

- S.Y., Hannoun C. et al. Bunyaviridae. Intervirology. 1980; 14(3-4): 125–43.
15. QALYUB. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 847.
 16. Lvov D.K., ed. *Organization of ecological-epidemiological monitoring in Russian Federation for anti-epidemic defense of the civilians and army*. Moscow: Minzdrav R.F., The Federal Office of Biomedical and Extreme Problems, The D.I. Ivanovsky Institute of Virology; 1993. (in Russian)
 17. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the commonwealth of independent states). In: Beran G.W., ed. Handbook of zoonoses. Sec. ed. Section B: Viral. London, Tokyo: CRC Press; Boca Raton: AMArbar; 1994: 237–60.
 18. Lvov D.K. Arboviruses in the USSR. In: Vasenjak-Hirjan J., Porterfield J.S., eds. *Arboviruses in the mediterranean countries*. New York: Gustav Fischer Verlag; 1980: 35–48.
 19. 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.
 20. Yashina L., Petrova I., Seregin S., Vyshemirskii O., Lvov D., Aristova V. et al. Genetic variability of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Russia and Central Asia. *J. Gen. Virol.* 2003; 84(Pt 5): 1199–206.
 21. Seregin S.V., Tumanova I.Y., Vyshemirskii O.I., Petrova I.D., Lvov D.K., Gromashevskii V.L. et al. Study of the genetic variability of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Central Asia. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2004; 398: 313–5.
 22. Kuhn J.H., Seregin S.V., Morzunov S.P., Petrova I.D., Vyshemirskii O.I., Lvov D.K. et al. Genetic analysis of the M RNA segment of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strains involved in the recent outbreaks in Russia. *Arch. Virol.* 2004; 149(11): 2199–213.
 23. Marriott A.C., Nuttall P.A. Comparison of the S RNA segments and nucleoprotein sequences of Crimean-Congo hemorrhagic fever, Hazara, and Dugbe viruses. *Virology.* 1992; 189(2): 795–9.
 24. Lvov D.K., Timofeeva A.A., Gromashevskii V.L., Chervonsky V.I., Gromov A.I., Tsyarkin Y.M. et al. Sakhalin virus—a new arbovirus isolated from *Ixodes (Ceraticodes) putus* Pick.-Camb. 1878 collected on Tuleniy Island, Sea of Okhotsk. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 1972; 38(2): 133–8.
 25. Lvov D.K., Sidorova G.A., Gromashevskii V.L., Kurbanov M., Skvortsova L.M., Gofman Y.P. et al. Virus «Tamdy»—a new arbovirus, isolated in the Uzbek S.S.R. and Turkmen S.S.R. from ticks *Hyalomma asiaticum asiaticum* Schulee et Schlottko, 1929, and *Hyalomma plumbeum plumbeum* Panzer, 1796. *Arch. Virol.* 1976; 51(1-2): 15–21.
 26. Karas F.R., Lvov D.K., Vargina S.G., Gromashevskii V.L., Steblyanko S.N., Kolpakov V.N. Isolation of new virus – Burana virus, from ticks *Haemaphysalis punctata* in the north climatic region of Kirgizia In: Lvov D.K., ed. *Ecology of viruses [Ekologiya virusov]*. Moscow; 1976: 94–7. (in Russian)
 27. Lvov D.K., Alkhovskiy S.V., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Deryabin P.G., Gitelman A.K. et al. Taxonomy status of Burana virus (BURV – Burana virus) (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*, Tamdy group), isolated from ticks *Haemaphysalis punctata* Canestrini et Fanzago, 1877 and *Haem. concinna* Koch, 1844 (*Ixodidae*, *Haemaphysalinae*) in Kyrgyzstan. *Voprosy virusologii.* 2014; 59(4): 10–5. (in Russian)
 28. 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* (Latrell, 1802) in the Kirghiz S.S.R. Brief report. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 1973; 42(2): 207–9.

Received 29.05.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014
УДК 578.832.26:578.5

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

Генетическая характеристика вируса Повассан (POWV – Powassan virus), изолированного от клещей *Haemaphysalis longicornis* в Приморском крае, и двух штаммов вируса клещевого энцефалита (*Flaviviridae*, *Flavivirus*): Алма-Арасан (AAV – Alma-Arasan virus), изолированного от клещей *Ixodes persulcatus* в Казахстане, и Малышево, изолированного от комаров *Aedes vexans nipponii* в Хабаровском крае

