



## ОБЗОРЫ

### НАУЧНЫЙ ОБЗОР

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-238>

© СИЗИКОВА Т.Е., ЛЕБЕДЕВ В.Н., БОРИСЕВИЧ С.В., 2024



# Сравнительный анализ критериев классификации ряда групп патогенных ДНК- и РНК-содержащих вирусов на основе геномных данных

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В.✉

ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России, 141306, г. Сергиев Посад, Россия

### Резюме

В обзоре рассмотрено обоснование критериев идентификации таксономической принадлежности некоторых групп патогенных ДНК- и РНК-содержащих вирусов на основе результатов секвенирования генома. Проанализированы данные секвенирования геномной нуклеиновой кислоты вирусов, геном которых представлен двухцепочечной ДНК (на примере ортопоксвирусов), одноцепочечной «плюс» РНК (на примере альфавирусов и флавивирусов), одноцепочечной несегментированной «минус» РНК (на примере филовирусов), одноцепочечной сегментированной «минус» РНК (на примере аренавирусов и флебовирусов). Для каждой группы вирусов установлены уровни генетической изменчивости, определяющие отнесение сравниваемых вирусов к таксонам разных порядков.

**Ключевые слова:** геном; ДНК- и РНК-содержащие вирусы; группы вирусов; секвенирование; генетическая изменчивость; ортопоксвирусы; альфавирусы; флавивирусы; филовирусы; аренавирусы; флебовирусы

**Для цитирования:** Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Сравнительный анализ критериев классификации ряда групп патогенных ДНК- и РНК-содержащих вирусов на основе геномных данных. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(3): 203–218. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-238> EDN: <https://elibrary.ru/njrkwu>

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### REVIEW

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-238>

# Comparative analysis of the taxonomic classification criteria for a number of groups of pathogenic DNA and RNA viruses based on genomic data

Tatiana E. Sizikova, Vitaliy N. Lebedev, Sergey V. Borisevich✉

48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, 141306, Sergiev Posad, Russia

### Abstract

The basis for criteria of the taxonomic classification of DNA and RNA viruses based on data of the genomic sequencing are viewed in this review. The genomic sequences of viruses, which have genome represented by double-stranded DNA (orthopoxviruses as example), positive-sense single-stranded RNA (alphaviruses and flaviviruses as example), non-segmented negative-sense single-stranded RNA (filoviruses as example), segmented negative-sense single-stranded RNA (arenaviruses and phleboviruses as example) are analyzed. The levels of genetic variability that determine the assignment of compared viruses to taxa of various orders are established for each group of viruses.

**Keywords:** genome; DNA and RNA viruses; group of viruses; sequencing; genetic variation; orthopoxviruses; alphaviruses; flaviviruses; filoviruses; arenaviruses; phleboviruses

**For citation:** Sizikova T.E., Lebedev V.N, Borisevich S.V. Comparative analysis of the taxonomic classification criteria for a number of groups of pathogenic DNA and RNA viruses based on genomic data. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(3): 203–218 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-238> EDN: <https://elibrary.ru/njrkwu>

**Funding.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

## Введение

Вирусы – это облигатные внутриклеточные паразиты, имеющие собственный геном, кодирующий структурные белки и ферменты, и способные реплицироваться только в чувствительных клетках [1].

В современной классификации вирусы представляют отдельный, но формально не выделенный аналог домена (domain) – Viruses, наряду с тремя главными доменами живой природы: археями (Archaea), бактериями (Bacteria) и эукариотами (Eukarya). Внутри домена Viruses вирусы объединены в 6 основных надцарств (realm), 10 царств (kingdom), 17 типов (phylum), 65 отрядов (order), 233 семейства (family) и 2606 родов (genus), включающих более 10 тыс. описанных видов (species). Внутри основных таксономических рангов используют промежуточные ранги, такие как подтип, подсемейство, подрод<sup>1</sup>. Концепция вида в вирусологии разрабатывалась с середины 1980-х гг. В настоящее время под видом вируса понимают монофилетическую группу вирусов, занимающих одну экологическую нишу. И эта группа может быть дифференцирована от родственных вирусов на основе серологических, генетических или филогенетических критериев.

Традиционные подходы идентификации и классификации вирусов основаны на антигенных связях и включают в себя серологические (реакция нейтрализации, реакция торможения гемагглютинации) и иммунохимические методы (иммуноферментный анализ, метод флуоресцирующих антител и др.). В основе данных методов лежит взаимодействие вирусов со специфическими антителами. Фактором, непосредственно влияющим на воспроизводимость полученных данных, является изменчивость поверхностных антигенов вирусов, которая обусловлена двумя генетическими процессами: дрейфом, не выводящим штамм вируса за пределы данного вида, и шифтом, определяющим изменения, приводящие к появлению нового вида вируса [2, 3], а также необходимостью использования стандартизованного антителосодержащего субстрата при строгом соблюдении принципа «единственного различия». Кроме того, достаточно сложно установить строгие количественные границы серологических различий при установлении видовой идентичности. Для идентификации и классификации вирусов на основе антигенных реакций используют стандартизованные панели сывороток и антигенов, которые хранятся в коллекциях вирусов. Минималь-

ный порог кратности антигенных различий в перекрестной реакции, необходимый и достаточный для идентификации того или иного вируса в качестве самостоятельного вида, зависит не только от используемого серологического теста и конкретных методических особенностей его постановки, но и от таксономической принадлежности исследуемого изолята вируса и варианта сравнения.

Антигенные связи выявляются только внутри родственных групп вирусов, как правило, принадлежащих одному виду и роду. Для определения критериев более высоких таксономических рангов (семейство и выше) основное значение имеют тип и структура генома, структура вириона (тип симметрии нуклеокапсида, число капсомеров, наличие или отсутствие суперкапсида)<sup>1</sup>.

В настоящее время одно из важнейших мест в диагностике инфекционных заболеваний занимают молекулярно-биологические и молекулярно-генетические методы, направленные на изучение особенностей генома. В диагностике вирусных инфекционных заболеваний наиболее часто используют выявление возбудителя с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР), ДНК-чипов, а также секвенирование геномных нуклеиновых кислот (НК). Для проведения секвенирования НК традиционно используют метод Сэнгера [цит. по 2]. В настоящее время широкое распространение получили технологии секвенирования нового поколения – массивное параллельное секвенирование [4] и нанопоровое секвенирование [5]. Последние модели автоматических секвенаторов позволяют при секвенировании получить значительный объем генетической информации. Внедрение методов секвенирования нового поколения приводит к упрощению процесса, уменьшению временных затрат (в первую очередь – на анализ результатов) и снижению его стоимости.

Анализ исследований в области молекулярной биологии и генетики вирусов, свидетельствует о широком внедрении в практику метода секвенирования для генотипирования возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций. В настоящее время для каждого семейства определены свои критерии таксономии, которые могут быть основаны на определенном гене или группе генов, т.е. секвенирование геномных НК вирусов можно условно разделить на секвенирование по одному гену и секвенирование по всему геному. Выбор варианта секвенирования зависит от поставленных задач. Для классификации новых видов, как правило, требуется полногеномное секвенирование, при характеристике геновариантов внутри вида может быть использовано и секвенирование определенного гена. Результаты секвенирова-

<sup>1</sup>ICTV. Current ICTV Taxonomy Release. Available at: <http://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

ния могут быть использованы в качестве алгоритма определения места вновь выделенного изолята вируса в соответствующем таксоне семейства. В настоящее время разработан порядок применения молекулярно-биологических и молекулярно-генетических методов, основанный на структурированном подходе (алгоритме) индикации и генетической характеристике патогенного биологического агента. Обоснован трехуровневый алгоритм молекулярно-генетической характеристики патогенов (I уровень – выявление возбудителя с помощью ПЦР, II уровень – секвенирование фрагментов генома возбудителя, III уровень – проведение генотипирования [6].

Границы вида определяются критериями, принятыми Международным комитетом по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) для данной группы вирусов. Молекулярно-биологический анализ геномной НК исследуемого возбудителя, основанный на данных секвенирования, позволит точно определить возможный уровень изменчивости внутри данного вида.

Возбудители особо опасных вирусных инфекционных заболеваний – это вирусы, геном которых представлен двухцепочечной (ds)ДНК, либо одноцепочечной (ss)(+)РНК, либо одноцепочечной (ss)(-)РНК. Критерии определения до вида четко определены ICTV. Критерии выделения отдельных вирусов и их геновариантов, как правило, определяются исторической традиций для этой группы, при этом данные молекулярно-генетических исследований хорошо согласуются с результатами, полученными при использовании серологических тестов. Однако при использовании только данных секвенирования генома для разных групп вируса отсутствуют универсальные количественные критерии, четко определяющие таксономическую принадлежность исследуемого возбудителя.

**Цель работы** – провести обзор и сравнительный анализ критериев, применяемых для идентификации и определения таксономической принадлежности ряда групп патогенных ДНК- и РНК-содержащих вирусов на основе геномных данных.

### **Вирусы, геном которых представлен dsДНК**

Натуральная оспа – заболевание человека, характеризующееся высокой летальностью (30–50%), многочисленными, разнообразными и тяжелыми осложнениями. Восприимчивость человека к этой инфекции составляет более 95% [7–11].

В природе продолжают циркулировать ортопоксвирусы, в том числе и патогенные для человека: вирусы оспы обезьян, оспы коров, оспы буйволов. С прекращением вакцинации происходит снижение коллективного иммунитета, что позволяет распространяться в человеческой популяции патогенным для человека ортопоксвирусами. Скорость накопления мутаций в геноме ортопоксвирусов составляет  $1 \times 10^6$  нуклеотидных замен на сайт в год [12].

Геном ортопоксвирусов представлен линейной dsДНК размером 170–250 тыс. пар нуклеотидных

остатков (п.н.о.) [13, 14]. Первые попытки установить эволюционную удаленность разных видов ортопоксвирусов были предприняты при помощи построения рестрикционных карт генома. Еще в конце прошлого века были построены рестрикционные карты геномов всех известных к тому времени представителей рода *Orthopoxvirus*. Такое картирование может служить критерием принадлежности исследуемого вируса к роду *Orthopoxvirus*, а внутри рода – критерием принадлежности к тому или иному виду. Однако при использовании данного метода нельзя установить, какой из видов является самым близким к наиболее общему предку и, соответственно, имеет больший эволюционный потенциал. Ответ на этот вопрос может дать секвенирование и изучение функционально-структурной организации генома исследуемого ортопоксвируса.

Полная структура генома вируса вакцины была определена в 1990 г. [13], вируса натуральной оспы – в 1992 г. [14]. Сравнительный анализ геномов вируса вакцины и вируса натуральной оспы позволил установить уровень изменчивости их генов. Установлено, что такие характеристики вируса вакцины и вируса натуральной оспы, как патогенность и круг восприимчивых хозяев, определяются разными наборами генов [14]. Это означает, что вирус натуральной оспы не мог произойти от вируса вакцины, а также вирус вакцины не мог произойти от вируса натуральной оспы. В то же время наличие выраженной гомологии в центральной области генома указывает на то, что эти вирусы имеют общего предшественника.

