

Wirusy Heartland, Bourbon, Oropouche i Keystone oraz bornawirus wiewiórek różnobarwnych: stan obecny oraz perspektywy epizootyczne i epidemiologiczne

Zdzisław Gliński

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Tick-borne viruses, Heartland, Bourbon, Oropouche, Keystone and variegated squirrel bornavirus: current situation and future epizootic and epidemiologic implications

Gliński Z., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Science in Lublin

Arthropod-borne viruses have continued to emerge in recent years, posing a significant health threat to millions of people worldwide. Ticks and mosquitoes transmit wide range of viruses to humans and animals worldwide. During the past few decades, it has been noticed that the number of reports on ecoepidemiology of arthropod-borne diseases in humans and animals has increased. Discovery of new viruses Heartland, Bourbon, Oropouche, variegated squirrel bornavirus and Keystone, has raised many questions in the scientific community as it is not clear where from these viruses come, either they are already existing viruses, or a novel species evolved from viral pathogens. The maintenance of an arbovirus in nature, involves a triad of interactions between the virus, the vertebrate host, and the arthropod vector. Study on pathological complications regarding to these infections are still investigable.

Keywords: arboviruses, Heartland, Bourbon, Oropouche, variegated squirrel bornavirus, Keystone virus.

Na całym świecie wzrasta liczba chorych na choroby wirusowe przenoszone przez stonowogi. W USA w latach 2012–2016 liczba ta wzrosła trzykrotnie. Ponadto po 2004 r. zidentyfikowano 9 nowych wirusów przenoszonych za pośrednictwem komarów i kleszczy, a wśród nich tak groźne, jak wirus Heartland, Bourbon i Keystone. Do nowo zagrażających wirusów występujących w różnych regionach świata u różnych gatunków zwierząt, często o charakterze zoonotycznym, ale o słabo poznanych właściwościach chorobotwórczych – oprócz wymienionych – należą bornawirus różnobarwnych wiewiórek i wirus Oropouche. Te nowe wirusy stanowią najprawdopodobniej identyczne zagrożenie, jakim jest od kilku lat wirus Zika (2, 3).

Wirus Heartland

Wirus Heartland (HRTV) jest flebowirusem z rodziny *Phenuiviridae* (poprzednio *Bunyaviridae*) z kompleksu serologicznego Rhanja virus, odkrytym w 2009 r. w Missouri w Regionalnym Centrum Medycznym w Heartland. Występuje on w kładzie wirusów SFTS (severe fever with thrombocytopenia syndrome), łącznie z wirusami Lone Star, Sunday Canyon, Malsoor i Albatross Island/Hunter Island. Wektorami wirusa są kleszcze *Amblyomma americanum* i *Dermacentor*

variabilis, a transmisja wirusa jest zarówno horyzontalna, jak wertykalna (4). Trzysegmentowy genom HRTV jest zbudowany z jednopasmowego RNA o polaryzacji ujemnej, przy czym segment L genomu koduje białko nukleokapsydu i niestrukturalne białko NSs (39 870 Da). Segment M koduje strukturalne glikoproteiny Gn i Gc, które wiążą się z receptorami komórki gospodarza i są celem działania przeciwciał neutralizujących, a segment L koduje polimerazę RNA zależną (5). Białko nukleokapsydu jest immunodominantą i u eksperymentalnie zakażonych zwierząt przeciwciała skierowane przeciwko niemu nie neutralizują wolnego wirusa (6). HRTV wykazuje bardzo duże podobieństwo w sekwencji nukleotydów z flebowirusem SFTSV odpowiedzialnym za zespół ciężkiej trombocytopenii z gorączką, występujący u ludzi w Japonii i Chinach (7). Nie wiadomo, czy istnieje możliwość zakażenia się HRTV na drodze człowiek → człowiek, tak jak to ma miejsce w przypadku SFTSV, który jest obecny we krwi, w gardle, moczu i kale pacjentów (8). Szczepy HRTV izolowane od ludzi i kleszczy wykazują ponad 97,6% identycznych sekwencji nukleotydów (9). Ślina kleszcza, która działa immunomodulująco dzięki lektynom, wpływa na początkową replikację wirusa w komórkach dendrytycznych skóry, wiremii i miano przeciwciał zobojętniających wirus. Przeciwciała neutralizujące wirus występują w USA u 64% jeleni, 55–68% szopów, 22% koni, 8% psów i 4% oposów (10, 11).

