

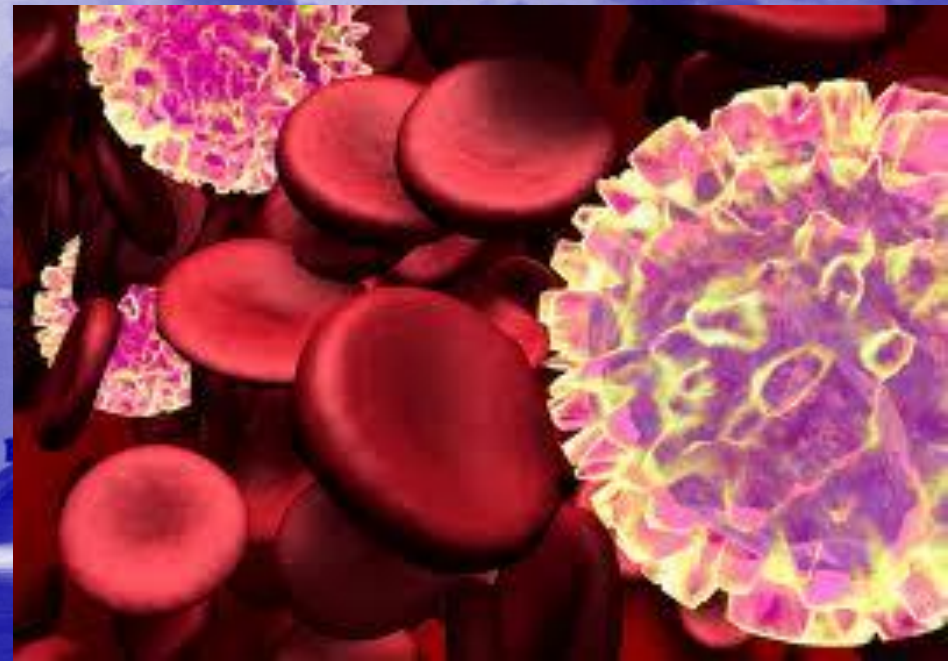


Флавивирусы, генетическое разнообразие, генная терапия вирусных инфекций

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»

В.Б. Локтев

Октябрь 2013



Volume 8, Issue 11

November 2008

THE LANCET Infectious Diseases



Emerging Infections: A Perpetual Challenge

DM Morens, GK Folkers & AS Fauci



"For centuries a fundamental challenge to the existence and well-being of societies -- as reflected by scientific attention, as well as in art, religion, and culture -- emerging infections remain among the principal challenges to human survival."

Examples of Human Disease Outbreaks, 2006-2008

- H5N1 avian influenza
- Chikungunya fever
- Dengue
- *E. coli* O157:H7
- *Fusarium* keratitis
- Poliomyelitis
- Rift Valley fever
- XDR-TB
- Ebola hemorrhagic fever
- Marburg hemorrhagic fever
- Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)
- Adenovirus Serotype 14
- Yellow fever
- *Salmonella* Saintpaul



4TH GRADE
GREENDALE SCHOOL
FRANKLIN PARK NJ 08852

WASHINGTON, DC 20510
PM
SEP 11 2001
USA
34

SENATOR DASCHLE
509 HART SENATE OFFICE
BUILDING
WASHINGTON, DC 20510-4502

20510/4103

4TH GRADE
GREENDALE SCHOOL
FRANKLIN PARK NJ 08852

WASHINGTON, DC 20510
PM
SEP 11 2001
USA
34

SENATOR LEAHY
433 RUSSELL SENATE OFFICE
BUILDING
WASHINGTON, DC 20510-4502

WASHINGTON, DC 20510
PM
SEP 11 2001
USA
34

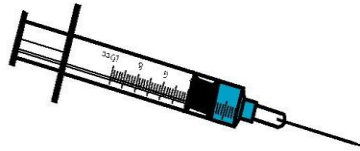
TOM BROKAW
NBC TV
30 ROCKEFELLER PLAZA
NEW YORK, NY 10112

10112+0002

WASHINGTON, DC 20510
PM
SEP 11 2001
USA
34

EDITOR
NEW YORK POST
1211 AVE. OF THE AMERICAS
NEW YORK, NY 10036

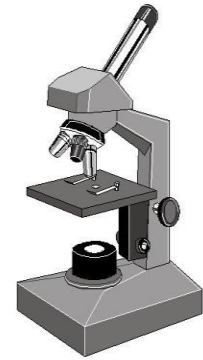
10036+8701



Vaccines



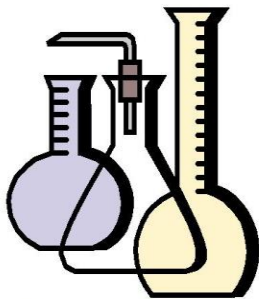
Therapeutics



Diagnostics



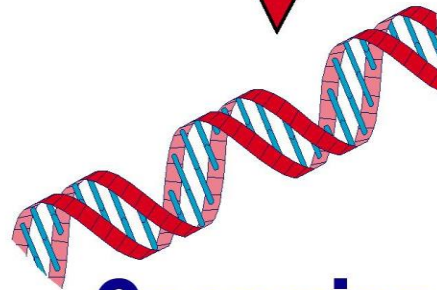
**Biodefense and
Emerging Infectious
Diseases (EID)
Research Priorities**



Basic Research



**Expansion of
Research
Capacity**

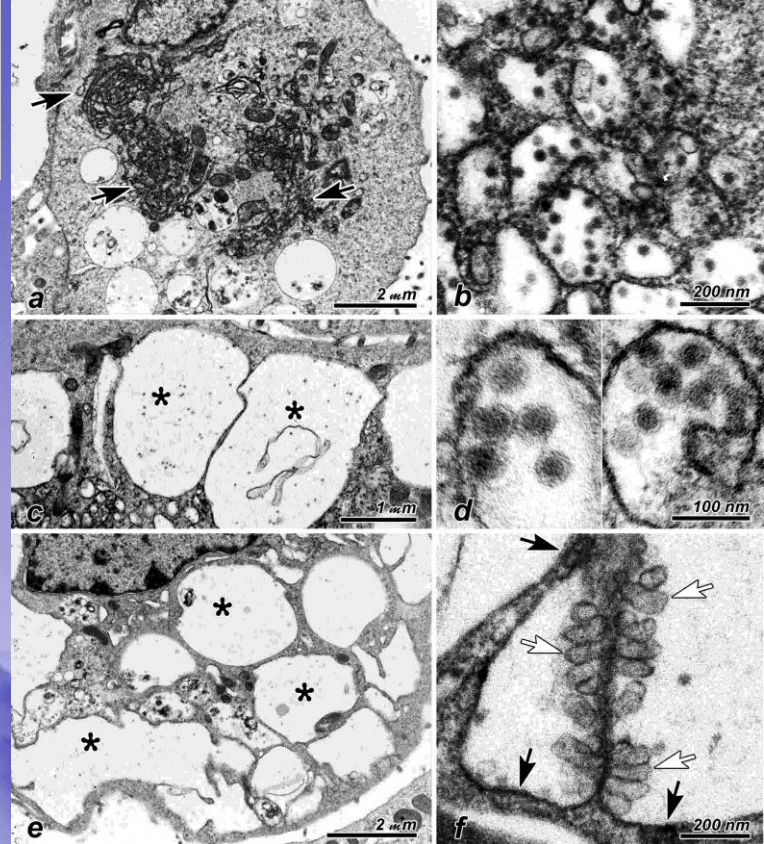


Genomics

Семейство. 00.026. *Flaviviridae*

Роды:

- 00.026.0.01. *Flavivirus*
- 00.026.0.02. *Pestivirus*
- 00.026.0.03. *Hepacivirus*
- 00.026.0.00. *unassigned viruses*



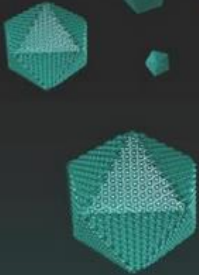
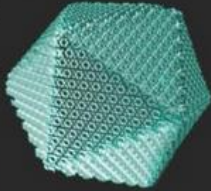
	Кол-во:	ВИДОВ,	ВИРУСОВ,	КАНДИДАТОВ
<i>Flavivirus</i>		53	74	2/2
<i>Pestivirus</i>		4	13	1/1
<i>Hepacivirus</i>		1	10	1/2
<i>unassigned viruses</i>		1	3	

Virus Taxonomy

Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses

International Union of Microbiological Societies

Virology Division

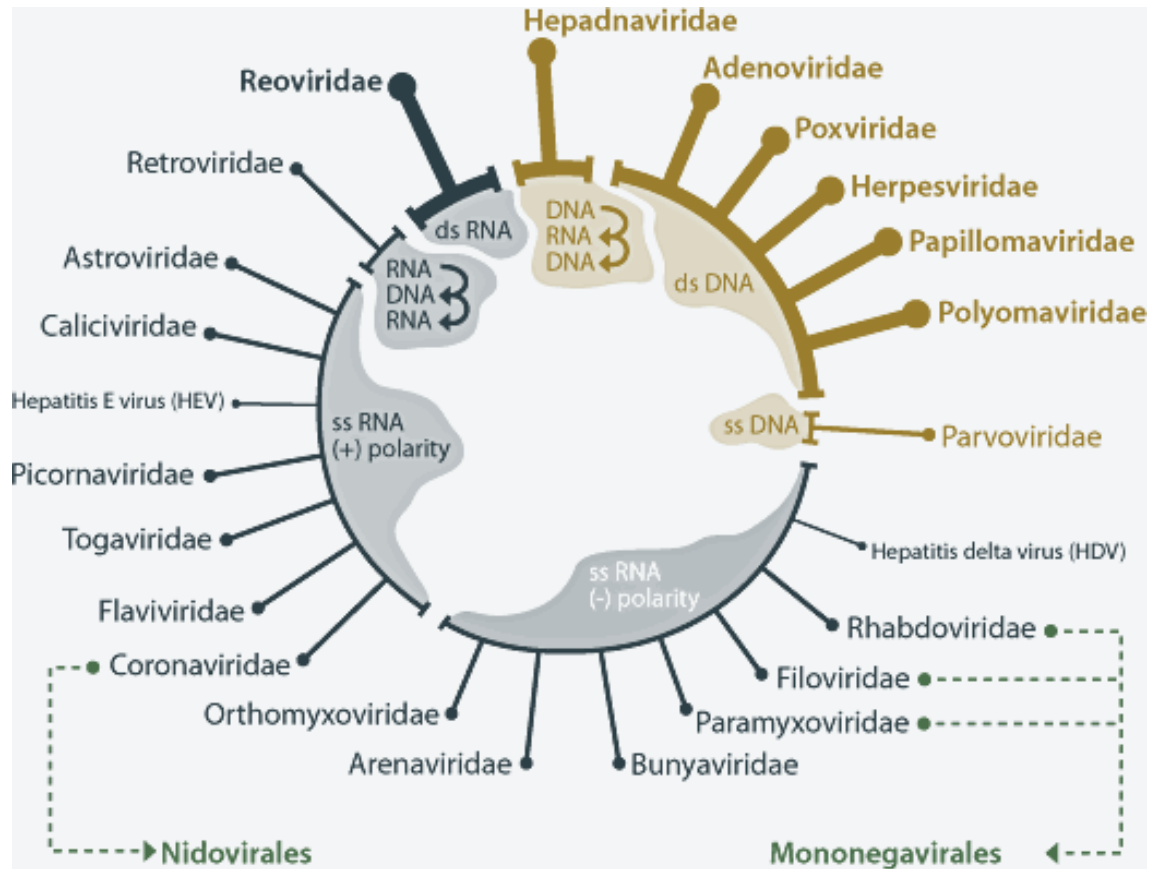


Edited by

Andrew M. Q. King • Michael J. Adams

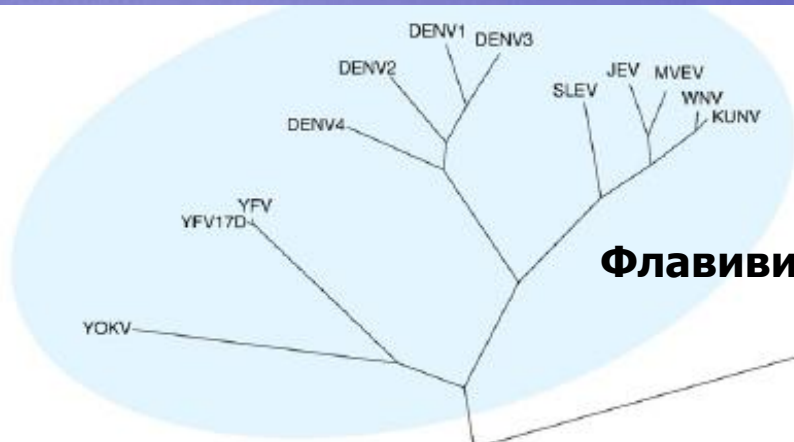
Eric B. Carstens • Elliot J. Lefkowitz

Copyrighted Material



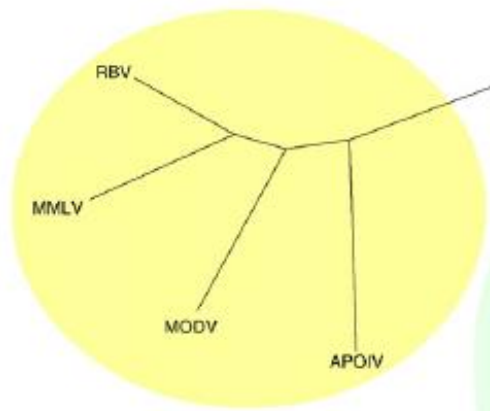
2011 год

Страниц – 1327,
 Представлена информация:
 Отрядов – 6,
 Семейств – 87,
 Родов – 349
 Видов - 2284

