

## МОЛЕКУЛЯРНО–ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОГЕННОСТИ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО СУБТИПА

Г.Н. Леонова<sup>1</sup>, Л.М. Сомова<sup>1</sup>, С.И. Беликов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, Владивосток, Россия

<sup>2</sup> Лимнологический институт, Иркутск, Россия

### Molecular-genetic characteristics of the tick-borne encephalitis virus pathogenicity of far eastern subtype

G.N. Leonova<sup>1</sup>, L.M. Somova<sup>1</sup>, S.I. Belikov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Science Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.P. Somov, Vladivostok, Russia

<sup>2</sup> Limnological Institute, Irkutsk, Russia

#### Резюме

*Цель работы:* используя данные полногеномного секвенирования штаммов дальневосточной популяции вируса клещевого энцефалита, выявить особенности молекулярно-генетической характеристики и их связь с патогенностью возбудителя.

*Материалы и методы.* Дана полногеномная характеристика 63 штаммов вирусного клещевого энцефалита, выделенных на территории Дальнего Востока и зарегистрированных в GeneBank. Проведено патоморфологическое исследование центральной нервной системы обезьян, зараженных высоковирулентными штаммами Sofjin и Хабаровский-17 вирусного клещевого энцефалита.

*Результаты.* Все штаммы отнесены к дальневосточному субтипу вирусного клещевого энцефалита и расположились в 3 кластерах, отмечена территориальная привязанность отдельных групп штаммов. В кластере Sofjin-подобных штаммов определились самостоятельные группы, изолированные на территориях только Приморского края, и отдельные группы – только на северных очаговых территориях (Хабаровский край). Кластер Senzhang-подобных штаммов представлен штаммами разных кластеров, изолированными в Китае и на всей территории Дальнего Востока. Кластер Oshima-подобных изолятов, кроме штаммов из Японии, состоит из штаммов, изолированных только на юге Дальнего Востока (в Приморском крае). Инкубационный период заболевания у экспериментальных животных был короче при заражении штаммом Sofjin (3–5 дней), чем при заражении штаммом Хабаровский-17 (7 и более дней). Выявлены штаммоспецифические различия по степени выраженности морфологических изменений в центральной нервной системе. Для приморских штаммов вирусного клещевого энцефалита характерна более высокая степень нейротравматичности с более быстрым развитием тяжелых проявлений нейроинфекции, по сравнению с хабаровскими штаммами.

*Выводы:* 1) на основе полногеномного секвенирования и филогенетического анализа 63 штаммов вирусного клещевого энцефалита выделены три основные кластера: Sofjin-, Senzhang- и Oshima-подобный; 2) в этих кла-

#### Abstract

*The aim of the work:* Using the data of genome-wide sequencing of tick-borne encephalitis virus strains of the Far Eastern population, reveal the peculiarities of the molecular-genetic characteristics and their relationship with the pathogenicity of the agent.

*Materials and methods.* A full-genomic characteristic of 63 TBEV strains isolated in the Far East and registered in GeneBank was given. A pathohistological study of the central nervous system of monkeys infected with the highly virulent strains Sofjin and Khabarovsk-17 TBEV was conducted.

*Results.* All strains are assigned to the Far Eastern subtype of TBEV and are located in three clusters, the territorial attachment of individual strains groups is noted. In the cluster of Sofjin-like strains, independent groups were identified, isolated in the territories of Primorsky Krai only, and separate groups – only in northern focal territories (Khabarovsk Krai). The cluster Senzhang-like strains are represented by strains of different clusters, isolated in China and throughout the Far East. The Oshima-like cluster of strains, except for strains from Japan, consists of strains isolated only in the south of the Far East (in Primorsky Krai). The incubation period of the disease in experimental animals was shorter when infected with the Sofjin strain (3–5 days) than when infected with the Khabarovsk-17 strain (7 days or more). The strain-specific differences in the severity of morphological changes in the central nervous system were revealed. For primorsky TBEV strains, a higher degree of neuroinvasiveness was characterized with a more rapid development of severe manifestations of neuroinfection, compared to khabarovsky strains.

*Findings:* 1) based on full-genome sequencing and phylogenetic analysis of 63 TBEV strains, three main clusters were distinguished: Sofjin-, Senzhang- and Oshima-like; 2) in these clusters, territorial attachment of TBEV strains groups with a certain molecular genetic characteristic was established; 3) in primorsky TBEV strains, genetically determined advantages in the degree of neuroinvasiveness have been revealed, which provide them with the ability to more quickly overcome the blood-brain barrier compared to khabarovsky strains.

стерах установлена территориальная привязанность групп штаммов вирусного клещевого энцефалита, имеющих определенную молекулярно-генетическую характеристику; 3) у приморских штаммов вирусного клещевого энцефалита выявлены генетически детерминированные преимущества в степени нейроинвазивности, обеспечивающие им способность более быстрого преодоления гематоэнцефалического барьера по сравнению с хабаровскими штаммами.