W 2017 r. w USA stwierdzono 20 przypadków zachorowań wśród ludzi. Okres wylegania choroby trwał około 2 tyg. Chorobę cechuje gorączka 38°C, bóle głowy, stawów i mięśni, osłabienie, nudności i wymioty, biegunka, trombocytopenia (<150 000 mm³) i leukopenia (< 4500/mm³), wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej i aminotransferazy alaniowej we krwi, które osiągają wartość maksymalną w 2. tygodniu choroby. Zajęty procesem chorobowym jest ośrodkowy układ nerwowy i występuje rozsiana wewnątrznaczyniowa koagulopatia. Śmiertelność wynosi około 12% (12). W USA opisano też przypadek hemofagocytowej limfohistiocytozy (HLH) u zakażonego pacjenta z immunosupresją (13). Wirus stwierdzono w wątrobie, sercu, trzustce, płucach, jelitach, jądrach, skórze, mięśniach i mózgu, węzłach chłonnych 68-letniego zmarłego pacjenta.

Udało się zakażenie doświadczać HRTLW myszy, królików, kurcząt, kóz, saren i chomików, ale w żadnym przypadku nie wystąpiła wiremii. Dobrym modelem doświadczalnym są myszy i chomiki z immunosupresją (14). U doświadczalnie zakażonych szopów,

kóz, kurcząt, królików, chomików oraz myszy pozbawionych receptorów dla $INF\alpha$, $INF\beta$ i $INF\gamma$ (AG129) wystąpiła pierwotna i wtórna odpowiedź immunologiczna, ale poziom przeciwciał neutralizujących HRTV był niski i tylko u myszy AG129 wystąpiła wiremia, pojawiały się objawy chorobowe i myszy padały, przy czym śmiertelność zależała od wielkości dawki zakaźnej. Występowały wybroczyny w wątrobie, obrzęk śledziony oraz duża ilość antygenu HRTV w komórkach jednojądrzastych i hemopoetycznych śledziony. Badania histopatologiczne wykazały tropizm HRTV do komórek jednojądrzastych śledziony, komórek Kupffera i komórek jednojądrzastych mięszu nerek. Makrofagi śledziony uczestniczą w wywołaniu trombocytopenii. Choroba u małp *Rhesus* miała podobny przebieg do łagodnej postaci choroby u ludzi. Występowała trombocytopenia, leukopenia, wzrastała aktywność enzymów wątrobowych i enzymów świadczących o uszkodzeniu mięśnia sercowego (15).

Celem dokładnego ustalenia roli jelenia wirginijskiego w epidemiologii HRTV zakażono 5 jeleni i monitorowano objawy chorobowe, obecność wirerii i serokonwersję. W żadnym przypadku nie wystąpiły objawy choroby, wiremia, serokonwersja i wysiew wirusa użytego do zakażenia. Pomimo niewielkiej liczby zwierząt użytych w eksperymencie starano się wykluczyć udział jelenia wirginijskiego w rezerwuarach HRTV (16).

Do rozpoznania zakażenia wywołanego przez HRTV stosuje się test RT-PCR, test neutralizacji redukcji ty sinek (PRNT), testy immunosferyczne do wykrywania IgM i IgG w chorobach arbowirusowych (MIAs; 17, 18).