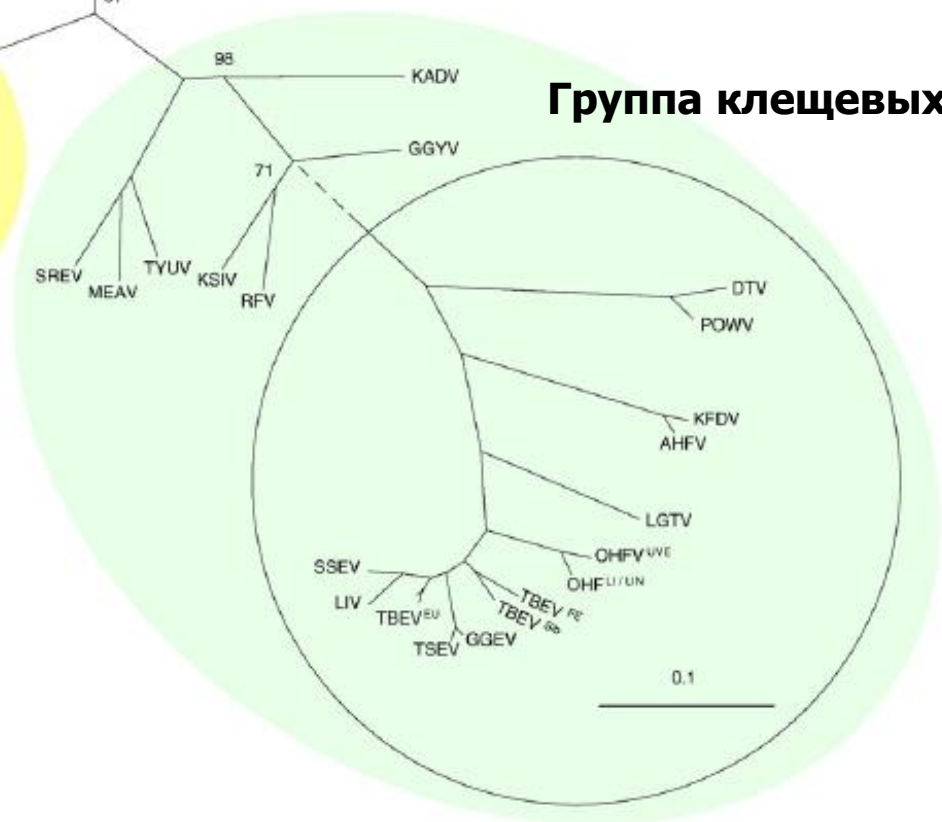


Флавивирусы передающиеся комарами

0.1



Вектор не известен

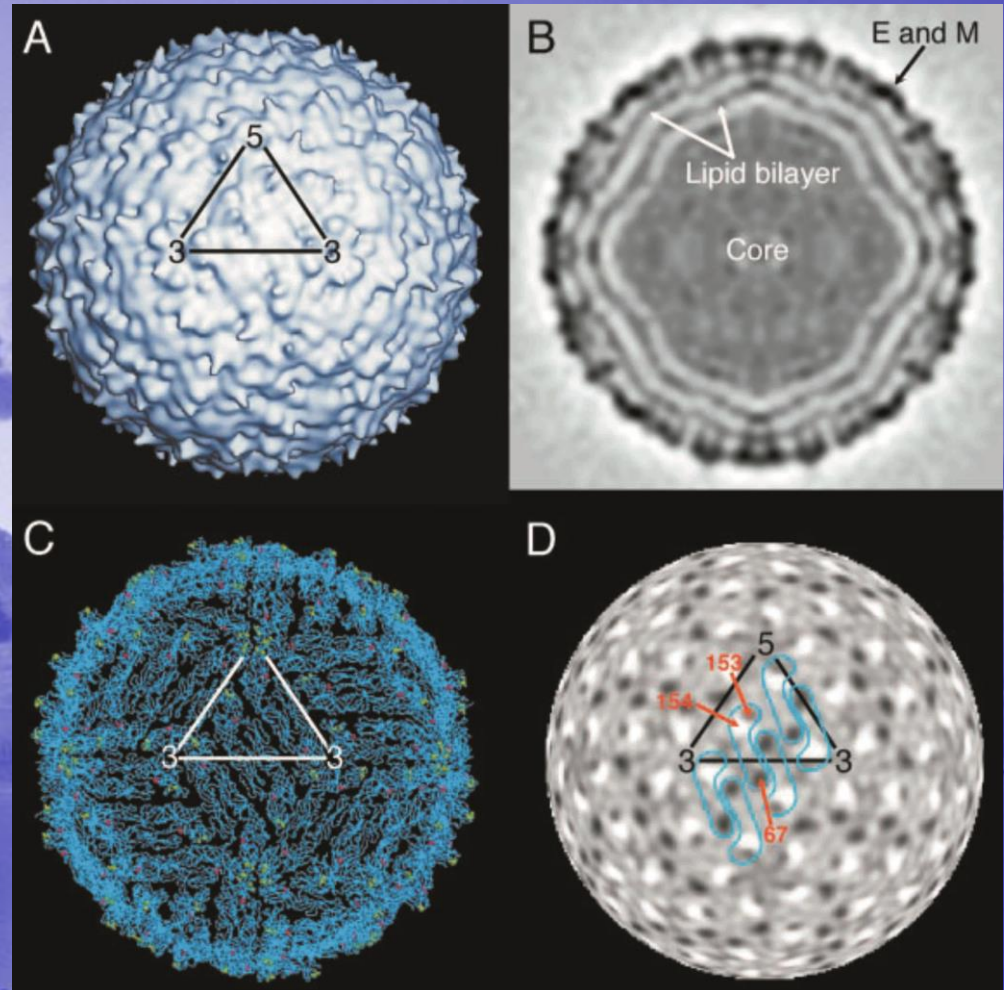


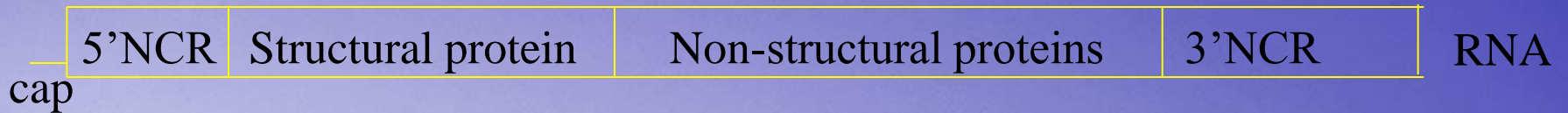
Группа клещевых флавивирусов

0.1

Flavivirus Genome

- ss (+) RNA genome
- Approximately 11 kb
- 5'-m⁷GpppAmp cap
- Lacks 3'-polyA tail
- Codes for
 - 3 structural proteins
 - Capsid (C), membrane (prM/M), envelope (E)
 - 7 non-structural proteins
 - NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5





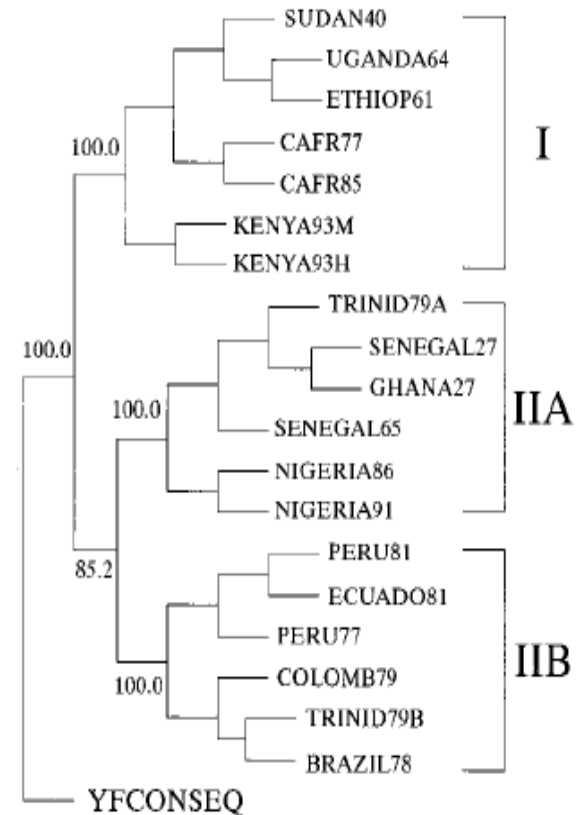
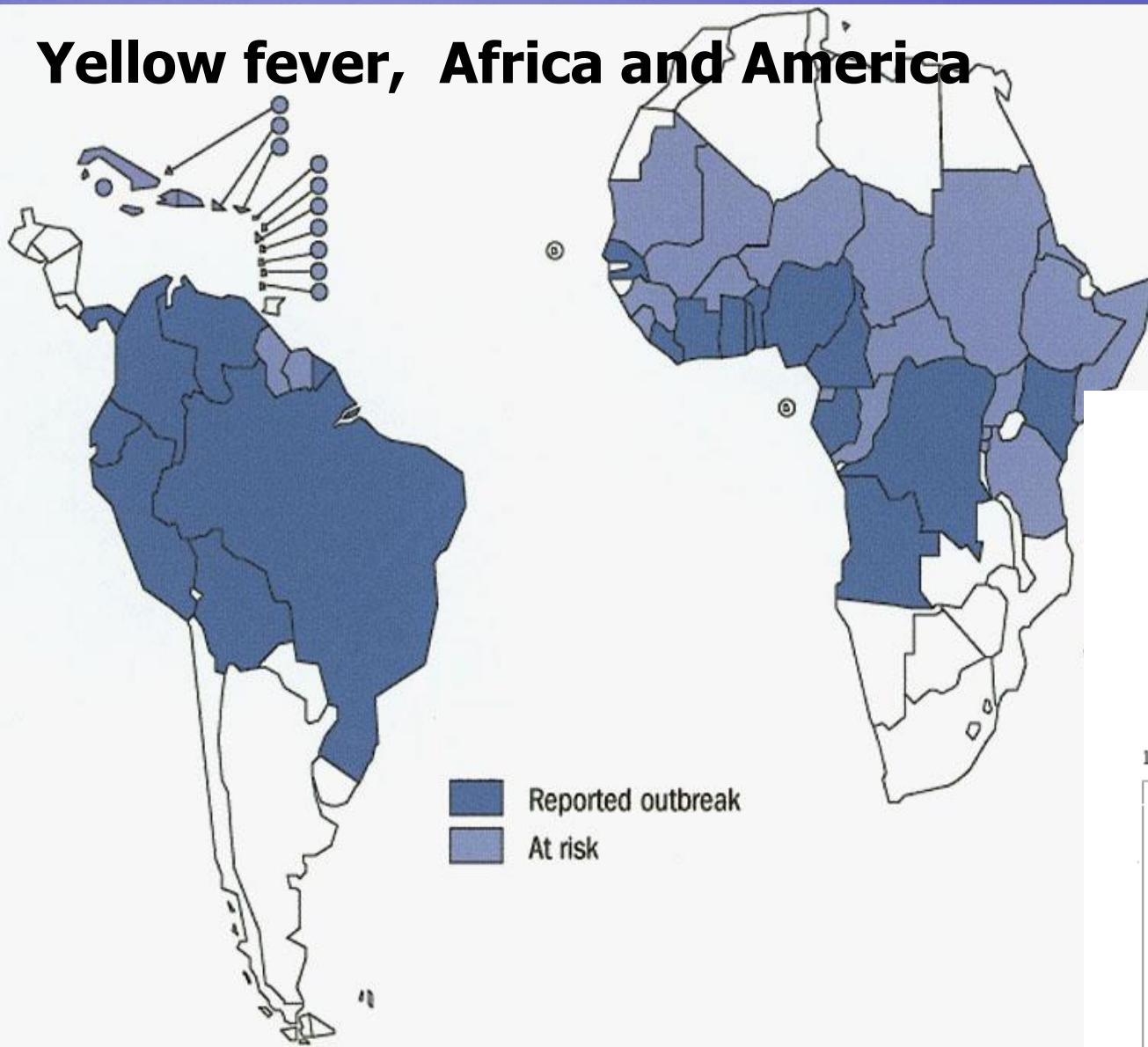
Post-translational Processing



- Signal peptidase site
- Unique site
- NS2B-NS3 protease site

Длина 5'-района составляет около 130 нуклеотидов, а 3'-конца – 400 – 700 нуклеотидов

