

С.В. Альховский, Д.К. Львов, М.Ю. Щелканов, А.М. Щетинин, К.Г. Краснослободцев, П.Г. Дерябин,
Е.И. Самохвалов, А.Г. Ботиков, В.А. Закарян

Молекулярно-генетическая характеристика вирусов Бханджа (BHAV) и Раздан (RAZV) (*Bunyaviridae*, *Phlebovirus*), изолированных от иксодовых клещей *Rhipicephalus bursa* Canestrini & Fanzago, 1878, и *Dermacentor marginatus* Sulzer, 1776, в Закавказье

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 16

Проведено полногеномное секвенирование *de novo* (на приборе MiSeq, Illumina) вирусов Бханджа (BHAV; штамм LEIV-Az1818), изолированного из иксодовых клещей *Rhipicephalus bursa* Canestrini & Fanzago, 1878, в Азербайджане (1973 г.) и Раздан (RAZV; штамм LEIV-Arm2741), выделенного от клещей *Dermacentor marginatus* Sulzer, 1776, в Армении (1972 г.). Уровень идентичности между аминокислотным последовательностями белков двух вирусов составил 95,8% (RdRp, L-сегмент), 90,3% (GnGc, M-сегмент), 92,5% (N, S-сегмент), 87,9% (NSs, S-сегмент) соответственно, на основании чего RAZV был отнесен нами к группе BHAV. Уровень идентичности RAZV по белку G составляет более 90% с европейскими изолятами BHAV и 85% с африканским вирусом Форекария (FORV). Вирус BHAV LEIV-Az1818 наиболее близок (99%) к индийскому штамму BHAV IG690. С европейскими изолятами BHAV LEIV-Az1818 обладает 90% идентичности. Геном вирусов BHAV имеет структуру, характерную для флебовирусов, передающихся клещами. В результате проведенного молекулярно-генетического и филогенетического анализа определено таксономическое положение RAZV и показано, что вирусы группы BHAV формируют обособленную группу в составе рода *Phlebovirus* (*Bunyaviridae*).

Ключевые слова: буньявирусы, флебовирусы, вирус Бханджа, BHAV, вирус Раздан, RAZV, арбовирусы, полногеномное секвенирование.

Molecular-Genetic Characterization of the Bhanja Virus (BHAV) and the Razdan Virus (RAZV) (*Bunyaviridae*, *Phlebovirus*) Isolated from the Ixodes Ticks *Rhipicephalus Bursa* (Canestrini and Fanzago, 1878) and *Dermacentor Marginatus* (Sulzer, 1776) in Transcaucasus

S. V. Alkhovsky, D. K. Lvov, M. Yu. Shchelkanov, A. M. Shchetinin, K. G. Krasnoslobodtsev, P. G. Deryabin, E. I. Samokhvalov, A. G. Botikov, V. A. Zakaryan

D. I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia

Two bunyaviruses, Bhanja (BHAV, LEIV-Az1818) isolated from the Ixodes ticks *Rhipicephalus bursa* (Canestrini and Fanzago, 1878) in Azerbaijan (1973) and Razdan (RAZV; strain LEIV-Arm2741) isolated from the *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776) ticks in Armenia (1972), were *de novo* sequenced (on the Illumina platform). The amino acid identity between these viruses proteins were 95.8% (RdRp, L-segment), 90.3% (GnGc, M-segment), and 92.5% (N, S-segment). Thus, RAZV was classified to BHAV group. GnGc protein identity of RAZV with European BHAV strains is more than 90%. With the African Forécariah virus (FORV) RAZV has 85% identity. BHAV LEIV-Az1818 is most closely related to the Indian strain BHAV IG690 (99%), while showing 90% identity with the European BHAV isolates. The genome structure of BHAV and RAZV is typical of the tick-transmitted phleboviruses. Based on the result of the molecular-genetic and phylogenetic analysis RAZV has been classified as belonging to BHAV group in the genus *Phlebovirus* (*Bunyaviridae*).