Wirus Bourbon

Ten RNA wirus z rodzaju *Thogotovirus* (*Orthomyxoviridae*) wyizolowano w 2014 r. w hrabstwie Bourbon (Kansas, USA) od człowieka, który zmarł po ukąszeniu kleszczy (19). Wiriony o różnym kształcie – od kulistych (średnica 100–130 nm) do nitkowatych – posiadają wypustki. Genom złożony z 6 segmentów stanowi jednopasmowy RNA o polaryzacji ujemnej (20). Segment 1 odpowiada za ekspresję podjednostki polimerazy PB2, segment 2 za ekspresję podjednostki polimerazy PB1, segment 3 podjednostki polimerazy PA, segment 4 za ekspresję GP glikoproteiny (~60 kDa), 5 za ekspresję NP białka nukleokapsydu (~52 kDa), a segment 6 M za ekspresję białkowej matrix (~30 kDa). Wirus posiada 24–84% identycznych sekwencji aminokwasów z innymi przedstawicielami *Thogotovirus*. Wektorami wirusa są kleszcze z rodzajów *Hyalomma*, *Rhipicephalus* i *Amblyomma*. Wirus replikuje się w hodowlach komórkowych ssaków i kleszczy. Najwyższe miano wirusa wynoszące od około 10^7 do 10^9 pfu/ml notowano w supernatancie hodowli CHK-Cl-15 i hodowli komórkowej Vero 15. dnia po zakażeniu. Wirus dobrze replikował się w hodowli linii komórkowej *Hyalomma* i *Rhipicephalus* w mianie około 10^5 i 10^7 pfu/ml oraz *Amblyomma* (miano od około 10^4 do 10^6 pfu/ml; 20).

W 2018 r. wystąpiły liczne zachorowania ludzi w środkowozachodnich i południowych stanach USA. Chorobę cechowała gorączka, bóle głowy, mięśni

i stawów, utrata apetytu, osłabienie, nudności i wymioty, biegunka, wysypka plamisto-grudkowa na tułowiu, szyi i klatce piersiowej. Pod koniec choroby rozwinął się zespół ciężkiej niewydolności oddechowej. Zgon nastąpił po 11 dniach trwania choroby. Charakterystycznym objawem jest limfopenia i trombocytopenia oraz wzrost aktywności enzymów wątrobowych (21). Wirus Bourbon wykazuje duże pokrewieństwo z wirusami Dhori i Batken występującymi w Afryce, Azji i Europie (22), przy czym wirus Dhori jest chorobotwórczy dla człowieka (23). Wirusy Dhori i Batken izoluje się od kleszczy z rodzaju *Hyalomma*, a przeciwciała dla wirusa Dhori występują u dromaderów, kóz, koni, bydła i ludzi (24). Nadal nieznanne są rezerwuary wirusa Bourbon i gatunki zwierząt wrażliwe na zakażenie oraz jego chorobotwórczość dla zwierząt. Uważa się, że może on stać się nowym bardzo groźnym patogenem zwierząt (25).

Wirus Oropouche

Wirus Oropouche (OROV) z rodzaju *Orthobunyavirus* (*Bunyaviridae*) wywołuje u ludzi gorączkę Oropouche, na którą w Brazylii w ciągu 48 lat chorowało 0,5 mln ludzi. Należy do grupy serologicznej Simbu, w której wyróżnia się 7 kompleksów serologicznych: Akabane, Manzanilla, Oropouche, Sathuperi, Simbu, Shamonda, Shuni (26). Sferyczny wirion (80–110 nm) z lipidową osłonką zawiera 3-segmentowy jednopasmowy RNA (L,M,S; 27). Segment L koduje L proteinę (261.25 kDa) i polimerazę RNA-zależną, M koduje 2 strukturalne glikoproteiny Gn (28.03 kDa) i Gc (107.14 kDa) oraz białko niestrukturalne NSm (26.65 kDa), a segment S koduje białko strukturalne nukleokapsydu (26.26 kDa) i białko niestrukturalne NSs (10.65 kDa), NSm odpowiada za replikację wirusa w organizmie ssaków i komarów, a NSs jest antagonistą interferonu (28).

OROV został wyizolowany w Trynidadzie i Tobago w 1955 r. z krwi chorych ludzi i z komarów *Coquillettidia venezuelensis*, a także z komarów z rodzaju *Ochlerotatus* w Brazylii. Wektorem wirusa dla ptaków, naczelnych, torbaczy i leniwców są komary *Aedes serratus* i *Culex quinquefasciatus*. Serokonwersja u ludzi i zwierząt występuje w Argentynie, Boliwii, Kolumbii, Trynidadzie, Brazylii, Panamie, Peru i Ekwadorze. Rezerwuarem wirusa są m. in. leniwce, małpy nieczłękoksztatne i gryzonie *Proechimys* spp. (29). Istnieją przypuszczenia, że w okresach międzyepidemicznych wirus namnaża się u drobiu (30). Natomiast naturalnym rezerwuarem wirusa w Wenezueli i Kolumbii są małpy *Bradypus tridactylus*, *Alouatta caraya* i ptaki (*Columbina talpacoti*; 31). Do izolacji wirusa stosuje się hodowlę komórkową C6/36 A. albopictus i HeLa (32).