Yellow fever, Africa and America



Японский энцефалит

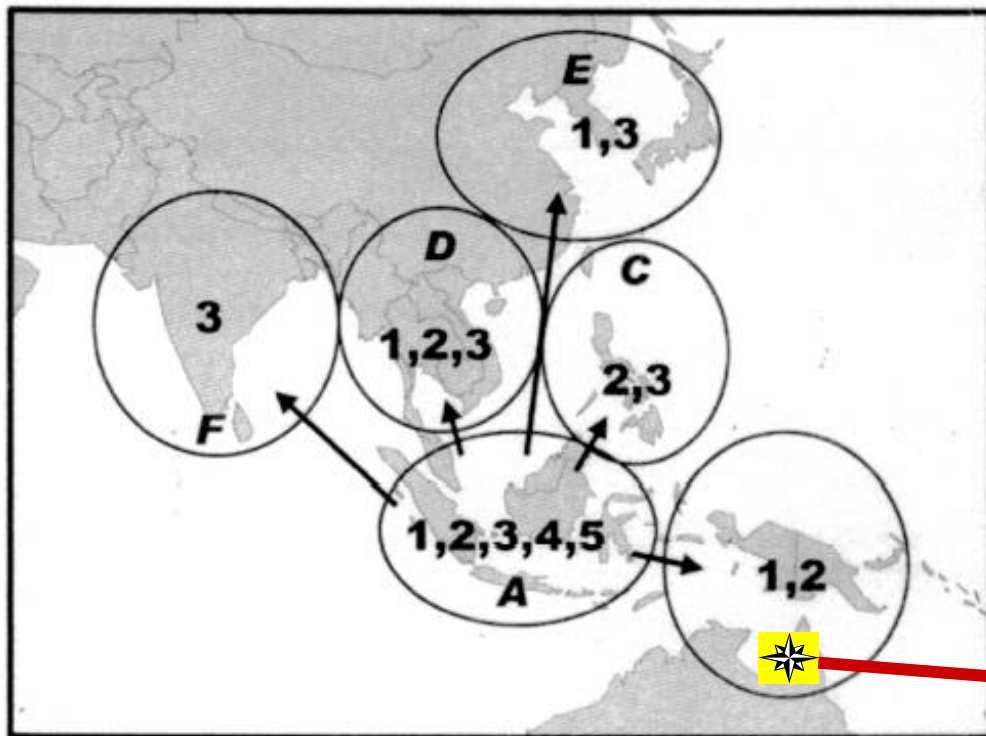


FIG. 2. The geographical distribution and spread of JEV genotypes. Countries are grouped into geographical regions: A, Indonesia (excluding New Guinea) and Malaysia; B, Australia and New Guinea; C, Taiwan and the Philippines; D, Thailand, Cambodia, and Vietnam; E, Japan, Korea, and China; F, India, Sri Lanka, and Nepal. Region A contains all genotypes of JEV, including the oldest. The newer genotypes (I, II, and III) have subsequently spread to other geographical areas.

Австралия,
генотип 2,
2000 год.

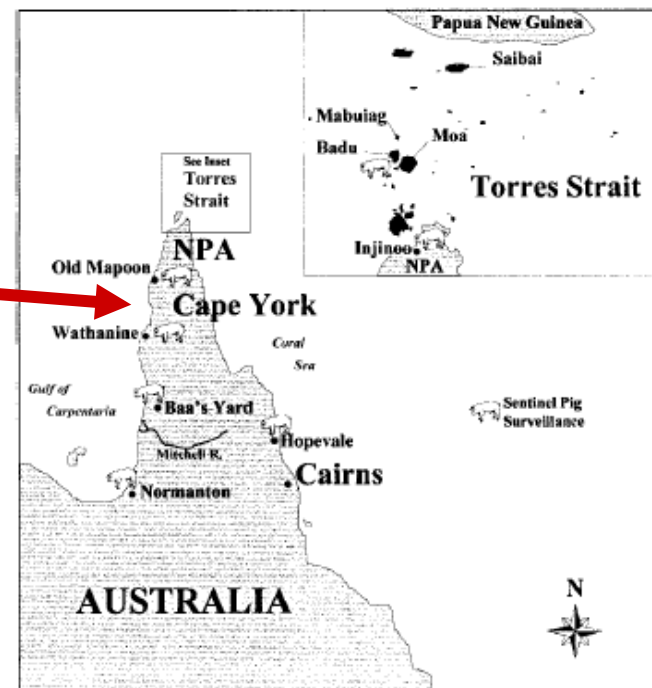
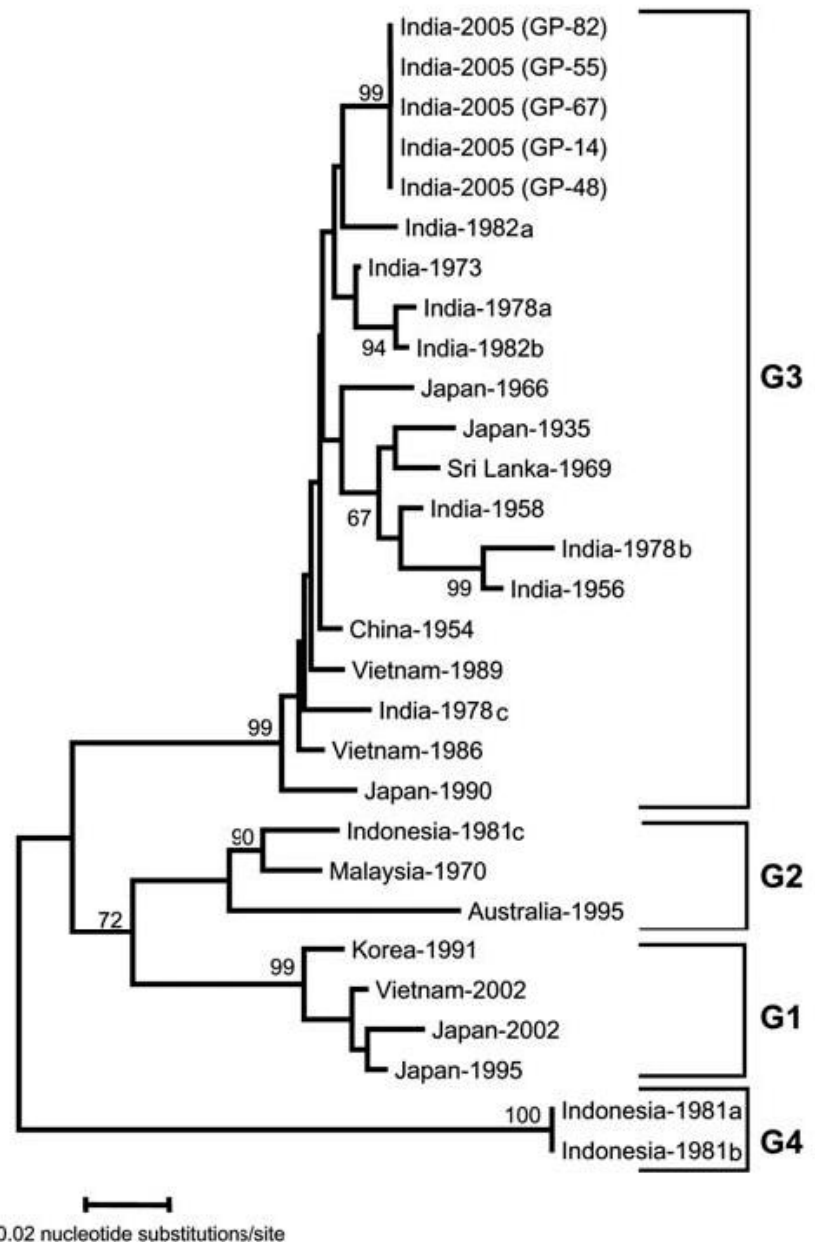


FIGURE 1. Locations of sentinel pig surveillance in the Torres Strait and on mainland Australia in 2000.

Японский энцефалит, вспышка, 2005 год



Australia. New flaviviruses

2005
New Mapoon virus

1994
Kokobera virus

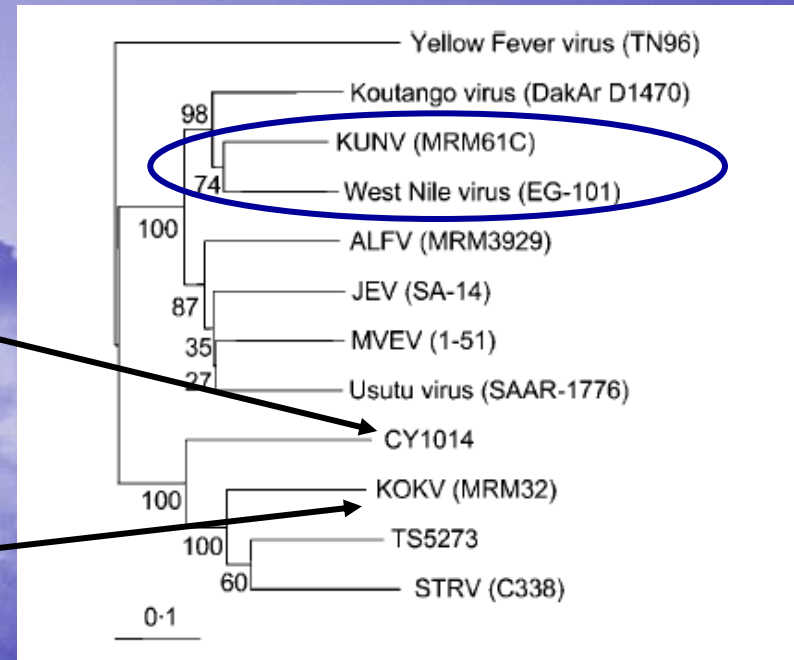


Fig. 1. Phylogram constructed by the neighbour-joining method from nucleotide sequence of the NS5 gene. Bootstrap values are indicated at each branch. Vertical distance is arbitrary and horizontal distance is proportional to mutation distance, as indicated by the bar.

Emergence of *Usutu virus*, an African Mosquito-Borne *Flavivirus* of the Japanese Encephalitis Virus Group, Central Europe

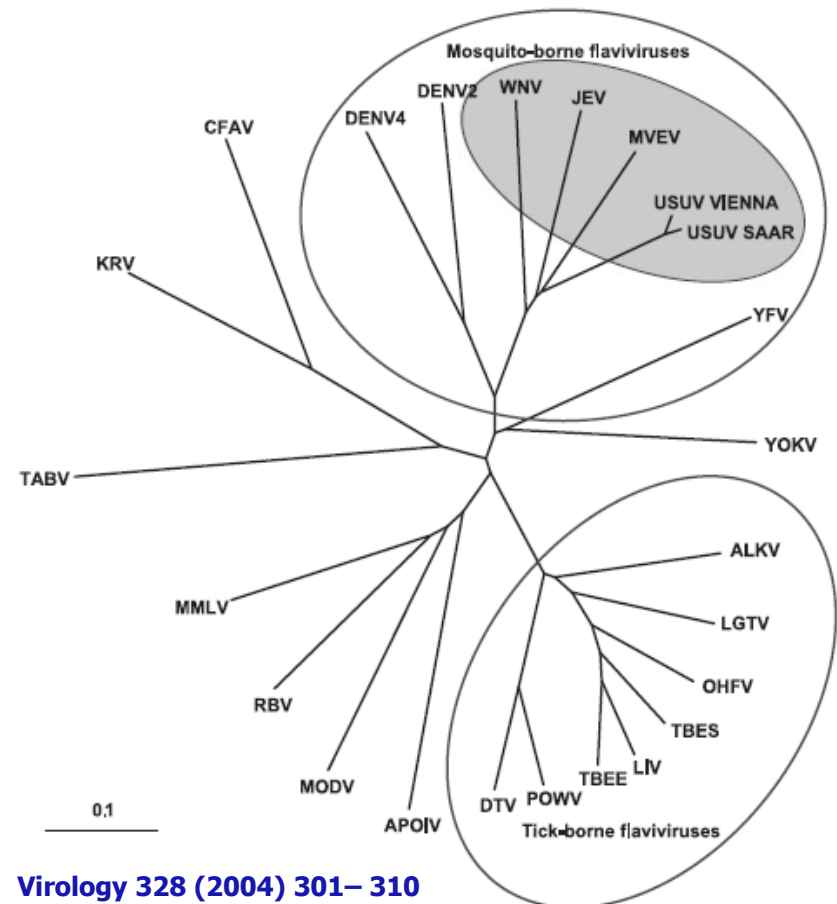
Herbert Weissenböck,* Jolanta Kolodziejek,† Angelika Url,* Helga Lussy,† Barbara Rebel-Bauder,* and Norbert Nowotny††

During late summer 2001 in Austria, a series of deaths in several species of beginning of the *West Nile virus* (WNV) epidemic in the United States. We examined them by various methods; pathologic and immunohistologic investigation. Subsequently, the virus was isolated, identified, partially sequence analysis. The isolates exhibited 97% identity to *Usutu virus* (USUV), a the Japanese encephalitis virus group; USUV has never previously been associated with fatal disease in animals or humans. If established in central considerable effects on avian populations; whether USUV has the potential ease is unknown.

