung und Enkapsidierung gleichzeitig erfolgen. Der Replikationszyklus dauert etwa fünf Stunden. Es konnte gezeigt werden, dass mit APMaV infizierte Amöben auch gleichzeitig mit *Parachlamydia* sp. oder *Legionella drancourtii* infiziert sein können, was einen Austausch

genetischen Materials zwischen diesen Organismen begünstigen kann [4]. Die Replikation von ACLaV, *Tunisvirus*, *Fontaine Saint-Charles virus*, *Insectomime virus*, *Cannes 8 virus*, *Melbournevirus* und SNGV gleicht der von APMaV [15, 11, 5].

Der Wirtsbereich ist erst für einige *Marseilleviridae* näher untersucht. So besitzt ACLaV einen engen Wirtsbereich und repliziert in *Acanthamoeba* spp. des Genotyps T4. Humane (PBMC-abgeleitete Makrophagen, Vero, HEL, Hep-2, A549) und tierische (BGM, BT, MA-104, MDCK, MDBK, A-72, EBL, Bu, Mv1-Lu) Zellen sowie eine Insektenzelllinie von *Aedes albopictus* sind für ACLaV nicht permissiv [5]. BrMV repliziert in *A. castellanii*, nicht jedoch in *A. polyphaga* [9]. Das aus Blut isolierte GBM replizierte einmalig in humanen T-Lymphozyten, die zytosolischen Viren gingen danach jedoch verloren. GBM replizierte nicht auf Monozyten (THP1), T-Zellen oder primären anti-CD14-Makrophagen. Jurkat-Zellen waren permissiv und zeigten die Bildung viraler Partikel [14].

Eine mögliche Pathogenität für Mensch oder Tier ist für die Vertreter der *Marseilleviridae* bisher nicht konkret belegt. In mehreren Studien wurde GBM im Blut nachgewiesen. Bei den 30 untersuchten gesunden Spendern aus der ersten Studie aus Marseille [14] wurden bei vier Probanden IgG-Antikörper sowie bei drei dieser Probanden virale DNA nachgewiesen, was auf ein chronisches Vorkommen des Virus hindeutet. In einer weiteren Studie aus Marseille wurden Blutproben von 174 gesunden Blutspendern sowie 22 mehrfach transfundierten Thalassämie-Patienten auf das Vorhandensein von GBM untersucht. Bei 12,6 % der Blutspender und 22,7 % der Thalassämie-Patienten wurden Antikörper nachgewiesen. Virale DNA fand sich in 4 bzw. 9,1 % der Proben. Dass die Anzahl positiver Proben bei mehrfach transfundierten Patienten höher war, lässt darauf schließen, dass das Virus über das Blut übertragbar ist [17]. In der Schweiz wurden alle 517 Bewerber, die an der medizinischen Eingangsuntersuchung der Armee im Winter 2006/2007 teilnahmen, mithilfe von Immunfluoreszenz auf das Vorliegen von Antikörpern gegen das ACLaV im Blut untersucht. Bei 13 der Bewerber im Alter von 18-26 Jahren (2,51 %) wurden Antikörper detektiert [18]. Eine weitere Studie in Paris testete das Blut von 339 Personen auf GBM, die entweder mehrfach Blutspenden erhalten hatten, gesunde Blutspender waren oder als Blutspender aufgrund einer anderen Infektion ausgeschlossen worden waren. Bei dieser Studie blieben alle Proben negativ [19].