Сравнение нуклеотидных последовательностей вируса вакцины и вируса натуральной оспы указывает на то, что они имеют протяженные делеции относительно друг друга. Тот вирус, который при сравнении двух вирусов имеет наиболее протяженный геном, является эволюционно более близким к вирусу-предшественнику, что, как правило, подтверждается сравнением уровня гомологии наиболее консервативных генов. Из известных к настоящему времени ортопоксвирусов наиболее протяженным геномом и наиболее полным набором вирусных генов обладает вирус оспы коров [13, 15].

Для идентификации разных ортопоксвирусов использованы различные наборы генов. Описано использование для этой цели генов хемокинсвязывающего белка и  $\alpha/\beta$ -интерферонсвязывающего белка, а также гена белка A27C, кодирующего консервативный белок вириона [12]. Для идентификации вновь выделяемых изолятов ортопоксвирусов как новых штаммов какого-либо идентифицированного вида или как представляющих отдельный самостоятельный вирус, перспективной является стратегия, предложенная G.L. Emerson и соавт. [16], предусматривающая анализ 9 открытых рамок считывания генома: A7L – ранний транскрипционный фактор, большая субъединица; A10L – основной центральный белок; A24R – РНК-полимераза 132; D1R – информационная РНК копирующего фермента, большая субъединица; D5R – ДНК-зависимая нуклеотидфосфатаза;

E6R – гипотетический белок; E9L – ДНК-полимераза; H4L – белок, ассоциированный с РНК-полимеразой; J6R – РНК-полимераза 147.

Такой методический подход был использован для идентификации таксономической принадлежности недавно выявленных ортопоксвирусов: вирусов оспы кошек, Ахмета, Аляска. С этой целью было проведено выравнивание сцепленных геномных последовательностей ортопоксвирусов, представляющих Северную Америку и Старый Свет.

Данные сравнения геномных последовательностей 9 выбранных генов вируса оспы кошек (штамм Италия\_09/17) с соответствующими геномными последовательностями для вирусов оспы кроликов, оспы обезьян, натуральной оспы, оспы коров, вакцины, экстремелии свидетельствуют о том, что вирус оспы кошек является отдаленно родственным по отношению к другим ортопоксвирусам, в том числе всем 10 линиям вируса оспы коров [17] и недавно выделенным сублиниям [18, 19]. При этом обнаружено более близкое родство с прототипным штаммом вируса экстремелии.

На филогенетическом дереве ортопоксвирусов штамм Италия\_09/17 вируса оспы кошек формирует отдельный кластер, включающий также недавно выделенный от макак в Италии штамм Abatino. Нуклеотидная идентичность штамма Италия\_09/17 и штамма Abatino составляет 99,66%, в то время как с референтными штаммами вируса экстремелии – 98,11–98,13%. По результатам анализа гена гемагглютинаина, уровень идентичности штамма Италия\_09/17 и штамма Abatino еще выше (99,79%) [20]. Следовательно, штаммы Италия\_09/17 (выделенный от кошек) и Abatino (выделенный от макак) могут рассматриваться как штаммы одного нового ортопоксвируса Старого Света (вирус оспы кошек).

Изучение структуры генома вируса Ахмета показало наиболее высокую идентичность данного возбудителя с вирусом оспы коров. По сравнению с вирусом оспы коров, в центральной части генома вируса Ахмета отсутствовал только ген *CPXV119A*, кодирующий белок размером 80 аминокислотных остатков, в то время как он содержал малый ген *AKMV059*, отсутствующий у изолятов вируса оспы коров. Наибольший уровень геномных различий установлен по отношению к вирусу экстремелии, в центральном регионе которого отсутствуют 7 малых генов, выявленных в центральной части генома вируса Ахмета [21].

Филогенетический анализ перекрывающейся последовательности генома размером 28 037 п.н.о. выявил, что вирус Аляска (штамм АК2015) представляет собой отдельную генетическую линию ортопоксвирусов, которая значительно отличается как от североамериканских ортопоксвирусов (вирусы оспы енотов, оспы скунсов, оспы полевок) так и от ортопоксвирусов Старого Света (вирусы оспы верблюдов, оспы вакцины, оспы коров, экстремелии, Ахмета).

Вирус Аляска входит в монофилетическую кладу ортопоксвирусов Старого Света, уровень различия с отдельными видами которых составляет 6,1–7,3%, соот-

ветствующий показатель при сравнении с североамериканскими ортопоксвирусами составляет 12,3–12,8%. В этой связи следует отметить, что уровень генетических различий между сравниваемыми ортопоксвирусами Старого Света колеблется от 0,6% (в паре вирус оспы верблюдов – вирус оспы полевок) до 3,2% (в паре вирус экстремелии – вирус натуральной оспы) [18].

Рассмотренные данные позволяют установить видовую идентификацию вирусов Ахмета, Аляска и оспы кошек как отдельных представителей рода *Orthopoxvirus*.

Положение новых ортопоксвирусов на филогенетическом дереве ортопоксвирусов Старого Света, по результатам секвенирования генов A7L, A10L, A24R, D1R, D5R, E6R, E9L, H4L, J6R (имеющих близкие уровни консервативности) представлено на рисунке [18, 21, 22]. Результаты секвенирования геномов новых ортопоксвирусов позволяют предполагать возможность рекомбинации между ними и уже известными представителями рода, в результате которого возможно спонтанное появление варианта с повышенным уровнем патогенности для человека, вероятно, приближающемуся к таковому для вируса натуральной оспы.

На основании существующих критериев демаркации видов ортопоксвирусов<sup>1</sup> нами предложены следующие количественные показатели для проведения таксономической характеристики новых изолятов ортопоксвирусов (табл. 1). Необходимо отметить, что при проведении таксономической характеристики нами использованы данные частичного секвенирования генома. Результаты полногеномного секвенирования, безусловно, позволят уточнить предложенные количественные показатели, однако возможные изменения вряд ли будут носить кардинальный характер.

### Вирусы, геном которых представлен ss(+)РНК

Для анализа критериев идентификации видовой принадлежности РНК-содержащих вирусов этого класса по результатам секвенирования генома рассмотрены данные секвенирования представителей рода *Alphavirus* семейства *Togaviridae* – вирусов комплекса венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ) и восточного энцефаломиелита лошадей (ВсЭЛ) и представителей рода *Flavivirus* семейства *Flaviviridae* – вирусов комплекса японского энцефалита.

#### Альфовирусы

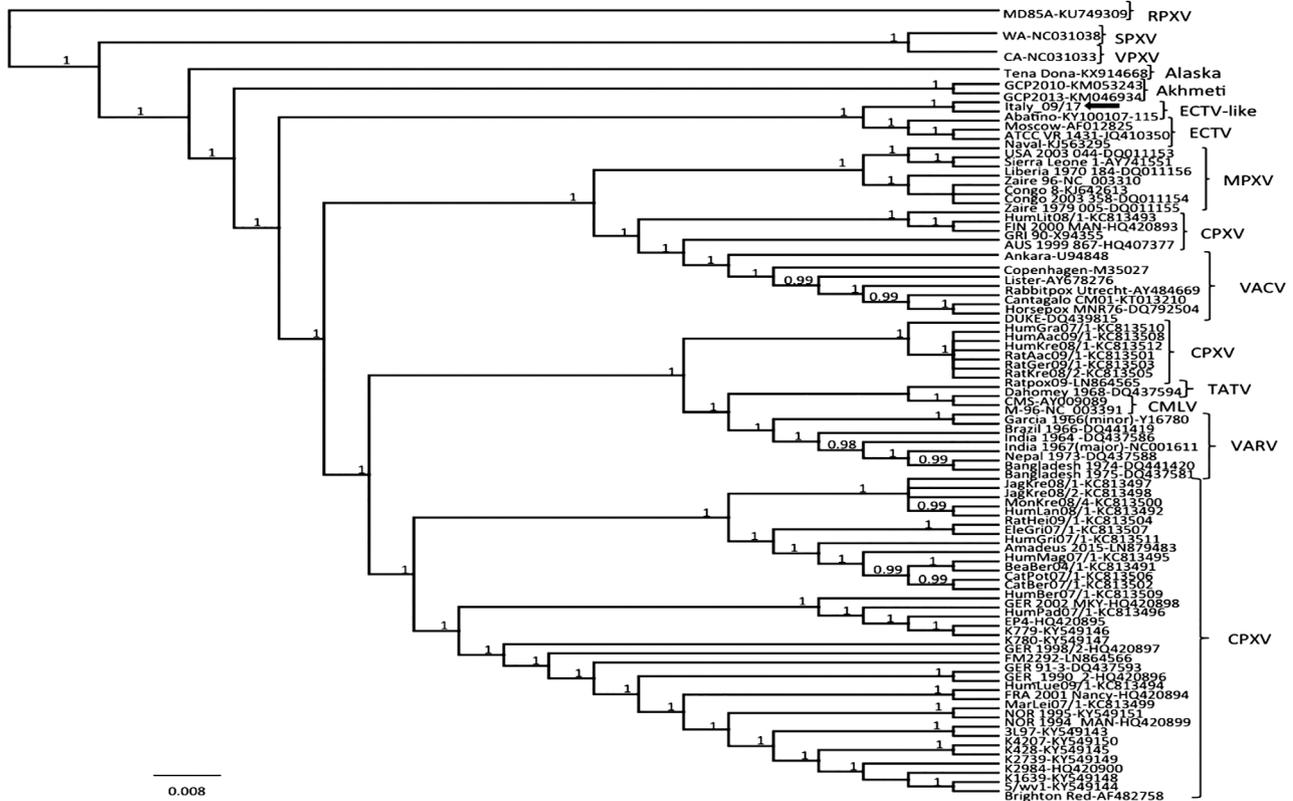
Род *Alphavirus* семейства *Togaviridae* объединяет в настоящее время 34 самостоятельных вируса, разделенных на 7 антигенных комплексов (комплексы вируса Леса Барма, вируса ВсЭЛ, вируса Ндumu, вируса Леса Семлики, вируса ВЭЛ, вируса западного энцефаломиелита лошадей и неклассифицированные альфовирусы).

Строение генома альфовирусов выглядит следующим образом: «кэпированный» 5'-конец, нетранслируемая область, гены неструктурных белков Nsp1, Nsp2, Nsp3, Nsp4, 26S; РНК, содержащая гены структурных белков, нетранслируемая область, поли-А последовательность на 3'-конце. Общий размер генома

составляет около 12 тыс. нуклеотидов [23–26]. Расчетная скорость мутаций (которые потенциально могут привести к появлению вирулентных для человека природных штаммов) для геномов указанных альфа-вирусов составляет приблизительно  $1,0 \times 10^{-4}$  нукле-

отидных замен в соответствующих позициях генома в год [27].

В комплекс ВЭЛ входят альфавирусы со схожими генетическими характеристиками и перекрестной антигенной активностью [28]. Альфавирусы являют-



**Рисунок.** Положение вирусов Ахмета, Аляска и оспы кошек на филогенетическом дереве ортопоксвирусов Старого Света.  
**Figure.** The position of the Alaska virus, the Akhmat virus and cat poxvirus on the phylogenetic tree of the Old World orthopoxviruses.