2006, 04 september

First evidences on active circulation *Usutu virus* in farms of England.

ProMed Digest, 2006, N422



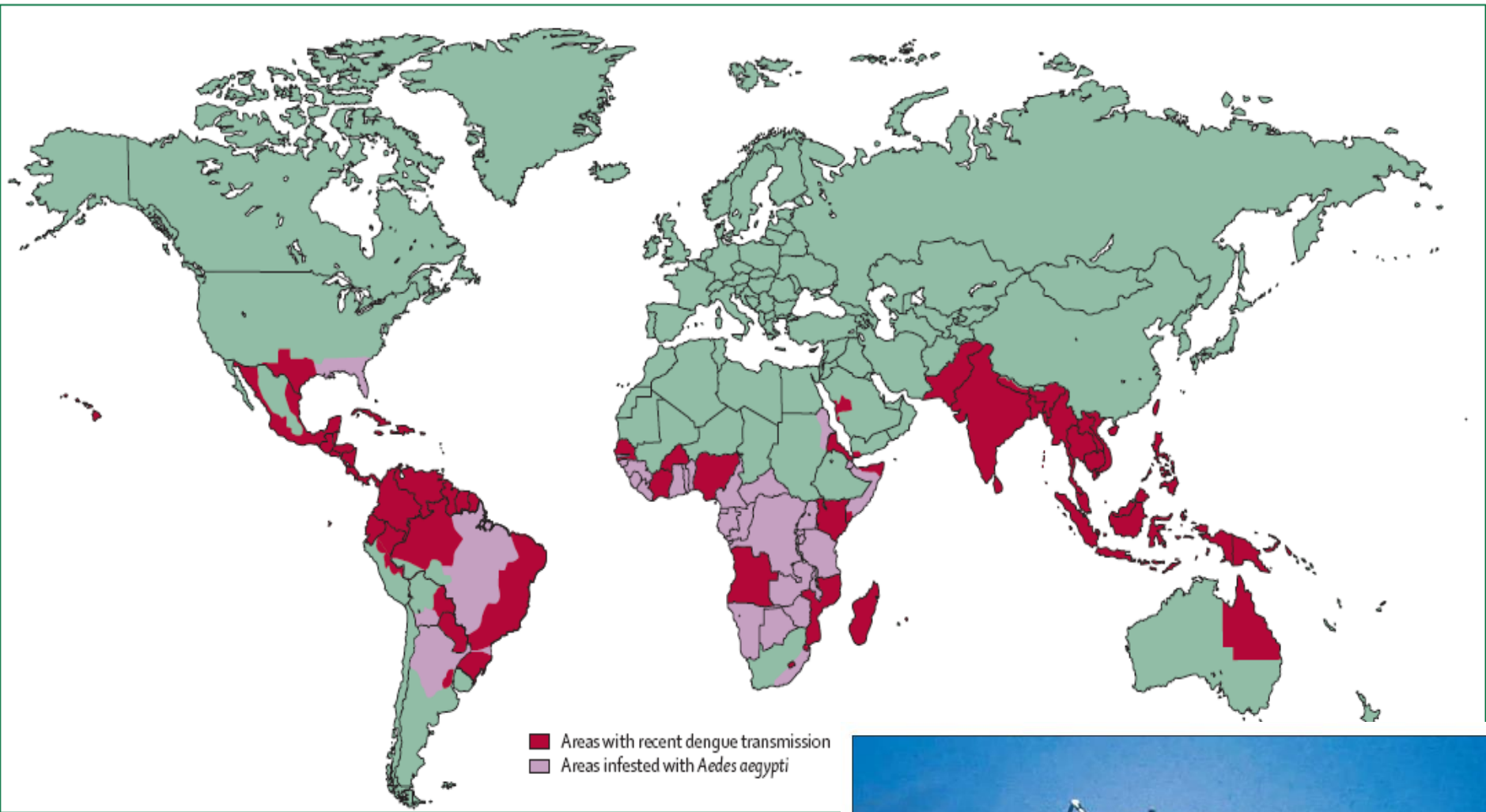
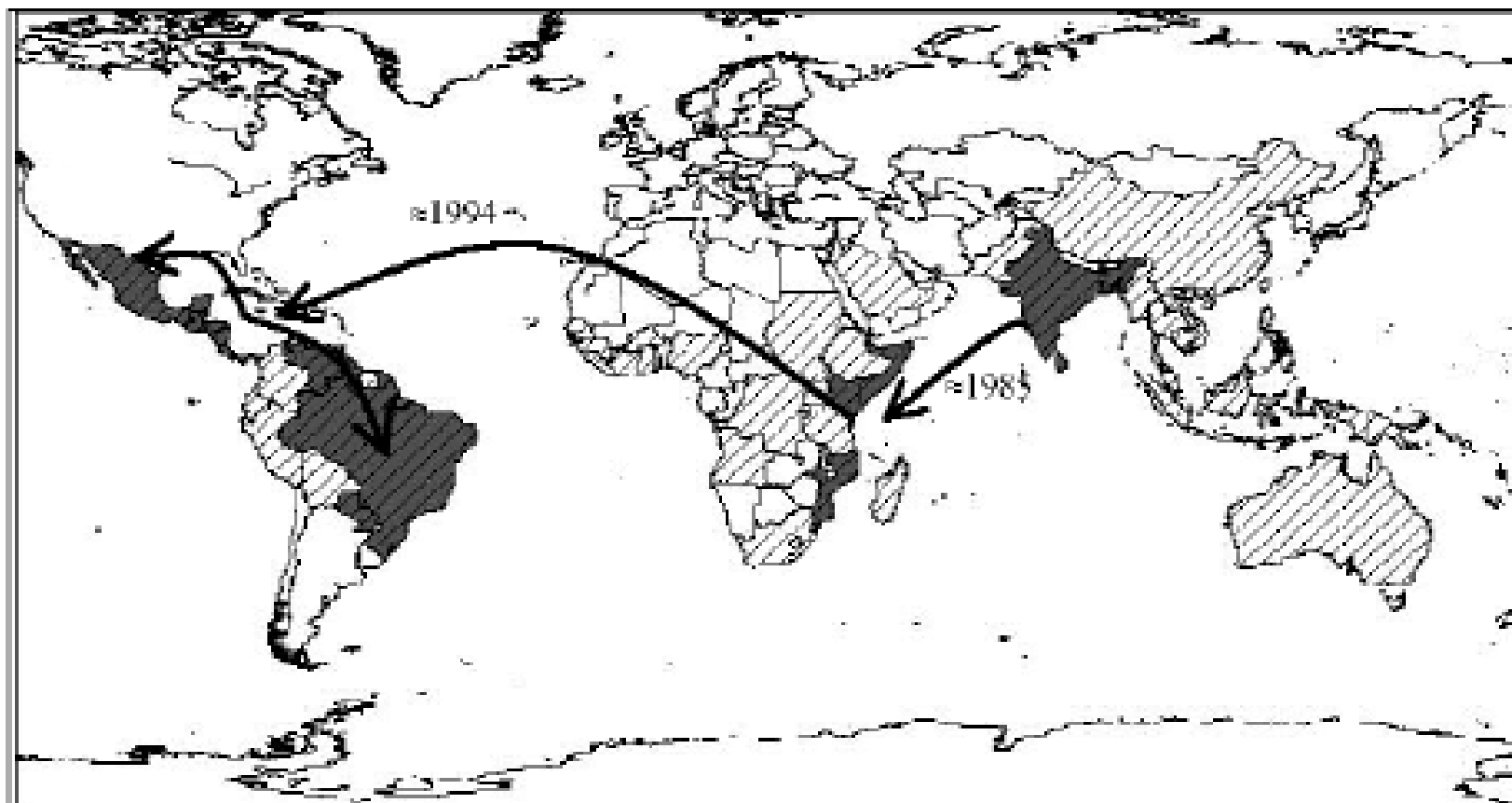


Figure 1: Approximate global distribution of dengue and *Aedes aegypti* in 2005
 Reprinted with permission of the US Centers for Disease Control and Prevention.



Figure 2: Image of *Aedes aegypti* mosquito
 Reprinted with permission of the US Centers for Disease Control and Prevention.

Распространение Денге 3, субтип III



□ Countries without endemic dengue transmission

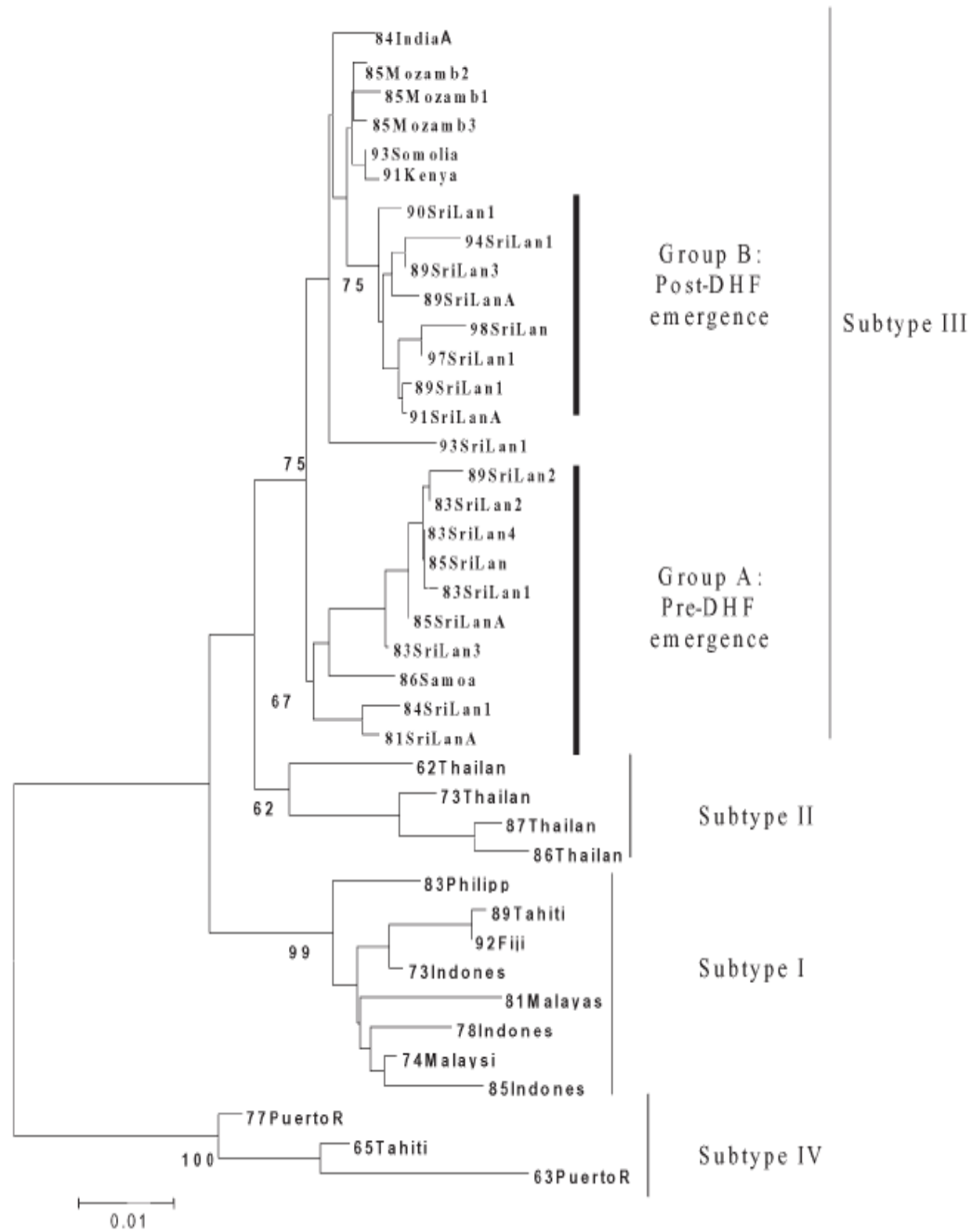
▨ Countries with endemic dengue transmission