Ein Kausalzusammenhang zwischen einer Infektion mit einem Vertreter der *Marseilleviridae* und einer Erkrankung wurde bisher in zwei Fällen postuliert. Ein elf Monate altes Kind mit Adenitis unbekanntes Ursprungs wies sowohl Antigene gegen als auch DNA von APMaV auf, hatte im Alter von drei Monaten jedoch eine durch *Mycobacterium bovis* BCG ausgelöste BCG-Infektion gehabt [20]. In einem weiteren Fall wurde APMaV in einem Lymphknoten einer 30-jährigen Frau detektiert, die unter einem Hodgkin-Lymphom litt. In diesem Zusammenhang wurde das Virus auch in Makrophagen nachgewiesen [21].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden Vertreter der Familie *Marseilleviridae* als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Über die einzelnen Vertreter der Familie *Marseilleviridae* ist bislang noch wenig bekannt. Die Viren scheinen in der Umwelt relativ weit verbreitet zu sein und wurden in Kühlanlagen, Abwasser, Brackwasser und Flusswasser detektiert. Den primären Wirt der *Marseilleviridae* stellen Amöben der Gattung *Acanthamoeba* dar. Die Viren wurden jedoch auch in einem Insekt sowie dem Menschen nachgewiesen und können zum Teil auch humane Zellen infizieren. APMaV wurde bei zwei immungeschwächten Patienten nachgewiesen: einem 11-monatigen Kind mit einer Adenitis und vorangegangener BCG-Infektion sowie bei einer Dreißigjährigen mit einem Hodgkin-Lymphom. Das nah verwandte Mimivirus APMV kann Pneumonien auslö-

sen [22], obwohl es einen engen Wirtsbereich hat [23]. ApMV wurde durch die ZKBS in die **Risikogruppe 2** eingestuft [24].

Aufgrund der nahen Verwandtschaft zu Mimiviren sowie der unklaren Pathologie für den Menschen wird die Familie der *Marseilleviridae* vorsorglich in die **Risikogruppe 2** eingestuft.

Literatur

1. **Colson P, de Lamballerie X, Fournous G, Raoult D.** Reclassification of giant viruses composing a fourth domain of life in the new order Megavirales (2012). *Intervirology*. **55**(5):321-32.
2. **La Scola B, Audic S, Robert C, Jungang L, de Lamballerie X, Drancourt M, Birtles R, Claverie JM, Raoult D** (2003). A giant virus in amoebae. *Science*. **299**(5615):2033.
3. **Raoult D, Audic S, Robert C, Abergel C, Renesto P, Ogata H, La Scola B, Suzan M, Claverie JM** (2004). The 1.2-megabase genome sequence of Mimivirus. *Science*. **306**(5700):1344-50.
4. **Boyer M, Yutin N, Pagnier I, Barrassi L, Fournous G, Espinosa L, Robert C, Azza S, Sun S, Rossmann MG, Suzan-Monti M, La Scola B, Koonin EV, Raoult D** (2009). Giant Mar-seillevirus highlights the role of amoebae as a melting pot in emergence of chimeric microor-ganisms. *Proc Natl Acad Sci USA*. **106**(51):21848-53.
5. **Thomas V, Bertelli C, Collyn F, Casson N, Telenti A, Goesmann A, Croxatto A, Greub G** (2011). Lausannevirus, a giant amoebal virus encoding histone doublets. *Environ Microbiol*. **13**(6):1454-66.
6. **Aherfi S, Pagnier I, Fournous G, Raoult D, La Scola B, Colson P** (2013). Complete genome sequence of Cannes 8 virus, a new member of the proposed family « *Marseilleviridae* ». *Virus Genes*. **47**:550-5.
7. **Aherfi S, Boughalmi M, Pagnier I, Fournous G, La Scola B, Raoult D, Colson P** (2014). Complete genome sequence of Tunisvirus, a new member of the proposed family *Marseilleviri-dae*. *Arch Virol*. **159**:2349-58.
8. **La Scola B, Campocasso A, N'Dong R, Fournous G, Barrassi L, Flaudrops C, Raoult D** (2010). Tentative characterization of new environmental giant viruses by MALDI-TOF mass spectrometry. *Intervirology*. **53**(5):344-53.
9. **Dornas FP, Assis FL, Aherfi S, Arantes T, Abrahão JS, Colson P, La Scola B** (2016). A Brazilian Marseillevirus is the founding member of a lineage in family *Marseilleviridae*. *Viruses*. **8**(3):76.
10. **Dornas FP, Khalil JY, Pagnier I, Raoult D, Abrahão J, La Scola B** (2015). Isolation of new Brazilian giant viruses from environmental samples using a panel of protozoa. *Front Microbiol*. **6**:1086.
11. **Doutre G, Philippe N, Abergel C, Claverie JM** (2014). Genome analysis of the first *Mar-seilleviridae* representative from Australia indicate that most of its genes contribute to virus fit-ness. *J Virol*. **88**(24):14340-9.
12. **Boughalmi M, Pagnier I, Aherfi S, Colson P, Raoult D, La Scola B** (2013). First isolation of a Marseillevirus in the diptera syrphidae *Eristalis tenax*. *Intervirology*. **56**(6):386-94.
13. **Lagier JC, Armougom F, Million M, Hugon P, Pagnier I, Robert C, Bittar F, Fournous G, Gimenez G, Maraninchi M, Trape JF, Koonin EV, La Scola B, Raoult D** (2012). Microbial cul-turomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. *Clin Microbiol Infect*. **18**(12):1185-93.
14. **Popgeorgiev N, Boyer M, Fancello L, Monteil S, Robert C, Rivet R, Nappes C, Azza S, Chi-aroni J, Raoult D, Desnues C** (2013). Marseillevirus-like virus recovered from blood donated by asymptomatic humans. *J Infect Dis*. **208**(7):1042-50.
15. **Aherfi S, La Scola B, Pagnier I, Raoult D, Colson P** (2014). The expanding family *Mar-seilleviridae*. *Virology*. **466-467**:27-37.