U ludzi chorobę cechują bóle głowy, mięśni i stawów, wysypka (około 42% chorych) i krwawienie z dziąseł, nosa i wybroczyny na skórze, u około 16% chorych występuje zapalenie opon i mózgu. Wyróżnia się dwa cykle krążenia wirusa. W cyklu leśnym wirus krąży pomiędzy komarami *Coquillettidia venezuelensis* i z rodzaju *Ochlerotatus* oraz ptakami, małpami, gryzoniami i człowiekiem. Natomiast w cyklu miejskim wirus rozprzestrzenia się wśród ludzi za pośrednictwem

zakażonych komarów *Culex quinquefasciatus* i *Culicoides parvulus* (33). U chomików zakażonych podskórnie OROV rozwija się ogólne zakażenie, poziom wirusa w osoczu 3. dnia wynosi 10^6 TCID₅₀/ml. Zmiany chorobowe występują w mózgu i wątrobie, antygen wirusowy stwierdza się w neuronach. W przypadku OROV, jak i wirusa Bourbon, istnieje możliwość reasortacji genetycznej, przekroczenia barier międzygatunkowych i zwiększenia zjadliwości.

Bornawirus wiewiórek różnobarwnych

Bornawirus wiewiórek różnobarwnych (VSBV-1) izolowano od wiewiórek tego gatunku (*Sciurus variegatoides*) z zapaleniem mózgu, a w 2013 r. z mózgu 3 pacjentów z postępującym zapaleniem mózgu, którzy kontaktowali się z wiewiórkami. Pacjenci zmarli po 2–4 miesiącach trwania choroby (34). W mózgu zmarłych występowały ogniska obrzęku i martwicy, nacieki limfocytarne oraz często nacieki okołonaczyniowe (35). W 2018 r. w Niemczech zdiagnozowano zapalenie mózgu, w 2 przypadkach śmiertelne, po przeszczepach tkanek zakażonych BoDV-1 (36). Bornawirus wiewiórek o średnicy wirionu 90 nm, symetrii dwudziestościennej, otoczce lipidowej, jednopasmowym RNA o polaryzacyjności ujemnej, replikuje się w jądrze zakażonej komórki. Genom wirusa koduje 6 peptydów. VSBV-1 występuje w dużych ilościach w mózgu, sercu, płucach, nerkach i gardle chorych wiewiórek. W oparciu o analizę filogenetyczną sekwencji kodujących i N sekwencji RNA wirusa ustalono, że VSBV-1 stanowi odrębny ród (lineage) z 5 rodami bornawirusów, które mogą zakażać wszystkie ciepłokrwiste zwierzęta (konie, naczelné, owce, hipopotamy, lamy, koty i bydło), a także ptaki i węże (37). Wektorem wirusa są różnobarwne wiewiórki, a rezerwuarem najprawdopodobniej zębiełki białawe (*Crocidura leucodon*) z rodziny ryjówkowatych (38). Wiewiórki zakażone przez VSBV-1 są czynnikiem ryzyka dla ludzi i być może różnych gatunków zwierząt. Obecność kopii RNA wirusa w jamie ustnej i w skórze wiewiórek świadczy o możliwości zakażenia człowieka przez ugryzienie lub zadrapanie (39). Do 2017 r. w Niemczech nie stwierdzono zakażenia VSBV-1 u wiewiórek politych (*Sciurus vulgaris*; 40).