■ Countries with endemic DENV-3, subtype III transmission

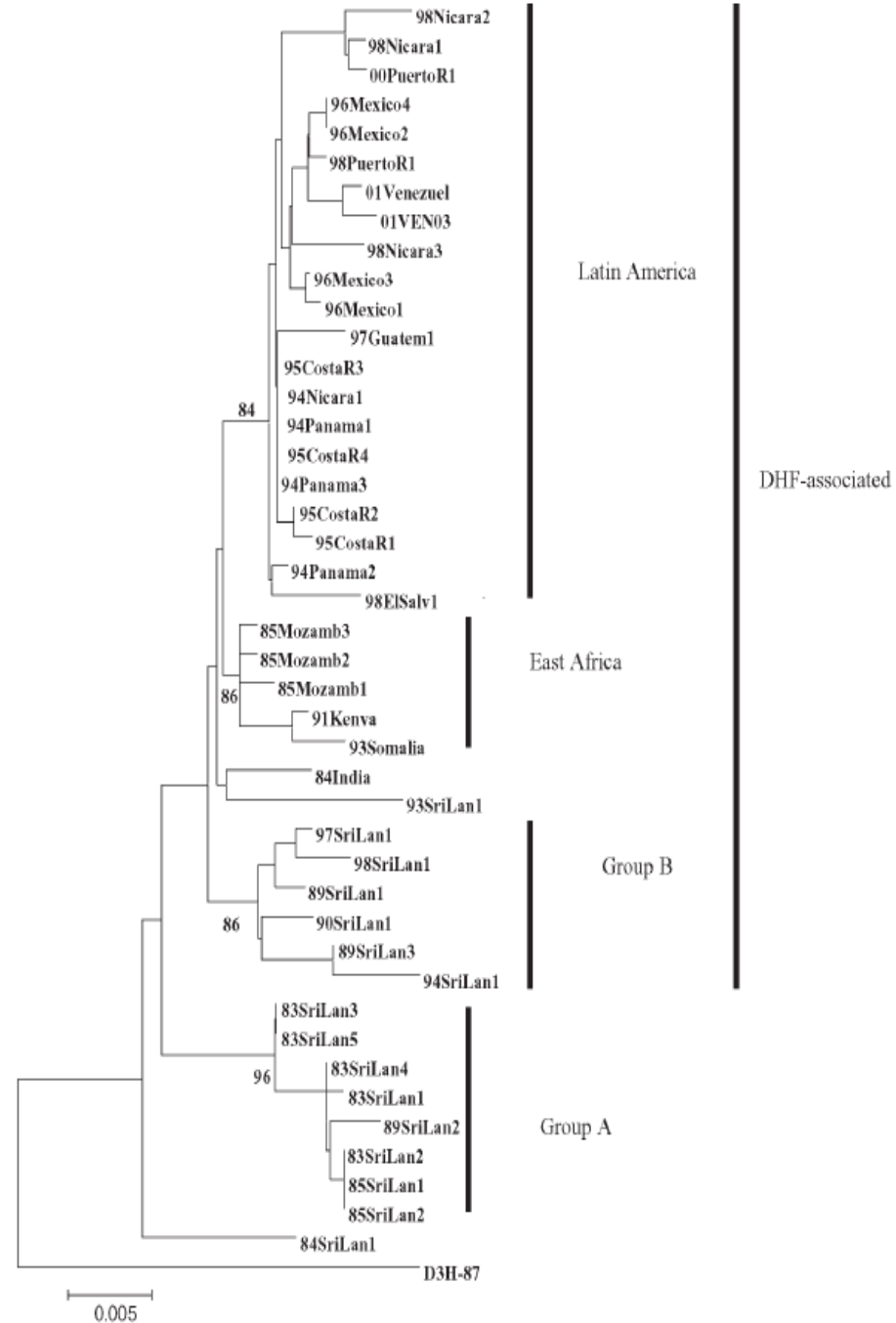


Cases of Dengue fevers with hemorrhagic syndrome in South America.

Молекулярная эпидемиология Денге 3, субтип III, возникновение вспышки



Молекулярная эпидемиология Денге 3, субтип III, распространение вспышки



Вирус Западного Нила

- Выделен в 1937 в Уганде.
- Первая вспышка в Израиле, около 60 лет назад.
- Распространен в Африке, Европе и Азии.
- В 1999 году обнаружен в США.



Циркуляция ВЗН в природе

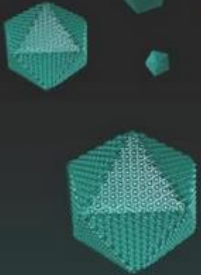
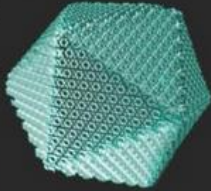


Virus Taxonomy

Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses

International Union of Microbiological Societies

Virology Division

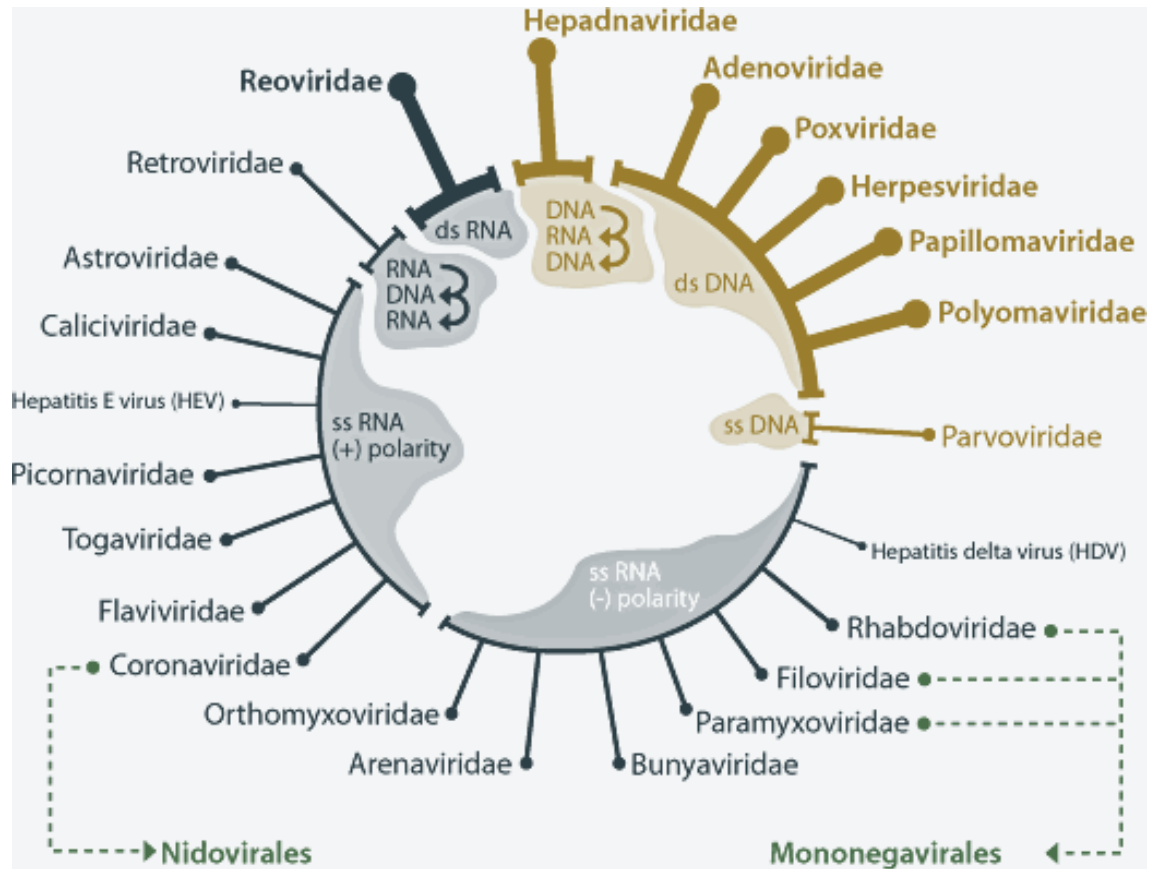


Edited by

Andrew M. Q. King • Michael J. Adams

Eric B. Carstens • Elliot J. Lefkowitz

Copyrighted Material



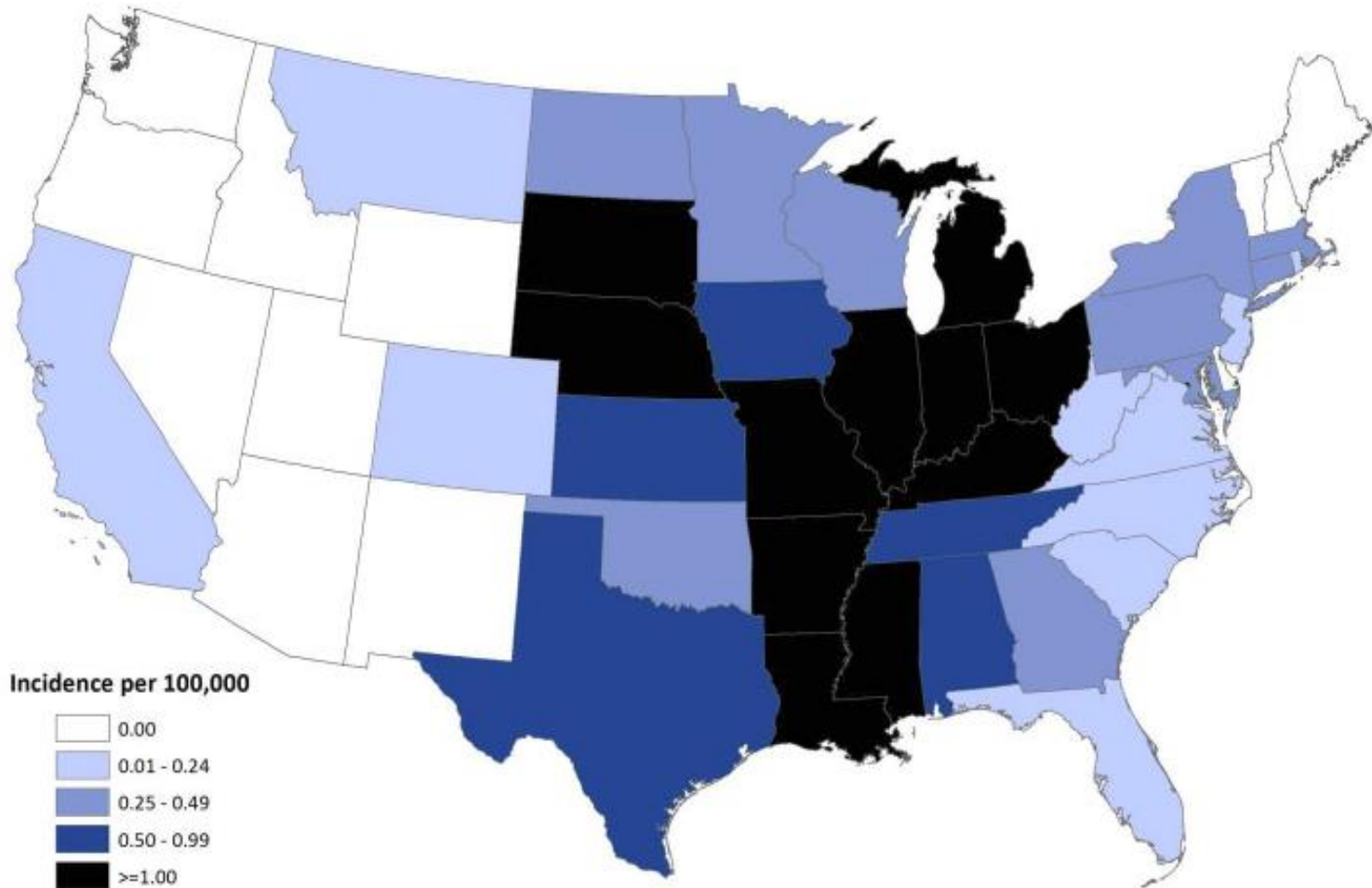
2011 год

Страниц – 1327,
 Представлена информация:
 Отрядов – 6,
 Семейств – 87,
 Родов – 349
 Видов - 2284

West Nile virus neuroinvasive disease incidence reported to ArboNET, by county, United States, 1999

