

11. Dilcher M., Koch A., Hasib L., Dobler G., Hufert F. T., Weidmann M. Genetic characterization of Erve virus, a European Nairovirus distantly related to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Virus Genes*. 2012; 45 (3): 426–32.
12. Chastel C., Main A. J., Richard P., Le Lay G., Legrand-Quillien M. C., Beaucournu J. C. Erve virus, a probable member of Bunyaviridae family isolated from shrews (*Crocidura russula*) in France. *Acta Virol.* 1989; 33 (3): 270–80.
13. Deyde V. M., Khristova M. L., Rollin P. E., Ksiazek T. G., Nichol S. T. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genomics and global diversity. *J. Virol.* 2006; 80 (17): 8834–42.
14. Crabtree M. B., Sang R., Miller B. R. Kupe virus, a new virus in the family bunyaviridae, genus nairovirus, Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15 (2): 147–54.
15. Honig J. E., Osborne J. C., Nichol S. T. The high genetic variation of viruses of the genus Nairovirus reflects the diversity of their predominant tick hosts. *Virology*. 2004; 318 (1): 10–6.
16. Varma M. G., Converse J. D. Katerah virus infections in four species of Argas ticks (Ixodoidea: Argasidae). *J. Med. Entomol.* 1976; 13(1): 65–70.

REFERENCES

1. Lvov D. K., Karas F. R., Timofeev E. M., Tsyarkin Y. M., Vargina S. G., Veselovskaya O. V. et al. "Issyk-Kul" virus, a new arbovirus isolated from bats and Argas (*Carios*) vespertilionis (Latr., 1802) in the Kirghiz S.S.R. Brief report. *Arch. Ges. Virusforsch.* 1973; 42 (2): 207–9.
2. ISSYK-KUL. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 461.
3. L'Vov D.K., Kostjukov M. A., Daniyarov O. A., Tukhtaev T. M., Sherikov B. K. Outbreak of arbovirus infection in the Tadzhik SSR due to the Issyk-Kul virus (Issyk-Kul fever). *Voprosy virusologii.* 1984; 29 (1): 89–92 (in Russian).
4. Kostjukov M. A. Study of Issyk-Kul virus ecology. In: Gaidamovich S.Y., ed. *Arboviruses*. Moscow: 1981: 78–82 (in Russian).
5. Lvov D. K. Arbovirus infections in the subtropics and on the South of temperate zone of USSR. In: Lvov D.K., Klimenko S.M., Gaidamovich S.Y., eds. *Arboviruses and arbovirus infections*. Moscow: Meditsina; 1989: 235–49 (in Russian).
6. Lvov D. K. The Issyk-kul fever. In: Lvov D.K., eds. *Medical virology*. Moscow: MIA; 2008: 566–8 (in Russian).

7. Lvov D. K. Issyk-Kul virus disease. In: Monath T.P., ed. *The Arboviruses: ecology and epidemiology*. Boca Raton, FL: CRS Press; 1988: 53–62.
8. Plyusnin A., Beaty B. J., Elliot R. M., Goldbach R., Kormelink R., Lundkvist A. et al. Family Bunyviridae. In: King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus taxonomy: Ninth report of the international committee of taxonomy of viruses*. 1st ed. London: Elsevier; 2012: 725–41.
9. Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.* 1994; 22 (22): 4673–80.
10. Alkhovsky S.V., Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Krasnoslobodtsev K.G., Deryabin P.G. et al. Molecular – Genetic Characterization Of Bhanja Virus (Bhav) And Razdan Virus (Razv) (Bunyaviridae, Phlebovirus), Isolated From Ixodes Ticks *Rhipicephalus bursa* Canestrini & Fanzago, 1878, And *Dermacentor marginatus* Sulzer, 1776, In Transcaucasus. *Voprosy virusologii.* 2013; 58(4): 14–9 (in Russian).
11. Dilcher M., Koch A., Hasib L., Dobler G., Hufert F. T., Weidmann M. Genetic characterization of Erve virus, a European Nairovirus distantly related to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Virus Genes*. 2012; 45 (3): 426–32.
12. Chastel C., Main A. J., Richard P., Le Lay G., Legrand-Quillien M. C., Beaucournu J. C. Erve virus, a probable member of Bunyaviridae family isolated from shrews (*Crocidura russula*) in France. *Acta Virol.* 1989; 33 (3): 270–80.
13. Deyde V. M., Khristova M. L., Rollin P. E., Ksiazek T. G., Nichol S. T. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genomics and global diversity. *J. Virol.* 2006; 80 (17): 8834–42.
14. Crabtree M. B., Sang R., Miller B. R. Kupe virus, a new virus in the family bunyaviridae, genus nairovirus, Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15 (2): 147–54.
15. Honig J. E., Osborne J. C., Nichol S. T. The high genetic variation of viruses of the genus Nairovirus reflects the diversity of their predominant tick hosts. *Virology*. 2004; 318 (1): 10–6.
16. Varma M. G., Converse J. D. Katerah virus infections in four species of Argas ticks (Ixodoidea: Argasidae). *J. Med. Entomol.* 1976; 13 (1): 65–70.

Поступила 23.05.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013
УДК 578.833.1.083.2

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

Таксономия вируса Хасан (Khasan, KHAV) – нового вируса рода *Phlebovirus* (сем. *Bunyaviridae*), изолированного из клещей *Haemaphysalis longicornis* (Neumann, 1901) в Приморском крае (Россия)

ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского" Минздрава России, 123098, Москва

Вирус Хасан (Khasan virus – KHAV) был изолирован в Хасанском районе Приморского края в 1971 г. из клещей *Haemaphysalis longicornis* (Neumann, 1901), собранных с пятнистых оленей *Cervus nippon* Temminck, 1838. На основании биологических свойств и морфологии вириона KHAV был отнесен к неклассифицированным вирусам сем. *Bunyaviridae*. В настоящей работе для уточнения таксономического положения KHAV геном вируса был частично секвенирован с использованием технологии секвенирования следующего поколения (next-generation sequencing). На основании филогенетического анализа частичных последовательностей всех трех сегментов генома KHAV был отнесен нами к роду *Phlebovirus*. Филогенетически KHAV наиболее близко группируется с вирусами группы UUKV и обладает с ними на анализируемых участках генома до 62% идентичности. Максимальный уровень идентичности наблюдается для фрагментов последовательности РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp). Уровень гомологии KHAV с клещевыми вирусами группы UUKV составляет от 50 до 62%, тогда как с москитными флебовирусами это значение не превышает 30%.

Ключевые слова: вирус Хасан; буньявирусы; флебовирусы; арбовирусы; полногеномное секвенирование; иксодовые клещи.

Контактная информация:
Альховский Сергей Владимирович, e-mail: salkh@ya.ru

The taxonomy of the Khasan Virus (KHAV), a new representative of *Phlebovirus* Genera (*Bunyaviridae*), isolated from the ticks *Haemaphysalis longicornis* (Neumann, 1901) in the Maritime territory (Russia)

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

The Khasan virus (KHAV) was originally isolated in Khasansky District and Maritime Territory in 1971 from the ticks *Haemaphysalis longicornis* (Neumann, 1901) collected from the deers *Cervus nippon* (Temminck, 1838). Based on the biological properties and virion morphology, KHAV was identified as an unclassified member of the *Bunyaviridae* family. In order to elucidate the KHAV taxonomy in more detail, viral genome was partially sequenced using the next-generation sequencing technology. According to the phylogenetic analysis conducted for partial sequences of the three genome segments, KHAV was attributed to the genus *Phlebovirus*. KHAV is phylogenetically mostly related to the viruses of the Uukuniemi group and has up to 62% identity with them. The maximum identity level is observed for sequences of the RNA-dependent-RNA-polymerase (RdRp) gene. The KHAV homology level with the tick-borne Uukuniemi group viruses is 50 to 62%; however, for the mosquito-borne phleboviruses it does not exceed 30%.

Key words: *Khasan virus*; *bunyaviridae*; *phlebovirus*; *arbovirus*; *complete genome sequencing*; *ixodes ticks*.

Введение

Вирус Хасан (*Khasan virus* – KHAV) был изолирован в Хасанском районе на юге Приморского края в 1971 г. из клещей *Haemaphysalis longicornis* Neumann, 1901, собранных с пятнистых оленей *Cervus nippon* Temminck, 1838. На основании биологических свойств и морфологии вириона KHAV был отнесен к неклассифицированным вирусам сем. *Bunyaviridae* [1–3]. Семейство *Bunyaviridae* объединяет четыре рода вирусов животных (*Orthobunyavirus*, *Hantavirus*, *Phlebovirus* и *Nairovirus*), один род вирусов растений (*Tospovirus*) и около 40 неклассифицированных вирусов. Большинство буньявирусов животных (за исключением хантавирусов) являются арбовирусами. Геном буньявирусов представлен тремя сегментами РНК негативной полярности (L, M и S), длина и структура которых являются характерными для каждого рода [4]. Таксономия буньявирусов постоянно уточняется в связи с открытием новых вирусов, а также с выработкой критериев классификации вирусов на основе геномных данных [4–8].

На территории Приморского края в природных очагах ранее изолировали буньявирусы родов *Orthobunyavirus* (Батаи – BATV, зайца-беляка – SSHV) и *Hantavirus* (Пуумала – PPUV, Сеул – SEUV, Хантаан – HTNV). Также на данной территории циркулируют вирусы сем. *Flaviviridae* (род *Flavivirus*): японского (JEV) и клещевого (TBEV) энцефалитов, Повассан (PWV), Западного Нила (WNV), а также сем. *Togaviridae* (род *Alfavirus*): Гета (GETV), сем. *Orthomyxoviridae*: вирусы гриппа (включая высокопатогенные субтипы H5N1) и др. [3, 9–11].

В настоящей работе для уточнения таксономического положения KHAV геном вируса был частично секвенирован с использованием технологии секвенирования следующего поколения (next-generation sequencing). На основании филогенетического анализа частичных последовательностей всех трех сегментов генома KHAV отнесен к роду *Phlebovirus*.

Материалы и методы

Использованные вирусы и выделение РНК. Вирус Хасан (штамм LEIV-776P) был получен из Государственной коллекции вирусов РФ ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздрава России в виде лиофилизированной мозговой суспензии. Восстановленной суспензией (0,2 мл) проводили интрацеребральное заражение новорожденных беспородных белых мышей. После развития симптомов поражения ЦНС (2–4-е сутки) мышей забивали в соответствии с правилами содержания и использования лабораторных животных, одобренных

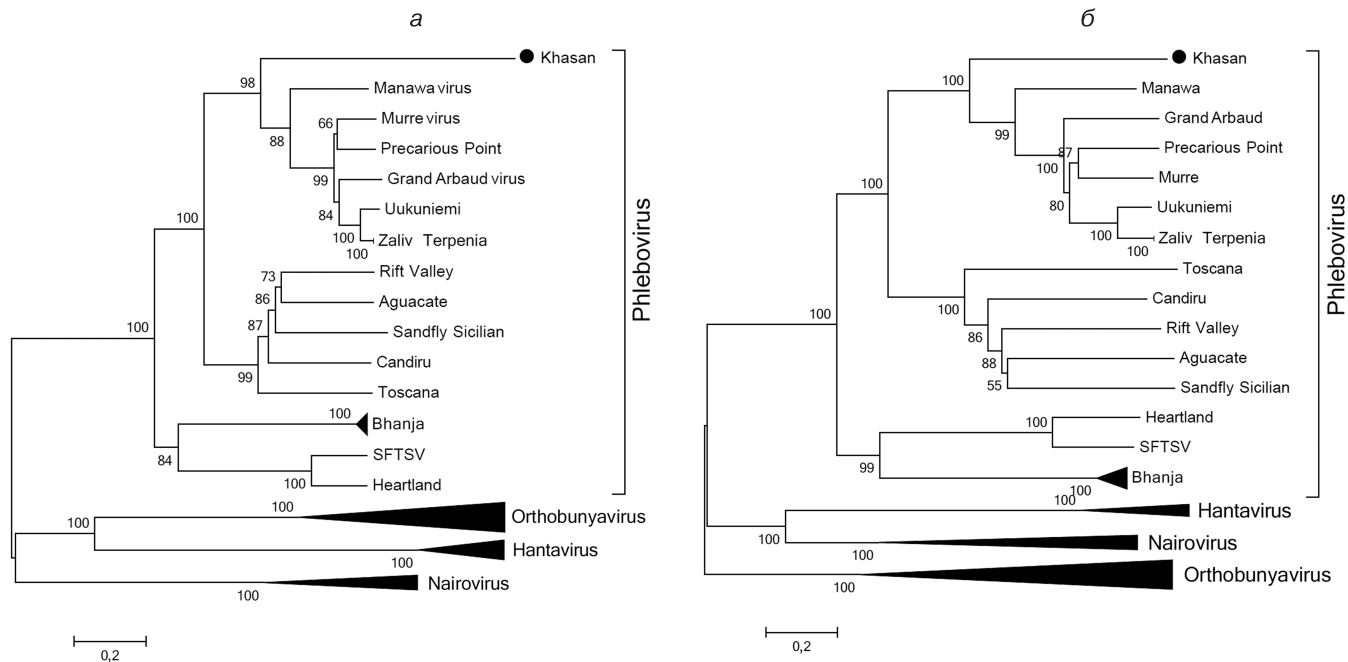
комиссией института по этике экспериментов с животными. Фрагменты мозга (около 50 мг) помещали в 350 мкл лизирующего буфера RLT (QIAGEN, Германия) и гомогенизировали в гомогенизаторе TissueLyser LT той же фирмы. Далее РНК была выделена набором RNeasy mini kit (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAcube той же фирмы 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, при 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 в течение 10 мин, далее при 42°C в течение 60 мин. Реакцию останавливали прогреванием при 70°C в течение 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, Германия) 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). Молярность полученных библиотек определяли с помощью метода ПЦР в реальном времени (2-кратно SsoFast EvaGreen Supermix ("Bio-Rad", США), прибор Bio-Rad CFX1000) согласно рекомендациям, изложенным в руководстве "Sequencing Library qPCR Quantification Guide" ("Illumina", США).

Секвенирование ДНК-библиотек проводили на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора "MiSeq Reagent Kits v2 (300PE)" в соответствии с инструкцией производителя.

Биоинформационный анализ. Обработку данных полногеномного секвенирования, сборку контигов и картирование ридов осуществляли, используя программу "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,



Дендрогаммы, построенные на основе сравнения частичных последовательностей белков буньявирусов.
 а – фрагмент RdRp (150–337 а.о.); б – фрагмент белка Gn (71–356 а.о.).

множественного выравнивания, анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали пакет программ Lasergene Core Suite ("DNASTar", США). Выравнивание последовательностей осуществляли по алгоритму ClustalW [12]. Филогенетический анализ и построение дендрогамм проводили с использованием программы MEGA 5 [13]. Поиск сайтов гликозилирования, сайтов нарезания сигнального пептида и трансмембранных доменов выполняли, используя on-line ресурсы NetNGlyc1.0, SignalP и ТМНММ2.0 соответственно (сайт CBS Prediction Servers <http://www.cb.sdtu.dk/services>).

Результаты и обсуждение

В результате секвенирования и сборки ридов получили 2878 последовательностей (контигов) длиной от 250 до 3807 нуклеотидных остатков (н.о.). При анализе полученных контигов с использованием on-line сервиса BLASTX были найдены 12 контигов длиной от 348 до 942 н.о., обладающих гомологией с вирусами рода *Phlebovirus* (*Bunyaviridae*). Для L-сегмента получили семь фрагментов, распределенных от 173 до 1626 аминокислотных остатков (а.о.) по RdRp вируса УкуниEMI (Uukuniemi, UUKV). Общая длина кодирующей части полученных фрагментов составила около 730 а.о. Для М-сегмента получили последовательности четырех участков, лежащих в пределах от 71 по 939 а.о. (по UUKV). Общая длина полученных последовательностей для М-сегмента составляет 600 а.о. Только один фрагмент S-сегмента, соответствующий 19–75 а.о. белка нуклеокапсида (N), определили у КНАВ. Таким образом, в результате секвенирования установили частичные последовательности всех трех сегментов генома КНАВ. Ранее мы показали, что полноразмерное *de novo* секвенирование генома РНК-содержащих вирусов возможно проводить без предварительной очистки вируса, используя суммарную РНК, выделенную из тканей мозга зараженных мышей [5]. Ограничивающим фактором при этом является количество (титр) вируса в материале. Согласно ранее изученным биологическим свойствам, титр КНАВ при заражении мышей-сосунков может достигать $7 \log LD_{50}$ [1]. Таким образом, низкий титр виру-

са в материале позволил нам получить только частичные последовательности генома.

На основе филогенетического анализа полученных последовательностей КНАВ был отнесен к роду *Phlebovirus*. К роду *Phlebovirus* отнесены около 70 вирусов, которые на основании экологических, антигенных и геномных свойств разделены на две группы – Москитной лихорадки (Sandfly fever) и УкуниEMI (UUKV). Вирусы группы Москитной лихорадки переносятся москитами и комарами, тогда как вирусы UUKV передаются клещами [4].

Из дендрогамм, построенных на основе частичных последовательностей белков Gn (71–356 а.о.) и RdRp (150–337 а.о.), следует, что КНАВ группируется с клещевыми флебовирусами группы UUKV (см. рисунок). Ранее при описании морфологии вириона было показано, что нуклеокапсид КНАВ имеет структурные элементы (филаменты длиной до 10 нм), которые характерны для UUKV, но отсутствие четких антигенных связей КНАВ с вирусами Залив терпения (ZTV) и UUKV не позволило отнести КНАВ к группе UUKV [1, 14].

На основе серологического и филогенетического анализа в группу UUKV объединены клещевые флебовирусы UUKV, Чизе – CHZV, Залив терпения – ZTV, Мюрре – MURV, Манавы – MWAV, Прекариус Пойнт – PPV, Гранд Арбо – GAV [7]. Дискуссионным остается вопрос о включении в серогруппу UUKV вирусов группы Бханджа (Бханджа – BHAV, Форекария – FORV, Кисмайю – KISV, Раздан – RAZV) и тяжелой лихорадки с синдромом тромбоцитопении (SFTSV, Heartland – HEV), которые формируют отдельные филогенетические группы [7, 8, 15, 16]. Помимо антигенных связей, все клещевые флебовирусы объединяют особенности экологии и структура генома, отличительной чертой которой является отсутствие неструктурного белка NSm в М-сегменте [4]. Нужно отметить, что клещи *H. longicornis*, из которых был изолирован КНАВ, играют основное значение в экологии SFTSV (синоним *Huaiyangshan virus*), вызвавшего эпидемическую вспышку лихорадочного заболевания с высокой (до 30%) летальностью в западных районах Китая в 2009 г. [17, 18].

Таким образом, на основании филогенетического анализа частичных последовательностей всех трех сегментов

генома КНАВ был отнесен нами к роду *Phlebovirus*. Здесь КНАВ формирует отдельную ветвь, близко группируясь к вирусам группы UUKV и обладая с ними на анализируемых участках генома до 62% идентичности. Максимальный уровень идентичности наблюдается для фрагментов RdRp. Уровень гомологии КНАВ с клещевыми вирусами группы UUKV составляет от 50 до 62%, тогда как с москитными флебовирусами это значение не превышает 30%. Однако вопрос о включении КНАВ в группу UUKV или его выделении в отдельную группу в составе рода *Phlebovirus* требует дальнейшего изучения, и прежде всего определения полной последовательности генома КНАВ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 13-04-01749 "а".

ЛИТЕРАТУРА

- Lvov D. K., Leonova G. N., Gromashevsky V. L., Skvortsova T. M., Shestakov V. I., Belikova N. P. et al. Khasan virus, a new ungrouped bunyavirus isolated from *Haemaphysalis longicornis* ticks in the Primorie region. *Acta Virol.* 1978; 22 (3): 249–52.
- KHASAN. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 567–8.
- Lvov D. K. Arboviruses in the USSR. In: Vasenjak-Hirjan J., Porterfield J.S., eds. Arboviruses in the mediterranean countries. 1st ed. New York: Gustav Fischer Verlag; 1980: 35–48.
- Plyusnin A., Beaty B. J., Elliot R. M., Goldbach R., Kormelink R., Lundkvist A. et al. Family Bunyaviridae. In: King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. Virus taxonomy: Ninth report of the international committee of taxonomy of viruses. 1st ed. London: Elsevier; 2012: 725–41.
- Альховский С. В., Львов Д. К., Щелканов М. Ю., Щетинин А. М., Краснослободцев К. Г., Дерябин П. Г. и др. 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. *Вопросы вирусологии.* 2013; 58 (4): 14–9.
- Альховский С. В., Щетинин А. М., Львов Д. К., Щелканов М. Ю., Дерябин П. Г., Львов Д. Н. и др. Вирус Хурдун (KHURV): новый вирус рода *Orthobunyavirus* (Bunyaviridae). *Вопросы вирусологии.* 2013; 58 (4): 10–3.
- 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.
- 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* and its relationship with other emerging tick-borne phleboviruses. *J. Virol.* 2013; 87 (7): 3719–28.
- Щелканов М. Ю., Ананьев В. Ю., Львов Д. Н., Киреев Д. Е., Гурьев Е. Л., Акапина Д. С. и др. Комплексный эколого-вирусологический мониторинг на территории Приморского края в 2003–2006 гг. *Вопросы вирусологии.* 2007; 52 (5): 37–48.
- Lvov D. K. Natural foci of arboviruses in the USSR. In: Zhdanov V.M., ed. *Sov. Med. Rev. Virol.* UK: Harwood Academ. Pub. GmbH; 1987: 153–96.
- Lvov D. K., Shchelkanov M. Y., Prilipov A. G., Vlasov N. A., Fedyakina I. T., Deryabin P. G. et al. Evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in natural ecosystems of northern Eurasia (2005–08). *Avian Dis.* 2010; 54 (1, Suppl.): 483–95.
- Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.* 1994; 22 (22): 4673–80.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA 5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28 (10): 2731–9.
- Saikku P., von Bonsdorff C. H. Electron microscopy of the Uukuniemi virus, an ungrouped arbovirus. *Virology.* 1968; 34 (4): 804–6.
- Xu B., Liu L., Huang X., Ma H., Zhang Y., Du Y. et al. Metagenomic analysis of fever, thrombocytopenia and leukopenia syndrome (FTLS) in Henan Province, China: discovery of a new bunyavirus. *PLoS Pathog.* 2011; 7 (11): e1002369.
- 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.

- Metcalfe M. G. et al. A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (9): 834–41.
- Zhang Y. Z., Zhou D. J., Qin X. C., Tian J. H., Xiong Y., Wang J. B. et al. The ecology, genetic diversity, and phylogeny of Huaiyangshan virus in China. *J. Virol.* 2012; 86 (5): 2864–8.
- 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.

REFERENCES

- Lvov D. K., Leonova G. N., Gromashevsky V. L., Skvortsova T. M., Shestakov V. I., Belikova N. P. et al. Khasan virus, a new ungrouped bunyavirus isolated from *Haemaphysalis longicornis* ticks in the Primorie region. *Acta Virol.* 1978; 22 (3): 249–52.
- KHASAN. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 567–8.
- Lvov D. K. Arboviruses in the USSR. In: Vasenjak-Hirjan J., Porterfield J.S., eds. Arboviruses in the mediterranean countries. 1st ed. New York: Gustav Fischer Verlag; 1980: 35–48.
- Plyusnin A., Beaty B. J., Elliot R. M., Goldbach R., Kormelink R., Lundkvist A. et al. Family Bunyaviridae. In: King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. Virus taxonomy: Ninth report of the international committee of taxonomy of viruses. 1st ed. London: Elsevier; 2012: 725–41.
- Alkhovskiy S.V., Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Krasnoslobodtsev K.G., Deryabin P.G. et al. Molecular – genetic characterization of Bhanja virus (BHAV) and Razdan virus (RAZV) (Bunyaviridae, Phlebovirus), isolated from ixodes ticks *Rhipicephalus bursa* Canestrini & Fanzago, 1878, and *Dermacentor Marginatus* Sulzer, 1776, in Transcaucasus. *Voprosy virusologii.* 2013; 58(4): 14–9 (in Russian).
- Alkhovskiy S.V., Shchetinin A.M., Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Deryabin P.G., Lvov D.N. et al. Khurdun virus (KHURV): A new representative of Orthobunyavirus (Bunyaviridae). *Voprosy virusologii.* 2013; 58(4): 10–3 (in Russian).
- 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.
- 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* and its relationship with other emerging tick-borne phleboviruses. *J. Virol.* 2013; 87 (7): 3719–28.
- Shchelkanov M., Anan'ev V., Lvov D.K., Kireev D.E., Gur'ev E.L., Akanina D.S. et al. Complex environmental and virological monitoring in the Primorye Territory in 2003–2006. *Voprosy virusologii.* 2007; 52(5): 37–48 (in Russian).
- Lvov D. K. Natural foci of arboviruses in the USSR. In: Zhdanov V.M., ed. *Sov. Med. Rev. Virol.* UK: Harwood Academ. Pub. GmbH; 1987: 153–96.
- Lvov D. K., Shchelkanov M. Y., Prilipov A. G., Vlasov N. A., Fedyakina I. T., Deryabin P. G. et al. Evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in natural ecosystems of northern Eurasia (2005–08). *Avian Dis.* 2010; 54 (1, Suppl.): 483–95.
- Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.* 1994; 22 (22): 4673–80.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28 (10): 2731–9.
- Saikku P., von Bonsdorff C. H. Electron microscopy of the Uukuniemi virus, an ungrouped arbovirus. *Virology.* 1968; 34 (4): 804–6.
- Xu B., Liu L., Huang X., Ma H., Zhang Y., Du Y. et al. Metagenomic analysis of fever, thrombocytopenia and leukopenia syndrome (FTLS) in Henan Province, China: discovery of a new bunyavirus. *PLoS Pathog.* 2011; 7 (11): e1002369.
- 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.
- Zhang Y. Z., Zhou D. J., Qin X. C., Tian J. H., Xiong Y., Wang J. B. et al. The ecology, genetic diversity, and phylogeny of Huaiyangshan virus in China. *J. Virol.* 2012; 86 (5): 2864–8.
- 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.

Поступила 23.05.13