Key words: *Bunyaviridae*, *Phlebovirus*, arboviruses, Bhanja virus, Razdan virus, BHAV, RAZV

Введение

Семейство *Bunyaviridae* объединяет пять родов (*Orthobunyavirus*, *Hantavirus*, *Nairovirus*, *Phlebovirus* и *Tospovirus*) оболочечных, РНК-содержащих вирусов, с сегментированным геномом отрицательной полярности. Геном буньявирусов представлен тремя сегментами, кодирующими белок нуклеокапсида (N, S-сегмент), два оболочечных гликопротеида (GnGc, M-сегмент) и РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp, L-сегмент). За исключением тосповирусов (вирусы растений) большинство буньявирусов являются природно-очаговыми зоонозами и в основ-

ном арбовирусами, т. е. передаются позвоночным хозяевам при укусе членистоногими переносчиками. Описано более 350 буньявирусов. Из них более 40 вирусов входят в группу неклассифицированных буньявирусов, не отнесенных к определенному роду вследствие слабых антигенных связей и отсутствия геномных данных [1].

Вирус Бханджа (Bhanja virus – BHAV) впервые изолирован в Индии от клещей *Haemaphysalis intermedia* и отнесен к группе неклассифицированных буньявирусов [2]. В Европе BHAV выделяли от клещей *H. punctata* и *H. sulcata* в Болгарии, Хорватии, Словакии,

Контактная информация:

Альховский Сергей Владимирович; e-mail: salkh@ya.ru

Румынии, Италии [3–6]. Серологически близкий к BNAV вирус Палма (Palma virus – PALV) выделен в Португалии от клещей *H. punctata* [7]. В Африке также от клещей, помимо BNAV, выделены два близкородственных вируса – Кисмайо и Форекария (Kismayo virus – KISV; Forecariah – FORV) [8, 9]. На основании перекрестных серологических реакций данные вирусы объединены в серогруппу Бханджа [9]. Серологически (выявление антител у животных и людей) циркуляция вирусов группы BNAV выявлена во многих странах Средиземноморья, Ближнего Востока, Азии, Африки [10]. Геномы нескольких штаммов BNAV, а также FORV секвенированы и отнесены на основании филогенетического анализа к роду *Phlebovirus* [11, 12].

Круг позвоночных хозяев BNAV включает копытных животных, в том числе домашних коров, овец и коз. Обычно инфекция BNAV у взрослых животных протекает бессимптомно, но является патогенной для молодняка, вызывая поражения ЦНС [13]. У людей инфекция BNAV в основном также протекает бессимптомно, однако описаны несколько случаев лихорадочного заболевания и менингоэнцефалита [14, 15]. Модельная инфекция BNAV у макак (*Macaca mulatta*) протекает с поражением ЦНС в виде менингоэнцефалита [16].

Широкое распространение вирусов группы BNAV и их патогенный потенциал для животных и людей позволяют причислить их к проблеме новых и вновь возвращающихся инфекций. Количество новых буньявирусов, вызывающих опасные инфекции у человека и животных, растет. В Европе в 2011 г. обнаружен новый, поражающий копытных домашних животных, ортобуньявирус *Schmallenberg* [17]. В 2009 г. новый флебовирус (SFTS virus, SFTSV – от Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome virus), связанный с клещами, идентифицирован во время эпидемической вспышки лихорадочного заболевания с синдромом тромбоцитопении в Китае [18]. В США в 2012 г. от пациентов с острой лихорадкой выделен и описан близкий к SFTSV флебовирус Heartland [19].

В 1972 г. BNAV (штамм LEIV-Az1818) был выделен от иксодовых клещей *Rhipicephalus bursa* Canestrini & Fanzago, 1878, собранных с коров в Исмаилинском районе Азербайджана. Вирус Раздан (Razdan virus – RAZV; штамм LEIV-Arm2741), был выделен в 1973 г. от иксодовых клещей *Dermacentor marginatus* Sulzer, 1776, снятых с овец в окрестностях с. Солак (Разданский район) в Армении, и отнесен к неклассифицированным буньявирусам [20, 21]. В настоящей работе проведено полногеномное секвенирование и анализ геномов вирусов BNAV (LEIV-Az1818) и RAZV (LEIV-Arm2741). В результате мы впервые определили таксономическое положение вируса RAZV и охарактеризовали вирусы группы BNAV, выделенные в Закавказье.

Материалы и методы

Использованные вирусы и выделение РНК. Вирусы BNAV (штамм LEIV-Az1818) и RAZV (штамм LEIV-Arm2741) получены из Государственной коллекции вирусов РФ при ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России в виде лиофилизированной 10% мозговой суспензии. Восстановленной суспензией (0,2 мл) проводили интраце-

ребральное заражение новорожденных беспородных белых мышей. После развития симптомов поражения ЦНС (2–4 сут) мышей забивали в соответствии с правилами содержания и использования лабораторных животных, одобренных комиссией Института по этике экспериментов с животными. Фрагменты мозга (около 50 мг) помещали в 350 мкл лизирующего буфера RTL (QIAGEN, Германия) и гомогенизировали в гомогенизаторе TissueLyser LT (QIAGEN, Германия). Далее РНК выделяли набором RNeasy mini kit (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAcube (QIAGEN) в соответствии с инструкцией. Концентрацию РНК измеряли с использованием флуориметра Qubit (Invitrogen, США).

Подготовка библиотек и секвенирование. 100 нг тотальной РНК фрагментировали в 15 мкл реакционной смеси для обратной транскриптазы (50 mM Tris-HCl (pH 8,3 at 25°C), 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂, 10 mM DTT, dNTP (1 mM каждого) и гексапраймер (0,2 мкг)) при 85°C в течение 5 мин, после чего помещали в лед. К фрагментированной РНК добавляли 200 ед. фермента RevertAid Premium (Thermo Scientific, США) и 20 ед. ингибитора РНаз RNasin (Promega, США). Инкубировали при 25°C 10 мин, далее при 42°C 60 мин. Реакцию останавливали прогреванием при 70°C 10 мин. Синтез второй цепи кДНК проводили с использованием набора NEBNext® mRNA Second Strand Synthesis Module (NEB, США) в соответствии с инструкцией. Полученную дцДНК очищали с использованием набора MinElute PCR Purification Kit (QIAGEN) на автоматической станции QIAcube.

Для получения ДНК-библиотек из дцДНК использовали набор TruSeq DNA Sample Prep Kits v2 (Illumina, США) в соответствии с инструкцией. Полученные библиотеки визуализировали на станции автоматического электрофореза QIAxcel Advanced System (QIAGEN, Германия). Измерение молярности полученных библиотек проводили методом ПЦР в реальном времени (2x SsoFast EvaGreen Supermix (Bio-Rad, США), прибор Bio-Rad CFX1000) согласно рекомендациям, изложенным в руководстве «Sequencing Library qPCR Quantification Guide» (Illumina, США).

Сиквенс библиотек осуществляли на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора MiSeq Reagent Kits V2 (300PE) в соответствии с инструкцией производителя.

Концевые области генома амплифицировали с использованием набора Mint RACE cDNA amplification set («Евроген», Москва). Секвенирование пробелов и концевых областей проводили на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystem, США).

Биоинформационный анализ. Обработку данных полногеномного секвенирования, сборку контигов и картирование ридов осуществляли, используя программы CLC Genomics Workbench 5.5 (CLC bio, США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей проводили с помощью сервиса BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Для подбора праймеров, множественного выравнивания, анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали пакет программ Lasergene Core Suite (DNASTAR, США). Выравнивание последовательностей проводили по алгоритму ClustalW. Филогенетический анализ и построение дендрограмм осуществляли, используя программу MEGA5. Поиск сайтов гликозилирования,

Уровень идентичности аминокислотных последовательностей белков вирусов RAZV и BHAV (LEIV-Az1818) с другими флебовирусами

Вирус	RdRp (L-сегмент)		G (M-сегмент)		N (S-сегмент)		NSs (S-сегмент)	
	RAZV	BHAV	RAZV	BHAV	RAZV	BHAV	RAZV	BHAV
RVFV	32,1	31,8	18,4	19,4	34,3	37,4	13,2	13,2
TOSV	34,4	34,1	16,5	16,8	32,3	35,9	13,9	11,9
AGUV	34,8	34,8	17,3	17,9	33,5	39,8	10,7	11,1
UUKV	34,8	34,8	19,0	19,0	26,3	29,3	13,6	14,0
SFTSV	40,4	40,7	25,3	25,7	40,5	43,2	20,0	19,3
BHAV_IG690	95,9	99,3	89,0	99,2	92,5	99,0	88,8	99,0
BHAV_ibAr2709	94,7	93,7	84,5	86,2	93,2	94,9	87,2	84,0
BHAV_M3811	98,3	96,3	94,9	90,7	94,7	97,1	92,3	86,6
BHAV_R1819	98,2	96,0	93,7	90,1	93,6	96,3	91,7	86,9
PALV	98,1	96,5	92,5	90,5	92,5	96,2	92,7	86,3
FORV	93,9	93,6	84,9	86,2	92,8	95,6	87,5	83,7
BHAV_LEIV-Azn1818	95,8	–	90,3	–	92,5	–	87,9	–
RAZV LEIV-Arm2741	–	95,8	–	90,3	–	92,5	–	87,9

Примечание. Серым цветом выделены вирусы группы BHAV. RVFV – Rift Valley Fever virus; TOSV – Toscana virus; UUKV – Uukuniemi virus; AGUV – Aguacate virus; SFTSV – Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus; PALV – Palma virus; FORV – Forecariah virus.

сайтов нарезания сигнального пептида и трансмембранных доменов проводили с помощью on-line ресурсов NetNGlyc1.0, SignalP и TMHMM2.0 соответственно (сайт CBS Prediction Servers <http://www.cbs.dtu.dk/services>).

Результаты

Полногеномное секвенирование. ДНК-библиотеки вирусов BHAV и RAZV были секвенированы в составе 24 индексированных библиотек. Всего для BHAV получено 556 312 коротких фрагмента («риды» – от англ. reads), из которых 1755 (0,32%) после *de novo* сборки формировали контиги, соответствующие геному вируса. Для ДНК-библиотеки RAZV получено 1 022 514 рида, из которых 7158 (0,7%) соответствовали последовательностям вирусного генома. При сборке *de novo* для RAZV получены последовательности практически полностью (более 80%) перекрывающие геном вируса. Перекрытие генома BHAV при *de novo* сборке составило не более 40%.

При картировании ридов на референсную последовательность (mapping) получено 99% перекрытие для RAZV и около 70% для BHAV. Средняя глубина покрытия (average coverage) при этом составила 31, 136 и 124 для трех разных сегментов (S, M, L) RAZV. Для BHAV средняя глубина покрытия составила только 6, 11 и 9 соответственно. Наблюдаемую разницу при *de novo* сборке и картировании вирусов BHAV и RAZV можно объяснить их разным содержанием (титром) в исходном материале. Для заполнения пробелов в геноме BHAV были получены соответствующие ПЦР-фрагменты, которые были секвенированы по Сенгеру.

Перекрытие генома RAZV составило около 99%, однако концевые последовательности были нами получены методом RACE и секвенированы независимо. В результате определены полные нуклеотидные последовательности всех трех сегментов каждого вируса (GenBank # KC335496, KC335497, KC3354978).

Поскольку концевые последовательности других штаммов BHAV были определены ранее, для вируса BHAV RACE не проводили.

Полученные концевые последовательности RAZV впали с последовательностями вирусов группы BHAV и флебовирусов в целом. Канонические концевые последовательности геномной РНК у флебовирусов представлены 3'-UGUGUUUC и GAAACACA-5' [1]. У RAZV так же, как и других вирусов группы BHAV, концевые последовательности сохраняют консервативность, за исключением 3'-конца РНК L-сегмента (3'-UGUGUCU) и 5'-конца S-сегмента (GAGACACA-5'). Длина сегментов генома RAZV составила 6333 н.о. (L-сегмент), 3304 н.о. (M-сегмент) и 1871 н.о.

(S-сегмент) соответственно.

Филогенетический анализ. При сравнении геномов RAZV и BHAV (штамм LEIV-Ag1818) обнаружили, что уровень идентичности между ними по аминокислотным последовательностям вирусных белков составляет 87,9–95,8% (см. таблицу), на основании чего RAZV мы отнесли к группе BHAV.

На рис. 1 представлены дендрограммы, построенные в результате филогенетического анализа последовательностей трех сегментов буньявирусов животных. Как видно, вирусы группы BHAV формируют отдельную филогенетическую группу в составе рода *Phlebovirus*. Ближайшими соседями группы BHAV на дендрограмме являются две группы флебовирусов, переносимых клещами, – группа SFTSV и группа UUKV (Uukuniemi virus).

Характеристика S-сегмента. S-сегмент у RAZV и BHAV (1871 н.о.) имеет две открытые рамки считывания (ОРС), расположенные в противоположных ориентациях (ambisense-стратегия) и разделенные межгенным участком длиной 139 н.о. Такая структура S-сегмента является характерной для флебовирусов [1]. Нуклеокапсидный белок (N), кодируемый 5' частью (+)РНК включает 247 а.к. и имеет расчетную массу 27 кД. В белке N можно выделить РНК-связывающий домен, сформированный консервативными для флебовирусов мотивами в районе 64, 67 и 74 а.к. Уровень идентичности белка N вируса RAZV с другими флебовирусами (не входящими в группу BHAV) составляет 34,8–45,6%. Среди вирусов BHAV уровень идентичности белка N составляет 90,2–99,2%. Наиболее высокий уровень идентичности (94,7%) белок N у RAZV имеет с европейским изолятом BHAV (M3811).

Неструктурный белок NSs кодируется ОРС, расположенной в геномной (-)РНК. NSs у RAZV и BHAV представлен 313 а.к. Длина NSs у разных флебовирусов может варьировать (273, 293 и 316 а.к. у UUKV, SFTSV и вируса Toscana (TOSV) соответственно).

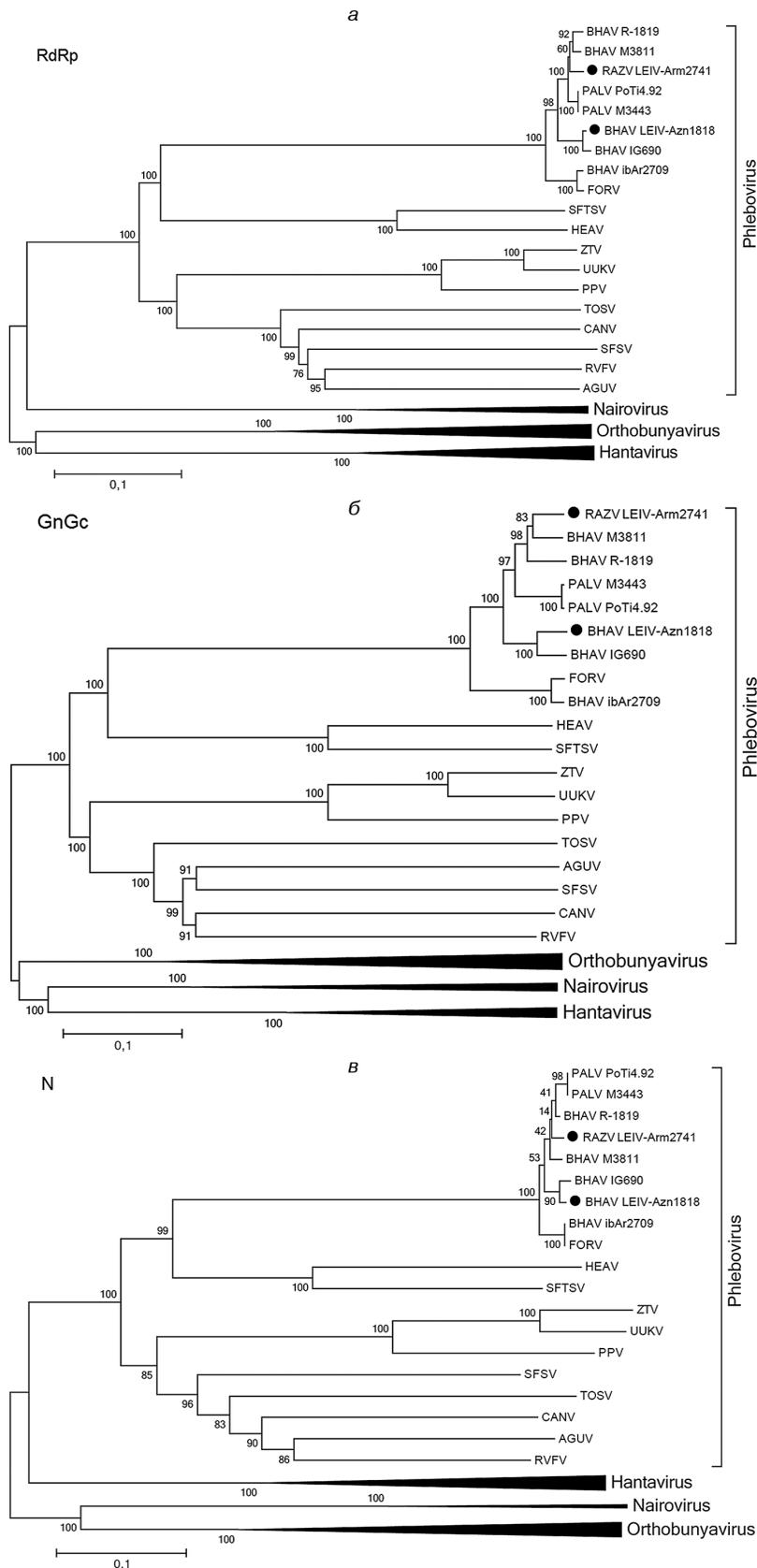


Рис. 1. Дендрогаммы, построенные на основе сравнения последовательностей белков BHAУ и RAZV с другими буньявирусами.

а – РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRp, L-сегмент); *б* – полипротеин, предшественник оболочечных белков Gп и Gс (M-сегмент); *в* – белок нуклеокапсида (N, S-сегмент). Здесь и на рис. 2: RVFV – Rift Valley Fever virus; TOSV – Toscana virus; UUKV – Uukuniemi virus; AGUV – Aguateca virus; PPV – Precarious Point virus; SFTSV – Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus; HEAV – Heartland virus; PALV – Palma virus; FORV – Forecariah virus; GOUV – Gouleako virus; SFSV Sandfly Fever Sicilian virus; CANV – Candiru virus; ZTV – Zaliv Terpenia virus).

Функция NSs буньявирусов до конца не ясна, но известно, что он может подавлять защитное действие интерферонов при развитии иммунного ответа у позвоночных хозяев. NSs является наименее консервативным белком флебовирусов, а уровень его идентичности между флебовирусами разных антигенных групп составляет 9–15%. NSs у RAZV обладает 87,2–92,7% идентичности с вирусами BHAУ.

Характеристика М-сегмента. М-сегмент у вирусов RAZV и BHAУ содержит одну протяженную рамку считывания ОРС длиной 3210 н. о., кодирующую полипротеин длиной 1069 а.к. ОРС начинается с 24 н.о., причем старт-кодон дублирован. Полипротеин является предшественником двух структурных оболочечных белков Gп и Gс, которые образуются в результате его разрезания клеточными протеазами. В полипротеине вирусов BHAУ и RAZV был найден сигнальный пептид, связанный с транспортом в аппарате Гольджи. Нарезание сигнального пептида, вероятно, происходит между 17 и 18 а.к. полипротеина (AVAC/DD).

Вероятный сайт разрезания Gп/Gс определен в позиции 559/560 (мотив MHMALC/CDESRL). Дипептид CD (подчеркнут) в сайте нарезания характерен для вирусов группы BHAУ, а также для SFTSV и Heartland, тогда как у остальных флебовирусов, включая UUKV, в данной позиции расположен консервативный дипептид CS. Таким образом, длина аминокислотных последовательностей оболочечных белков Gп и Gс вирусов RAZV и BHAУ определена как 537 и 510 а.к. соответственно. Расчетная масса Gп и Gс составила 56 и 55 кД. Четыре потенциальных сайта гликозилирования в Gп (позиции 41, 114, 268 и 283) и один в Gс (позиция 947) найдены у RAZV и у BHAУ. Отметим, что у вирусов FORV и BHAУ (штамм ibAr2709), выделенных в Суб-Сахарной Африке, потенциальный сайт гликозилирования в позиции 114 отсутствует.

У флебовирусов, переносимых москитами, М-сегмент вместе с белками Gп и Gс кодирует дополнительный неструктурный белок NSm с расчетной массой 30 кД. Белок NSm также присутствует у ортобуньявирусов и тосповирусов [1]. Вирусы группы BHAУ и другие флебовирусы, связанные с клещами (группа UUKV и SFTSV), белка NSm не имеют.

Профиль гидрофобности полипротеина RAZV позволяет выявить трансмембранные домены, расположенные на С-конце белков Gп и Gс. У белка Gп выявили два трансмембранных домена в позициях 457–474 и 481–498 а.к. (по полипротеину). Трансмембранный домен

- in southeast Bulgaria, presence of antibodies in pastured sheep. *Folia Parasitol. (Praha)*. 1978; 25 (1): 67–73.
7. *Filipe A.R., Alves M.J., Karabatsos N., de Matos A.P., Nuncio M.S., Bacellar F.* Palma virus, a new Bunyaviridae isolated from ticks in Portugal. *Intervirology*. 1994; 37 (6): 348–51.
 8. *Boiro I., Lomonossov N.N., Malenko G.V., Balde C., Bah A.* Forecariah virus, a new representative of the Bhanja antigenic group, isolated in the Republic of Guinea. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales*. 1986; 79 (2): 183–6.
 9. *Бутенко А.М., Громашевский В.Л., Львов Д.К., Попов В.Ф.* Вирус Кисмайо – представитель антигенной группы Бханджа. *Вопросы вирусологии*. 1979; 24 (6): 661–5.
 10. *Hubalek Z.* Geographic distribution of Bhanja virus. *Folia Parasitol. (Praha)*. 1987; 34 (1): 77–86.
 11. *Dilcher M., Alves M.J., Finkeisen D., Hufert F., Weidmann M.* Genetic characterization of Bhanja virus, Palma virus, two tick-borne phleboviruses. *Virus Genes*. 2012; 45 (2): 311–5.
 12. *Matsuno K., Weisend C., Travassos da Rosa A.P., Anzick S.L., Dahlstrom E., Porcella S.F.* et al. Characterization of the bhanja serogroup viruses (Bunyaviridae): a novel species of the genus Phlebovirus, its relationship with other emerging tick-borne phleboviruses. *J. Virol.* 2013; 87 (7): 3719–28.
 13. *Madr V., Hubalek Z., Zendulkova D.* Experimental infection of sheep with Bhanja virus. *Folia Parasitol. (Praha)*. 1984; 31 (1): 79–84.
 14. *Calisher C.H., Goodpasture H.C.* Human infection with Bhanja virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1975; 24 (6, Pt 1): 1040–2.
 15. *Punda V., Ropac D., Vesenjak-Hirjan J.* Incidence of hemagglutination-inhibiting antibodies for Bhanja virus in humans along the north-west border of Yugoslavia. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A*. 1987; 265 (1–2): 227–34.
 16. *Balducci M., Verani P., Lopes M.C., Nardi F.* Experimental pathogenicity of Bhanja virus for white mice and Macaca mulatta monkeys. *Acta Virol.* 1970; 14 (3): 237–43.
 17. *Beer M., Conraths F.J., van der Poel W.H.* ‘Schmallenberg virus’ – a novel orthobunyavirus emerging in Europe. *Epidemiol. Infect.* 2013; 141 (1): 1–8.
 18. *Yu X.J., Liang M.F., Zhang S.Y., Liu Y., Li J.D., Sun Y.L.* et al. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364 (16): 1523–32.
 19. *McMullan L.K., Folk S.M., Kelly A.J., MacNeil A., Goldsmith C.S., Metcalfe M.G.* et al. A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (9): 834–41.
 20. *Lvov D.K., Gromashevsky V.L., Zakaryan V.A., Skvortsova T.M., Berezina L.K., Gofman Y.P.* et al. Razdan virus, a new ungrouped bunyavirus isolated from Dermacentor marginatus ticks in Armenia. *Acta Virol.* 1978; 22 (6): 506–8.
 21. RAZDAN. In: *Karabatsos N.*, ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg. 1985: 851–2.
 22. *Muller R., Poch O., Delarue M., Bishop D.H., Bouloy M.* Rift Valley fever virus L segment: correction of the sequence, possible functional role of newly identified regions conserved in RNA-dependent polymerases. *J. Gen. Virol.* 1994; 75 (6): 1345–52.
 23. *Marklewitz M., Handrick S., Grasse W., Kurth A., Lukashev A., Drossten C.* et al. Gouleako virus isolated from West African mosquitoes constitutes a proposed novel genus in the family Bunyaviridae. *J. Virol.* 2011; 85 (17): 9227–34.
 24. *Palacios G., Savji N., Travassos da Rosa A., Guzman H., Yu X., Desai A.* et al. Characterization of the Uukuniemi virus group (Phlebovirus: Bunyaviridae): evidence for seven distinct species. *J. Virol.* 2013; 87 (6): 3187–95.
 - 19 (1): 103–5.
 4. *Vesenjak-Hirjan J., Calisher C.H., Brudnjak Z., Tovornik D., Skrtic N., Laznick J.S.* Isolation of Bhanja virus from ticks in Yugoslavia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1977; 26 (5, Pt 1): 1003–8.