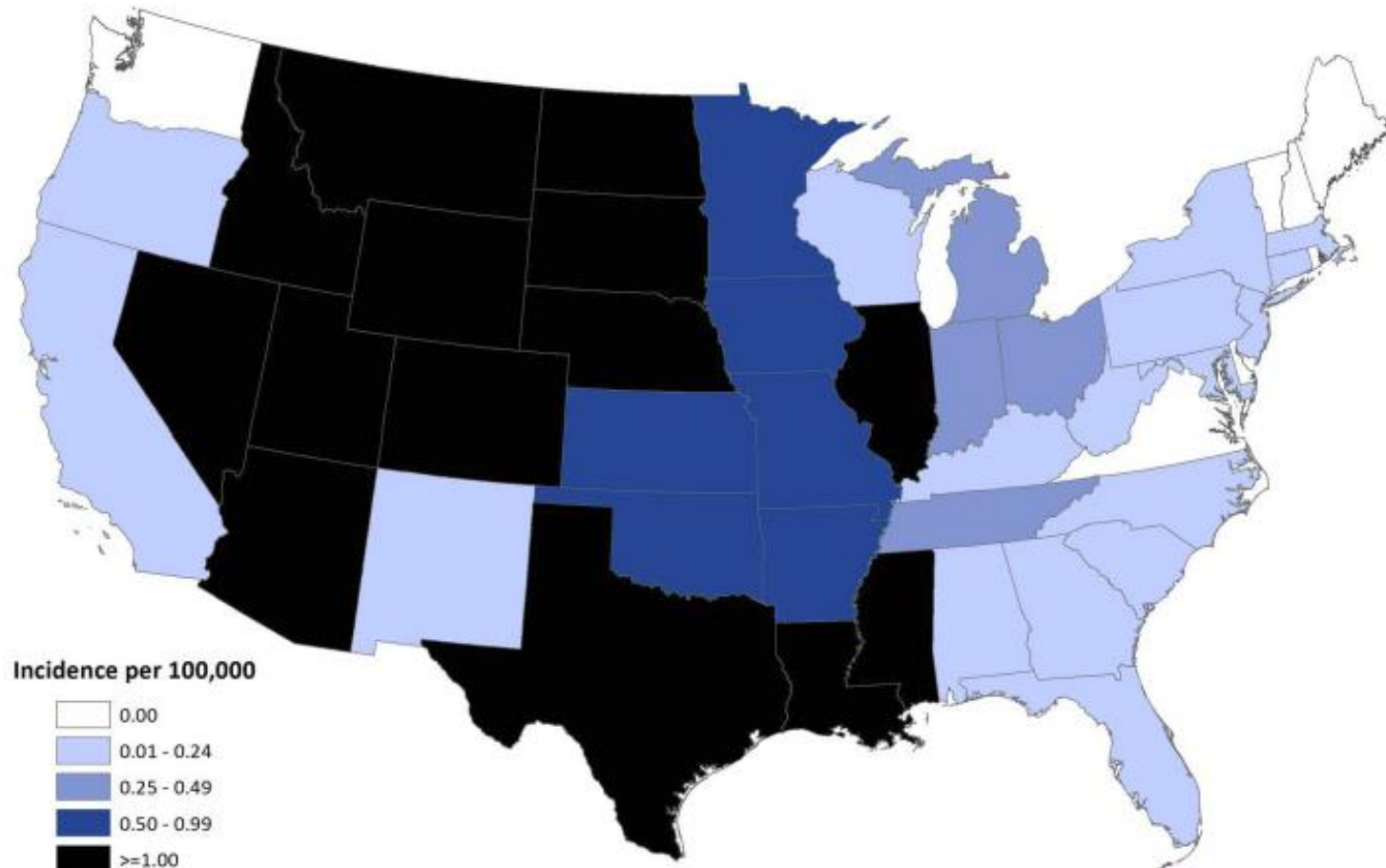


West Nile virus neuroinvasive disease incidence reported to ArboNET, by state, United States, 2002



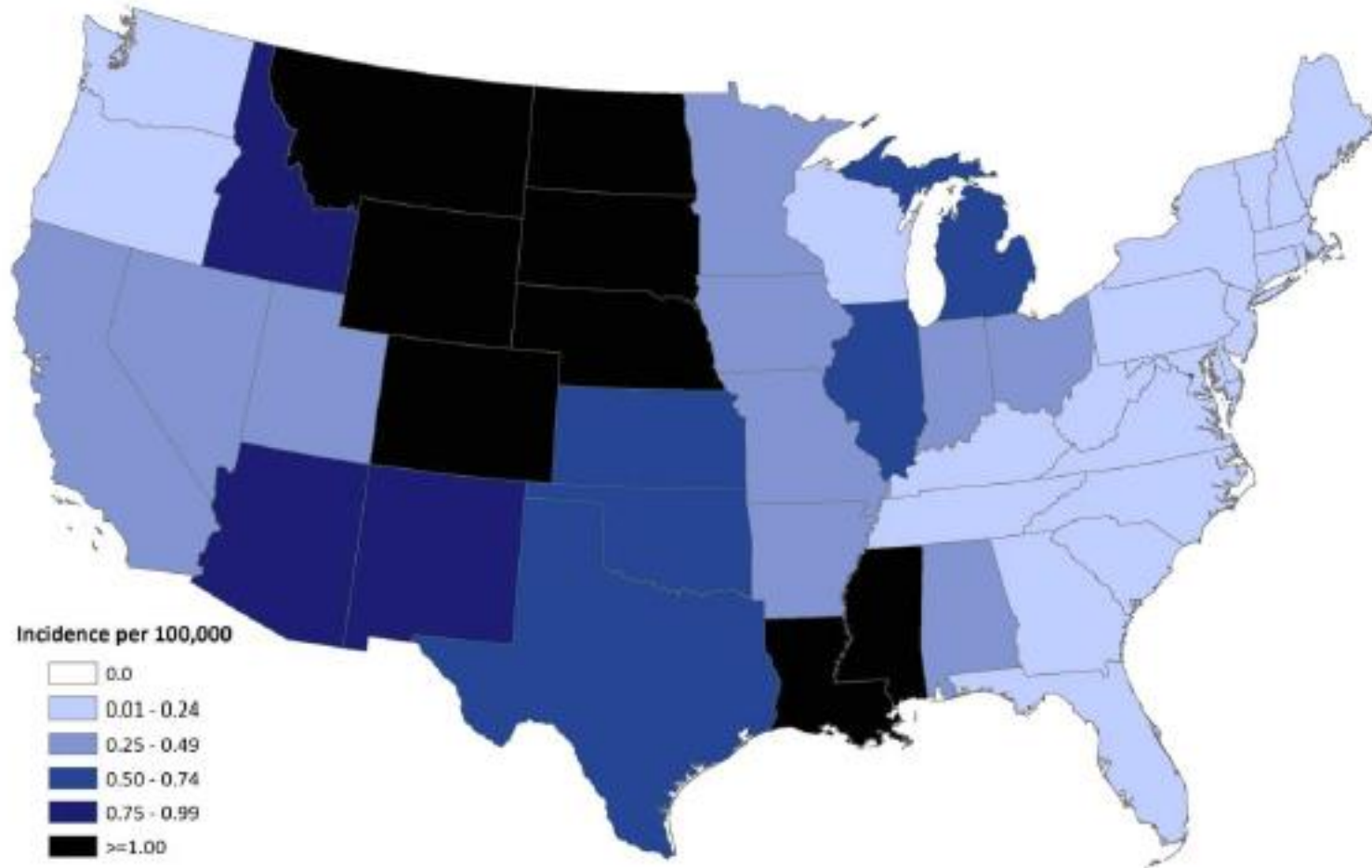


West Nile virus neuroinvasive disease incidence reported to ArboNET, by state, United States, 2006





Average annual incidence of West Nile virus neuroinvasive disease reported to CDC by state, 1999-2012



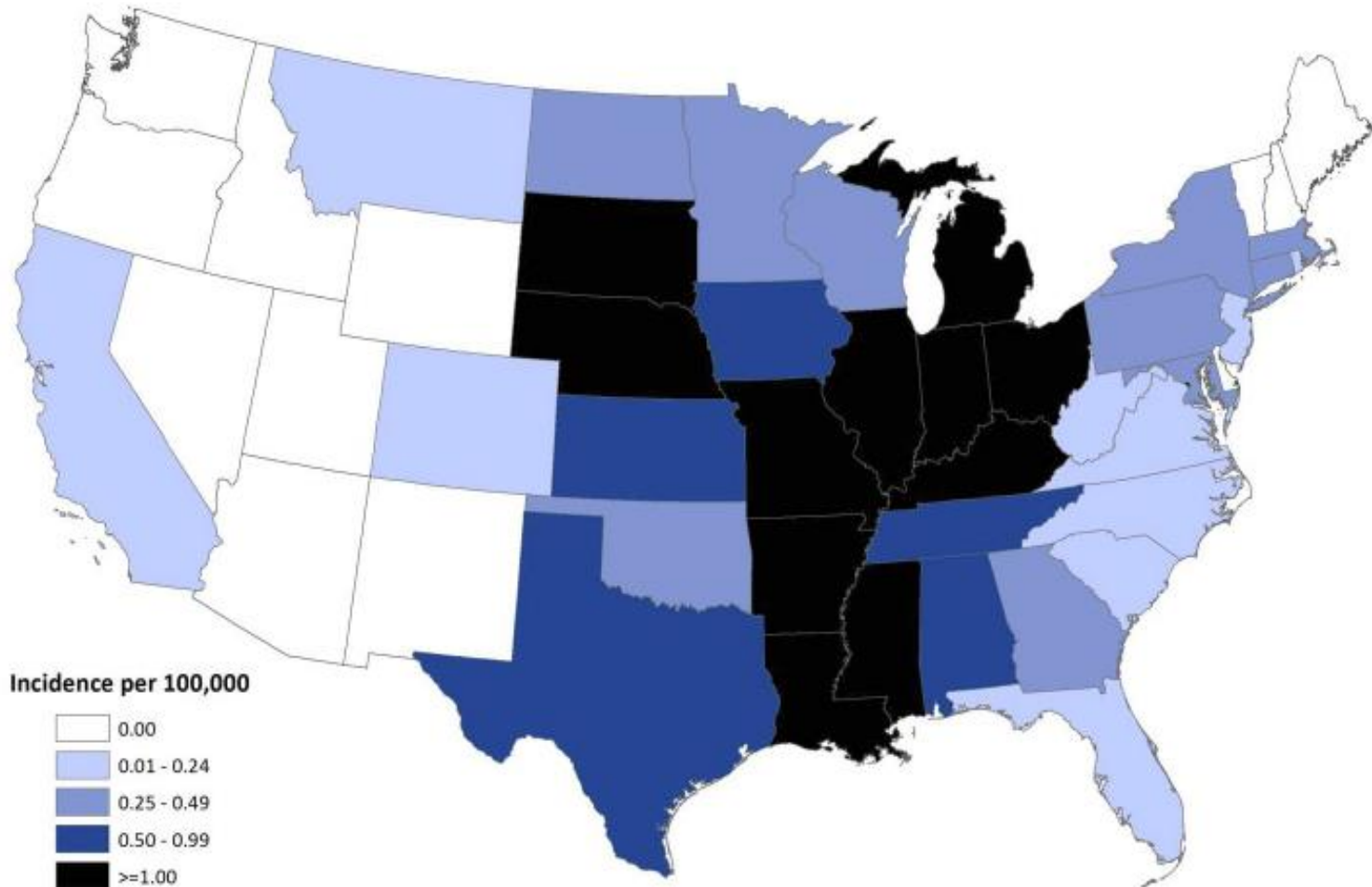
Source: ArboNET, Arboviral Diseases Branch, Centers for Disease Control and Prevention

West Nile virus neuroinvasive disease incidence reported to ArboNET, by county, United States, 1999



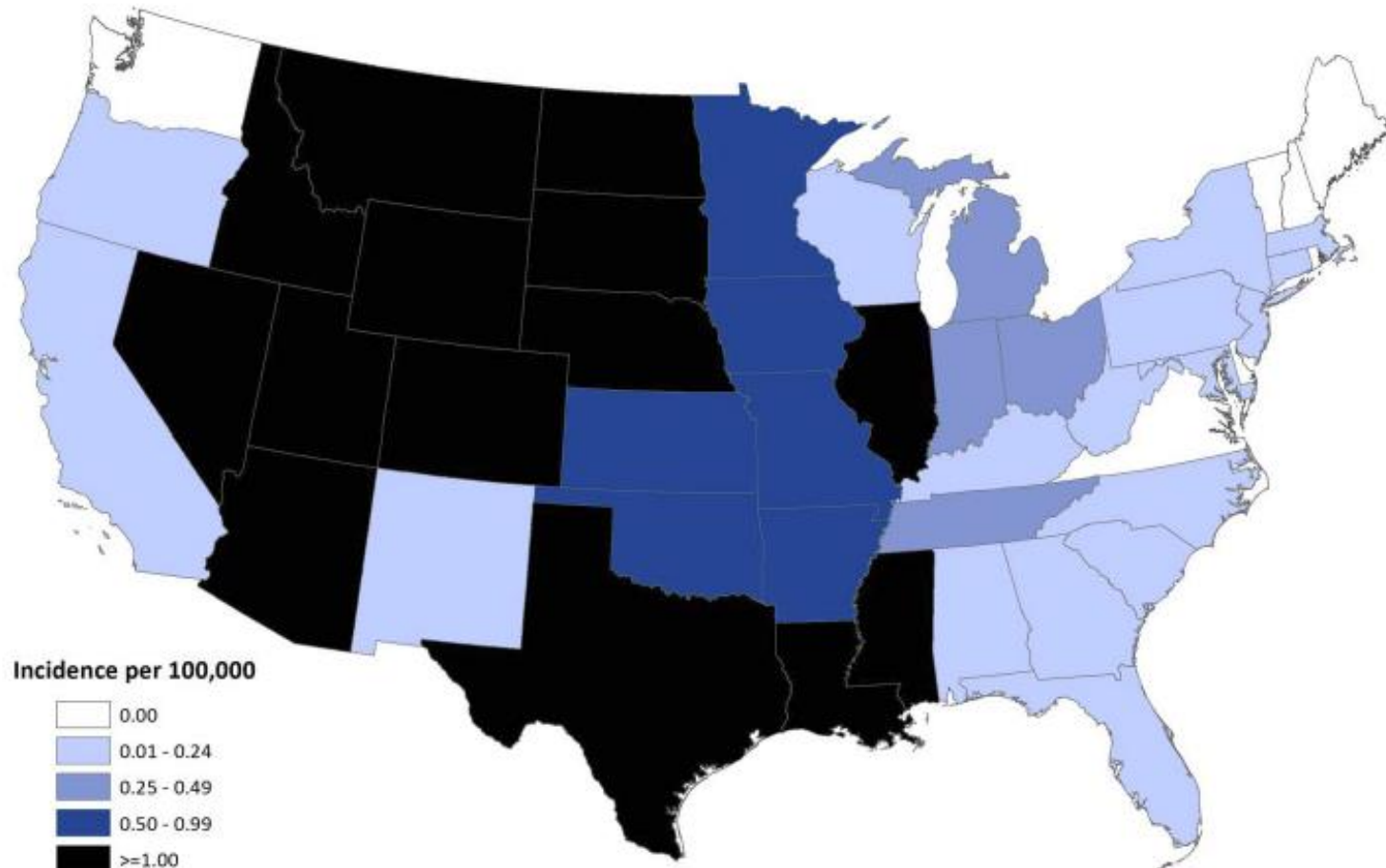


West Nile virus neuroinvasive disease incidence reported to ArboNET, by state, United States, 2002