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, г. Москва

В работе методом полногеномного секвенирования определены полные последовательности генома трех клещевых флавивирусов (род *Flavivirus*, сем. *Bunyaviridae*): Повассан (Powassan virus – POWV, штамм LEIV-3070Prm, изолирован от иксодовых клещей *Haemaphysalis longicornis* в 1973 г. в Приморском крае), Алма-Арасан (Alma-Arasan virus – AAV, штамм LEIV-1380Kaz, выделен из клещей *Ixodes persulcatus* в Казахстане в 1977 г.) и вируса Малышево (Malyshevo virus изолирован из пула комаров *Aedes vexans nipponii* в 1978 г. в Хабаровском крае). Показано, что AAV и вирус Малышево являются штаммами вируса клещевого энцефалита Сибирского и Дальневосточного генотипов соответственно (GenBank ID: AAV KJ744033; штамм Малышево KJ744034). Филогенетически AAV наиболее близок (94,6% гомологии по нуклеотидной и 98,3% по аминокислотной последовательности) к штаммам TBEV, изолированным в Забайкалье (Vasilchenko, Chita-653, Irkutsk-12, Aino). Штамм Малышево наиболее близок (96,4 и 98,3%) к штаммам TBEV, изолированным на Дальнем Востоке (1230, Spassk-72, Primorye-89). POWV LEIV-3070Prm обладает 99,7% гомологии с прототипным штаммом POWV LB, изолированным в Канаде, и 99,5% гомологии с дальневосточными изолятами POWV (Spassk-9 и Nadezdinsk-1991).

Ключевые слова: Повассан (POWV); Алма-Арасан (AAV); *Flaviviridae*; *Flavivirus*; *Ixodidae*; Приморский край; Казахстан; пастбищные биоценозы; метагеномный анализ.

Для корреспонденции: Львов Дмитрий Константинович, д-р мед. наук, проф., акад. РАН; e-mail: dk_lvov@mail.ru
Correspondence to: Dmitry Lvov, MD, PhD, DSc, prof., Academician of RAS; e-mail: dk_lvov@mail.ru

Genetic characterisation of Powassan virus (POWV) isolated from *Haemophysalis longicornis* ticks in Primorye and two strains of Tick-borne encephalitis virus (TBEV) (*Flaviviridae*, *Flavivirus*): Alma-Arasan virus (AAV) isolated from *Ixodes persulcatus* ticks in Kazakhstan and Malyshevo virus isolated from *Aedes vexans nipponii* mosquitoes in Khabarovsk kray

Lvov D.K., Alkhovsky S.V., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Deryabin P.G., Gitelman A.K., Botikov A.G., Aristova V.A.

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

The complete genomes of the three tick-borne flaviviruses (genus *Flavivirus*, fam. *Bunyaviridae*) were sequenced: Powassan virus (POWV, strain LEIV-3070Prm, isolated from *Haemophysalis longicornis* in Primorsky Krai, Russia in 1977), Alma-Arasan virus (AAV, strain LEIV-1380Kaz, isolated from *Ixodes persulcatus* ticks in Kazakhstan in 1977) and Malyshevo virus (isolated from a pool of *Aedes vexans nipponii* mosquitoes, in the Khabarovsk Krai, Russia in 1978). It is shown that AAV and Malyshevo virus are the strains of Tick-borne encephalitis virus (TBEV) and belong to Sibirian and Far-Eastern genotypes, respectively (GenBank ID: AAV KJ744033; strain Malyshevo KJ744034). Phylogenetically AAV is closest related (94,6% nt and 98,3% aa identity) to TBEV strains, isolated in Sibiria (Vasilchenko, Aino, Chita-653, Irkutsk-12). Malyshevo virus is closest related (96,4% nt and 98,3% nt identity) to strains of TBEV, isolated in Far Eastern part of Russia (1230, Spassk-72, Primorye-89). POWV LEIV-3070Prm has 99.7% identity with the prototype strain POWV LB, isolated in Canada and 99.5% of isolates with Far-Eastern strains of POWV (Spassk-9 and Nadezdinsk-1991).

Key word: Powassan virus – POWV; Алма-Арасан – AAV; *Flaviviridae*; *Flavivirus*; *Ixodidae*; Primorskiy Krai; Kazakhstan; pasture biosenosis; next-generation sequencing.

Вирус Повассан (POWV – Powassan virus) впервые выделен McLean и W. Donohue в сентябре 1958 г. из мозга умершего от энцефалита ребенка в г. Повассан на севере провинции Онтарио, Канада. Спорадические случаи инфекции выявляют в северных штатах США и на юге Канады [1–3]. POWV отнесен к группе флавивирусов (*Flavivirus*, сем. *Bunyaviridae*) млекопитающих, передаваемых клещами, куда входят также вирусы Gadgets-Gally (GGYV), болезни леса Киассанур (KFDV – Kyassanur Forest disease virus), Лангат (LGTV – Langat virus), Люпинг-Илл (LIV – Louping ill virus), омской геморрагической лихорадки (OHFV – Omsk hemorrhagic fever virus), Ройал-Фарм (Royal Farm virus – RFV) и клещевого энцефалита (TBEV – Tick-borne encephalitis virus) [4, 5]. На территории РФ POWV впервые выделен в 1972 г. в Приморском крае из клещей *Haemaphysalis longicornis* (*Ixodidae*: *Haemaphysalinae*), собранных с пятнистых оленей *Cervus nippon* [6]. Позднее вирус в Приморском крае выделен также от клещей *Haem. concinna*, *Haem. japonica*, *Dermacentor silvarum* (*Rhipicephalinae*), *Ixodes persulcatus* (*Ixodidae*) и от уток – чирка-свистунка *Anas crecca*, кряквы *A. platyrhynchos*, а также от больных людей [6–14]. Депонент Государственной коллекции вирусов № 705 – штамм 555, выделенный из крови больной С. на о. Русский Приморского края; авторы: Леонова Г.Н., Кругляк С.П., Львов Д.К., Скворцова Т.М.). Вирус вызывает различные формы инфекции – от инаппаратных до энцефалита с летальным исходом [7, 10, 11, 13, 15]. Среди больных с нейроинфекциями в Приморском крае в 4% в диагностических титрах выявлены антитела к POWV. Описаны летальные случаи менингоэнцефалита [10].