16. **Arantes TS, Rodrigues RA, Dos Santos Silva LK, Oliveira GP, de Souza HL, Khalil JY, de Oliveira DB, Torres AA, da Silva LL, Colson P, Kroon EG, da Fonseca FG, Bonjardim CA, La Scola B, Abrahão JS** (2016). The large *Marseillevirus* explores different entry pathways by forming giant infectious vesicles. *J Virol.* **90**(11):5246-55.
17. **Popgeorgiev N, Colson P, Thuret I, Chiarioni J, Gallian P, Raoult D, Desnues C** (2013). *Marseillevirus* prevalence in multitransfused patients suggests blood transmission. *J Clin Virol.* **54**(4):722-5.
18. **Mueller L, Baud D, Bertelli C, Greub G** (2013). Lausannevirus seroprevalence among asymptomatic young adults. *Intervirology.* **56**:430-3.
19. **Sauvage V, Livartowski A, Boizeau L, Servant-Delmas A, Lionnet F, Lefrère JJ, Lapreche S** (2014). No evidence of *Marseillevirus*-like virus presence in blood donors and recipients of multiple blood transfusions. *J Infect Dis.* **210**(12):2017-8.
20. **Popgeorgiev N, Michel G, Lepidi H, Raoult D, Desnues C** (2013). *Marseillevirus* adenitis in an 11-month-old child. *J Clin Microbiol.* **51**(12):4102-5.
21. **Aherfi S, Colson P, Audoly G, Nappes C, Xerri L, Valensi A, Million M, Lepidi H, Costello R, Raoult D** (2016). *Marseillevirus* in lymphoma: a giant in the lymph node. *Lancet Infect Dis.*, published online 2016 Aug 5. pii: S1473-3099(16)30051-2.
22. **Raoult D, Renesto P, Brouqui P** (2006). Laboratory infection of a technician by mimivirus. *Ann Intern Med.* **144**:702-3.
23. **Suzan-Monti M, La Scola B, Raoult D** (2006). Genomic and evolutionary aspects of *Mimivirus*. *Virus Res.* **117**:145-55.
24. **ZKBS** (2011). Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung des *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (ApMV) als Spender- oder Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV.