



Beschluss 15/2019 des ABAS vom 5.12.2019

**Begründungspapier zur Einstufung des Dugbe Orthonairovirus (DUGV)  
in Risikogruppe 3 nach Biostoffverordnung****1. Allgemeine Angaben****Taxonomie****Ordnung:** *Bunyavirales***Familie:** *Nairoviridae***Genus:** Orthonairovirus**Serogruppe:** Nairobi Sheep Disease-Virus (NSDV)**Spezies:** Dugbe Orthonairovirus (Dugbe virus (DUGV), Kupe virus (KUPEV))**Anmerkung:** aktuelle Taxonomie laut International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV; <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>), publiziert in [1]**Typstamm:** Dugbe virus (Ib. Ar. 1792), isoliert 1964 am Virus Research Laboratory, Universität Ibadan, Nigeria, aus *Amblyomma variegatum*-Zecken [2].**Erstbeschreibung:** [2]**Nationale Einstufungen**

ABAS nach Biostoffverordnung:	Risikogruppe 3 (TRBA 462)
ZKBS nach GenTSV:	Risikogruppe 3 (Az. 6790-05-02-0049) [3]
CDC:	BSL 3 [4]
Bundesumweltamt Schweiz:	Risikogruppe 3 [5]
Scientific Institute of Public Health, Belgien:	Risikogruppe 3 [6]
Health and Safety Executive, UK:	Risikogruppe 2 [7]

Konsiliarlabor: keines

**2. Molekularbiologie, Morphologie****Genom:**

lineare Negativstrang-RNA, 3 Segmente (L,M,S)

Referenz-Sequenzen (Senegalesisches Isolat ArD 44313):

L-Segment (12255 bp): NCBI Reference Sequence NC\_004159.1 [8]

## Begründungspapier zur Einstufung des Dugbe Orthonairovirus

M-Segment (4888 bp): NCBI Reference Sequence: NC\_004158.1 [9]

S-Segment (1716 bp): NCBI Reference Sequence: NC\_004157.1 [10]

**Bemerkungen:**

Das L-Segment der Nairoviren kodiert für die RNA-abhängige RNA-Polymerase (RdRP), das M-Segment für ein Polyprotein, das in die Hüllproteine Gn und Gc sowie zusätzliche Nichtstrukturproteine prozessiert wird, und das S-Segment kodiert für das Nukleoprotein. Für das hochpathogene Orthonairovirus CCHFV (Crimean-Congo hemorrhagic fever virus) wurde eine N-terminale Domäne der RdRP als Virulenzfaktor identifiziert [11]. Diese sogenannte Ovarian Tumor (OTU) Domäne des CCHFV wie auch des tierpathogenen Nairobi Sheep Disease Virus (NSDV) sind in der Lage, poly-Ubiquitin- und ISG15-Ketten von Proteinen abzuspalten und dadurch die posttranslationale Regulation des angeborenen Immunsystems („*innate immunity*“) zu inhibieren [12]. Die Orthonairoviren DUGV und KUPEV kodieren ebenfalls für eine OTU-Domäne mit *anti-innate immunity*-Aktivität [12], obwohl die Spaltungsaktivitäten gegenüber poly-Ubiquitin) bzw. ISG15 im Vergleich zu denen des CCHFV oder NSDV deutlich geringer zu sein scheinen [13].

**Morphologie:**

DUGV-Partikel sind behüllt mit „Spikes“ an der Oberfläche, haben eine sphärische Form und einen Durchmesser von 90-100 nm [14-16].

**Vermehrung und Replikation:****Zellkultur:**

Wie für Bunyaviren typisch, vermehrt sich DUGV im Zytoplasma von Säugerzellen und sprosst in den Golgi-Apparat [14, 15]. In Nierenzellen von Schweinen (PS), Grünen Meerkatzen (BSC 1, Vero) und Rhesusaffen (LLC-MK2) verursacht DUGV nur einen leichten zytopathischen Effekt [16, 17], und kann über mehrere Passagen hinweg persistieren [17, 18]. DUGV vermehrt sich auch in BHK (baby hamster kidney), sowie in humanen SW-13, HeLa und HUH-7-Zellen [18], und selbst in *Xenopus laevis* XTC-2-Zellen [19].