**Таблица 1.** Количественные показатели для проведения таксономической характеристики новых изолятов ортопоксвирусов при секвенировании по генам A7L, A10L, A24R, D1R, D5R, E6R, E9L, H4L, J6R

**Table 1.** The quantitative indicators for the taxonomic characterization of new isolates of orthopoxviruses based on A7L, A10L, A24R, D1R, D5R, E6R, E9L, H4L, J6R genes

Результаты секвенирования (уровень различий между сравниваемыми ортопоксвирусами), % Sequencing results (the level of differences between the compared orthopoxviruses) %	Вывод по результатам секвенирования Conclusion based on sequencing results
Менее 0,6 Less than 0.6	Сравниваемые ортопоксвирусы относятся к одному виду The orthopoxviruses being compared belong to the same species 0,6–3,2
0,6–3,2	Сравниваемые ортопоксвирусы относятся к разным видам монофилетической кланды ортопоксвирусов Старого Света, за исключением вируса Аляска и вируса Ахмета The orthopoxviruses being compared belong to different species of a monophyletic clade of Old World orthopoxviruses, with the exception of the Alaska virus and the Akhmat virus
3,2–7,3	Сравниваемые ортопоксвирусы относятся к разным видам монофилетической кланды ортопоксвирусов Старого Света The orthopoxviruses being compared belong to different species of a monophyletic clade of Old World orthopoxviruses
7,3–12,8	Сравниваемые ортопоксвирусы относятся к разным монофилетическим кландам (Старого и Нового Света) The orthopoxviruses being compared belong to different monophyletic clades of Old World orthopoxviruses and New World orthopoxviruses

ся ре-эмерджентными арбовирусами, вызывающими эпизоотии лошадей и вспышки заболеваний человека [29]. Комплекс ВЭЛ разделяется на 6 подтипов (I–VI), в которые входят 9 вирусов [30], наибольшее значение для здравоохранения и ветеринарии имеет вирус ВЭЛ.

Филогенетический анализ вирусов комплекса ВЭЛ основан на определении нуклеотидной последовательности генов структурных белков [24, 26, 31, 32]. N.L. Forrester и соавт. [28] провели анализ комплекса ВЭЛ с помощью секвенирования геномов 94 штаммов вирусов с последующим филогенетическим анализом при использовании открытых рамок считывания для структурных и неструктурных белков. Результаты анализа показали, что селекция является основным фактором эволюции этих возбудителей, а также определяющим механизмом молекулярных часов датирования наиболее позднего общего предка, которое для подтипов ID/IAB/IC/I II и IE составляет 149–973 года. IE-подтип комплекса ВЭЛ характеризует значительный эволюционный сдвиг. Увеличение количества аминокислотных замен в структурных белках является уникальным для этого подтипа, что отражает адаптацию возбудителя к уникальному вектору – комарам *Culex taeniopus*.

Проведенные исследования позволили подтвердить гипотезу, согласно которой подтипы IAB и IC произошли от энзоотического подтипа ID вследствие мутаций, что привело к изменению их эпидемических и эпизоотических характеристик [26, 32–35]. Деление внутри комплекса на подтипы I–VI ранее было проведено по результатам серологических тестов. Однако дифференциация между субтипами A–F антигенного подтипа I при использовании только серологических тестов невозможна [36–38]. Результаты секвенирования геномной РНК могут внести изменения в существующую в настоящее время таксономическую номенклатуру, в результате чего некоторые штаммы возбудителя ВЭЛ сейчас классифицируют как отдельные самостоятельные вирусы. Например, подтип IF существенно отличается от других субтипов подтипа I и в настоящее время рассматривается не как штамм вируса ВЭЛ, а как отдельный возбудитель (вирус Mosso das Pedras).

До относительно недавнего времени вирус ВcЭЛ рассматривался как единственный представитель одноименного комплекса. Однако в результате проведенных в последнее время генетических исследований представители южноамериканского подтипа возбудителя ВcЭЛ рассматриваются в качестве отдельных штаммов самостоятельного вируса, получившего название вирус Мадариага [39]. Установлены различия вируса Мадариага с возбудителем ВcЭЛ, циркулирующим в Северной Америке.

Согласно классификации, предложенной N.C. Arrigo и соавт. [27], североамериканский подтип вируса ВcЭЛ образует одну генетическую линию комплекса ВcЭЛ (линия I). Эта линия включает штаммы вируса ВcЭЛ из Северной Америки. Южноамериканский подтип вируса ВcЭЛ, или вирус Мадариага, разделен на линии II, III и IV.

Филогенетический анализ, проведенный с помощью программы MUSCLE [40], выявил, что штаммы, выделенные от больных на Гаити, относятся к линии III, которая представляет изоляты из Центральной и Южной Америки и изоляты из Центральной Америки, формирующие Центральноамериканскую Карибскую монофилетическую сублинию. Время появления наиболее позднего общего предка для этой сублинии 1939 г. ( $I_{95}$  – 1931–1948 гг.). В пределах данной сублинии новые изоляты из Гаитянского кластера близки к изолятам, выделенным в Панаме. Оцениваемая скорость эволюции составляет  $1,2 \times 10^{-4}$  нуклеотидных замен в год [27].

Количественные показатели для проведения таксономической характеристики новых изолятов вирусов комплексов ВЭЛ и ВcЭЛ по результатам секвенирования геномной РНК представлены в табл. 2.

### Флавивирусы

Представители рода *Flavivirus* – это возбудители, геном которых представлен ss(+)РНК, содержащей 7-метилгуанозинный кэп на 5'-конце. Геномная РНК размером около 11 тыс. нуклеотидных остатков (н.о.) содержит одну открытую рамку считывания, которая фланкирована 5'-концевым экпированным некодирующим регионом и 3'-концевым некодирующим регионом, совместно формирующими петлевидную структуру, необходимую для вирусной репликации и трансляции, и содержит детерминанты, определяющие патогенность возбудителя [41].

Открытая рамка считывания флавивирусов кодирует 10 белков, включающих 3 структурных (белок нуклеокапсида (С), трансмембранный белок (рgM) и белок оболочки (Е)), а также 7 неструктурных (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b и NS5) белков [41].

Род *Flavivirus* (семейство *Flaviviridae*) разделяется по меньшей мере на 14 групп, это деление базируется на данных анализа нуклеотидного состава геномных РНК и рассчитанных на его основе аминокислотных последовательностях структурных белков, антигенному родству и другим характеристикам [41].

Двумя близкородственными группами внутри рода *Flavivirus* являются группы вирусов Нтайя и японского энцефалита.

Группа японского энцефалита, кроме одноименного вируса, включает такие возбудители инфекционных заболеваний человека, как вирусы энцефалита Долины Мюррея, энцефалита Сан-Луи, Западного Нила, денге, желтой лихорадки. Группа Нтайя включает, в частности, вирусы Ильеус, Росио и Зика<sup>1</sup>.

Минимальный порог кратности антигенных различий в перекрестной реакции, необходимый и достаточный для идентификации того или иного флавивируса в качестве самостоятельного вида, составляет более 4 [42]. По результатам секвенирования геномной РНК пороговое значение, указывающее на принадлежность 2 сравниваемых флавивирусов к одному виду, должно быть более 84% [43].

Установление таксономической принадлежности вновь выделяемых флавивирусов будет рассмотрено

на примере вируса Росио, который ранее был классифицирован как подтип вируса Ильеус [44]. Вирус Росио впервые был выделен в штате Сан-Пауло (Бразилия) в 1975 г. от человека, погибшего от энцефалита неизвестной этимологии [45]. Летальность среди заболевших превышает 10% [46, 47].

Организация геномной РНК вируса Росио (с указанием генов структурных и неструктурных белков) представлена в **табл. 3**.

Для установления таксономического родства вируса Росио с другими флавивирусами достаточно ис-

пользовать данные секвенирования гена белка NS5 размером 1358 нуклеотидов.

Уровень гомологии указанного участка по сравнению с вирусом Ильеус составляет 81,9%, с вирусом Зика – 78,3%, с вирусом японского энцефалита – 64,5%, с вирусом Западного Нила – 65,0%, с вирусом энцефалита долины Муррея – 64,7%, с вирусом энцефалита Сан-Луи – 66,1% [41, 48–50].

Полученные данные дают основания для проведения таксономической характеристики новых изолятов флавивирусов по результатам частичного секвениро-

**Таблица 2.** Количественные показатели для проведения таксономической характеристики новых изолятов вирусов комплексов ВЭЛ и ВсЭЛ по результатам секвенирования геномной РНК

**Table 2.** The quantitative indicators for the taxonomic characterization of new isolates of VEE and EEE virus complexes based on data of sequencing of genomic RNA

Результат секвенирования (уровень различий между сравниваемыми альфавирусами), % Sequencing result (the level of differences between the compared alphaviruses), %	Вывод по результатам секвенирования Conclusion based on sequencing result
Менее 0,1 Less than 0.1	Сравниваемые изоляты вирусов относятся к одному генотипу определенного субтипа The compared virus isolates belong to the same genotype of a certain subtype
0,1–0,3	Сравниваемые изоляты вирусов относятся к одному субтипу определенного подтипа The compared virus isolates belong to the same genotype of a certain type
0,3–2,3	Сравниваемые изоляты вирусов относятся к разным подтипам комплекса The compared virus isolates belong to different subtypes of complex
Более 2,3 More than 2.3	Сравниваемые изоляты вирусов относятся к разным комплексам рода <i>Alphavirus</i> The compared virus isolates belong to different complexes of <i>Alphavirus</i> genus

**Таблица 3.** Организация геномной РНК вируса Росио [48]

**Table 3.** The organization of the genomic RNA of the Rocio virus [48]

Вирусспецифические белки Viral proteins	Участки генома Genome regions	Размер (н.о.) Size (nt)	Позиции генома Position in genome
5'- и 3'-нетранслируемые участки 5' and 3' untranslated regions	5'НКР	92	1–92
	3'НКР	424	10 371–10 794
Структурные белки Structural proteins	C	354	93–446
	p <sub>2</sub> M	501	447–947
	E	1503	948–2450
	NS1	1059	2451–3509
	NS2A	681	3510–4190
	NS2B	393	4191–4583
	NS3	1857	4584–6440
Неструктурные белки Nonstructural proteins	NS4A	378	6441–6818
	2K	69	6819–6887
	NS4B	768	6888–7655
	NS5	2715	7656–10 370

*Примечание.* НКР – некодируемый регион.

*Note.* NCR – noncoding region.

вания геномной РНК (по гену белка NS5). Результаты представлены в **табл. 4**.

**Вирусы, геном которых представлен ss(-)РНК**

При анализе этого класса рассмотрены группы вирусов с несегментированным (на примере представителей семейства *Filoviridae* порядка *Mononegavirales*) и сегментированным геномами (на примере представителей семейств *Arenaviridae* и *Phenuiviridae* порядка *Bunyavirales*).