 5. *Ungureanu A., Popovici V., Catanas F., Ionita I., Tutoveanu A., Safita M.* Isolation of Bhanja virus in Romania. *Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol.* 1990; 49 (2): 139–45.
 6. *Pavlov P., Rosicky B., Hubalek Z., Daniel M., Bardos V., Minar J.* et al. Isolation of Bhanja virus from ticks of the genus Haemaphysalis in southeast Bulgaria, presence of antibodies in pastured sheep. *Folia Parasitol. (Praha)*. 1978; 25 (1): 67–73.
 7. *Filipe A.R., Alves M.J., Karabatsos N., de Matos A.P., Nuncio M.S., Bacellar F.* Palma virus, a new Bunyaviridae isolated from ticks in Portugal. *Intervirology*. 1994; 37 (6): 348–51.
 8. *Boiro I., Lomonossov N.N., Malenko G.V., Balde C., Bah A.* Forecariah virus, a new representative of the Bhanja antigenic group, isolated in the Republic of Guinea. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales*. 1986; 79 (2): 183–6.
 9. *Butenko A.M., Gromashevskii V.L., L'vov D.K., Popov V.F.* Kiserayov virus, a representative of the Bhanja antigenic group. *Voprosy Virusologii*. 1979; 24 (6): 661–5 (in Russian).
 10. *Hubalek Z.* Geographic distribution of Bhanja virus. *Folia Parasitol. (Praha)*. 1987; 34 (1): 77–86.
 11. *Dilcher M., Alves M.J., Finkeisen D., Hufert F., Weidmann M.* Genetic characterization of Bhanja virus, Palma virus, two tick-borne phleboviruses. *Virus Genes*. 2012; 45 (2): 311–5.
 12. *Matsuno K., Weisend C., Travassos da Rosa A.P., Anzick S.L., Dahlstrom E., Porcella S.F.* et al. Characterization of the bhanja serogroup viruses (Bunyaviridae): a novel species of the genus Phlebovirus, its relationship with other emerging tick-borne phleboviruses. *J. Virol.* 2013; 87 (7): 3719–28.
 13. *Madr V., Hubalek Z., Zendulkova D.* Experimental infection of sheep with Bhanja virus. *Folia Parasitol. (Praha)*. 1984; 31 (1): 79–84.
 14. *Calisher C.H., Goodpasture H.C.* Human infection with Bhanja virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1975; 24 (6, Pt 1): 1040–2.
 15. *Punda V., Ropac D., Vesenjak-Hirjan J.* Incidence of hemagglutination-inhibiting antibodies for Bhanja virus in humans along the north-west border of Yugoslavia. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A*. 1987; 265 (1–2): 227–34.
 16. *Balducci M., Verani P., Lopes M.C., Nardi F.* Experimental pathogenicity of Bhanja virus for white mice and Macaca mulatta monkeys. *Acta Virol.* 1970; 14 (3): 237–43.
 17. *Beer M., Conraths F.J., van der Poel W.H.* ‘Schmallenberg virus’ – a novel orthobunyavirus emerging in Europe. *Epidemiol. Infect.* 2013; 141 (1): 1–8.
 18. *Yu X.J., Liang M.F., Zhang S.Y., Liu Y., Li J.D., Sun Y.L.* et al. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364 (16): 1523–32.
 19. *McMullan L.K., Folk S.M., Kelly A.J., MacNeil A., Goldsmith C.S., Metcalfe M.G.* et al. A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (9): 834–41.
 20. *Lvov D.K., Gromashevsky V.L., Zakaryan V.A., Skvortsova T.M., Berezina L.K., Gofman Y.P.* et al. Razdan virus, a new ungrouped bunyavirus isolated from Dermacentor marginatus ticks in Armenia. *Acta Virol.* 1978; 22 (6): 506–8.
 21. RAZDAN. In: *Karabatsos N.*, ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg. 1985: 851–2.
 22. *Muller R., Poch O., Delarue M., Bishop D.H., Bouloy M.* Rift Valley fever virus L segment: correction of the sequence, possible functional role of newly identified regions conserved in RNA-dependent polymerases. *J. Gen. Virol.* 1994; 75 (6): 1345–52.
 23. *Marklewitz M., Handrick S., Grasse W., Kurth A., Lukashev A., Drossten C.* et al. Gouleako virus isolated from West African mosquitoes constitutes a proposed novel genus in the family Bunyaviridae. *J. Virol.* 2011; 85 (17): 9227–34.
 24. *Palacios G., Savji N., Travassos da Rosa A., Guzman H., Yu X., Desai A.* et al. Characterization of the Uukuniemi virus group (Phlebovirus: Bunyaviridae): evidence for seven distinct species. *J. Virol.* 2013; 87 (6): 3187–95.

REFERENCES

Поступила 21.03.13