**In vivo:**

In neugeborenen Mäusen verursacht eine subkutane DUGV-Inokulation eine Virämie und disseminiert in die Organe inklusive dem ZNS [20, 21]. Die Tiere versterben innerhalb von 7 bis 9 Tagen. In adulten Wildtyp-Mäusen ist nur die intrazerebrale Inokulation letal [19, 20]. Mäuse mit einem defekten Typ-I-Interferonsystem versterben jedoch auch nach intraperitonealer Inokulation [19]. In beiden letalen Adult-Mausmodellen ist DUGV neuroinvasiv.

**3. Übertragung und Wirtsspektrum**

DUGV wird durch Zeckenbiss übertragen. Zecken der Spezies *Amblyomma variegatum* sind kompetent als Vektor für DUGV, nicht aber die der Spezies *Rhipicephalus appendiculatus* [22]. Eine südafrikanische Seroprävalenzstudie zeigte eine Überlappung der DUGV-Seropositivität in Rindern mit dem Vorkommen der Zeckenspezies *Amblyomma hebraeum*, nicht aber mit dem CCHFV-Vektor *Hyalomma* [23]. David-West und Porterfield [24] berichten, dass DUGV

## Begründungspapier zur Einstufung des Dugbe Orthonairovirus

häufig aus Rindern und gelegentlich aus Menschen und Mücken isoliert wurde, geben dazu aber keine Daten oder Referenzen an. Mit Ausnahme der Gambia-Riesenhamsterratte (*Cricetomys gambianus*) [25] wurde DUGV nicht aus Wildtieren isoliert. Das Wildtier-Reservoir ist also unbekannt.

Eine Übertragung durch infiziertes Blut oder Gewebe ist für das verwandte CCHFV gegeben [26], und kann deshalb für DUGV nicht ausgeschlossen werden.

*Host Range*-Experimente mit subkutan infizierten, adulten Tieren der Säugerspezies Hausmaus (*Mus musculus*), Rötelmaus (*Clethrionomys glareolus*), Waldmaus (*Apodemus sylvaticus*), Vielzitzenmaus (*Praomys natalensis*), Ratte (*Rattus norvegicus*; Wildfänge und Laborstämme), Baumwollratte (*Sigmodon hispidus*), Dzungarische Hamster (*Phodopus sungorus*), Syrische Hamster (*Mesocricetus auratus*), Meerschweinchen (*Cavia porcellus*), Neuseeland-Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) zeigten, dass nur Dzungarische Hamster konsistent eine Virämie entwickelten [22].

Seroprävalenzstudien bei Mensch und Wiederkäuern ergaben Werte die meist im einstelligen Prozentbereich liegen [23, 27], sie können im Extremfall aber bis zu 70% (Zebu-Rinder) betragen [28].

#### 4. Pathogenität für den Menschen

Das Erstisolat des DUGV stammt aus *Amblyomma variegatum*-Zecken, die von Rindern in Nigeria gepflückt wurden [2]. Nach weiteren epidemiologischen Untersuchungen wurde klar, dass das Virus eine weite Verbreitung in ariden Gebieten Afrikas zeigt, und bevorzugt Schafe und Rinder infiziert (s. [22]). Bei Untersuchungen von mehr als 10.000 Blutproben von Patienten aus Nigeria und der Zentralafrikanischen Republik konnte in 7 Fällen DUGV isoliert werden [24, 29] (Angaben stützen sich auf die Zitierung in [23]). Einer der Patienten war ein Labormitarbeiter, der sich bei der Arbeit infiziert hatte. Die DUGV-Infektionen im Menschen wurde mit Fieber, Leukopenie, Schüttelfrost, Übelkeit, und in einem Fall auch einer transienten Meningitis assoziiert. Das Fieber lässt nach 5 Tagen nach, Folgeschäden sind nicht bekannt [22]. Im Falle eines weiteren Patienten, der ca. 300 Zeckenbisse innerhalb eines einzigen Tages erlitt, wurde DUGV als wahrscheinlichste Ursache einer prolongierenden Thrombozytopenie identifiziert [23]. Weitere Symptome waren Fieber, Kopfschmerzen, Müdigkeit, Schwäche, schwere Myalgien und Petechien an Armen und Beinen, subkonjunktivale Hämorrhagien, Lymphadenopathie, geschwollene Hoden, Tachykardie und Hyperpnoe. Der Patient wurde mit gepoolten Immunglobulinen behandelt und konnte nach ca. 10 Wochen Klinikaufenthalt entlassen werden.