**Филовирусы**

Таксономия семейства *Filoviridae* в последние десятилетия претерпела существенные изменения. Еще в конце прошлого века в это семейство входил единственный род – *Filovirus*, который включал вирусы Марбург и Эбола [51]. Внедрение в практику вирусологических исследований методов молекулярной биологии и молекулярной генетики привело к существенному изменению таксономии семейства *Filoviridae*. На родовом уровне сначала род *Filovirus* был разделен на роды *Marburgvirus* и *Ebolavirus* (в настоящее время получившие названия *Orthomarburgvirus* и *Orthoebolavirus*) [52]. В дальнейшем был идентифицирован ряд новых филовирусов, представляющих самостоятельные роды *Cuevavirus*, *Dianlovirus*, *Striavirus*, *Thamnovirus* [53, 54].

Вирус Эбола – общее название вирусов, относящихся к роду *Orthoebolavirus* семейства *Filoviridae*. На уровне вида вирусов сначала вирус Эбола был разделен на вирусы Эбола-Заир (по бинарной номенклатуре – *Orthoebolavirus zairense*) и Эбола-Судан (*Orthoebolavirus sudaense*), рассматриваемых ранее как подтипы одного возбудителя. Затем в качестве отдельных вирусов были идентифицированы патогенные для человека вирусы Эбола-Таи Форест (*Orthoebolavirus taiense*) [55] и Эбола-Бундибуджио

(*Orthoebolavirus bundibudgioense*) [56], патогенный для приматов вирус Эбола-Рестон (*Orthoebolavirus restonense*) [57] и вирус Бомбали (*Orthoebolavirus bombaliense*), патогенность которого для каких-либо животных в настоящее время не определена [58, 59].

Таким образом, из 6 видов вируса Эбола 3 вида вызывают у человека заболевание с высокой летальностью: Эбола-Заир – летальность 50–90%, Эбола-Судан – около 50% и Эбола-Бундибуджио – около 30%.

В семейство *Orthomarburgvirus* ранее входил один вид – вирус Марбург. Вирус Ravn, в настоящее время рассматриваемый в качестве самостоятельного вируса, сначала считали отдельным штаммом вируса Марбург [60].

Рассмотрим экспериментальные данные секвенирования геномов, которые легли в основу изменения таксономии семейства *Filoviridae*.

С целью филогенетического анализа представителей семейства *Filoviridae* S.A. Carroll и соавт. [61] провели детальный анализ 97 полногеномных нуклеотидных последовательностей, из которых 55 установлены после 2010 г. С помощью байесовского анализа авторы определили скорость эволюции и предполагаемое время происхождения филовирусов от общего предка. Рассмотрим результаты секвенирования для отдельных филовирусов.

*Вирус Эбола-Заир*

При анализе 22 полногеномных последовательностей, включающих образцы, взятые в разных регионах, выявлено, что генетическое разнообразие между штаммами вируса Эбола-Заир незначительное, максимальное различие между нуклеотидными последовательностями составляет 2,7%. У штаммов, выделенных в ходе одной вспышки, уровень различий еще ниже. Например, различия в нуклеотидных последовательностях изолятов выделенных в Луэ-

**Таблица 4.** Количественные показатели для проведения таксономической характеристики новых изолятов флавивирусов по результатам секвенирования геномной РНК (по гену белка NS5) (вид-вирус – генотип-штамм)

**Table 4.** Quantitative indicators for the taxonomic characterization of new isolates flaviviruses based on data of sequencing of genomic RNA (the NS5 protein coding region) (virus species–genotype-strain)

Результаты секвенирования (уровень различий между сравниваемыми флавивирусами), % Sequencing results (the level of differences between the compared flaviviruses), %	Вывод по результатам секвенирования Conclusion based on sequencing results
Менее 16 Less than 16	Сравниваемые изоляты вирусов относятся к одному и тому же виду флавивирусов The compared virus isolates belong to same flaviviruses species
16–25	Сравниваемые изоляты вирусов представляют разные виды, относящихся к одной и той же группе флавивирусов The compared virus isolates represent different species belonging to the same group of flaviviruses
25–36	Сравниваемые изоляты вирусов относятся к разным группам флавивирусов The compared virus isolates represent different group of flaviviruses
Более 36 More than 36	Если один из сравниваемых изолятов идентифицирован как относящийся к роду <i>Flavivirus</i> , другой не является членом данного рода The one of the compared isolates is identified as member of <i>Flavivirus</i> genus, while the other is not a member of this genus

**Таблица 5.** Количественные показатели для проведения таксономической характеристики новых изолятов филовирусов по результатам секвенирования геномной РНК (по гену белка L)

**Table 5.** Quantitative indicators for the taxonomic characterization of new isolates of filoviruses based on data of sequencing of genomic RNA (L protein gene)

Результаты секвенирования (уровень различий между сравниваемыми филовирусами), % Sequencing results (the level of differences between the compared filoviruses), %	Вывод по результатам секвенирования Conclusion based on sequencing results
Менее 4,5 Less than 4.5	Сравниваемые изоляты вирусов относятся к одному и тому же виду филовирусов The compared virus isolates belong to same filovirus species
4,5–20	Сравниваемые изоляты вирусов предположительно представляют разные виды, относящихся к одному и тому же роду филовирусов The compared virus isolates presumably represent different species, belonging to the same genus of filoviruses
20–35	Сравниваемые изоляты вирусов представляют разные виды, которые предположительно могут относиться к одному и тому же роду филовирусов The compared virus isolates represent different species, presumably belonging to the same genus of filoviruses
Более 35 More than 35	Сравниваемые изоляты вирусов представляют разные роды семейства <i>Filoviridae</i> The compared virus isolates represent different genus of <i>Filoviridae</i> family

бо (Демократическая Республика Конго) во время вспышки 2007–2008 гг., были менее 0,07% [61, 62].

#### Вирус Эбола-Судан

По сравнению с вирусом Эбола-Заир вирус Эбола-Судан имеет более ограниченное географическое происхождение, все 5 известных вспышек к настоящему времени произошли в районе протяженностью не более 560 км, что предположительно отражает ограниченное распределение природного резервуара или другие экологические ограничения. По вирусу Эбола-Судан проанализировано 5 полногеномных последовательностей, по одной из каждой вспышки. Результаты полногеномного секвенирования штаммов вируса Эбола-Судан показали, что в целом изменчивость вирусов внутри вида низкая, максимальное количество нуклеотидных замен (5,2%) установлено между изолятами из Судана, выделенными в 2004 г. и Уганды в 2011 г. [61, 62].

#### Вирус Эбола-Рестон

Проанализированы 7 полногеномных последовательностей изолятов вируса Эбола-Рестон, выделенных во время вспышек у низших приматов (Рестон, Пенсильвания, США) и в 1996 г. (Техас, США), на Филиппинах в 1989 г. и 2008–2009 гг. от свиней [57, 59]. Полученные данные показали влияние на генетическую изменчивость как временных, так и пространственных факторов. Оцениваемый уровень генетической изменчивости между различными выделенными изолятами составлял от 0,08 до 4,5% [61].

#### Вирус Марбург

Исследовано 60 последовательностей 48 изолятов от человека и 12 изолятов от летучих мышей. Полученные результаты показали, что уровень генетической изменчивости между штаммами вируса Марбург не пре-

вышает 4,6%. Уровень генетической изменчивости между вирусами Марбург и Ravn составил около 20% [60].

Для оценки влияния данных секвенирования геномов на таксономию семейства *Filoviridae* целесообразно рассмотреть соответствующие результаты для выявленных в последнее время филовирусов. Так, для вируса Бомбали, уровень генетической изменчивости которого от вируса Эбола-Заир составляет около 18%, отмечен высокий уровень идентичности геномов (98%) штаммов из Сьерра-Леоне и Кении [58]. При секвенировании вируса Ллови (род *Cuevavirus*) установлено, что по первичной структуре последовательности геномной РНК вирус на 57,3–57,7% отличается от вируса Марбург и на 51,8–52,6% от вируса Эбола-Заир [63].

При секвенировании вируса Менгла (род *Dianlovirus*) по фрагменту гена нуклеопротеина установлена 74% идентичность по отношению к вирусу Ллови, по фрагменту гена VP35 (69% идентичность по отношению к вирусу Эбола-Судан, по фрагменту гена РНК-зависимой РНК-полимеразы – 66–68% для членов рода *Ebolavirus*, 64% идентичность с вирусом Ллови и около 60% с вирусом Марбург [64].

На основании рассмотренных данных можно предложить следующие количественные показатели для проведения таксономической характеристики новых изолятов филовирусов по результатам полного или частичного (по гену белка L) секвенирования геномной РНК. Результаты представлены в **табл. 5**.

#### Аренавирусы

Семейство *Arenaviridae* представляет собой большую группу РНК-содержащих вирусов, геномная РНК которых состоит из двух сегментов и обладает амбисенсной стратегией кодирования. Аренавирусы разделяют на аренавирусы Старого и Нового Света. Это разделение основано на серологических и фило-

генетических критериях, а также на географическом положении эндемичных регионов.

В семейство *Arenaviridae* входит один род (*Arenavirus*), который включает 24 вируса [65].

Геном аренавирусов состоит из ss(-)РНК, включающей большой (L) и малый (S) сегменты. L-сегмент (размер приблизительно 7,1 тыс. н.о.) кодирует вирусную РНК-зависимую РНК-полимеразу (L) и цинк-связывающий белок (Z). S-сегмент (размер приблизительно 3,4 тыс. н.о.) кодирует белок нуклеокапсида (N) и предшественника оболочечного гликопротеина, который в ходе онтогенеза расщепляется на гликопротеины G1 и G2 (GPC) [66].

При оценке влияния результатов секвенирования геномной РНК аренавирусов на таксономию представителей этого семейства целесообразно отдельно рассмотреть данные, полученные при секвенировании геномной РНК аренавирусов Старого (вирус Ласса) и Нового Света. Это обусловлено тем, что южноамериканские аренавирусные геморрагические лихорадки, в отличие от лихорадки Ласса, обладают выраженными природными очагами, выход за пределы которых в естественных условиях является маловероятным событием.

Штаммы вируса Ласса по результатам секвенирования геномной РНК первоначально были распределены на 4 генетические линии, в дальнейшем были установлены еще 2 генетические линии, хотя ICTV они официально еще не признаны [67, 68]. Линии 1–3 выделены только в Нигерии, в то время как линия 4 выделена в разных странах Западной Африки. Результаты секвенирования геномной РНК показали высокий уровень генетической изменчивости между линиями 1–4 (до 27% по нуклеотидной последовательности). Необходимо отметить, что различия по нуклеотидному составу гена гликопротеина для разных генетических линий вируса Ласса ниже, чем для гена белка нуклеокапсида.

При сравнении нуклеотидных последовательностей штаммов вируса Ласса установлено, что последовательности штаммов, относящихся к одному и тому же географическому региону, являются очень сходными (уровень идентичности более 99%). При сравнении штаммов вируса Ласса из разных регионов установлена значительная вариабельность, причем для генов белков L и Z более высокая (до 26%), чем для генов белков GPC и N.

Филогенетический анализ аренавирусов Нового Света базируется на секвенировании гена белка нуклеокапсида, по результатам которого проведено разделение вирусов, входящих в данную группу, на три клады (A, B и C). Возбудители особо опасных аренавирусных геморрагических лихорадок (аргентинской, боливийской, бразильской и венесуэльской) – вирусы Хунин, Мачупо, Сэбиа и Гуанарито соответственно, относятся к кладе B. Уровень генетической изменчивости по гену белка нуклеокапсида для разных штаммов одного и того же возбудителя не превышает 5%, в то время как аналогичный показатель при сравнении разных аренавирусов Нового Света, входящих в одну кладу, превышает 40%, а в разные клады – 60% [69].