Вирус Алма-Арасан (AAV) изолирован от клещей *Ixodes persulcatus* в низкогорной части Юго-Восточного Казахстана (Алма-Атинская область) в 1977 г. (прототипный штамм AAV LEIV-1380Kaz депонирован в Государственную коллекцию вирусов под № 675; авторы Львов Д.К., Каримов С.К., Киргощенко Т.В., Громашевский В.Л., Дробищенко Н.И.) [7, 15–18]. AAV обладал односторонней антигенной связью с POWV, на основании чего он был предварительно охарактеризован как вирус, антигенно близкий к POWV. Выявлены случаи заболевания людей, протекающие с явлениями менингита. Антитела к AAV выявлены у грызунов (у желтого суслика – *Citellus fulvus*), сельскохозяйственных животных, у людей [14].

Вирус Малышево изолирован из пула комаров *Aedes vexans nipponii*, отловленных в 1978 г. в подзоне хвойно-

широколиственных лесов, на северном побережье озера Петропавловское в Хабаровском крае (48°40' с.ш, 135°40' в.д.) [19–21]. На основании антигенных реакций вирус Малышево предварительно классифицирован как изолят вируса Негиши (Negishi virus – NEGV), впервые выделенного в 1946 г. в Токио из спинномозговой жидкости 6-летнего ребенка с клиническим диагнозом японского энцефалита [22] и отнесенного к комплексу клещевого энцефалита [22, 23]. В настоящее время NEGВ рассматривается как изолят LIV. В РФ штаммы, антигенно близкие к NEGВ, изолированы в 1971 г. в Загорском районе Московской области от клещей *Ixodes ricinus*, собранных в 1971 г. с коров на территории Хотьковского сельсовета [24–28].

В настоящей работе методом полногеномного секвенирования определены полные последовательности генома POWV (штамм LEIV-3070Prm), AAV (штамм LEIV-1380Kaz) и вируса Малышево. Показано, что AAV и вирус Малышево являются штаммами вируса клещевого энцефалита Сибирского и Дальневосточного генотипов соответственно.

Материалы и методы

Вирусные штаммы. Штаммы POWV (LEIV-3070Prm), AAV (LEIV-1380Kaz) и Малышево получены из Государственной коллекции вирусов при ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России. Работы с инфекционным материалом, связанные с получением и накоплением вируса, проводили в боксовых помещениях, оборудованных и сертифицированных для работы с микроорганизмами II группы патогенности. Для восстановления вируса лиофилизированную суспензию восстановили в 1 мл культуральной среды ДМЕМ (с добавлением антибиотика) и использовали для интрацеребрального заражения новорожденных беспородных белых мышей. После развития симптомов поражения ЦНС (2–3 сут) мышшей забивали в соответствии с правилами содержания и использования лабораторных животных.

Выделение РНК. Фрагменты мозга (около 30 мг) помещали в 1 мл реагента TRIzol (Life Technology, США) и гомогенизировали пластиковым пестиком. Далее выделяли РНК согласно прилагаемой инструкции производителя данного реагента. Конечный осадок суммарной РНК растворяли в 100 мкл DEPC-обработанной воды. Для дополнительной очистки, а также для удаления низкомолекулярных фракций рибосомальной (5 S) и транспортной РНК полученный препарат был очищен набором

«RNeasy mini kit» (QIAGEN, Германия) в режиме clean-up на автоматической станции QIAcube (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Концентрацию РНК измеряли, используя флуориметр Qubit (Invitrogen, США). Для удаления рибосомальной (18 и 28 S) РНК применяли набор «GenRead rRNA depletion Kit» (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Для этого брали не более 3 мкг суммарной РНК. Эффективность деплеции достигала 50–80%, и, таким образом, количество полученной РНК для дальнейшего анализа составляло около 300 нг.