**Ключевые слова:** вирус клещевого энцефалита, молекулярно-генетическая характеристика штаммов, кластеры, патогенность.

## Введение

До настоящего времени в разных регионах Евразийского континента проблема клещевого энцефалита (КЭ) не теряет своей актуальности. Еще в 1937 г. первооткрыватель вируса КЭ Л.А. Зильбер [1] понимал, что главным доказательством верификации случаев неизвестного заболевания является выделение возбудителя. За весь более чем 80-летний период изучения в разных вирусологических лабораториях созданы большие коллекции штаммов вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), проведены всесторонние исследования этого возбудителя. На основании изучения особенностей антигенной характеристики ВКЭ был определен как основной представитель серологической группы вирусов комплекса КЭ [2–4].

Многочисленная коллекция штаммов ВКЭ, изолированных в разных регионах Евразийского континента, требовала объективной оценки их характеристики, которую можно получить только на основании полногеномного секвенирования [5]. Определение нуклеотидной последовательности является незаменимой основой как для изучения известных в настоящее время видов вирусов, так и для идентификации и характеристики новых вирусов. Согласно таксономии вирусов Международного комитета [6], вирус КЭ относится к семейству *Flaviviridae*, роду *Flavivirus*. В 1990 г. впервые был прочитан полный геном ВКЭ [7], для чего был избран штамм Sofjin, изолированный в 1937 г. из мозга умершей пациентки, заражение которой произошло на территории Приморского края (Дальний Восток России). Штамм Sofjin, признанный как прототипный для всех штаммов ВКЭ, по мере накопления данных по их молекулярно-генетической характеристике на разных территориях Евразийского континента стал эталонным для группы штаммов ВКЭ дальневосточного субтипа.

**Цель исследования** – используя данные полногеномного секвенирования штаммов дальневосточной популяции вируса клещевого энцефалита, выявить особенности молекулярно-генетической характеристики и их связь с патогенностью возбудителя.

**Key words:** tick-borne encephalitis virus (TBEV), molecular genetic characteristics of strains, clusters, pathogenicity.

## Материалы и методы

В настоящий анализ включены 63 изолята с полногеномной характеристикой, зарегистрированные в GeneBank. Все штаммы ВКЭ выделены на территории природных очагов Дальнего Востока. Из них о результатах полногеномного секвенирования 48 штаммов, изолированных от людей с разными формами КЭ в Приморском крае, было сообщено нами ранее [8–10]. Остальные штаммы из Хабаровского края включены в настоящий анализ, с использованием данных GeneBank.

Филогенетическое дерево Neighbor-Joining, Model JTT, основанное на анализе транслированных последовательностей полипротеина ВКЭ, построено по N. Saitou [11]. В качестве аутгруппы выбрана последовательность штамма Аина сибирского субтипа ВКЭ (acc # JN003206).

На информативной модели обезьян, близкой к человеку, показаны особенности патологии, вызванной двумя высоковирулентными штаммами, изолированными от людей с летальными исходами в Приморском (штамм Sofjin) и Хабаровском (штамм Хабаровский-17) краях. Гистологическими методами изучали фронтальные срезы головного мозга, поперечные срезы продолговатого и спинного мозга. Исследовали кору головного мозга, подкорковые узлы, зрительный бугор, ствол, мозжечок, шейный и поясничный отделы спинного мозга. Материал фиксировали в 10% формалине, жидкости Карнуа, обезвоживали в этиловом спирте возрастающей концентрации (70, 80, 96, 100%), затем заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 5 мк депарафинировали и окрашивали гематоксилином-эозином, крезильным фиолетовым по Нисслю.

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г.

## Результаты и обсуждение

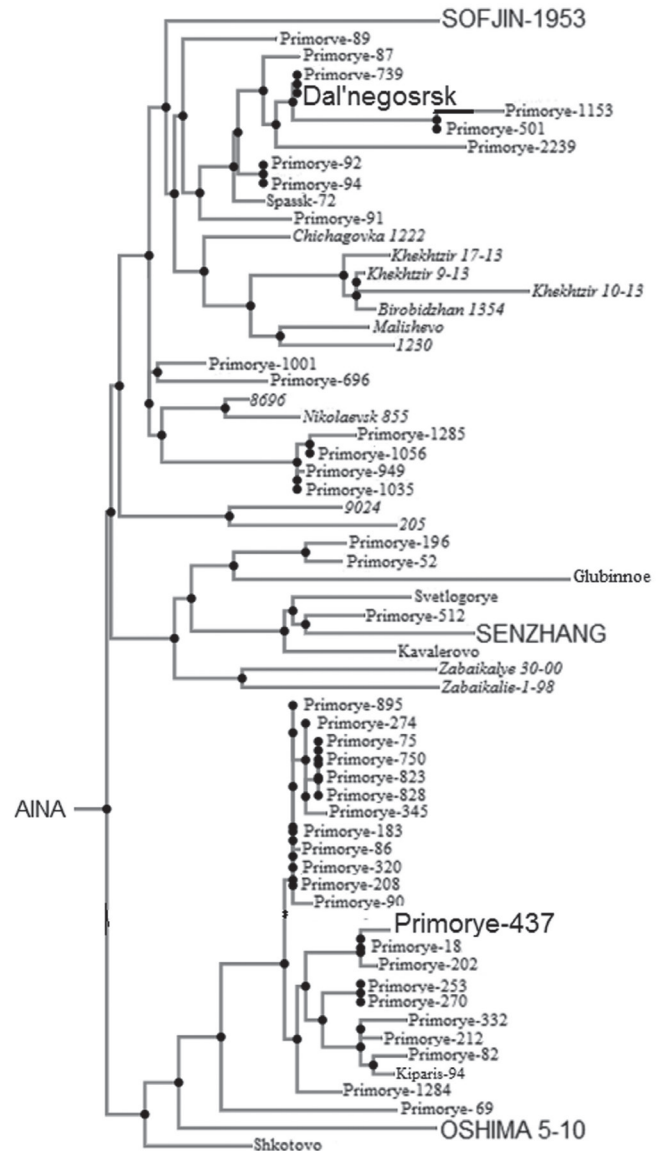
### Молекулярно-генетическая характеристика штаммов вируса клещевого энцефалита, изолированных на Дальнем Востоке

На основе полногеномного секвенирования проведен анализ молекулярно-генетических особенностей штаммов ВКЭ, изолированных в дальневосточном регионе. С помощью филогенетического анализа 63 штаммов ВКЭ установлена вариабельность вирусной популяции и выделены 3 основных кластера. В них вошли изоляты, близкие к штамму Sofjin, выделенному из мозга умершей пациентки в 1937 г. в Приморском крае [1], к штамму Senzhang, выделенному в 1953 г. на территории Хейлунцзянской провинции Китая [12], и к штамму Oshima, впервые выделенному в 1997 г. на территории о. Хоккайдо в Японии [13]. На рисунке 1 представлена схема филогенетического дерева дальневосточных штаммов, на котором выделены жирным шрифтом кластер-образующие штаммы. Для упрощения схемы в анализ взят только один вариант штамма Sofjin-1953, остальные варианты штаммов Sofjin, имеющиеся в разных лабораториях мира и охарактеризованные нами ранее [10], мы не рассматривали. Также в нашей схеме представлены только по одному штамму из Китая (Senzhang) и из Японии (Oshima 5–10) [14] в качестве типичных представителей этих групп штаммов. В качестве аут-группы выбран штамм Aina вируса КЭ сибирского субтипа, выделенный в 1963 г. в Иркутской области.

Штаммы кластера Sofjin-подобные проявили генетическую гетерогенность, в нем сформировались две большие группы штаммов ВКЭ: группа из Приморского края, ранее подробно описанная нами [9], и отдельная группа штаммов, выделенных в Хабаровском крае. Кроме того, в этом кластере определились еще 4 ветви, состоящие или из приморских, или из хабаровских штаммов.

Во второй кластер Senzhang-подобных штаммов вошли изоляты, выделенные как в Приморском, так и в Хабаровском крае, что указывает на широкое распространение штаммов этого кластера на Дальнем Востоке, включая северную территорию Китая.

Третий кластер Oshima-подобных штаммов представлен в основном изолятами, вызвавшими инаппарантные формы КЭ на южной очаговой территории Приморского края. Штаммы из этой группы по молекулярно-генетической структуре подразделены на две подгруппы, которые существенно отличаются от остальных дальневосточных штаммов из других кластеров.



**Рис. 1.** Филогенетическое дерево штаммов вируса клещевого энцефалита. Дерево построено на основе полных геномов 63 штаммов вируса, выделенных на Дальнем Востоке (NJ — distance method neighbor-joining). Прототипные штаммы в каждом из трех кластеров показаны заглавными буквами. Штаммы Хабаровского края выделены курсивом

### Патогенетические особенности инфекционного процесса у обезьян, зараженных высоковирулентными дальневосточными штаммами вируса клещевого энцефалита

Клещевой энцефалит у человека на Дальнем Востоке характеризуется как тяжело протекающая нейроинфекция (среднемноголетний показатель летальности составляет 17%) [15]. Заболевание проявляется разнообразными клиническими синдромами, свидетельствующими о многоуровневом вовлечении в патологический процесс центральной

нервной системы (ЦНС), что многократно было подтверждено при морфологических исследованиях мозга погибших пациентов [16–18].

Патоморфология ЦНС у обезьян, зараженных высоковирулентными штаммами Sofjin и Хабаровский-17, выделенными из мозга погибших пациентов, является важным дополнением к комплексной характеристике дальневосточной популяции ВКЭ. Эти штаммы принадлежат к типичным представителям ВКЭ дальневосточного субтипа. Инкубационный период заболевания у экспериментальных животных был короче при заражении штаммом Sofjin (3–5 дней), чем при заражении штаммом Хабаровский-17 (7 и более дней).

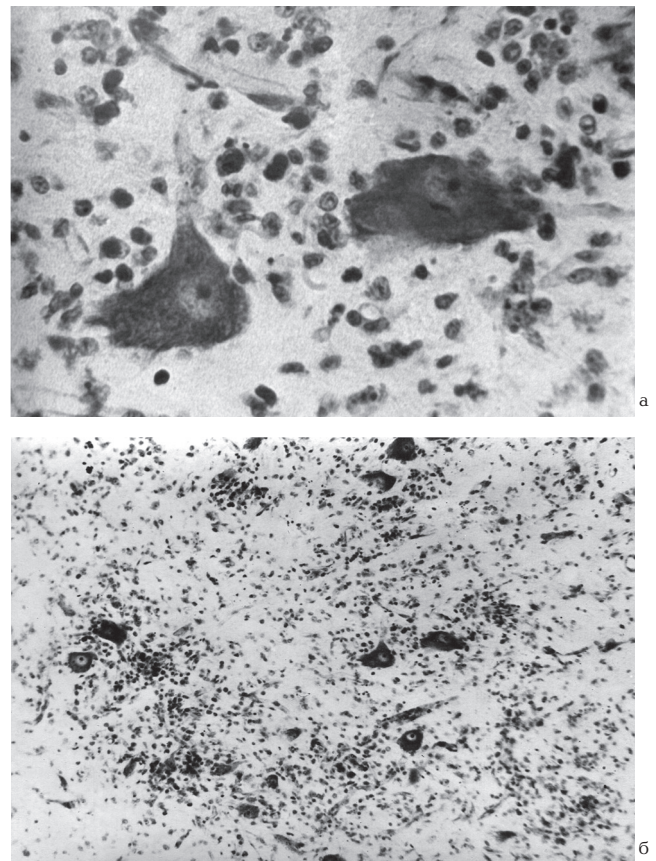
Заболевание характеризовалось тоническими и клоническими судорогами, глазодвигательными нарушениями, вялыми парезами и параличами проксимальных отделов верхних и нижних конечностей, парезом шейных мышц. Детальное микроскопическое исследование ЦНС обезьян, зараженных в мозг штаммами Sofjin (№ 315 и 316) и Хабаровский-17 (№ 820, 823 и 824), показало наличие у всех животных деструктивно-воспалительных изменений различной степени тяжести, что находилось в непосредственной связи с длительностью течения инфекции.

Начальные воспалительные изменения обнаруживались уже в инкубационном периоде заболевания. При развитии клинических симптомов КЭ с возникновением менингеальных явлений, судорог, парезов конечностей при микроскопическом исследовании обнаружены однотипные, диффузные во всех отделах ЦНС, но неодинаковые по интенсивности изменения. На ранних стадиях острого КЭ морфологические изменения отличались очаговостью, заметной ограниченностью, малой распространенностью. Увеличение длительности течения процесса сопровождалось усилением тяжести морфологических изменений, наличием обширных сливающихся очагов поражения, охватывавших различные отделы мозга. У всех исследованных обезьян патологический процесс характеризовался как диффузный менингоэнцефаломиелит.

У обезьяны № 315 на 8-й день после заражения штаммом Sofjin (3-й день клиники) при умеренной выраженности изменений в зрительных буграх, подкорковых узлах, среднем и продолговатом мозге обнаружены отдельные периваскулярные инфильтраты, сопровождающиеся пролиферативной реакцией микроглии и олигодендроглии и образованием рыхлых глиальных узелков вблизи сосудов. В спинном мозге очаговые изменения были распространены на всем его протяжении. Наблюдались дистрофические изменения мотонейронов — частичный и тотальный хроматолиз, нейронофагия, которые сопровождались наличием еди-

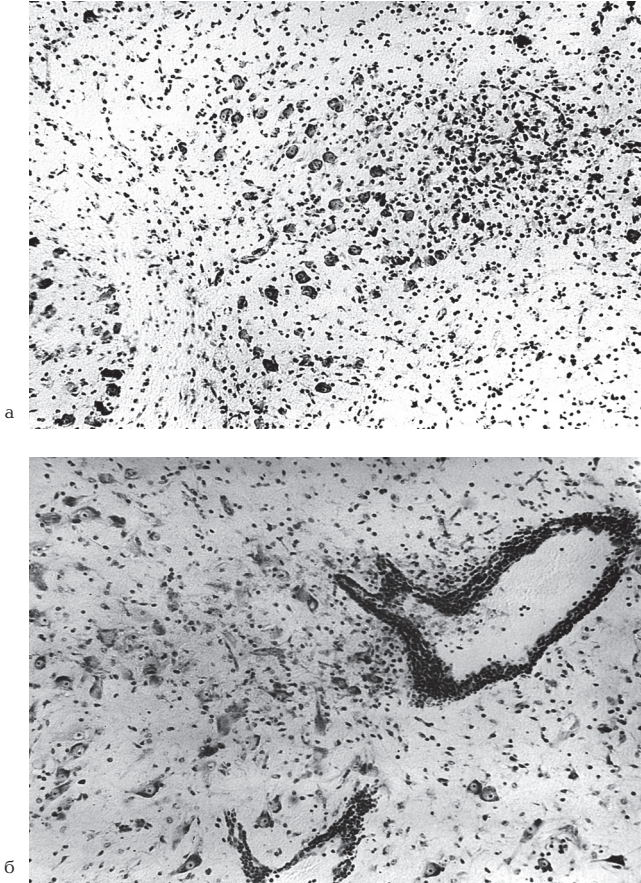
ничных периваскулярных муфт, васкулитов, диффузной и очаговой реакцией глии. Выраженные изменения отмечались в мозжечке с выпадением клеток Пуркинье и поражением ядер внутренней формации мозжечка.

В этот же срок у другой обезьяны (№ 316), зараженной штаммом Sofjin, выявлены более интенсивные воспалительно-дегенеративные изменения, диффузно распространенные в различных отделах головного и спинного мозга, а также в мозжечке с субтотальным выпадением клеток Пуркинье и образованием на их месте вала из гиперплазированных глиальных клеток. В продолговатом и спинном мозге в инфильтратах определялось большое количество полиморфноядерных лейкоцитов, что свидетельствовало об остроте развития патологического процесса. Деструктивные изменения нейронов сочетались с выраженной диффузной и очаговой глиальной реакцией, диффузной инфильтрацией вещества мозга гематогенными элементами (рис. 2).



**Рис. 2.** Патогистологические изменения в центральной нервной системе обезьяны № 316, зараженной штаммом Sofjin (8-й день после заражения): а — поражение мотонейронов, нейронофагические узелки, диффузные воспалительные изменения в переднем роге  $L_4$  сегмента спинного мозга. Окраска по Нислю. Ув.  $\times 112,5$ ; б — тяжелое изменение мотонейронов, диффузная инфильтрация гематогенными клеткам (моноциты/макрофаги, плазмоциты). Окраска по Нислю. Ув.  $\times 500$

Инкубационный период у обезьян, зараженных штаммом Хабаровский-17, составил 7 дней. У обезьяны № 820 на 3-й день от начала клинических проявлений заболевания воспалительно-деструктивные изменения наблюдались во всех отделах головного и спинного мозга, наиболее выраженные в среднем и продолговатом мозге (рис. 3а). Наблюдалась гибель большого количества нервных клеток, преимущественно за счет лизиса, диффузная пролиферация глии, массивные периваскулярные «муфты» из мононуклеарных клеток.



**Рис. 3.** Патогистологические изменения в центральной нервной системе обезьян, зараженных штаммом Хабаровский-17: а — повреждение нейронов, глиальная реакция и периваскулярная инфильтрация в черной субстанции среднего мозга (обезьяна № 820, 10-й день после заражения). Окраска по Ниссляу. Ув.  $\times 112,5$ ; б — выпадение нейронов и воспалительная инфильтрация в нижней оливе (обезьяна № 823, погибшая на 12-й день после заражения). Окраска по Ниссляу. Ув.  $\times 112,5$

Дальнейший анализ патологического процесса в ЦНС, вызванного штаммом Хабаровский-17, проведен при исследовании двух обезьян, погибших на 12-й день после заражения. Диффузный воспалительный процесс охватил все отделы ЦНС, начиная от коры больших полушарий и кончая спинным мозгом. Несмотря на различную тяжесть

поражения, в ЦНС обеих обезьян наблюдался сходный характер морфологических изменений, отражающих одинаковую давность патологического процесса по протяженности и глубине повреждения ткани мозга.

У обезьяны № 823, у которой развился правосторонний гемипарез и левосторонняя гемиплегия, в головном и спинном мозге обнаружены тяжелые изменения с выраженной деструктивной компонентой, четкой воспалительной реакцией, диффузным распространением процесса (рис. 3 б).

Следует отметить, что наибольшее деструктивно-воспалительное поражение касалось черного вещества Зоммеринга, которое наблюдалось у всех зараженных обезьян и имело большую тяжесть, по сравнению с другими образованиями даже в случаях с умеренным поражением ЦНС. В динамике патологического процесса, вызванного у обезьян штаммом Sofjin и штаммом Хабаровский-17 вируса КЭ, в зависимости от длительности течения прослеживалась различная давность морфологических изменений в ЦНС, судя по составу воспалительных инфильтратов и характеру поражения паренхимы мозга. Лейкоцитарная инфильтрация всегда являлась признаком острого процесса на ранних сроках и бурного темпа его развития. Наличие очагов поражения различной давности в ЦНС при КЭ у человека отмечено рядом исследователей [17, 19].

Анализ результатов исследований показал, что при выраженной гетерогенности молекулярно-генетической структуры штаммов все 63 изолята заняли позиции в группе штаммов ВКЭ дальневосточного субтипа. Хотя Международный комитет по таксономии вирусов [6] не придает таксономического значения субтипам и ВКЭ считается единым видом, в то же время полученные нами данные по полногеномному секвенированию большой коллекции штаммов ВКЭ дальневосточного субтипа свидетельствуют о территориальной привязанности отдельных групп штаммов, имеющих определенную молекулярно-генетическую характеристику.

В кластере Sofjin-подобных штаммов определились самостоятельные группы ВКЭ, изолированного на территориях только южных отрогов Сихотэ-Алиня (Приморский край), и отдельные группы штаммов — только на северных очаговых территориях Дальнего Востока (Хабаровский край). Кластер Senzhang-подобных штаммов представлен ВКЭ из разных кластеров, изолированных в Китае и на всей территории Дальнего Востока. Кластер Oshima-подобных изолятов, кроме штаммов из Японии, включает изоляты только юга Дальнего Востока.

Эти результаты свидетельствуют о том, что, по сравнению с другими регионами, на южных

очаговых территориях Дальнего Востока более выражено генетическое разнообразие вирусной популяции. Здесь определена группа штаммов, способных чаще вызывать легкие и инашарантные формы КЭ. Выраженные различия биологических свойств были показаны нами ранее на примере штаммов Dal'negorsk и Primorye-437, принадлежащих к двум разным кластерам вируса КЭ дальневосточного субтипа (Sofjin-подобные и Oshima-подобные). Разная скорость накопления этих штаммов ВКЭ в культуральной жидкости зараженных клеток СПЭВ при одновременном изучении гемагглютинирующей, бляшкообразующей активности и по показателю К антигена в ИФА выявила различия их репликативной активности [19].

Как установлено нами ранее, различия биологических характеристик штаммов ВКЭ из этих кластеров зависят, в первую очередь, от выявленных замен аминокислот в полипротеине [9, 19, 20]. В полипротеине этих двух штаммов из 3414 аминокислотных остатков 3374 оказались совпадающими, из которых 34 замены аминокислот — синонимичные и лишь 6 аминокислотных замен — несинонимичные. Кроме того, в штаммах ВКЭ, не вызвавших манифестные формы инфекции, в капсидном белке определена типичная делеция одной аминокислоты [9]. Выявленные особенности таких штаммов детерминируют сниженную патогенность и относительную безопасность их для человека.

Из истории открытия ВКЭ известно, что в 1937 г. южным отрядом экспедиции был изолирован штамм Sofjin, которым Л.А. Зильбер, А.Д. Шиболдаева и А.К. Шубладзе заразили обезьян, что позволило впервые воспроизвести заболевание на этих животных [21]. Патогенетические особенности инфекционного процесса на экспериментальной модели обезьян, зараженных высоковирулентными дальневосточными штаммами ВКЭ (Sofjin и Хабаровский-17), расширили первоначальные представления о морфогенезе изменений в ЦНС при очаговых формах клещевого энцефалита у человека [22].

И если штамм Sofjin, выделенный в Приморском крае, на основе полного генома определен как эталонный для всей группы дальневосточных штаммов ВКЭ, то штамм Хабаровский-17 с ранее прочитанным небольшим фрагментом гена Е белка (201 нуклеотид, Асс. No AY363846) на рисунке 1 филогенетического дерева не значится. Но на основании сравнительного анализа этого короткого фрагмента гена Е белка штамма Хабаровский-17 и 63 исследованных штаммов ВКЭ оказалось, что он близок не к приморским, а только к хабаровским изолятам Nikolaevsk 855, Chichagovka 1222, 8696 и 205.

Локализация морфологических изменений у обезьян, зараженных штаммами ВКЭ дальневосточного субтипа, тождественна топографии поражений, впервые детально описанной И.А. Робинзон и Ю.С. Сергеевой [23] на секционном материале у погибших больных на Дальнем Востоке. Наиболее поражаемыми образованиями являлись: передние рога спинного мозга, особенно в шейном отделе, кора (клетки Пуркинье) и собственные ядра мозжечка, черная субстанция, вестибулярные ядра, ретикулярная формация, нижние оливы, зрительные бугры, подкорковые узлы [23].

На экспериментальной модели в различные сроки после заражения ВКЭ удалось выявить определенную последовательность включения в патологический процесс структурных образований ЦНС и отметить его четкую системность, а также некоторые штаммоспецифические различия по степени выраженности морфологических изменений. Для приморских штаммов ВКЭ характерна более высокая степень нейроинвазивности с более быстрым развитием тяжелых проявлений нейроинфекции, по сравнению с хабаровскими штаммами.

### Выводы

1. На основе полногеномного секвенирования и филогенетического анализа 63 штаммов ВКЭ выделены три основных кластера: Sofjin-, Senzhang- и Oshima- подобный.

2. В этих кластерах установлена территориальная привязанность групп штаммов ВКЭ, имеющих определенную молекулярно-генетическую характеристику.

3. У приморских штаммов ВКЭ выявлены генетически детерминированные преимущества в степени нейроинвазивности, обеспечивающие им способность более быстрого преодоления гематоэнцефалического барьера по сравнению с хабаровскими штаммами.

### Литература

1. Зильбер, Л.А. Весенний (весенне-летний) эндемический клещевой энцефалит / Л.А. Зильбер // Арх. биол. наук. — 1939. — № 56 (2). — С. 9–37.
2. Casals J. Biology of viruses of tick-borne-encephalitis complex. 1962; Symposia CSAV, 53.
3. Clarke DH. Antigenic relationship among viruses of the tick-borne encephalitis complex as studied by antibody adsorption and agar gel precipitin techniques. In Symposium on the Biology of Viruses of the Tick-Borne Encephalitis Complex, 1962; 67-75. Edited by H. Libikova. New York: Academic Press.
4. Calisher, CH, Karabatsos, N, Dalrymple, JM, Shope, RE, Porterfield, JS, Westaway, EG & Brandt, WE. Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests and polyclonal antisera. J.Gen. Virol. 1989;70,37-43. PMID: 2543738 DOI: 10.1099/0022-1317-70-1-37
5. King AMQ, Adams MJ, Carstens EB and Lefkowitz EJ. Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth

Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Edited by: King AMQ, Lefkowitz E, Adams MJ Carstens E B. San Diego: Elsevier, 2012;1003-1020.

6. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) Release, EC 48, Budapest, Hungary, August 2016: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>.

7. Pletnev AG, Yamshchikov VF, Blinov VM. Nucleotide sequence of the genome and complete amino acid sequence of the polyprotein of tick-borne encephalitis virus. *Virology*, 1990; 174(1):250–263. PMID: 2136778

8. Leonova GN, Belikov SI, Kondratov IG, Takashima I Comprehensive assessment of the genetics and virulence of TBEV strains isolated from patients with inapparent and clinical forms of the infection in the Russian Far East. *Virology*, 2013; 443:89–98. PMID: 23735441

DOI: 10.1016/j.virol.2013.04.029.

9. Belikov SI, Kondratov IG, Potapova UV, Leonova GN. The relationship between the structure of the tick-borne encephalitis virus strains and their pathogenic properties. *PLoS One*. 2014;9(4):e94946. doi:10.1371/journal.pone.0094946. PMID: 24740396 <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0094946> eCollection; 2014.

10. Leonova GN, Belikov SI, Kondratov IG. Characteristics of far eastern strains of tick-borne encephalitis virus. *Arch Virol*. 2017; DOI 10.1007/s00705-017-3309-1.

11. Saitou N, Nei M «The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees». *Molecular Biology and Evolution*. 1987;4 (4): 406–425. PMID: 3447015. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.

12. Zhang Y, Si Bing-Yin, Liu Bo-Hua, Chang Guo-Hui, Yang Yin-Hui, Huo Qiu-Bo, Zheng Yuan-Chun, Zhu Qing-Yu Complete genomic characterization of two tick-borne encephalitis viruses isolated from China. *Virus Res*. 2012;167:310–331. DOI: 10.1016/j.virusres.2012.05.015.

13. Takashima I, Morita K, Chiba M et al. A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the virus. *J Clin Microbiol*. 1997;35:1943–1947. PMID: 9230360

14. Chiba N, Iwasaki T, Mizutani T, Kariwa H, Kurata T, Takashima I. Pathogenicity of tick-borne encephalitis virus isolated in Hokkaido, Japan in mouse model. *Vaccine* 1999;17(7-8):779–787. PMID: 10067683

15. Леонова, Г.Н. Динамика эпидемической ситуации по клещевому энцефалиту на Дальнем Востоке / Г.Н. Леонова // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2015. — № 3 (82), т. 14. — С. 17–22.

16. Панов, А.Г. Клещевой энцефалит / А.Г. Попов. — Л.: Медгиз, 1956.

17. Somova LM, Leonova GN, Plekhova NG, Kaminsky YuV., Phisenko AYU. The Pathomorphology of Far Eastern Tick-Borne Encephalitis. In: *Encephalitis* (ed. Sergey Tkachev); INTECH, 2012; Croatia:113-144.

18. Шаповал, А.Н. Клещевой энцефаломиелит / А.Н. Шаповал. — Л.: Медицина, 1980.

19. Leonova GN, Maistrovskaya OS, Kondratov IG, Takashima I, Belikov SI. The nature of replication of tick-borne encephalitis virus strains isolated from residents of the Russian Far East with inapparent and clinical forms of infection. *Virus Res*. 2014;189: 34-42. PMID: 24747117 DOI:10.1016/j.virusres.2014.04.004

20. Potapova UV, Feranchuk SI, Potapov VV, Kulakova NV, Kondratov IG, Leonova GN, Belikov SI. NS2B/NS3 protease: allosteric effect of mutations associated with the pathogenicity of tick-borne encephalitis virus. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* iFirst: 2012;1–14. DOI:10.1080/07391102.2012.689697

21. Погодина, В.В. 75-летие открытия вируса клещевого энцефалита. Сравнение ранних (1937–1945) и современных штаммов / В.В. Погодина [и др.] // *Вопр. вирусол.* — 2012. — Спец. выпуск, посвященный 120-й годовщине со дня открытия вирусов русским ученым Д.И. Ивановским. — С. 66–75.

22. Робинзон, И.А. О локализации воспалительных изменений при весенне-летнем менингоэнцефаломиелите / И.А. Робинзон, Ю.С. Сергеева // *Журн. невропат. и психиатрии им. Корсакова.* — 1940. — Т. 9, № 1–2. — С. 31–37.

23. Робинзон, И.А. Общие вопросы патогенеза и патологической анатомии вирусных поражений нервной системы / И.А. Робинзон // *Менингиты и энцефалиты у детей / М.Б. Цукер.* — М., 1975. — С. 5–72.

## References

1. Zilber LA (1939) Spring (Spring-Summer) endemic tick-borne encephalitis. *Arkiv Biol Nauk.*; 56(2):9–37 (Russian)

2. Casals J. Biology of viruses of tick-borne-encephalitis complex. 1962; *Symposia CSAV*, 53.

3. Clarke DH. Antigenic relationship among viruses of the tick-borne encephalitis complex as studied by antibody adsorption and agar gel precipitin techniques. In *Symposium on the Biology of Viruses of the Tick-Borne Encephalitis Complex*, 1962; 67-75. Edited by H. Libikova. New York: Academic Press.

4. Calisher, CH, Karabatsos, N, Dalrymple, JM, Shope, RE, Porterfield, JS, Westaway, EG & Brandt, WE. Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests and polyclonal antisera. *J.Gen. Virol.* 1989;70,37-43. PMID: 2543738 DOI: 10.1099/0022-1317-70-1-37

5. King AMQ, Adams MJ, Carstens EB and Lefkowitz EJ. Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Edited by: King AMQ, Lefkowitz E, Adams MJ Carstens E B. San Diego: Elsevier, 2012;1003-1020.

6. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) Release, EC 48, Budapest, Hungary, August 2016: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>.

7. Pletnev AG, Yamshchikov VF, Blinov VM. Nucleotide sequence of the genome and complete amino acid sequence of the polyprotein of tick-borne encephalitis virus. *Virology*, 1990; 174(1):250–263. PMID: 2136778

8. Leonova GN, Belikov SI, Kondratov IG, Takashima I Comprehensive assessment of the genetics and virulence of TBEV strains isolated from patients with inapparent and clinical forms of the infection in the Russian Far East. *Virology*, 2013; 443:89–98. PMID: 23735441 DOI: 10.1016/j.virol.2013.04.029.

9. Belikov SI, Kondratov IG, Potapova UV, Leonova GN. The relationship between the structure of the tick-borne encephalitis virus strains and their pathogenic properties. *PLoS One*. 2014;9(4):e94946. doi:10.1371/journal.pone.0094946. PMID: 24740396 <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0094946> eCollection; 2014.

10. Leonova GN, Belikov SI, Kondratov IG. Characteristics of far eastern strains of tick-borne encephalitis virus. *Arch Virol*. 2017; DOI 10.1007/s00705-017-3309-1.

11. Saitou N, Nei M «The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees». *Molecular Biology and Evolution*. 1987;4 (4): 406–425. PMID: 3447015. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.

12. Zhang Y, Si Bing-Yin, Liu Bo-Hua, Chang Guo-Hui, Yang Yin-Hui, Huo Qiu-Bo, Zheng Yuan-Chun, Zhu Qing-Yu Complete genomic characterization of two tick-borne encephalitis viruses isolated from China. *Virus Res*. 2012;167:310–331. DOI: 10.1016/j.virusres.2012.05.015.

13. Takashima I, Morita K, Chiba M et al. A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the virus. *J Clin Microbiol.* 1997;35:1943 – 1947. PMID: 9230360
14. Chiba N, Iwasaki T, Mizutani T, Kariwa H, Kurata T, Takashima I. Pathogenicity of tick-borne encephalitis virus isolated in Hokkaido, Japan in mouse model. *Vaccine* 1999;17(7-8):779 – 787. PMID: 10067683.
15. Leonova G.N. The epidemic situation dynamics of tick-borne encephalitis in the Far East. *Epidemiology and vaccine prevention* 2015, No. 3 (82), 14, P.17-22
16. Panov AG. Tick-borne encephalitis (1956). Leningrad: Medgiz. (Russian).
17. Somova LM, Leonova GN, Plekhova NG, Kaminsky YuV., Phisenko AYU. The Pathomorphology of Far Eastern Tick-Borne Encephalitis. In: *Encephalitis* (ed. Sergey Tkachev); INTECH, 2012;Croatia:113-144.
18. Shapoval AN. Tick-borne encephalomyelitis (1980) Leningrad: Medicine. (Russian).
19. Leonova GN, Maystrovskaya OS, Kondratov IG, Takashima I, Belikov SI. The nature of replication of tick-borne encephalitis virus strains isolated from residents of the Russian Far East with inapparent and clinical forms of infection. *Virus Res.* 2014;189: 34-42. PMID: 24747117 DOI:10.1016/j.virusres.2014.04.004
20. Potapova UV, Feranchuk SI, Potapov VV, Kulakova NV, Kondratov IG, Leonova GN, Belikov SI. NS2B/NS3 protease: allosteric effect of mutations associated with the pathogenicity of tick-borne encephalitis virus. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* iFirst: 2012;1 – 14. DOI:10.1080/07391102.2012.689697
21. Pogodina V.V., Karan L.S., Levina L.S., Kolyasnikova N.M., Gerasimov S.G., Malenko G.V. 75-anniversary of the tick-borne encephalitis discovery. Comparison of historical (1937 – 1945) and modern strains of tick-borne encephalitis virus. *Vopr. virusol.*, 2012. Spec. issue dedicated to the 120th anniversary of the discovery of viruses by Russian scientists D.I. Ivanovsky - C.66-75.
22. Robinson IA, Sergeeva YuS. (1940). On the localization of inflammatory changes in spring-summer meningoencephalomyelitis // *J. Neuropath. Psych.* 9 (1-2): 31-37 (Russian).
23. Robinson IA. (1975). General questions of pathogenesis and pathological anatomy of viral lesions of the nervous system. In: *Zucker MB. Meningitis and encephalitis in children.* Moscow: 5-72 (Russian).

---

*Авторский коллектив:*

*Леонова Галина Николаевна* – главный научный сотрудник лаборатории природно-очаговых трансмиссивных инфекций Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, д.м.н., профессор; тел.: +7-966-280-28-45, e-mail: galinaleon41@gmail.com

*Сомова Лариса Михайловна* – д.м.н, профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, д.м.н., профессор; тел.: +7-914-791-22-18, e-mail: l\_somova@mail.ru

*Беликов Сергей Иванович* – главный научный сотрудник лаборатории аналитической и биоорганической химии Лимнологического института, д.б.н., профессор; тел.: +7-914-891-99-98 e-mail: sergeibelikov47@gmail.com