Рассмотренные данные могут быть использованы для определения количественных показателей при проведении таксономической характеристики новых изолятов аренавирусов Старого (по результатам секвенирования по гену белка L) и Нового Света (по результатам секвенирования по гену белка N). Результаты представлены в **табл. 6**.

### **Бандавирусы**

Геном бандавирусов, как и других представителей семейства *Phenuiviridae*, состоит из 3 сегментов (L, M и S) (-)РНК. L-сегмент генома ( $\approx 6400$  н.о.) содержит одну открытую рамку считывания, кодирующую РНК-зависимую РНК-полимеразу. M-сегмент генома ( $\approx 3400$  н.о.) содержит одну открытую рамку считывания, кодирующую предшественника гликопротеинов (Gn и Gc). S-сегмент, содержащий 1744 н.о., имеет амбисенсную организацию, кодирует белок N в антисмысловой ориентации и вирусный неструктурный белок (Nss) в смысловой ориентации [70, 71].

Влияние результатов секвенирования геномной РНК бандавирусов на таксономию этой группы рассмотрено на примере нового вируса Даби (возбудитель острой лихорадки с тромбоцитопеническим синдромом (SFTS)), относящегося к роду *Bandavirus* семейства *Phenuiviridae*.

Филогенетический анализ, проведенный с помощью определения полноразмерных последовательностей сегментов L, M и S вируса Даби, установил, что данный возбудитель занимает промежуточное положение между двумя другими группами рода *Bandavirus* (группа Сицилийской москитной лихорадки и группа вируса Укуниими), т.е. представляет новую группу рода *Bandavirus* [72–75].

В ходе проведения секвенирования геномной РНК выявлено 6 генотипов возбудителя SFTS (A, B, C, D, E и F). Уровень генетических различий вируса Даби и других бандавирусов в значительной степени различается при сравнении по разным генам. Уровень гомологии вирусов Даби и Укуниими по сегментам L, M и S геномной РНК составляет 34, 24 и 29% соответственно. Наиболее уникальной структурой характеризуется ген белка NSs, для которого уровень гомологии с другими флебовирусами составляет от 11,2 до 16,0% [76]. В то же время уровень гомологии по сегментам L, M и S различных генотипов возбудителя SFTS составлял 95,8–99,8, 94,1–99,9 и 94,8–99,7% соответственно [76, 77].

Для проведения таксономической оценки изолятов вируса SFTS достаточно использовать данные секвенирования гена белка L. Количественные показатели, которые можно использовать при проведении таксономической характеристики вновь выделенных изолятов вируса SFTS, представлены в **табл. 7**.

Таким образом, даже результаты частичного секвенирования геномной НК вносят существенный вклад при проведении таксономической характеристики вновь выявляемых ДНК- и РНК-содержащих вирусов. Ввиду недостаточности таксономической иден-

**Таблица 6.** Количественные показатели для проведения таксономической характеристики новых изолятов аренавирусов по результатам секвенирования геномной РНК

**Table 6.** Quantitative indicators for the taxonomic characterization of new arenavirus isolates based on data of sequencing of genomic RNA

Группа аренавирусов Group of arenaviruses	Область секвенирования Sequencing region	Результаты секвенирования (уровень различий между сравниваемыми аренавирусами), % Sequencing results (the level of differences between the compared arenaviruses), %	Вывод по результатам секвенирования Conclusion based on sequencing results
Старого Света (на примере вируса Ласса) Old World arenaviruses (Lassa virus as example)	Ген белка L L-protein gene	Менее 1 Less than 1	Сравниваемые изоляты относятся к одной и той же генетической линии вируса. Вероятно, что сравниваемые штаммы выделены в одном и том же регионе The compared isolates belong to the same genetic lineage of the virus. It is likely that the compared strains were isolated in the same region
		1–2	Сравниваемые изоляты относятся к одной и той же генетической линии вируса The compared isolates belong to the same genetic lineage of the virus
		2–26	Сравниваемые изоляты относятся к разным генетическим линиям вируса The compared isolates belong to the different genetic lineages of the virus
		Более 26 More than 26	Сравниваемые изоляты представляют разные вирусы The compared isolates represent different viruses
Нового Света (на примере вируса Мачупо) New World arenaviruses (Machupo virus as example)	Ген белка N N-protein gene	Менее 5 Less than 5	Сравниваемые изоляты представляют разные штаммы вируса, относящиеся к одной и той же генетической линии The compared isolates belong to the same genetic lineage of the virus
		5–40	Сравниваемые изоляты представляют разные вирусы, входящие в одну и ту же кладу The compared isolates represent different viruses from the same clade
		Более 40 More than 40	Сравниваемые изоляты представляют разные вирусы, входящие в разные кладу The compared isolates represent different viruses from different clades

**Таблица 7.** Количественные показатели для проведения таксономической характеристики новых изолятов вируса Даби по результатам секвенирования по гену белка L

**Table 7.** Quantitative indicators for the taxonomic characterization of new isolates of Daby virus based on data of sequencing of genomic RNA (L protein gene)

Результаты секвенирования (уровень различий между сравниваемыми филовirusами), % Sequencing results (the level of differences between the compared isolates), %	Вывод по результатам секвенирования Conclusion based on sequencing results
Менее 0,2 Less than 0.2	Сравниваемые изоляты вирусов относятся к одному и тому же генотипу вируса The compared isolates belong to the same genotype of the virus
0,2–4,2	Сравниваемые изоляты вирусов относятся к разным генотипам вируса The compared isolates belong to the different genotypes of the virus
4,2–31	Сравниваемые изоляты вирусов представляют разные виды, которые предположительно могут относиться одной и той же группе рода <i>Bandavirus</i> The compared virus isolates represent different species, which presumably may belong to the same group within genus <i>Bandavirus</i>
Более 35 More than 35	Сравниваемые изоляты вирусов представляют разные группы рода <i>Bandavirus</i> The compared virus isolates represent different groups within genus <i>Bandavirus</i>

тификации с использованием серологических методов, данные секвенирования геномной НК должны занять приоритетное положение.

ICTV активно использует для классификации данные секвенирования геномов возбудителей. Согласно

установленным требованиям, главным критерием для идентификации вида вируса является идентичность последовательности нуклеотидов свыше 90% [78]. Однако вместе с тем в настоящее время находит широкое применение также метод идентификации вида

вируса с использованием короткого участка генома, определенного гена или нескольких генов. Важно отметить, что не только для каждого класса вирусов, но и для таксонов более низкого уровня при проведении частичного секвенирования с целью таксономической идентификации вновь выделенного изолята возбудителя необходимы обоснованный выбор участка генома для секвенирования и определение количественных критериев, позволяющих провести идентификацию. Разный уровень количественных показателей для ДНК- и РНК-содержащих вирусов определяют различия в скорости эволюции, которая для РНК-содержащих вирусов в среднем на 2 порядка выше ( $1 \times 10^{-6}$  и  $1 \times 10^{-6}$  нуклеотидных замен на сайт в год соответственно). С целью таксономической идентификации вновь выделенного изолята вируса с помощью секвенирования необходимо проведение сравнительной оценки с охарактеризованным штаммом возбудителя. При этом высшим таксономическим уровнем, в пределах которого должны находиться анализируемый изолят возбудителя и вариант сравнения, является род вирусов.

## ЛИТЕРАТУРА

- Lwoff A., Tournier P. The classification of viruses. *Annu. Rev. Microbiol.* 1966; 20: 45–74. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.20.100166.000401>
- Гинцбург А.Л. Генодиагностика инфекционных заболеваний. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 1998; 75(3): 86–95. EDN: <https://elibrary.ru/mozshn>
- Глик Б., Пастернак Дж. *Молекулярная биотехнология. Принципы и применение.* Пер. с англ. М.: Мир; 2002.
- Алексеева А.Е., Бруснигина Н.Ф. Возможности и перспективы применения методов массивного параллельного секвенирования в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями. *Журнал МедиАль.* 2014; (2): 6–28. EDN: <https://elibrary.ru/sgxcgt>
- Eisenstein M. Oxford Nanopore announcement sets sequencing sector abuzz. *Nat. Biotechnol.* 2012; 30(4): 295–6. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt0412-295>
- Кузнецова И.В., Ефременко Д.В., Куличенко А.Н. Применение принципов многофакторного генетического анализа возбудителей инфекционных болезней в работе СПЭБ Роспотребнадзора в период массовых мероприятий. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; (2): 68–72. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-2-68-72> EDN: <https://elibrary.ru/xrvhfz>
- Behbehani A.M. The smallpox story: life and death of old disease. *Microbiol. Rev.* 1983; 47(4): 455–505. DOI: <https://doi.org/10.1128/mr.47.4.455-509.1983>
- Онищенко Г.Г., Максимов В.А., Воробьев А.А., Подкуйко В.Н., Мельников С.А. Актуальность возврата к оспопрививанию: проблемы и перспективы. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2006; (7): 32–8. EDN: <https://elibrary.ru/htvfyn>
- Lofquist J.M., Weimert N.A., Hayney M.S. Smallpox: A review of clinical disease and vaccination. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 2003; 60(8): 749–56. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajhp/60.8.749>
- Booss J., Davis L.E. Smallpox and smallpox vaccination. Neurological implications. *Neurology.* 2003; 60(8): 1241–5. DOI: <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000063319.64515.6b>
- Fenner F. *Smallpox and Its Eradication.* Geneva: WHO; 1988.
- Михеев М.В., Феценко В.М., Щелкунов С.Н. Филогенетический анализ хемокинсвязывающего белка ортопоксвирусов. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2004; (1): 29–36. EDN: <https://elibrary.ru/okkpev>
- Сафронов П.Ф., Рязанкина О.И., Петров Н.А., Тотменин А.В., Колосова И.В., Щелкунов С.Н. Структурно-функциональная организация генома вируса оспы коров, штамм GRI-90. Сообщение 2. Сравнительный анализ структуры левого видоспецифического района генома ортопоксвирусов. *Молекулярная биология.* 1999; 33(2): 291–302.
- Маренникова С.С., Щелкунов С.Н. *Патогенные для человека ортопоксвирусы.* М.; 1998.
- Сафронов П.Ф., Тотменин А.В., Рязанкина О.И., Щелкунов С.Н. Структурно-функциональная организация генома вируса оспы коров, штамм GRI-90. Сообщение 3. Функциональная характеристика левого видоспецифического района генома ортопоксвирусов. *Молекулярная биология.* 1999; 33(2): 303–13.
- Emerson G.L., Li Y., Frace M.A., Olsen-Rasmussen M.A., Khristova M.L., Govil D., et al. The phylogenetics and ecology of the orthopoxviruses endemic to North America. *PLoS One.* 2009; 4(10): e7666. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007666>
- Mauldin M.R., Antwerpen M., Emerson G.L., Li Y., Zoeller G., Carroll D.S., et al. Cowpox virus: what's in a name? *Viruses.* 2017; 9(5): 101. DOI: <https://doi.org/10.3390/v9050101>
- Springer Y.P., Hsu C.H., Werle Z.R., Olson L.E., Cooper M.P., Castrodale L.J., et al. Novel orthopoxvirus infection in an Alaska resident. *Clin. Infect. Dis.* 2017; 64(12): 1737–41. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/cix219>
- Vora N.M., Li Y., Geleishvili M., Emerson G.L., Khmaladze E., Maghlakelidze G., et al. Human infection with a zoonotic orthopoxvirus in the country of Georgia. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372(13): 1223–30. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1407647>
- Cardeti G., Gruber C.E.M., Eleni C., Carletti F., Castilletti C., Manna G., et al. Fatal outbreak in Tonkean macaques caused by possibly novel orthopoxvirus, Italy, January 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(12): 1941–9. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2312.162098>
- Gao J., Gigante C., Khmaladze E., Liu P., Tang S., Wilkins K., et al. Genome sequences of Akhmeta virus, an early divergent old world orthopoxvirus. *Viruses.* 2018; 10(5): 252. DOI: <https://doi.org/10.3390/v10050252>
- Lanave G., Dowgier G., Decaro N., Albanese F., Brogi E., Parisi A., et al. Novel orthopoxvirus and lethal disease in Cat, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(9): 1665–73. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2409.171283>
- Волчков В.Е., Волчкова В.А., Нетесов С.В. Полная нуклеотидная последовательность генома вируса ВСЭЛ. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 1991; (5): 8–15.
- Agular P., Adams A.P., Suarez V., Beingolea L., Vargas J., Manock S., et al. Genetic characterization of VEE virus from Bolivia, Ecuador and Peru: identification of a new subtype ID lineage. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3(9): e514. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000514>
- Chang G.J., Trent D.W. Nucleotide sequence of the genomic region encoding the 26S mRNA of EEE virus and the deduced amino acid sequence of the viral structural proteins. *J. Gen. Virol.* 1987; 62(Pt. 8): 2129–42. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-8-2129>
- Weaver S.C., Pfeffer M., Marriott K., Kang W., Kinney R.M. Genetic evidence for the origins of Venezuelan equine encephalitis virus subtype IAB outbreaks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999; 60(3): 441–8. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.60.441>
- Arrigo N.C., Adams A.P., Weaver S.C. Evolutionary patterns of eastern equine encephalitis virus in North versus South America suggest ecological differences and taxonomic revision. *J. Virol.* 2010; 84(2): 1014–25. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.01586-09>
- Forrester N.L., Weitheim J.O., Dugan V.G., Auguste A.J., Lin D., Adams A.P., et al. Evolution and spread of VEE complex alphavirus in the Americas. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(8): e0005693. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005693>
- Weaver S.C., Winegar R., Manger I.D., Forrester N.L. Alphaviruses: Population genetics and determinants emergence. *Antiviral Res.* 2012; 94(3): 242–57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.04.002>
- Powers A.M., Huang H.V., Roehrig J.T., Strauss E.G., Weaver S.C. Togaviridae. In: King A.M.G., Adams M.J., Carstens E.B., Lefcovitz E.J., eds. *Virus Taxonomy, Ninth Report of International Committee on taxonomy of Viruses.* Oxford: Elsevier; 2011: 1103–10.
- Kinney R.M., Pfeffer M., Tsuchiya K.R., Chang G.J., Roehrig J.T. Nucleotide sequences of 26S mRNAs of the viruses, defining the VEE antigenic complex. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998; 59(6): 952–64. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1998.59.952>
- Quiroz E., Aguilar P.V., Cisneros J., Tesh R.B., Weaver S.C. Venezuelan equine encephalitis in Panama: fatal endemic disease and genetic diversity of etiologic viral strains. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3(6): e472. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000472>

33. Brault A.C., Powers A.M., Weaver S.C. Vector infection determinants of Venezuelan equine encephalitis virus reside within the E2 envelope glycoprotein. *J. Virol.* 2002; 76(12): 6387–92. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.76.12.6387-6392.2002>
34. Brault A.C., Powers A.M., Holmes E.C., Woelk C.H., Weaver S.C. Positively-charged amino acid substitutions in the E2 envelope glycoprotein are associated with the emergence of VEE virus. *J. Virol.* 2002; 76(4): 1718–30. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.76.4.1718-1730.2002>
35. Greene I.P., Paessler S., Austgen L., Anischenko M., Brault A.C., Bowen R.A., et al. Envelope glycoprotein mutations mediate equine amplification and virulence of epizootic VEE virus. *J. Virol.* 2005; 79(14): 9128–33. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.79.14.9128-9133.2005>
36. Anischenko M., Bowen R.A., Paessler S., Austgen L., Greene I.P., Weaver S.C. Venezuelan encephalitis emergence mediated by a phylogenetically predicted virus mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103(13): 4994–9. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0509961103>
37. Agular P.V., Estrada-Franco J.C., Navarro-Lopes R., Ferro C., Haddow A.D., Weaver S.C. Endemic VEE in the Americas: Hidden under dengue umbrella. *Future Virol.* 2011; 6(6): 721–40. DOI: <https://doi.org/10.2217/FVL.11.5>
38. Sharma A., Knollmann-Ritchel B. Current understanding of molecular basis of VEE virus pathogenesis and vaccine development. *Viruses.* 2019; 11(2): 164. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11020164>
39. Lednicky J.A., White S.K., Mavian C.N., Badry M.A., Telisma T., Salemi M., et al. Emergence of Madariaga virus as cause of acute febrile illness of children, Haiti 2015. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(1): e006972. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006972>
40. Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* 2004; 32(5): 1792–7. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
41. Barrows N.J., Campos R.K., Liao K., Prasanth K.R., Soto-Acosta R., Yeh S., et al. Biochemistry and molecular biology of flaviviruses. *Chem. Rev.* 2018; 118(8): 4448–82. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00719>
42. Pierson T.C., Diamond M.S. Flaviviruses. In: Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Field virology*. Philadelphia; 2013: 714–94.
43. Karabatsos N. *International Catalogue of Arboviruses: Including Certain other Viruses of Vertebrates*. San Antonio: Published for the Subcommittee on Information Exchange of the American Committee on Arthropod-borne Viruses by the American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985.
44. Kuno G., Chang G.J., Tsuchiya K.R., Karabatsos N., Cropp C.B. Phylogeny of the genus Flavivirus. *J. Virol.* 1998; 72(1): 73–83. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.72.1.73-83.1998>
45. de Souza Lopes O., de Abreu Sacchetta L., Coimbra T.L., Pinto G.H., Glasser C.M. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. II. Epidemiologic studies on 1975 epidemic. *Am. J. Epidemiol.* 1978; 108(5): 394–401. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxford-journals.aje.a112637>
46. Saivish M.V., da Costa V.G., da Silva R.A., Dutra da Silva G.C., Menezes G., Moreli M.L. Rocio Virus: An updated view on an elusive flavivirus. *Viruses.* 2021; 13(11): 2293. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13112293>
47. Mitchell C.J., Monath T.P., Cropp C.B. Experimental transmission of Rocio virus by mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1981; 30(2): 465–72. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1981.30.465>
48. Tiriba A.C., Miziara A.M., Lorenço R., da Costa R.B., Costa C.S., Pinto G.H. Primary human epidemic encephalitis induced by Arbovirus found at the sea shore south of the State of São Paulo. Clinical study in an emergency hospital. *AMB Rev. Assoc. Med. Bras.* 1976; 22(11): 415–20. (in Portuguese)
49. Medeiros D.B., Nunes M.R., Vasconcelos P.F., Chang G.J., Kuno G. Complete genome characterization of Rocio virus (Flavivirus: Flaviviridae), a Brazilian flavivirus isolated from a fatal case of encephalitis during an epidemic in Sao Paulo state. *J. Gen. Virol.* 2007; 88(8): 2237–46. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.82883-0>
50. Faye O., Freire C.C., Imarino A., Faye O., Oliveira J.V.C., Diallo M., et al. Molecular evolution of Zika virus during its emerging in the 20<sup>th</sup> century. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(1): e2636. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002636>
51. Kiley M.P., Bowen E.T., Eddy G.A., Isaacson M., Johnson K.M., McCormick J.B., et al. Filoviridae: A taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirology.* 1982; 18(1-2): 24–32. DOI: <https://doi.org/10.1159/000149300>
52. Kuhn J.H., Becker S., Ebihara H., Geisbert T.W., Johnson K.M., Kawaoka Y., et al. Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Arch. Virol.* 2010; 155(12): 2083–103. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0814-x>
53. Biedenkopf N., Bukreyev A., Chandran K., Di Paola N., Formenty P.B.H., Griffiths A., et al. Renaming of genera Ebolavirus and Marburgvirus to Orthoebolavirus and Orthomarburgvirus, respectively, and introduction of binomial species names within family Filoviridae. *Arch. Virol.* 2023; 168(8): 220. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05834-2>
54. Kuhn J.H., Adachi T., Adhikari N.K.J., Arribas J.R., Bah I.E., Bausch D.G., et al. New filovirus disease classification and nomenclature. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 17(5): 261–3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0187-4>
55. Le Guenno B., Formenty P., Wyers M., Gounon P., Walker F., Boesch C. Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. *Lancet.* 1995; 345(8960): 1271–4. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(95\)90925-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(95)90925-7)
56. Towner J.S., Sealy T.K., Khristova M.L., Albarino C.G., Conlan S., Reeder S.A., et al. Newly discovered Ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathog.* 2008; 4(11): e1000212. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000212>
57. Miranda M.E.G., Miranda N.L.J. Reston ebolavirus in humans and animals in the Philippines: A review. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3): 757–60. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jir296>
58. Goldstein T., Anthony S.J., Gbakima A., Bird B.H., Bangura J., Tremeau-Bravard A. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. *Nat. Microbiol.* 2018; 3(10): 1084–9. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0227-2>
59. de La Vega M.A., Stein D., Kobinger G.P. Ebolavirus evolution: past and present. *PLoS Pathog.* 2015; 11(11): e1005221. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005221>
60. Towner J.S., Khristova M.L., Sealy T.K., Vincent M.J., Erickson B.R., Bawies D.A., et al. Marburg virus genomics and association with a large hemorrhagic fever outbreak in Angola. *J. Virol.* 2006; 80(13): 6497–516. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00069-06>
61. Carroll S.A., Towner J.S., Sealy T.K., McMullan L.K., Khristova M.L., Burt F.J., et al. Molecular evolution of viruses of the family Filoviridae based on 97 whole-genome sequences. *J. Virol.* 2013; 87(5): 2608–16. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.03118-12>
62. He B., Feng Y., Zhang H., Xu L., Yang W., Zhang Y., et al. Filovirus RNA in fruit bats, China. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(9): 1675–7. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2109.150260>
63. Negrodo A., Palacios G., Vazquez-Moron S., Gonzales F., Dopazo H., Molero F., et al. Discovery of an Ebola-like filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011; 7(10): e1002304. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002304>
64. Di Paola N., Sanchez-Lockhart M., Zeng X., Kuhn J.H., Palacios G. Viral genomics in Ebola virus research. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18(7): 365–78. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0354-7>
65. Southern P.J. Arenaviridae: The viruses and their replication. In: Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M. *Field's Virology. Volume 1*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996: 1505–19.
66. Hallam S.J., Koma T., Maruyama J., Paessler S. Review of Mammarenavirus Biology and Replication. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 1751. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01751>
67. Munning J.T., Forester N., Paesler S.J.T. Lassa virus isolates from Mali and Ivory Coast represent an emerging fifth lineage. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 1037. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01037>
68. Whitmer S.L.M., Strecker T., Cadar D., Dienes H.P., Faber K., Patel K., et al. New lineage of Lassa virus Togo 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(3): 596–602. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2403.171905>
69. Charrel R.N., Feldmann H., Fulhorst C.F., Khelifa R., de Chesse R., de Lamballerie X. Phylogeny of New World arenaviruses based on the complete coding sequences of the small genomic segment identified an evolutionary lineage produced by intrasegmental recombination. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 296(5): 1118–24. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(02\)02053-3](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(02)02053-3)
70. Li A., Liu L., Wu W., Liu Y., Huang X., Li C., et al. Molecular evolution and genetic diversity analysis of SFTS virus based on next-generation sequencing. *Biosaf. Health.* 2021; 3(02): 105–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bshealth.2021.02.002>

71. Ning Y.J., Feng K., Min Y.Q., Cao W.C., Wang M., Deng F., et al. Disruption of type I interferon signaling by the nonstructural protein of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus via the hijacking of STAT2 and STAT1 into inclusion bodies. *J. Virol.* 2015; 89(8): 4227–36. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00154-15>
72. Qu B., Qi X., Wu X., Liang M., Li C., Cardona C.J., et al. Suppression of the interferon and NF- $\kappa$ B responses by severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *J. Virol.* 2012; 86(16): 8388–401. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00612-12>
73. Huang X., Liu L., Du Y., Wu W., Wang H., Su J., et al. The evolutionary history and spatiotemporal dynamics of the fever, thrombocytopenia and leukocytopenia syndrome virus (FTLSV) in China. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(10): e3237. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003237>
74. Lam T.T., Liu W., Bowden T.A., Cui N., Zhuang L., Liu K., et al. Evolutionary and molecular analysis of the emergent severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *Epidemics.* 2013; 5(1): 1–10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2012.09.002>
75. 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. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.06192-11>
76. Xu B., Liu L., Huang X., Ma H., Zhang Y., Du Y., et al. Metagenomic analysis of fever, thrombocytopenia and leucopenia syndrome (FTLS) in Henan province, China: Discovery of a new Bunyavirus. *PLoS Patog.* 2011; 7(11): e1002369. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002369>
77. Liu L., Chen W., Yang Y., Jiang Y. Molecular evolution of fever, thrombocytopenia and leukocytopenia virus (FTLSV) based on whole-genome sequences. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 39: 55–63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.12.022>
78. Lefkowitz E.J., Dempsey D.M., Hendrickson R.C., Orton R.J., Sidell S.G., Smith D.B. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(D1): D708–17. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx932>
12. Mikheev M.V., Feshchenko V.M., Shchelkunov S.N. Phylogenetic analysis of a chemokine-binding protein gene of orthopoxviruses. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2004; (1): 29–36. EDN: <https://elibrary.ru/okkpev> (in Russian)
13. Safronov P.F., Ryazankina O.I., Petrov N.A., Totmenin A.V., Kolosova I.V., Shchelkunov S.N. Structural and functional organization of the genome of the cowpox virus, strain GRI-90. Report 2. Comparative analysis of the structure of the left species-specific region of the orthopoxvirus genome. *Molekulyarnaya biologiya.* 1999; 33(2): 291–302. (in Russian)
14. Marennikova S.S., Shchelkunov S.N. *Orthopoxviruses Pathogenic to Humans [Patogennyye dlya cheloveka ortopoksvirusy]*. Moscow; 1998. (in Russian)
15. Safronov P.F., Totmenin A.V., Ryazankina O.I., Shchelkunov S.N. Structural and functional organization of the genome of the cowpox virus, strain GRI-90. Report 3. Functional characteristics of the left species-specific region of the orthopoxvirus genome. *Molekulyarnaya biologiya.* 1999; 33(2): 303–13. (in Russian)
16. Emerson G.L., Li Y., Frace M.A., Olsen-Rasmussen M.A., Khristova M.L., Govil D., et al. The phylogenetics and ecology of the orthopoxviruses endemic to North America. *PLoS One.* 2009; 4(10): e7666. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007666>
17. Mauldin M.R., Antwerpen M., Emerson G.L., Li Y., Zoeller G., Carroll D.S., et al. Cowpox virus: what's in a name? *Viruses.* 2017; 9(5): 101. DOI: <https://doi.org/10.3390/v9050101>
18. Springer Y.P., Hsu C.H., Werle Z.R., Olson L.E., Cooper M.P., Castrodale L.J., et al. Novel orthopoxvirus infection in an Alaska resident. *Clin. Infect. Dis.* 2017; 64(12): 1737–41. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/cix219>
19. Vora N.M., Li Y., Geleishvili M., Emerson G.L., Khmaladze E., Maghlakelidze G., et al. Human infection with a zoonotic orthopoxvirus in the country of Georgia. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372(13): 1223–30. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1407647>
20. Cardeti G., Gruber C.E.M., Eleni C., Carletti F., Castilletti C., Manca G., et al. Fatal outbreak in Tonkean macaques caused by possibly novel orthopoxvirus, Italy, January 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(12): 1941–9. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2312.162098>
21. Gao J., Gigante C., Khmaladze E., Liu P., Tang S., Wilkins K., et al. Genome sequences of Akhmeta virus, an early divergent old world orthopoxvirus. *Viruses.* 2018; 10(5): 252. DOI: <https://doi.org/10.3390/v10050252>
22. Lanave G., Dowgier G., Decaro N., Albanese F., Brogi E., Parisi A., et al. Novel orthopoxvirus and lethal disease in Cat, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(9): 1665–73. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2409.171283>
23. Volchkov V.E., Volchkova V.A., Netesov S.V. Complete nucleotide sequence of the Eastern equine encephalomyelitis virus genome. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 1991; (5): 8–15. (in Russian)
24. Aguilar P., Adams A.P., Suarez V., Beingolea L., Vargas J., Manock S., et al. Genetic characterization of VEE virus from Bolivia, Ecuador and Peru: identification of a new subtype ID lineage. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3(9): e514. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000514>
25. Chang G.J., Trent D.W. Nucleotide sequence of the genomic region encoding the 26S mRNA of EEE virus and the deduced amino acid sequence of the viral structural proteins. *J. Gen. Virol.* 1987; 62(Pt. 8): 2129–42. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-8-2129>
26. Weaver S.C., Pfeffer M., Marriott K., Kang W., Kinney R.M. Genetic evidence for the origins of Venezuelan equine encephalitis virus subtype IAB outbreaks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999; 60(3): 441–8. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.60.441>
27. Arrigo N.C., Adams A.P., Weaver S.C. Evolutionary patterns of eastern equine encephalitis virus in North versus South America suggest ecological differences and taxonomic revision. *J. Virol.* 2010; 84(2): 1014–25. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.01586-09>
28. Forrester N.L., Weithelm J.O., Dugan V.G., Augustine A.J., Lin D., Adams A.P., et al. Evolution and spread of VEE complex alphaviruses in the Americas. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(8): e0005693. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005693>
29. Weaver S.C., Winegar R., Manger I.D., Forrester N.L. Alphaviruses: Population genetics and determinants emergence. *Antiviral Res.* 2012; 94(3): 242–57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.04.002>

## REFERENCES

1. Lwoff A., Tournier P. The classification of viruses. *Annu. Rev. Microbiol.* 1966; 20: 45–74. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.20.100166.000401>
2. Gintsburg A.L. Genodiagnosis of infectious diseases. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii.* 1998; 75(3): 86–95. EDN: <https://elibrary.ru/mozshn> (in Russian)
3. Glick B.R., Pasternak J.J. *Molecular Biotechnology. Principles and Applications of Recombinant DNA*. Washington: American Society for Microbiology; 1994.
4. Alekseeva A.E., Brusnigina N.F. Possibility and perspectives of massive parallel sequencing methods application in the diagnostics and epidemiological surveillance of infectious diseases. *Zhurnal Medits. Biol.* 2014; (2): 6–28. EDN: <https://elibrary.ru/sgxegt> (in Russian)
5. Eisenstein M. Oxford Nanopore announcement sets sequencing sector abuzz. *Nat. Biotechnol.* 2012; 30(4): 295–6. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt0412-295>
6. Kuznetsova I.V., Efremenko D.V., Kulichenko A.N. Applying principles of multi-factor genetic analysis of infectious disease agents in the work of the Rospotrebnadzor SAET during mass events. *Problemy osobo opasnykh infektsii.* 2018; (2): 68–72. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-2-68-72> EDN: <https://elibrary.ru/xrvhfz> (in Russian)
7. Behbehani A.M. The smallpox story: life and death of old disease. *Microbiol. Rev.* 1983; 47(4): 455–505. DOI: <https://doi.org/10.1128/mr.47.4.455-509.1983>
8. Onishchenko G.G., Maksimov V.A., Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Mel'nikov S.A. The topicality of return to smallpox vaccination: problems and prospects. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk.* 2006; (7): 32–8. EDN: <https://elibrary.ru/htvfyn> (in Russian)
9. Lofquist J.M., Weimert N.A., Hayney M.S. Smallpox: A review of clinical disease and vaccination. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 2003; 60(8): 749–56. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajhp/60.8.749>
10. Booss J., Davis L.E. Smallpox and smallpox vaccination. Neurological implications. *Neurology.* 2003; 60(8): 1241–5. DOI: <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000063319.64515.6b>
11. Fenner F. *Smallpox and Its Eradication*. Geneva: WHO; 1988.