DUGV ist in Zellkultur empfindlich gegenüber dem Interferon-stimulierten humanen antiviralen MxA-Protein [30], aber nicht in MxA-transgenen Mäusen ohne Interferonrezeptor [19].

#### 5. Bekämpfung

DUGV sollte empfindlich gegen Desinfektionsmittel sein, die behüllte Viren inaktivieren. Es gibt keinen zugelassenen Impfstoff und auch keine spezifische Therapie.

Diagnostisch kann eine DUGV-Infektion via RT-PCR [31, 32] oder Serologie [23] nachgewiesen werden.

## 6. Risikobewertung

DUGV reagiert schwach mit Antiseren gegen das in Afrika endemische NSDV bzw. der indischen NSDV-Variante Ganjam virus, und wurde deshalb in die NSD-Serogruppe eingeordnet [4, 33, 34]. NSDV / Ganjam-Virus ist hochpathogen für Wiederkäuer, nicht aber für den Menschen [35, 36]. Neuere Klassifizierungen, die die auf Genom-Vergleichen beruhen, zeigen jedoch, dass sich DUGV/Kupe klar von NSDV/Ganjam abgrenzen, und eine eigenständige phylogenetische Gruppe bilden [13, 37].

DUGV wird durch *Amblyomma variegatum*, eine der wahrscheinlich häufigsten Zecken in Afrika, übertragen [22]. Weiterhin wurde DUGV häufig aus *Boophilus decoloratus* und *Hyalomma truncatum* isoliert, seltener aus *Amblyomma lepidum*, *A. cohaerens*, *Hyalomma marginatum rufipes*, *H. impeltatum*, *H. nitidum*, *B. annulatus*, *Rhipicephalus pulchellus* und *R. sulcatus* [22, 32, 38-40].

Trotz der weiten geographischen Verbreitung des DUGV und der sicherlich häufigen Exposition durch Zecken und Material aus infizierten Nutztieren sind humane DUGV-Infektionen offenbar äußerst selten. Zudem verlaufen sie meist gutartig. Andererseits zeigen die wenigen Fallbeschreibungen, dass es durchaus zu einem schweren Krankheitsverlauf kommen kann. Da DUGV also in seltenen Fällen einen schweren Krankheitsverlauf beim Menschen hervorrufen kann, und keine anerkannte Vorbeugung oder Behandlung existiert, **wird die bisherige Einstufung des DUGV in die Risikogruppe 3 aufrechterhalten.**

## 7. Literatur

1. **Maes P, Adkins S, Alkhovsky SV, Avsic-Zupanc T, Ballinger MJ et al.** Taxonomy of the order Bunyavirales: second update 2018. *Arch Virol* 2019;164(3):927-941.
2. **Causey OR.** No. 226, Dugbe (DUG). *Am J Trop Med Hyg* 1970;19:1123-1124.
3. **ZKBS.** 2009. Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung des Dugbe-Virus als Spender- oder Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV - Dugbe-Virus.  
[http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06\\_Gentechnik/ZKBS/01\\_Allgemeine\\_Stellungnahmen\\_deutsch/09\\_Viren/Dugbe\\_Virus.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=3](http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/09_Viren/Dugbe_Virus.pdf?__blob=publicationFile&v=3)
4. **Services USDoHaH.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - 5th Edition 2009.
5. **Federal Office for the Environment FOEN FOoPHF.** 2010. Classification of Organisms. Part 2: Viruses.  
[https://www.bafu.admin.ch/dam/bafu/en/dokumente/biotechnologie/uv-umwelt-vollzug/einstufung\\_von\\_organismenmodul2virenstandjanuar2013.pdf.download.pdf/classification\\_oforganismspart2virusesstatusjanuary2013.pdf](https://www.bafu.admin.ch/dam/bafu/en/dokumente/biotechnologie/uv-umwelt-vollzug/einstufung_von_organismenmodul2virenstandjanuar2013.pdf.download.pdf/classification_oforganismspart2virusesstatusjanuary2013.pdf)
6. **WIV I.** 2008. [https://www.biosafety.be/sites/default/files/h\\_a\\_virus.pdf](https://www.biosafety.be/sites/default/files/h_a_virus.pdf)
7. **Executive HaS.** 2013. The Approved List of biological agents.  
<http://www.hse.gov.uk/pubns/misc208.pdf>
8. **Marriott AC, Nuttall PA.** Large RNA segment of Dugbe nairovirus encodes the putative RNA polymerase. *J Gen Virol* 1996;77 ( Pt 8):1775-1780.
9. **Marriott AC, el-Ghorr AA, Nuttall PA.** Dugbe Nairovirus M RNA: nucleotide sequence and coding strategy. *Virology* 1992;190(2):606-615.

## Begründungspapier zur Einstufung des Dugbe Orthonavivirus

10. **Bridgen A, Dalrymple DA, Elliott RM.** Dugbe nairovirus S segment: correction of published sequence and comparison of five isolates. *Virology* 2002;294(2):364-371.
11. **Frias-Staheli N, Giannakopoulos NV, Kikkert M, Taylor SL, Bridgen A et al.** Ovarian tumor domain-containing viral proteases evade ubiquitin- and ISG15-dependent innate immune responses. *Cell host & microbe*, Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. 2007;2(6):404-416.
12. **Bakshi S, Holzer B, Bridgen A, McMullan G, Quinn DG et al.** Dugbe virus ovarian tumour domain interferes with ubiquitin/ISG15-regulated innate immune cell signalling. *J Gen Virol* 2013;94(Pt 2):298-307.
13. **Dzimianski JV, Beldon BS, Daczkowski CM, Goodwin OY, Scholte FEM et al.** Probing the impact of nairovirus genomic diversity on viral ovarian tumor domain protease (vOTU) structure and deubiquitinase activity. *Plos Pathog* 2019;15(1).
14. **Booth TF, Gould EA, Nuttall PA.** Structure and morphogenesis of Dugbe virus (Bunyaviridae, Nairovirus) studied by immunogold electron microscopy of ultrathin cryosections. *Virus Res* 1991;21(3):199-212.
15. **David-West TS, Porterfield JS.** Dugbe virus: a tick-borne arbovirus from Nigeria. *J Gen Virol* 1974;23(3):297-307.
16. **El-Ghorr AA, Marriott AC, Ward VK, Booth TF, Higgs S et al.** Characterization of Dugbe virus by biochemical and immunochemical procedures using monoclonal antibodies. In: Calisher CH (editor). *Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, Tick- and Mosquito-Borne Viruses (Archives of Virology Supplementum: Springer, Vienna; 1990.*
17. **Cash P.** Polypeptide-Synthesis of Dugbe Virus, a Member of the Nairovirus Genus of the Bunyaviridae. *Journal of General Virology* 1985;66(Jan):141-148.
18. **Crabtree MB, Sang R, Miller BR.** Kupe Virus, a New Virus in the Family Bunyaviridae, Genus Nairovirus, Kenya. *Emerg Infect Dis* 2009;15(2):147-154.
19. **Boyd A, Fazakerley JK, Bridgen A.** Pathogenesis of Dugbe virus infection in wild-type and interferon-deficient mice. *Journal of General Virology* 2006;87:2005-2009.
20. **Coates DM, Sweet C.** Studies on the pathogenicity of a nairovirus, Dugbe virus, in normal and immunosuppressed mice. *J Gen Virol* 1990;71 ( Pt 2):325-332.
21. **Davidwes.Ts, Isoun TT, Davidwes.As.** Effect of Route of Inoculation on Histopathological Changes Induced in Mice by Dugbe-Virus (a Nigerian Tick-Borne-Virus). *Brit J Exp Pathol* 1974;55(4):421.
22. **Steele GM, Nuttall PA.** Difference in Vector Competence of 2 Species of Sympatric Ticks, *Amblyomma-Variegatum* and *Rhipicephalus-Appendiculatus*, for Dugbe Virus (Nairovirus, Bunyaviridae). *Virus Research* 1989;14(1):73-84.
23. **Burt FJ, Spencer DC, Leman PA, Patterson B, Swanepoel R.** Investigation of tick-borne viruses as pathogens of humans in South Africa and evidence of Dugbe virus infection in a patient with prolonged thrombocytopenia. *Epidemiol Infect* 1996;116(3):353-361.
24. **David-West TS.** Dugbe virus: a new tick-borne arbovirus from Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1973;67(4):438.
25. **Kemp GE, Causey OR, Setzer HW, Moore DL.** Isolation of viruses from wild mammals in West Africa, 1966-1970. *J Wildl Dis* 1974;10(3):279-293.