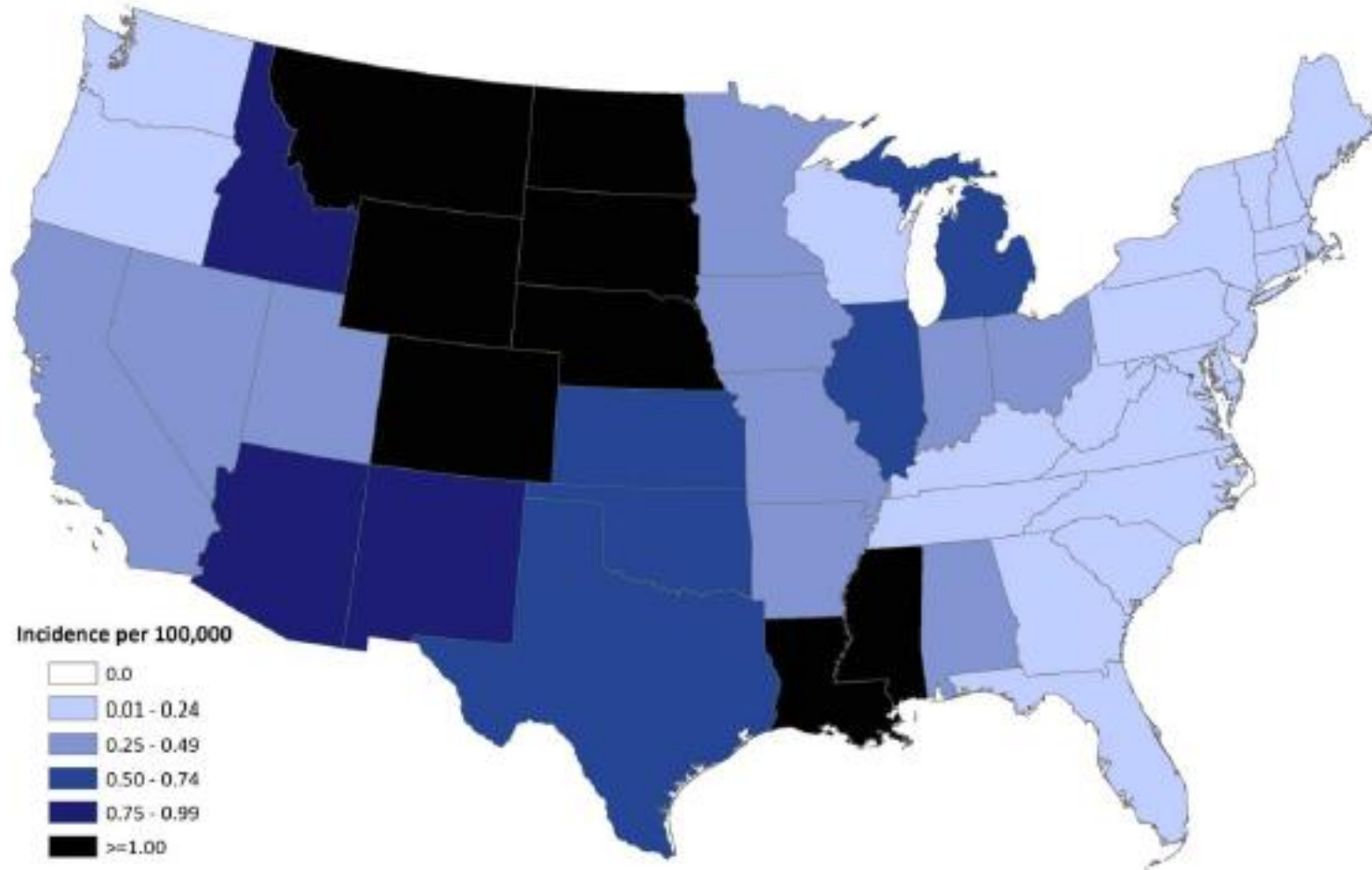


West Nile virus neuroinvasive disease incidence reported to ArboNET, by state, United States, 2006





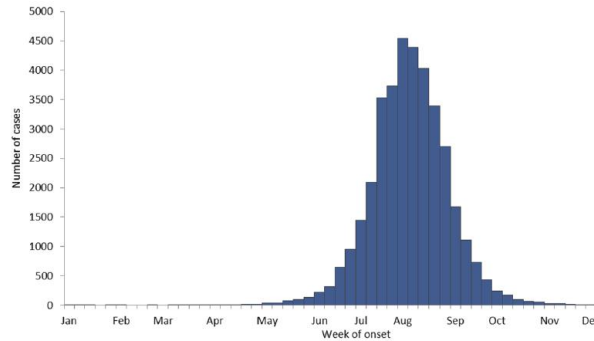
Average annual incidence of West Nile virus neuroinvasive disease reported to CDC by state, 1999-2012



Source: ArboNET, Arboviral Diseases Branch, Centers for Disease Control and Prevention



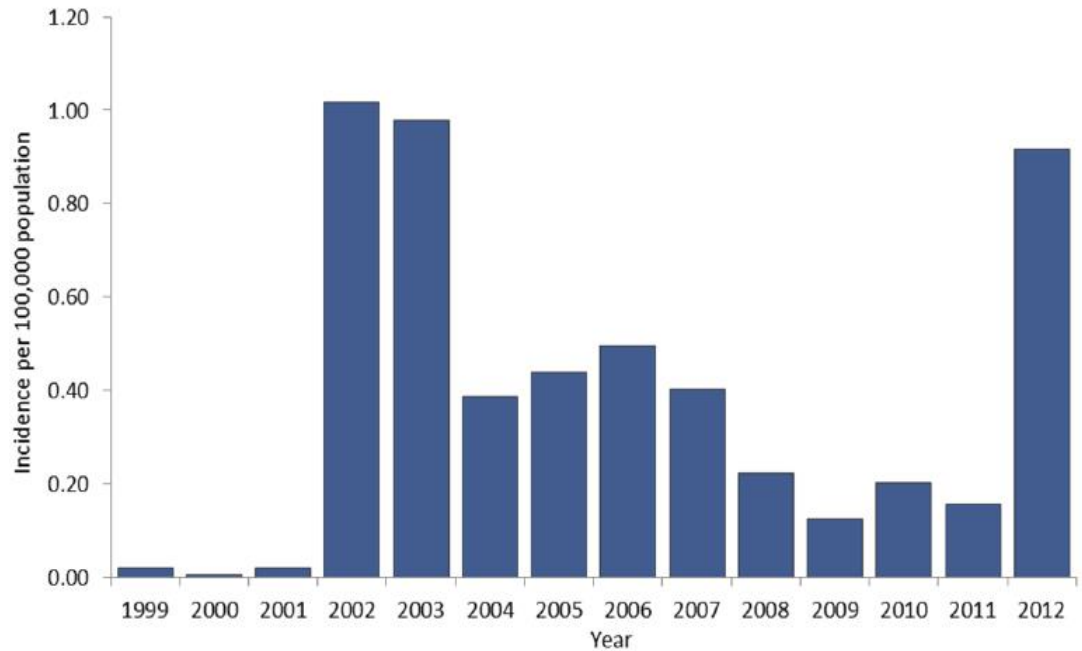
West Nile virus disease cases reported to CDC by week of illness onset, 1999-2012



Source: ArboNET, Arboviral Diseases Branch, Centers for Disease Control and Prevention



West Nile virus neuroinvasive disease incidence reported to CDC by year, 1999-2012



Source: ArboNET, Arboviral Diseases Branch, Centers for Disease Control and Prevention



West Nile virus disease cases reported to CDC by state, 1999-2012

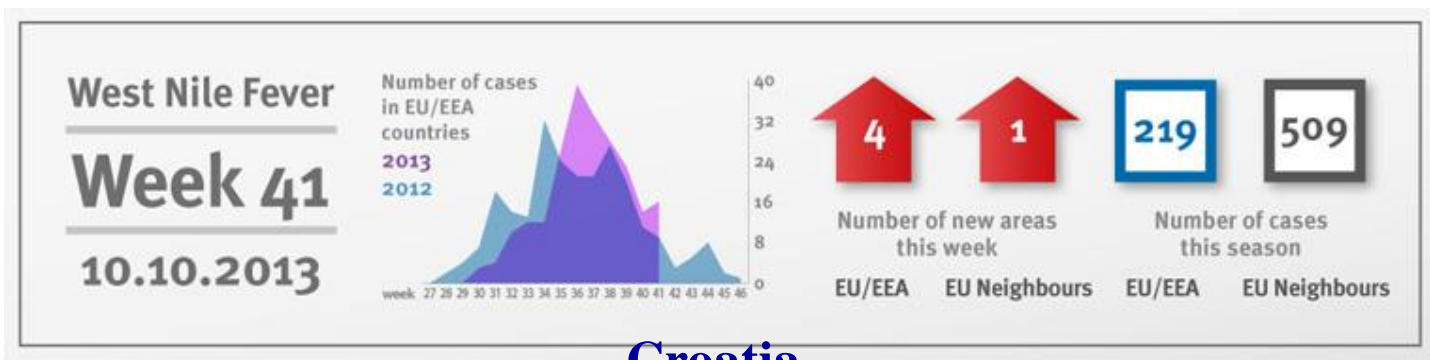
State	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total
Total	62	21	66	4,156	9,862	2,539	3,000	4,269	3,630	1,356	720	1,021	712	5,674	37,088

Source: ArboNET, Arboviral Diseases Branch, Centers for Disease Control and Prevention

США – 2008

Основной вывод.
Вирус Западного Нила
стал эндемичным для
США!!!

Случаи лихорадки Западного Нила, Европа



Croatia	16
Greece	86
Hungary	29
Italy	66
Romania	22
Bosnia and Herzegovina	3
Macedonia	1
Israel	59
Montenegro	2
Serbia	260
Russian Federation	177
Tunisia	6
Ukraine	1

Случаи лихорадки Западного Нила, Европа

Reported cases of West Nile fever for the EU and neighbouring countries

Transmission season 2013; latest update: 10/10/2013



Случаи лихорадки Западного Нила, Европа, 10.10.2013

Russian Federation	177	Adygeya republic	1
		Astrakhanskaya oblast	69
		Belgorodskaya oblast	2
		Kaluzhskaya oblast	1
		Lipetskaya oblast	2
		Omskaya oblast	1
		Orenburgskaya oblast	1
		Rostovskaya oblast	8
		Samarskaya oblast	9
		Saratovskaya oblast	30
		Volgogradskaya oblast	49
		Voronezhskaya oblast	4