Wirus Keystone

Wirus Keystone (KEYV) zidentyfikowano w 1963 r. u komarów *Aedes atlanticus* i *Culex* spp. na Florydzie w Keystone (rejon Zatoki Tampa). U komarów zakażenie jest przekazywane transstadialnie (41). Wirus Keystone o jednopasmowym RNA o polaryzacji ujemnej należy do grupy serologicznej *California Orthobunyavirus*, łącznie z *California encephalitis virus*, *Jamestown Canyon virus*, *La Crosse encephalitis virus*. Przeciwciała przeciwko KEYV występują u szarych wiewiórek, jeleni wirginijskich i szopów, rzadko u ptaków i gadów (42). W hodowli komórek Neuro-2A i Vero E6 wirus Keystone wywołuje zmiany cytopatyczne. U pacjentów występowała gorączka, grudkowa nieswędząca i niebolesna wysypka na brzuchu, karku i twarzy, bóle głowy, sztywność karku, zaburzenia

żołądkowo-jelitowe. Może rozwinąć się zapalenie mózgu oraz zapalenie stawów i mięśni.

Leczenie w przypadku omówionych chorób ogranicza się do stosowania leków przeciwwirusowych i terapii objawowej. Brak szczepionek ogranicza możliwości profilaktyki swoistej i zwiększa ryzyko zachorowania. Zagrożenie epidemiologiczne jest duże, ponieważ słabo poznano rezerwuary tych wirusów oraz gatunki wrażliwych zwierząt, a także ze względu na duże prawdopodobieństwo możliwości szerzenia się epidemii na drodze człowiek → człowiek.

Piśmiennictwo

1. CDC: 24/7, 2018. <https://www.cdc.gov/nceid/dvbd/>
2. Hayes E.B.: Zika virus outsider Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2009, 15, 1347–1350.
3. Faye O., Freire C.C.M., Iamarino A., Faye O., de Oliveira J.V.C., Diallo M., Zanutto P.M.A., Sall A.A.: Evolution of Zika virus during its emergence in the 20th century. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3888466>.
4. Savage H.M., Godsey Jr. M.S., Lambert A., Panella N.A., Burkhalter K.L., Harmon J.R., Lash R.R., Ashley D.C., Nicholson W.L.: First detection of Heartland Virus (Bunyaviridae: Phlebovirus) from field collected arthropods. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013, 89, 445–452.
5. Walter C.T., Barr J.N.: Recent advances in the molecular and cellular biology of bunyaviruses. *J. Gen. Virol.* 2011, 92, 2467–2484.
6. Fafetine J.M., Tijhaar E., Paweska J.T., Neves L.C., Hendriks J., Swane-poel R., Coetzer J.A., Egberink H.F., Rutten V.P.: Cloning and expression of Rift Valley fever virus nucleocapsid (N) protein and evaluation of a N-protein based indirect ELISA for the detection of specific IgG and IgM antibodies in domestic ruminants. *Vet. Microbiol.* 2007, 121, 29–38.
7. González M., Mattar S.: Heartland virus: a novel and emerging tick-borne encephalitis. *Rev. MYZ Cordoba* 2016, 21, http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682016000100001