## Begründungspapier zur Einstufung des Dugbe Orthonairovirus

26. **Control ECfDPa.** Factsheet about Crimean-Congo haemorrhagic fever. <https://ecdc.europa.eu/en/crimean-congo-haemorrhagic-fever/facts/factsheet>
27. **Morrill JC, Johnson BK, Hyams C, Okoth F, Tukei PM et al.** Serological Evidence of Arboviral Infections among Humans of Coastal Kenya. *J Trop Med Hyg* 1991;94(3):166-168.
28. **Guilherme JM, GonellaLegall C, Legall F, Nakoume E, Vincent J.** Seroprevalence of five arboviruses in Zebu cattle in the Central African Republic. *T Roy Soc Trop Med H* 1996;90(1):31-33.
29. **Georges AJ, Saluzzo JF, Gozalez JP, Dussarat GV.** Arboviruses en Centrafique: incidence et aspects de diagnostiques chez l'homme. *Med Tropicale* 1980;40:561-568.
30. **Bridgen A, Dalrymple DA, Weber F, Elliott RM.** Inhibition of Dugbe nairovirus replication by human MxA protein. *Virus Research* 2004;99(1):47-50.
31. **Lutomiah J, Musila L, Makio A, Ochieng C, Koka H et al.** Ticks and Tick-Borne Viruses From Livestock Hosts in Arid and Semiarid Regions of the Eastern and Northeastern Parts of Kenya. *J Med Entomol* 2014;51(1):269-277.
32. **Sang R, Onyango C, Gachoya J, Mabinda E, Konongoi S et al.** Tickborne arbovirus surveillance in market livestock, Nairobi, Kenya. *Emerg Infect Dis* 2006;12(7):1074-1080.
33. **Bishop DH, Calisher CH, Casals J, Chumakov MP, Gaidamovich SY et al.** Bunyaviridae. *Intervirolgy* 1980;14(3-4):125-143.
34. **Davies FG, Casals J, Jesset DM, Ochieng P.** The serological relationships of Nairobi sheep disease virus. *J Comp Pathol* 1978;88(4):519-523.
35. **Baron MD, Holzer B.** Nairobi sheep disease virus/Ganjam virus. *Rev Sci Tech Oie* 2015;34(2):411-417.
36. **Dandawate CN, Work TH, Webb JK, Shah KV.** Isolation of Ganjam virus from a human case of febrile illness: a report of a laboratory infection and serological survey of human sera from three different states of India. *Indian J Med Res* 1969;57(6):975-982.
37. **Kuhn JH, Wiley MR, Rodriguez SE, Bao YM, Prieto K et al.** Genomic Characterization of the Genus Nairovirus (Family Bunyaviridae). *Viruses-Basel* 2016;8(6).
38. **Johnson BK, Chanas AC, Squires EJ, Shockley P, Simpson DIH et al.** Arbovirus Isolations from Ixodid Ticks Infesting Livestock, Kano Plain, Kenya. *T Roy Soc Trop Med H* 1980;74(6):732-737.
39. **Sureau P, Ravisse P, Germain M, Rickenbach A, Cornet JP et al.** [Isolation of Thogoto virus from Amblyomma and Boophilus ticks in Central Africa]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* 1976;69(3):207-212.
40. **Wood OL, Lee VH, Ash JS, Casals J.** Crimean-Congo Hemorrhagic-Fever, Thogoto, Dugbe, and Jos Viruses Isolated from Ixodid Ticks in Ethiopia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1978;27(3):600-604.