Подготовка ДНК-библиотек и секвенирование. Для получения кДНК около 100 нг деплецированной РНК фрагментировали в 15 мкл реакционной смеси для обратной транскриптации с гексапраймером 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 помощью 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. Для селекции ДНК по размеру использовали реагент «AMPure XP» (Beckman Coulter, США) с расчетом получения ДНК-библиотек длиной более 270 н.о., что соответствует размеру вставки около 150 н.о. Данные требования к размеру ДНК-библиотек связаны с использованием для секвенирования набора, позволяющего секвенировать не более 150 н.о. в одну сто-

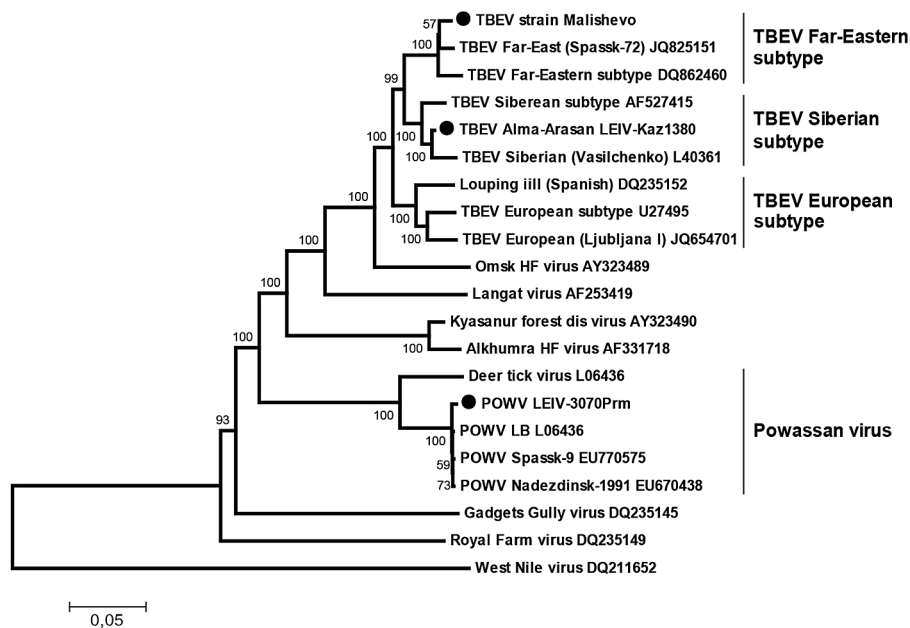


Рис. 1. Результаты филогенетического анализа, проведенного на основе сравнения аминокислотных последовательностей полипротеина-предшественника вирусов серокомплекса TBEV (род *Flavivirus*, сем. *Bunyaviridae*).

Положение на дендрограмме AAV (LEIV -1380Kaz) (KJ744033), (KJ744034) и POWV LEIV-3070Prm указано черным кружком.

рону. Полученные библиотеки визуализировали на станции автоматического электрофореза «QIAxcel Advanced System» (QIAGEN, Германия). Молярность полученных библиотек измеряли методом полимеразно-цепной реакции 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).

Секвенирование ДНК-библиотек осуществляли 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 проводили, используя программу «CLC Genomics Workbench 6.0» (CLC bio, США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей осуществляли с помощью сервиса BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Для анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали пакет программ «Lasergene Core Suite» (DNASTAR, США). Выравнивание последовательностей проводили по алгоритму Clustal W. Филогенетический анализ и построение дендрограмм осуществляли с использованием программы Mega5 по алгоритму ближайшего соседа (neighbor-joining) или максимального правдоподобия (maximum likelihood) с 1000-кратным бутстреп-тестированием.

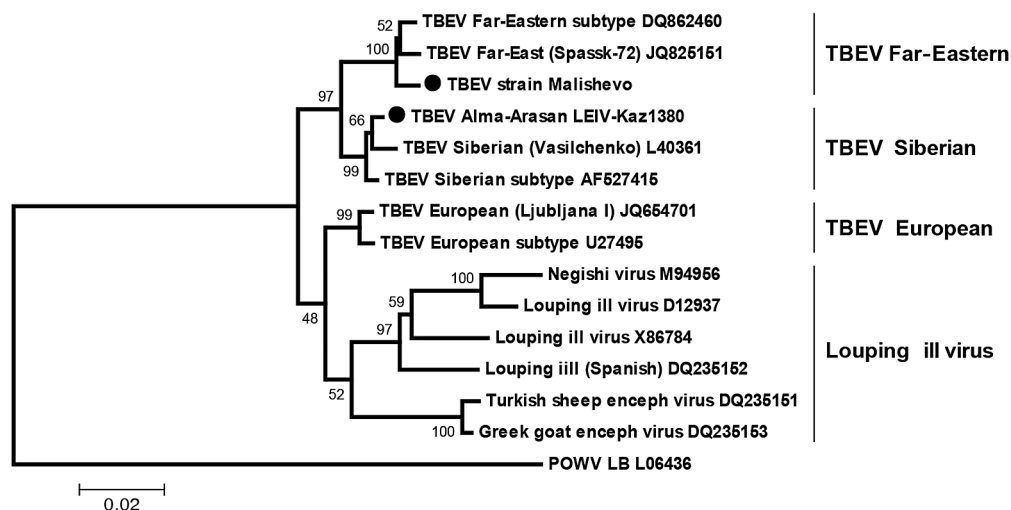


Рис. 2. Результаты филогенетического анализа TBEV и LIV, проведенного на основе сравнения последовательностей оболочечного белка E.

AAV (LEIV -1380Kaz) (KJ744033) и (KJ744034) обозначены черным кружком.

Результаты и обсуждение

TBEV широко распространен практически по всей территории Северной Евразии. Антигенно и филогенетически выделяют три субтипа (генотипа) TBEV: Западный (или Европейский; также встречается обозначение Центрально-Европейский субтип – СЕЕV; прототипный штамм Neudoerfl (U27495)); Сибирский (или Уральский, прототипные штаммы Aina (JN003206) и Vasilchenko (L40361)); Дальневосточный (прототипный штамм Sofjin-Chumakov (KC806252)) [29, 30].

В настоящей работе проведено полногеномное секвенирование двух изолятов (AAV (LEIV – 1380Kaz) и вирус Малышево), которые были предварительно классифицированы как вирусы, антигенно связанные с POWV и NEGВ соответственно. Определили практически полные последовательности генома AAV (LEIV – 1380Kaz) (KJ744033) и вируса Малышево (KJ744034), который, как и у всех флавивирусов, представлен одноцепочечной РНК позитивной полярности длиной около 11 тыс. н.о., которая кодирует полипротеин–предшественник вирусных структурных и неструктурных белков. Результаты предварительного анализа полученных последовательностей генома позволили классифицировать AAV (LEIV – 1380Kaz) и вирус Малышево как изоляты TBEV. Сравнительный анализ полных последовательностей генома AAV (LEIV – 1380Kaz) с другими вариантами TBEV показали, что наиболее высокой степенью гомологии (94,6%) AAV обладает со штаммами TBEV, изолированными в Забайкалье (Vasilchenko, Chita-653, Irkutsk-12, Aino). По аминокислотной последовательности полипротеина-предшественника гомология AAV (LEIV -1380Kaz) с прототипным для Сибирского генотипа штаммом Vasilchenko достигает 98,3%. Штамм Малышево наиболее близок (96,4% по нуклеотидной и 98,3% по аминокислотной последовательности соответственно) штаммам TBEV, изолированным на Дальнем Востоке (1230, Spassk-72, Primogye-89). Результаты филогенетического анализа, проведенного на основе сравнения полноразмерной последовательности полипротеина-предшественника, представлены на рис. 1. Положение AAV (LEIV – 1380Kaz) и вируса Малышево на дендрограмме позволяет заключить, что они принадлежат различным генотипам TBEV, что согласуется с географией их изоляции. AAV (LEIV – 1380Kaz) принадлежит Сибирскому субтипу TBEV, а вирус Малышево отнесен к Дальневосточному генотипу (см. рис. 1). Поскольку при первоначальном изучении штамма Малышево обнаружены антигенные связи с NEGВ, провели более подробный филогенетический анализ на основе последовательности поверхностного белка Е (рис. 2). В настоящее время NEGВ вследствие генетической близости рассматривается как изолят LIV, а не как самостоятельный вирус. На дендрограмме, представленной на рис. 2, различные варианты LIV, включая NEGВ, формируют отдельную ветвь, близкую к TBEV Европейского генотипа. Положение штамма Малышево на дендрограмме остается в составе Дальневосточного генотипа TBEV.

В работе определена полная последовательность генома штамма LEIV-3070Ptm вируса Повассан (POWV), изолированного от клещей в Приморье в 1977 г. POWV вместе с другими антигенно близкими к TBEV входит в серокомплекс TBEV (см. рис. 1). POWV широко распространен в Северной Америке и на Дальнем Востоке России [31, 32]. Результаты анализа полученной последовательности показали, что POWV LEIV-3070Ptm обладает 99,7% гомологии с прототипным штаммом POWV LB, изолированным в Канаде, и 99,5% гомологии с дальневосточными изолятами POWV (Spassk-9 и Nadezdinsk-1991). Эти данные согласуются с ранее показанной высокой степенью

гомогенности циркулирующей в Северной Америке и на Дальнем Востоке популяции POWV [32].

Зондирование территорий и Казахстана проводили в рамках программы по биобезопасности и изучению биоразнообразия в разных экосистемах Северной Евразии [27, 33–35]

ЛИТЕРАТУРА

1. Powassan – POWV. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 827–8.
2. Artsob H. Powassan encephalitis. In: Monath T.P., ed. The arboviruses: epidemiology and ecology. Boca Raton: CRE Press; 1988: 29–31.
3. McLean D.M., Ladyman S.R., Purvin-Good K.W. Westward extension of Powassan virus prevalence. *Can. Med. Assoc. J.* 1968; 98(20): 946–9.
4. Mandl C.W., Holzmann H., Kunz C., Heinz F.X. Complete genomic sequence of Powassan virus: evaluation of genetic elements in tick-borne versus mosquito-borne flaviviruses. *Virology*. 1993; 194(1): 173–84.
5. Simmonds P., Becker P., Collet M.S., Coved E.A., Heinz F.X., Meyers G. Flaviviridae. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus taxonomy. 9th Report of the International Committee Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier; 2012: 1003–20.
6. Львов Д.К., Леонова Г.Н., Громашевский В.Л., Бекикова Н.П., Березина Л.К., Сафронов А.В. Изоляция вируса Повассан из клещей *Haemaphysalis neumannii* Donitz, 1905, в Приморском крае. *Вопросы вирусологии*. 1974; 5: 538–9.
7. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the commonwealth of independent states). In: Beran G.W., ed. *Handbook of zoonoses. Sec. ed. Section B: Viral*. London, Tokyo: CRC Press; Boca Raton: AMArbar; 1994: 237–60.
8. Круляк С.П., Леонова Г.Н., Экологические особенности вируса Повассан в Приморском крае. В кн.: Львов Д.К., ред. *Арбовирусы и арбовирусные инфекции: Материалы международного симпозиума*. М.: 1989: 17–8.
9. Леонова Г.Н. *Вирусы, выделенные из клещей в Приморском крае*. Дисс. ... канд. мед. наук. Владивосток; 1976.
10. Леонова Г.Н., Исачкова Л.М. Менингоэнцефалит, вызванный вирусом Повассан в Приморском крае. В кн.: *Гайдамович С.Я., ред. Арбовирусы*. М.: АМН СССР; 1981: 107–11.
11. Леонова Г.Н., Исачкова Л.М., Баранов Н.И. Изучение роли вируса Повассан в этиологической структуре клещевого энцефалита в Приморском крае. *Вопросы вирусологии*. 1980; 2: 173–6.
12. Львов Д.К. Природные очаги связанных с птицами арбовирусов в СССР. В кн.: Львов Д.К., Ильичев В.Д., ред. *Миграция птиц и перенос возбудителей инфекции*. М.: Наука; 1979: 37–101.
13. Львов Д.К. Арбовирусные инфекции в Средней части умеренного пояса СССР. В кн.: Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я., ред. *Арбовирусы и арбовирусные инфекции*. М.: Медицина; 1989: 269–89.
14. Львов Д.К., Громашевский В.Л., Скворцова Т.М., Сидорова Г.А., Ямникова С.С., Березина Л.К. Выделение вирусов из природных источников в СССР. В кн.: Львов Д.К., ред. *Актуальные вопросы общей и медицинской вирусологии*. М.: АМН СССР; 1986: 28–37.
15. Львов Д.К. Энцефалит Повассан. В кн.: Львов Д.К., ред. *Вирусы и вирусные инфекции*. М.: МИА; 2013: 770–1.
16. Каримов С.К. *Арбовирусы Казахстанаюского региона*. Дисс. ... д-ра мед. наук. Алма-Ата; 1983.
17. Львов Д.К. Изоляция вирусов из природных источников в СССР. В кн.: Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я., ред. *Арбовирусы и арбовирусные инфекции*. М.: Медицина; 1989: 220–35.
18. Львов Д.К. Арбовирусные инфекции в субтропиках и на юге умеренного пояса СССР. В кн.: Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я., ред. *Арбовирусы и арбовирусные инфекции*. М.: Медицина; 1989: 235–49.
19. Воробьева Р.Н., Иванов Л.И., Волков В.И., Скворцова Т.М., Здановская Н.И., Морозова Т.Н. и др. Арбовирусы в Приамурье и на Сахалине. В кн.: Львов Д.К., ред. *ВИНИТИ. Итоги науки и техники. Серия: Вирусология: Арбовирусы и арбовирусные инфекции*. Ч. 1. М.: РАН; 1992: 10–6.
20. Гайдамович С.Я., Деменев В.А., Рослан И.Г., Обухова В.Р., Книнская А.И. *Штаммы «Малышево» вируса Негшии*. Паспорт штамма 2КВ № 682. 1978.
21. Воробьева Р.Н., Иванов Л.И., Артюян Н.И., Скворцова Т.М., Морозова Т.Н., Гушина Е.А. и др. К вопросу о распространении арбовирусов в Приамурье и на Сахалине. В кн.: *Львов Д.К., ред. ВИНИТИ. Итоги науки и техники. Серия: Вирусология: Арбовирусы и арбовирусные инфекции*. М.: РАН; 1991: 8–9.
22. Ando K. et al. *Kitasato Arch. o Exp. Med.* 1952; 24: 49–61.
23. Negishi (NEGВ). In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1975: 733–4.
24. Линева М.Б., Чумаков М.П., Рубин С.Г., Гавриловская И.Н. За-

- горский арбовирус, выделенный в очаге москитной лихорадки – новый представитель в антигенной подгруппе клещевого энцефалита. В кн.: *Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов: Актуальные проблемы вирусологии и профилактики вирусных заболеваний*. М.; 1972: 254–5.
25. Линеv М.Б., Чумаков М.П., Рубин С.Г., Гавриловская И.Н. Выделение трех штаммов вируса Негиши из клещей *Ixodes ricinus*, собранных в Загорском районе Московской области. В кн.: *Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов*. М.; 1973; т. 21 (вып. 2): 184–9.
 26. Львов Д.К. Арбовирусные инфекции в Средней части умеренного пояса СССР. В кн.: Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я., ред. *Арбовирусы и арбовирусные инфекции*. М.: Медицина; 1989: 249–69.
 27. Lvov D.K. Ecological soundings of the former USSR territory for natural foci of arboviruses. In: *Sov. Med. Rev. E. Virology Reviews*. USA: Harwood Ac. Publ. GmbH; 1993: 1–47.
 28. Львов Д.К., Громашевский В.Л., Скворцова Т.М., Сидорова Г.А., Ямникова С.С., Березина Л.К. и др. Изоляция вирусов из природных источников в СССР. В кн.: *Львов Д.К., ред. Актуальные вопросы общей и медицинской вирусологии*. М.: АМН СССР; 1986: 28–37.
 29. Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003; 57(1-2): 129–46.
 30. Kulakova N.V., Andaev E.I., Belikov S.I. Tick-borne encephalitis virus in Eastern Siberia: complete genome characteristics. *Arch. Virol.* 2012; 157(11): 2253–5.
 31. Deardorff E.R., Nofchissey R.A., Cook J.A., Hope A.G., Tsvetkova A., Talbot S.L. et al. Powassan virus in mammals, Alaska and New Mexico, U.S.A., and Russia, 2004–2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(12): 2012–6.
 32. Leonova G.N., Kondratov I.G., Ternovoi V.A., Romanova E.V., Protopopova E.V., Chausov E.V. et al. Characterization of Powassan viruses from Far Eastern Russia. *Arch. Virol.* 2009; 154(5): 811–20.
 33. Львов Д.К. Экология вирусов. В кн.: *Львов Д.К., ред. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013: 66–86.
 34. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л. *Атлас распространения возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации*. М.: Издательство НИЦ ТМГ МЗ РФ; 2001.
 35. Львов Д.К., ред. *Организация эколого-эпидемиологического мониторинга территорий Российской Федерации с целью противоэпидемической защиты населения и войск. Методические рекомендации*. М.: МЗ РФ, Федеральное управление медико-биологических и экстремальных проблем, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН; 1993.
 12. Lvov D.K. Natural foci of arboviruses, related with the birds in USSR. In: Lvov D.K., Ilyichev V.D., eds. *Migration of the birds and transduction of contagium*. Moscow: Nauka; 1979: 37–101. (in Russian)
 13. Lvov D.K. Arboviral infections in the middle part of the temperate zone in USSR. In: Lvov D.K., Klimenko S.M., Gaidamovich S.Ya., eds. *Arboviruses and arboviral infections*. Moscow: Meditsina; 1989: 269–89. (in Russian)
 14. Lvov D.K., Gromashevskii V.L., Skvortsova T.M., Sidorova G.A., Yamnikova S.S., Berezina L.K. Virus isolation from natural sources in USSR. In: Lvov D.K., ed. *Actual'nye voprosy obshchey i meditsinskoy virusologii*. Moscow: AMN SSSR; 1986: 28–37. (in Russian)
 15. Lvov D.K. Powassan encephalitis. In: Lvov D.K., ed. *Viruses and viral infections*. Moscow: MIA; 2013: 770–1. (in Russian)
 16. Karimov C.K. *Arboviruses in Kazakhstan region*. Diss. Alma-Ata; 1983. (in Russian)
 17. Lvov D.K. Virus isolation from natural foci in the USSR. In: Lvov D.K., Klimenko S.M., Gaidamovich S.Ya., eds. *Arboviruses and arboviral infections*. Moscow: Meditsina; 1989: 220–35. (in Russian)
 18. Lvov D.K. Arboviral infections in subtropics and on south of temperate zone in USSR. In: Lvov D.K., Klimenko S.M., Gaidamovich S.Ya., eds. *Arboviruses and arboviral infections*. Moscow: Meditsina; 1989: 235–49. (in Russian)
 19. Vorobyeva R.N., Ivanov L.I., Volkov V.I., Skvortsova T.M., Zdanovskaya N.I., Morozova T.N. et al. Arboviruses in Priamurye and Sachalin. In: Lvov D.K., ed. *VINITI. Itogi nauki i tehniki. Ser.: Virology: Arboviruses and arboviral infections. Pt 1*. Moscow: RAN; 1992: 10–6. (in Russian)
 20. Gaidamovich S.Ya., Demenev V.A., Roslan I.G., Obukhova V.R., Koninskaya A.I. *Malishevo strain of Negishi virus*. Strain passport 2KB № 682. 1978. (in Russian)
 21. Vorobyeva R.N., Ivanov L.I., Artuyan N.I., Skvortsova T.M., Morozova T.N., Guschina E.A. et al. To the question of the distribution of arboviruses in Priamurye and Sachalin. In: Lvov D.K., ed. *VINITI. Itogi nauki i tehniki. Ser.: Virology: Arboviruses and arboviral infections*. Moscow: RAN; 1991: 8–9. (in Russian)
 22. Ando K. et al. *Kitasato Arch. of Exper. Med.* 1952; 24: 49–61.
 23. Negishi (NEGV). In: *Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates*. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1975: 733–4.
 24. Linev M.B., Chumakov M.P., Rubin S.G., Gavrilovskaya I.N. Zagorsk arbovirus isolated in fever mosquito hearth – a new representative in the antigenic subgroup of tick borne encephalitis. In: *Actual problems of virology and prophylaxis of viral diseases*. Moscow; 1972: 254–5. (in Russian)
 25. Linev M.B., Chumakov M.P., Rubin S.G., Gavrilovskaya I.N. Isolation of three strains of Negishi virus from ticks *Ixodes ricinus*, collected in Zagorsk region of Moscow region. In: *Trudy institute of ooliomyelitis and viral encephalitis*. Moscow; 1973: 21(Pt 2): 184–9. (in Russian)
 26. Lvov D.K. Arboviral infections in the middle part of the temperate zone in USSR. In: Lvov D.K., Klimenko S.M., Gaidamovich S.Ya., eds. *Arboviruses and arboviral infections*. Moscow: Meditsina; 1989: 249–69. (in Russian)
 27. Lvov D.K. Ecological soundings of the former USSR territory for natural foci of arboviruses. In: *Sov. Med. Rev. E. Virology Reviews*. USA: Harwood Ac. Publ. GmbH; 1993: 1–47.
 28. Lvov D.K., Gromashevskii V.L., Skvortsova T.M., Sidorova G.A., Yamnikova S.S., Berezina L.K. et al. Virus isolation from natural sources in USSR. In: Lvov D.K., ed. *Actual'nye voprosy obshchey i meditsinskoy virusologii*. Moscow: AMN SSSR; 1986: 28–37. (in Russian)
 29. Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003; 57(1-2): 129–46.
 30. Kulakova N.V., Andaev E.I., Belikov S.I. Tick-borne encephalitis virus in Eastern Siberia: complete genome characteristics. *Arch. Virol.* 2012; 157(11): 2253–5.
 31. Deardorff E.R., Nofchissey R.A., Cook J.A., Hope A.G., Tsvetkova A., Talbot S.L. et al. Powassan virus in mammals, Alaska and New Mexico, U.S.A., and Russia, 2004–2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(12): 2012–6.
 32. Leonova G.N., Kondratov I.G., Ternovoi V.A., Romanova E.V., Protopopova E.V., Chausov E.V. et al. Characterization of Powassan viruses from Far Eastern Russia. *Arch. Virol.* 2009; 154(5): 811–20.
 33. Lvov D.K. Ecology of viruses. In: Lvov D.K., ed. *Viruses and viral infection*. Moscow: MIA; 2013: 66–86. (in Russian)
 34. Lvov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevskiy V.L. *Atlas of distribution of natural-focal viruses infection on the territory of Russian Federation*. Moscow: Minzdrav RF; 2001. (in Russian)
 35. Lvov D.K., ed. *Organization of ecological-epidemiological monitoring in Russian Federation for anti-epidemic defense of the civilians and army*. Moscow: Minzdrav R.F., The Federal Office of Biomedical and Extreme Problems, The D.I. Ivanovsky Institute of Virology; 1993.

Поступила 29.05.14

REFERENCES

1. Powassan – POWV. In: Karabatsos N., ed. *International catalogue of arboviruses and certain other viruses of vertebrates*. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 827–8.
2. Artsob H. Powassan encephalitis. In: Monat T.P., ed. *The arboviruses: epidemiology and ecology*. Boca Raton: CRE Press; 1988: 29–31.
3. McLean D.M., Ladyman S.R., Purvin-Good K.W. Westward extension of Powassan virus prevalence. *Can. Med. Assoc. J.* 1968; 98(20): 946–9.
4. Mandl C.W., Holzmann H., Kunz C., Heinz F.X. Complete genomic sequence of Powassan virus: evaluation of genetic elements in tick-borne versus mosquito-borne flaviviruses. *Virology*. 1993; 194(1): 173–84.
5. Simmonds P., Becker P., Collet M.S., Coved E.A., Heinz F.X., Meyers G. *Flaviviridae*. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus taxonomy: 9th Report of the International Committee Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier; 2012: 1003–20.
6. Lvov D.K., Leonova G.N., Gromashevskiy V.L., Bekikova N.P., Berezina L.K., Safronov A.V. Isolation of Powassan virus from ticks *Haemophysalis neumanni* Donitz, 1905, in Primorsky Krai. *Voprosy virusologii*. 1974; 5: 538–9. (in Russian)
7. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the commonwealth of independent states). In: *Beran G.W., ed. Handbook of zoonoses. Sec. ed. Section B: Viral*. London. Tokyo: CRC Press; Boca Raton: AMArbar; 1994: 237–60.
8. Kruglyak S.P., Leonova G.N. Ecological features of Powassan virus in Primorsky Krai. In: Lvov D.K., ed. *Arboviruses and arboviral infections*. 1989: Moscow; 1989: 17–8. (in Russian)
9. Leonova G.N. Viruses, isolated from ticks in Primorsky Krai. Diss. Vladivostok; 1976. (in Russian)
10. Leonova G.N., Isachkova L.M. Meningoencephalitis caused by Powassan virus in Primorsky Krai. In: *Gaidamovich S.Ya., ed. Arboviruses*. Moscow: AMN SSSR; 1981: 107–11. (in Russian)
11. Leonova G.N., Isachkova L.M., Baranov N.I. Study of the role of Powassan virus in the ethiological structure of tick borne encephalitis in Primorsky Krai. *Voprosy virusologii*. 1980; 2: 173–6. (in Russian)

Received 29.05.14