8. Gai Z., Liang M., Zhang Y., Zhang S., Jin C., Wang S.W., Sun L., Zhou N., Zhang Q., Sun Y., Ding S.J., Li C., Gu W., Zhang F., Wang Y., Bian P., Li X., Wang Z.ong X., Wang X., Xu A., Bi Z., Chen S., Li D.: Person-to-person transmission of severe fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus through blood contact. *Clin. Infect. Dis.* 2016, 54, 249–252.
9. Savage H.M., Godsey M.S., jr, Lambert A., Panella N. A., Burkhalter K.L., Shley H.J.R., Nicholson W.L.: First detection of Heartland virus (Bunyaviridae: Phlebovirus) from collected arthropods. *Am. J. Trop. Hyg.* 2013, 89, 445–452.
10. Childs J.E., Paddock C.D.: The ascendancy of *Amblyoma americanum* as a vector of pathogens affecting humans in the United States. *Annu. Rev. Entomol.* 2003, 48, 307–337.
11. Boscc-Lauth A.M., Calvert A.E., Root J.J., Gidlewski T., Bird B.H., Bowen R.A., Muehlenbachs A., Zaki S.R., Brault A.C.: Vertebrate host susceptibility to Heartland virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2016, 22, 2070–2077.
12. Gai.T., hang Y., Liang M.F., Jin C., Zhu C.B., Li C., Li X.Y., Zhang Q.F., Bian P.F., Zhang L.H., Wang B., Zhou N., Liu J.X., Song X.G., Xu A., Bi Z.Q., Chen S.J., Li D.X.: Clinical progress and risk factors for death in severe fever with thrombocytopenia syndrome patients. *J. Infect. Dis.* 2012, 206, 1095–1102.
13. Carlson A.L., Pastula D.M., Lambert A.J., Staples J.E., Muehlenbachs A., Turabelidze G., Eby C.S., Keller J., Hess B., Buller R.S., Storch G.A., Byrnes K., Dehner L., Kirmani N., Kuhlmann F.M.: Heartland virus and hemophagocytic lymphohistiocytosis in immunocompromised patient, Missouri, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2018, 24, 893–897.
14. Brault A.V., Savage H.M., Duggal N.K., Eisen R.J., Staples J.E.: Heartland virus, epidemiology, vector association, and disease potential. *Viruses* 2018, 10, 498 doi: 10.3390/v10090498
15. Jin C., Jiang H., Liang M., Han Y., Gu W., Zhang F., Zhu H., Wu W., Chen T., Li C., Zhang W., Qu J., Wei Q., Qin C., Li D.: SFTS virus infection in nonhuman primates. *J. Infect. Dis.* 2015, 211, 915–925.
16. Clarke L.L., Ruder M.G., Mead D., Howerth E.W.: Experimental infection of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) with Heartland virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018, 98, 1194–1196.
17. Basile A.J., Horiuchi K., Panella A.J., Laven J., Kosoy O., Lanciotti R.S., Venkateswaran N., Biggerstaff B.J.: Multiplex microsphere immunoassays for the detection of IgM and IgG to arboviral diseases. *PLoS One* 2013, 8, E75670 doi: 10.1371/journal.pone.0075670
18. Riemersma K.K., Komar N.: Heartland virus neutralizing antibodies in vertebrate wildlife, United States, 2009–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2015, 21, 1830–1833.
19. Kesoy O.I., Lambert A.J., Hawkinson D.J., Pastula D.J., Goldsmith D.M., Hunt D., Taples J.E.: Novel Thogotovirus associated with febrile illness and death, United States, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2015, 21, 760–764.