30. Powers A.M., Huang H.V., Roehrig J.T., Strauss E.G., Weaver S.C. Togaviridae. In: King A.M.G., Adams M.J., Carstens E.B., Lefcowitz E.J., eds. *Virus Taxonomy, Ninth Report of International Committee on taxonomy of Viruses*. Oxford: Elsevier; 2011: 1103–10.
31. Kinney R.M., Pfeffer M., Tsuchiya K.R., Chang G.J., Roehrig J.T. Nucleotide sequences of 26S mRNAs of the viruses, defining the VEE antigenic complex. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998; 59(6): 952–64. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1998.59.952>
32. Quiroz E., Aguilar P.V., Cisneros J., Tesh R.B., Weaver S.C. Venezuelan equine encephalitis in Panama: fatal endemic disease and genetic diversity of etiologic viral strains. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3(6): e472. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000472>
33. Brault A.C., Powers A.M., Weaver S.C. Vector infection determinants of Venezuelan equine encephalitis virus reside within the E2 envelope glycoprotein. *J. Virol.* 2002; 76(12): 6387–92. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.76.12.6387-6392.2002>
34. Brault A.C., Powers A.M., Holmes E.C., Woelk C.H., Weaver S.C. Positively-charged amino acid substitutions in the E2 envelope glycoprotein are associated with the emergence of VEE virus. *J. Virol.* 2002; 76(4): 1718–30. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.76.4.1718-1730.2002>
35. Greene I.P., Paessler S., Austgen L., Anischenko M., Brault A.C., Bowen R.A., et al. Envelope glycoprotein mutations mediate equine amplification and virulence of epizootic VEE virus. *J. Virol.* 2005; 79(14): 9128–33. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.79.14.9128-9133.2005>
36. Anischenko M., Bowen R.A., Paessler S., Austgen L., Greene I.P., Weaver S.C. Venezuelan encephalitis emergence mediated by a phylogenetically predicted virus mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103(13): 4994–9. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0509961103>
37. Aguilar P.V., Estrada-Franco J.C., Navarro-Lopes R., Ferro C., Had-dow A.D., Weaver S.C. Endemic VEE in the Americas: Hidden under dengue umbrella. *Future Virol.* 2011; 6(6): 721–40. DOI: <https://doi.org/10.2217/FVL.11.5>
38. Sharma A., Knollmann-Ritchel B. Current understanding of molecular basis of VEE virus pathogenesis and vaccine development. *Viruses.* 2019; 11(2): 164. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11020164>
39. Lednicky J.A., White S.K., Mavian C.N., Badry M.A., Telisma T., Salemi M., et al. Emergence of Madariaga virus as cause of acute febrile illness of children, Haiti 2015. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(1): e006972. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006972>
40. Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* 2004; 32(5): 1792–7. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
41. Barrows N.J., Campos R.K., Liao K., Prasanth K.R., Soto-Acosta R., Yeh S., et al. Biochemistry and molecular biology of flaviviruses. *Chem. Rev.* 2018; 118(8): 4448–82. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00719>
42. Pierson T.C., Diamond M.S. Flaviviruses. In: Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Field virology*. Philadelphia; 2013: 714–94.
43. Karabatsos N. *International Catalogue of Arboviruses: Including Certain other Viruses of Vertebrates*. San Antonio: Published for the Subcommittee on Information Exchange of the American Committee on Arthropod-borne Viruses by the American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985.
44. Kuno G., Chang G.J., Tsuchiya K.R., Karabatsos N., Cropp C.B. Phylogeny of the genus Flavivirus. *J. Virol.* 1998; 72(1): 73–83. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.72.1.73-83.1998>
45. de Souza Lopes O., de Abreu Sacchetta L., Coimbra T.L., Pinto G.H., Glasser C.M. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. II. Epidemiologic studies on 1975 epidemic. *Am. J. Epidemiol.* 1978; 108(5): 394–401. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxford-journals.aje.a112637>
46. Saivish M.V., da Costa V.G., da Silva R.A., Dutra da Silva G.C., Menezes G., Moreli M.L. Rocio Virus: An updated view on an elusive flavivirus. *Viruses.* 2021; 13(11): 2293. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13112293>
47. Mitchell C.J., Monath T.P., Cropp C.B. Experimental transmission of Rocio virus by mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1981; 30(2): 465–72. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1981.30.465>
48. Tiriba A.C., Miziara A.M., Lorenço R., da Costa R.B., Costa C.S., Pinto G.H. Primary human epidemic encephalitis induced by Arbovirus found at the sea shore south of the State of São Paulo. Clinical study in an emergency hospital. *AMB Rev. Assoc. Med. Bras.* 1976; 22(11): 415–20. (in Portuguese)
49. Medeiros D.B., Nunes M.R., Vasconcelos P.F., Chang G.J., Kuno G. Complete genome characterization of Rocio virus (Flavivirus: Flaviviridae), a Brazilian flavivirus isolated from a fatal case of encephalitis during an epidemic in Sao Paulo state. *J. Gen. Virol.* 2007; 88(8): 2237–46. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.82883-0>
50. Faye O., Freire C.C., Imarino A., Faye O., Oliveira J.V.C., Diallo M., et al. Molecular evolution of Zika virus during its emerging in the 20<sup>th</sup> century. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(1): e2636. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002636>
51. Kiley M.P., Bowen E.T., Eddy G.A., Isaacson M., Johnson K.M., McCormick J.B., et al. Filoviridae: A taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirology.* 1982; 18(1-2): 24–32. DOI: <https://doi.org/10.1159/000149300>
52. Kuhn J.H., Becker S., Ebihara H., Geisbert T.W., Johnson K.M., Kawaoka Y., et al. Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Arch. Virol.* 2010; 155(12): 2083–103. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0814-x>
53. Biedenkopf N., Bukreyev A., Chandran K., Di Paola N., Formenty P.B.H., Griffiths A., et al. Renaming of genera Ebolavirus and Marburgvirus to Orthobolavirus and Orthomarburgvirus, respectively, and introduction of binomial species names within family Filoviridae. *Arch. Virol.* 2023; 168(8): 220. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05834-2>
54. Kuhn J.H., Adachi T., Adhikari N.K.J., Arribas J.R., Bah I.E., Bausch D.G., et al. New filovirus disease classification and nomenclature. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 17(5): 261–3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0187-4>
55. Le Guenno B., Formenty P., Wyers M., Gounon P., Walker F., Boesch C. Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. *Lancet.* 1995; 345(8960): 1271–4. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(95\)90925-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(95)90925-7)
56. Towner J.S., Sealy T.K., Khristova M.L., Albarino C.G., Conlan S., Reeder S.A., et al. Newly discovered Ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathog.* 2008; 4(11): e1000212. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000212>
57. Miranda M.E.G., Miranda N.L.J. Reston ebolavirus in humans and animals in the Philippines: A review. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3): 757–60. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jir296>
58. Goldstein T., Anthony S.J., Gbakima A., Bird B.H., Bangura J., Tremereau-Bravard A. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. *Nat. Microbiol.* 2018; 3(10): 1084–9. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0227-2>
59. de La Vega M.A., Stein D., Kobinger G.P. Ebolavirus evolution: past and present. *PLoS Pathog.* 2015; 11(11): e1005221. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005221>
60. Towner J.S., Khristova M.L., Sealy T.K., Vincent M.J., Erickson B.R., Bawies D.A., et al. Marburg virus genomics and association with a large hemorrhagic fever outbreak in Angola. *J. Virol.* 2006; 80(13): 6497–516. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00069-06>
61. Carroll S.A., Towner J.S., Sealy T.K., McMullan L.K., Khristova M.L., Burt F.J., et al. Molecular evolution of viruses of the family Filoviridae based on 97 whole-genome sequences. *J. Virol.* 2013; 87(5): 2608–16. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.03118-12>
62. He B., Feng Y., Zhang H., Xu L., Yang W., Zhang Y., et al. Filovirus RNA in fruit bats, China. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(9): 1675–7. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2109.150260>
63. Negrodo A., Palacios G., Vazquez-Moron S., Gonzales F., Dopazo H., Molero F., et al. Discovery of an Ebola-like filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011; 7(10): e1002304. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002304>
64. Di Paola N., Sanchez-Lockhart M., Zeng X., Kuhn J.H., Palacios G. Viral genomics in Ebola virus research. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18(7): 365–78. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0354-7>
65. Southern P.J. Arenaviridae: The viruses and their replication. In: Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M. *Fields Virology. Volume 1*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996: 1505–19.
66. Hallam S.J., Koma T., Maruyama J., Paessler S. Review of Mammarenavirus Biology and Replication. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 1751. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01751>
67. Munning J.T., Forester N., Paessler S.J.T. Lassa virus isolates from Mali and Ivory Coast represent an emerging fifth lineage. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 1037. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01037>

68. Whitmer S.L.M., Strecker T., Cadar D., Dienes H.P., Faber K., Patel K., et al. New lineage of Lassa virus Togo 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(3): 596–602. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2403.171905>
69. Charrel R.N., Feldmann H., Fulhorst C.F., Khelifa R., de Chesse R., de Lamballerie X. Phylogeny of New World arenaviruses based on the complete coding sequences of the small genomic segment identified an evolutionary lineage produced by intrasegmental recombination. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 296(5): 1118–24. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)02053-3](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)02053-3)
70. Li A., Liu L., Wu W., Liu Y., Huang X., Li C., et al. Molecular evolution and genetic diversity analysis of SFTS virus based on next-generation sequencing. *Biosaf. Health.* 2021; 3(02): 105–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bshealth.2021.02.002>
71. Ning Y.J., Feng K., Min Y.Q., Cao W.C., Wang M., Deng F., et al. Disruption of type I interferon signaling by the nonstructural protein of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus via the hijacking of STAT2 and STAT1 into inclusion bodies. *J. Virol.* 2015; 89(8): 4227–36. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00154-15>
72. Qu B., Qi X., Wu X., Liang M., Li C., Cardona C.J., et al. Suppression of the interferon and NF- $\kappa$ B responses by severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *J. Virol.* 2012; 86(16): 8388–401. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00612-12>
73. Huang X., Liu L., Du Y., Wu W., Wang H., Su J., et al. The evolutionary history and spatiotemporal dynamics of the fever, thrombocytopenia and leukocytopenia syndrome virus (FTLSV) in China. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(10): e3237. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003237>
74. Lam T.T., Liu W., Bowden T.A., Cui N., Zhuang L., Liu K., et al. Evolutionary and molecular analysis of the emergent severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *Epidemics.* 2013; 5(1): 1–10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2012.09.002>
75. 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. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.06192-11>
76. Xu B., Liu L., Huang X., Ma H., Zhang Y., Du Y., et al. Metagenomic analysis of fever, thrombocytopenia and leucopenia syndrome (FTLS) in Henan province, China: Discovery of a new Bunyavirus. *PLoS Patog.* 2011; 7(11): e1002369. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002369>
77. Liu L., Chen W., Yang Y., Jiang Y. Molecular evolution of fever, thrombocytopenia and leukocytopenia virus (FTLSV) based on whole-genome sequences. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 39: 55–63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.12.022>
78. Lefkowitz E.J., Dempsey D.M., Hendrickson R.C., Orton R.J., Siddell S.G., Smith D.B. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(D1): D708–17. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx932>

**Информация об авторах:**

**Сизикова Татьяна Евгеньевна** – канд. биол. наук, старший научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Сергиев Посад, Россия. <https://orcid.org/0000-0002-1817-0126>

**Лебедев Виталий Николаевич** – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Сергиев Посад, Россия. <https://orcid.org/0000-0002-6552-4599>

**Борисевич Сергей Владимирович**  – д-р биол. наук, профессор, академик РАН РФ, начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. E-mail: [48cnii@mil.ru](mailto:48cnii@mil.ru); <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

**Участие авторов:** Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. – разработка концепции, анализ литературы, написание статьи, окончательное одобрение статьи.

Поступила 06.05.2024  
Принята в печать 25.06.2024  
Опубликована 30.06.2024

**Information about the authors:**

**Tatiana E. Sizikova** – Ph. D. in Biology, 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-1817-0126>

**Vitaliy N. Lebedev** – D. Sc. in Biology, Professor, Leading Researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-6552-4599>

**Sergey V. Borisevich**  – D. Sc. in Biology, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Institute, 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. E-mail: [48cnii@mil.ru](mailto:48cnii@mil.ru); <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

**Contribution:** Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V. – concept development, literature analysis, article writing, final approval of the article.

Received 06 May 2024  
Accepted 25 June 2024  
Published 30 June 2024