20. Lambert A.J., Velez J.O., Brault A.C., Calvert A.E., Bell-Sakyi L., Bosco-Lauth A.M., Staples J.E., Kosoy O.I.: Molecular, serological and in vitro culture-based characterization of Bourbon virus, a newly described human pathogen of the genus Thogotovirus. *J. Clin. Virol.* 2015, **73**, 127–132.
21. CDC: Bourbon virus. *CDC* 2015, 24/7. <https://www.cdc.gov/ncezid/dvbd/bourbon/index.html>
22. Filipe A.R., Calisher C.H., Lazucik J.: Antibodies to Congo-Crimean haemorrhagic fever, Dhori, Thogoto and Bhanja viruses in southern Portugal. *Acta Virol.* 1985, **29**, 324–328.
23. Moore D.L., Causey O.R., Carey D.E., Reddy S., Cooke A.R., Akinkugbe F.M., David-West T.S., Kemp G. E.: Arthropod-borne viral infections of man in Nigeria, 1964–1970. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1975, **69**, 49–64.
24. Hubálek Z, Rudolf I.: Tick-borne viruses in Europe. *Parasitol. Res.* 2012, **111**, 9–36.
25. Shamim A., Sajid M.S.: Tick-borne „Bourbon” virus: Current situation and future implications. *J. Entomol. Zool. Stud.* 2016, **4**, 362–364.
26. Vasconcelos H.B., Azevedo R.S., Casseb S.M., Nunez-Neto J.P., Chiang J.O., Cantuaria P.C.: Oropoucho fever epidemic in northern Brazil: epidemiology and molecular characterization of isolates. *J. Clin. Virol.* 2009, **44**, 129–133.
27. Talmon Y., Prasad B.V., Clerx J.P., Wang G.J., Chiu W., Hewlett M.J.: Electron microscopy of vitrified-hydrated La Crosse virus. *J. Virol.* 1987, **61**, 2319–2321.
28. Tilston-Lunel N.L., Acrani G.O., Randall R.E., Elliott R.M.: Generation of recombinant Oropouche viruses lacking the nonstructural protein NSm or NSS. *J. Virol.* 2016, **90**, 2616–2627.
29. Romero-Alvarez D., Escobar L.E.: Oropouche fever, an emergent disease from the Americas. *Microbes Infect.* 2018, **20**, 135–146.
30. Pinheiro F.P., Travassos da Rosa A.P.A., Travassos da Rosa J.F.S., Ben-sabath B.: An outbreak of Oropouche virus disease in the vicinity of Santárem, Pará, Brazil. *Tropenmed. Parasitol.* 1976, **27**, 213–223.
31. WHO: Oropouche Virus disease – Peru. <http://www.who.int/csr/don/03-june-2016-oropouche-peru/en/>
32. Mourão M.P.G., Bastos M.S., Gimaque J.B.L., Mota B.R., Souza G.S., Grimmer G.H.N., Galusso E.S., Arruda E., Figueiredo L.T.M.: Oropouche fever outbreak, Manaus, Brazil, 2007–2008. *Emerg. Infect. Dis.* 2009, **15**, 2063–2064.
33. Da Rosa J.F.T., de Souza W.M., de Paula Pinheiro F., Figueirego M.L., Cardoso J.F., Olszanski Acrani G., Nunez M.R.T.: Oropouche virus: clinical, epidemiological, and molecular aspects of a neglected Orthobunyavirus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2017, **96**, 1019–1030.
34. Tappe D., Schlottau K., Cadar D., Hoffmann B., Balke L., Bewig B.: Occupation-associated fatal limbic encephalitis caused by variegated squirrel bornavirus 1, Germany, 2013. *Emerg Infect Dis.* 2018, **24**, 978–987.
35. Hoffann B., Tappe D., Höper D., Herden C., Boldt A., Mawrin C., Niederstrasser O., Müller T., Jenckel M., van der Grinten E., Kutter C., Abendroth B., Teifke J.P., Cadar D., Schmidt-Chanessit J., Ulrich R.G., Beer M.: A variegated squirrel bornavirus associated with fatal human encephalitis. *N. Engl. J. Med.* 2015, **373**, 154–162.
36. Schlottau K., Forth L., Angstwurm K., Höper D., Zecher D., Liesche E.: Fatal encephalitic borna disease virus 1 in solid-organ transplant recipients. *N. Engl. J. Med.* 2018, **379**, 1377–1379.
37. Fujino K., Horie M., Honda T., Merriman D.K., Tomonaga K.: Inhibition of Borna disease virus replication by an endogenous bornavirus-like element in the ground squirrel genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2014, **111**, 13175–13180.
38. Schlottau K., Jenckel M., van der Brand J., Fast C., Herden C., Höper D., Homeier-Bachmann T., Thielebein J., Mensing N., Diender B., Hoffmann D., Ulrich R.G., Mettenleiter T.C., Koopmans M., Tappe D., Schmidt-Chanessit J., Reusken C., Beer M., Hoffmann B.: Variegated squirrel Bornavirus 1 in squirrels, Germany and the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* 2017, **23**, 477–481.
39. Hilbe M., Herrsche R., Kolodziejek J., Nowotny N., Zlinszky K., Ehrensperger F.: Shrews as reservoir hosts of Borna disease virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2006, **12**, 675–677.
40. Schlottau K., Hoffmann B., Homeier-Bachmann T., Fast C., Ulrich R.G., Beer M.: Multiple detection of zoonotic variegated squirrel bornavirus 1 RNA in different squirrel species suggests a possible unknown origin for the virus. *Arch. Virol.* 2017, **162**, 2747–2754.
41. Lednicky J.A., White S.K., Stephenson C.J., Cherabuddi K., Loeb J.C., Moussatche N., Lednicky A., Morris J. G. jr.: Keystone virus isolated from a Florida teenager with rash and subjective fever: Another endemic arbovirus in the Southeastern United States?. *Clin. Infect. Dis.* 2018., **68**, 143–145.
42. Bond J.O., Hammon W.M., Lewis A.L., Sather G.E., Taylor D.J.: California group arboviruses in Florida and report of a new strain, Keystone virus. *Publ. Hlth. Rep.* 1966, **81**, 607–613.