Глобальное распространение ВЗН

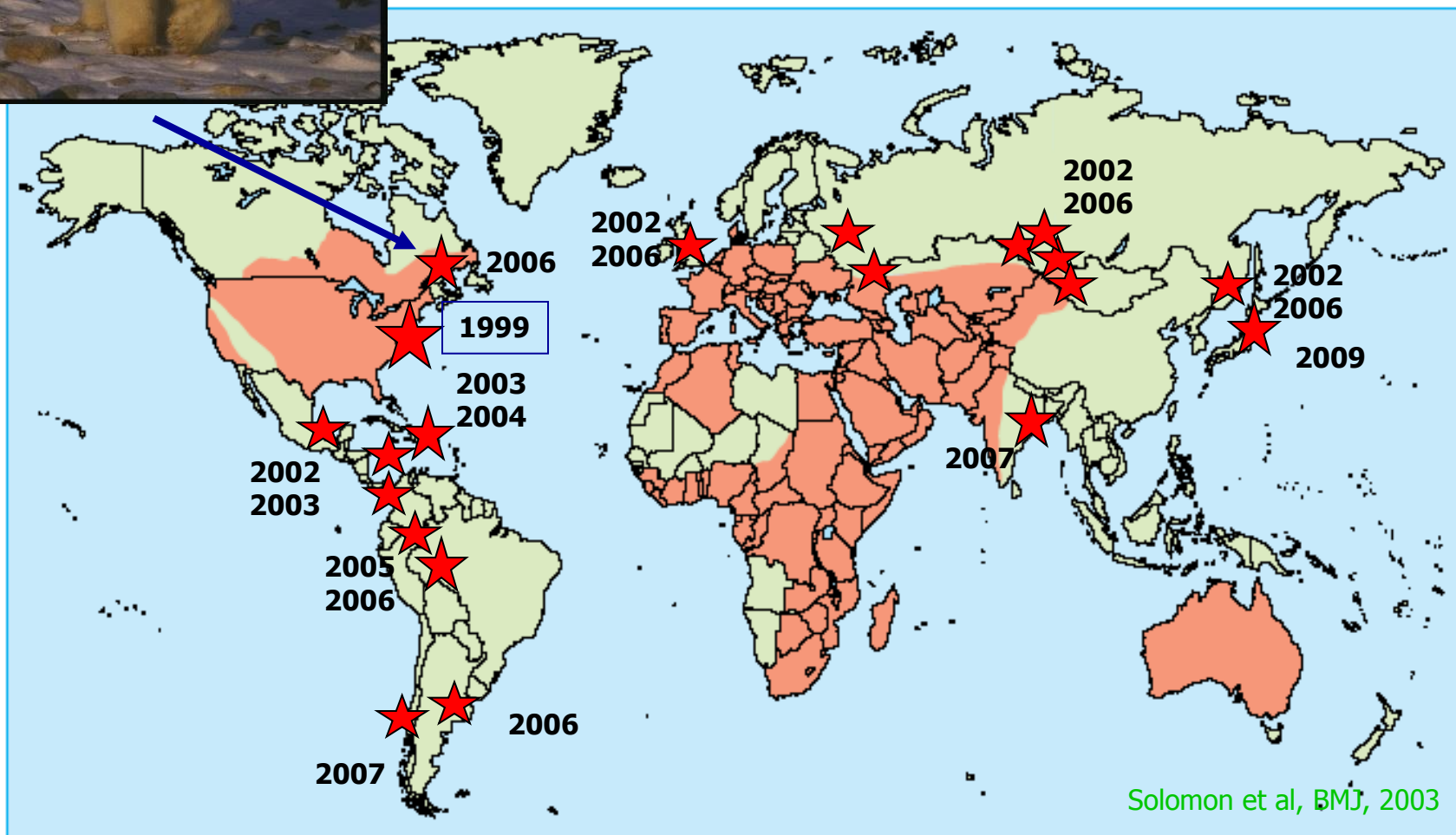
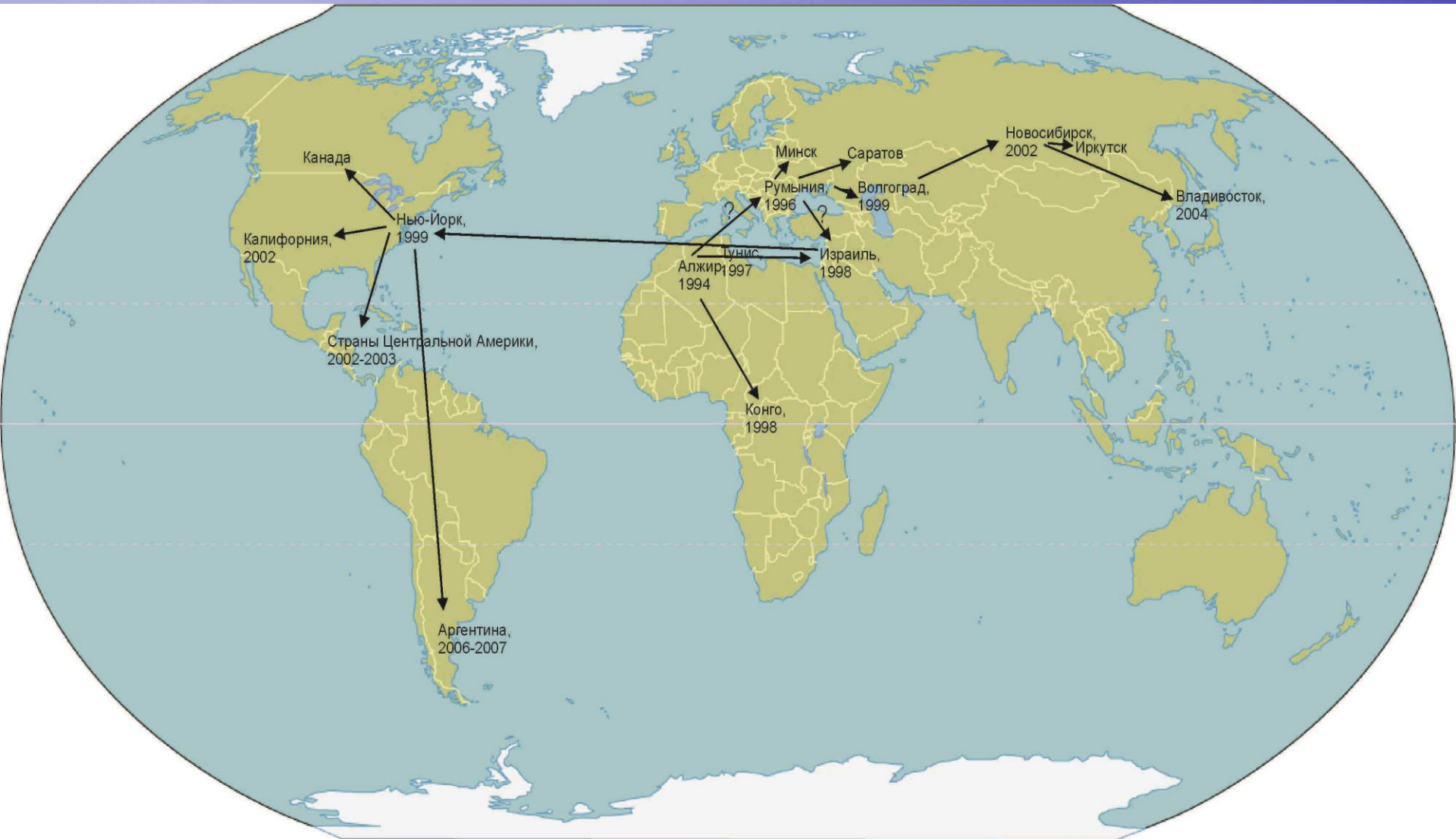
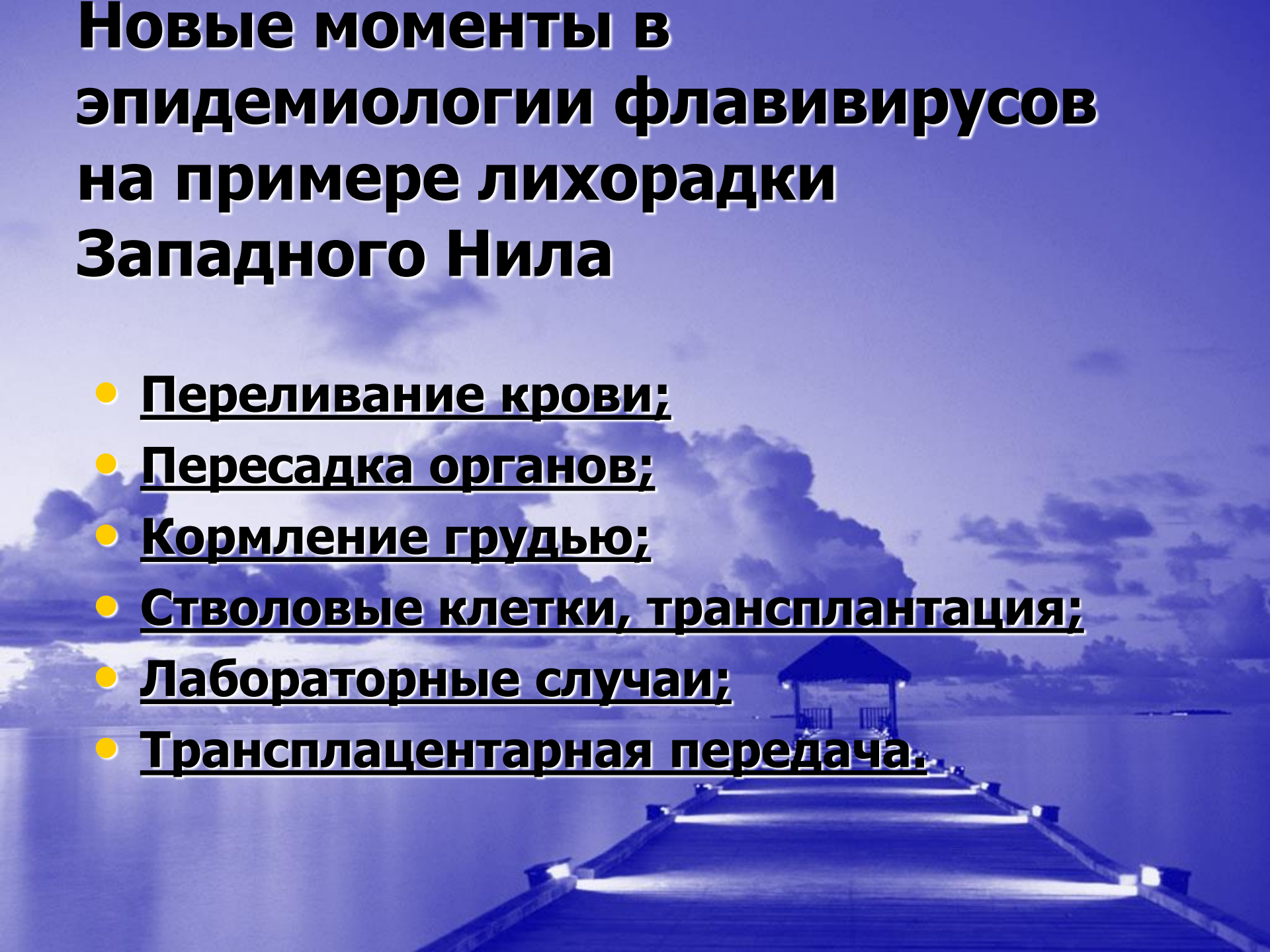


Fig 1 Approximate global distribution of West Nile virus (or its subtype, Kunjin virus)

Глобальное распространение ВЗН, современный генотип 1a

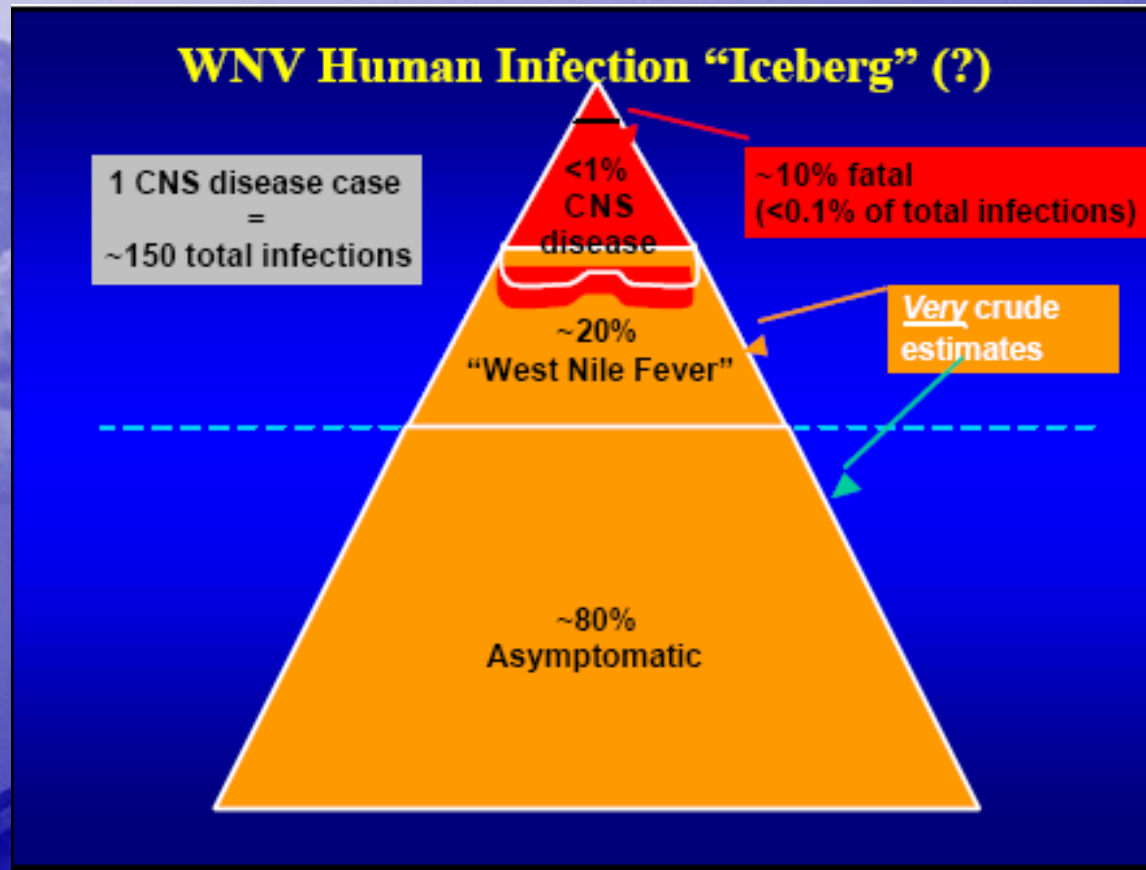


Новые моменты в эпидемиологии флавивирусов на примере лихорадки Западного Нила

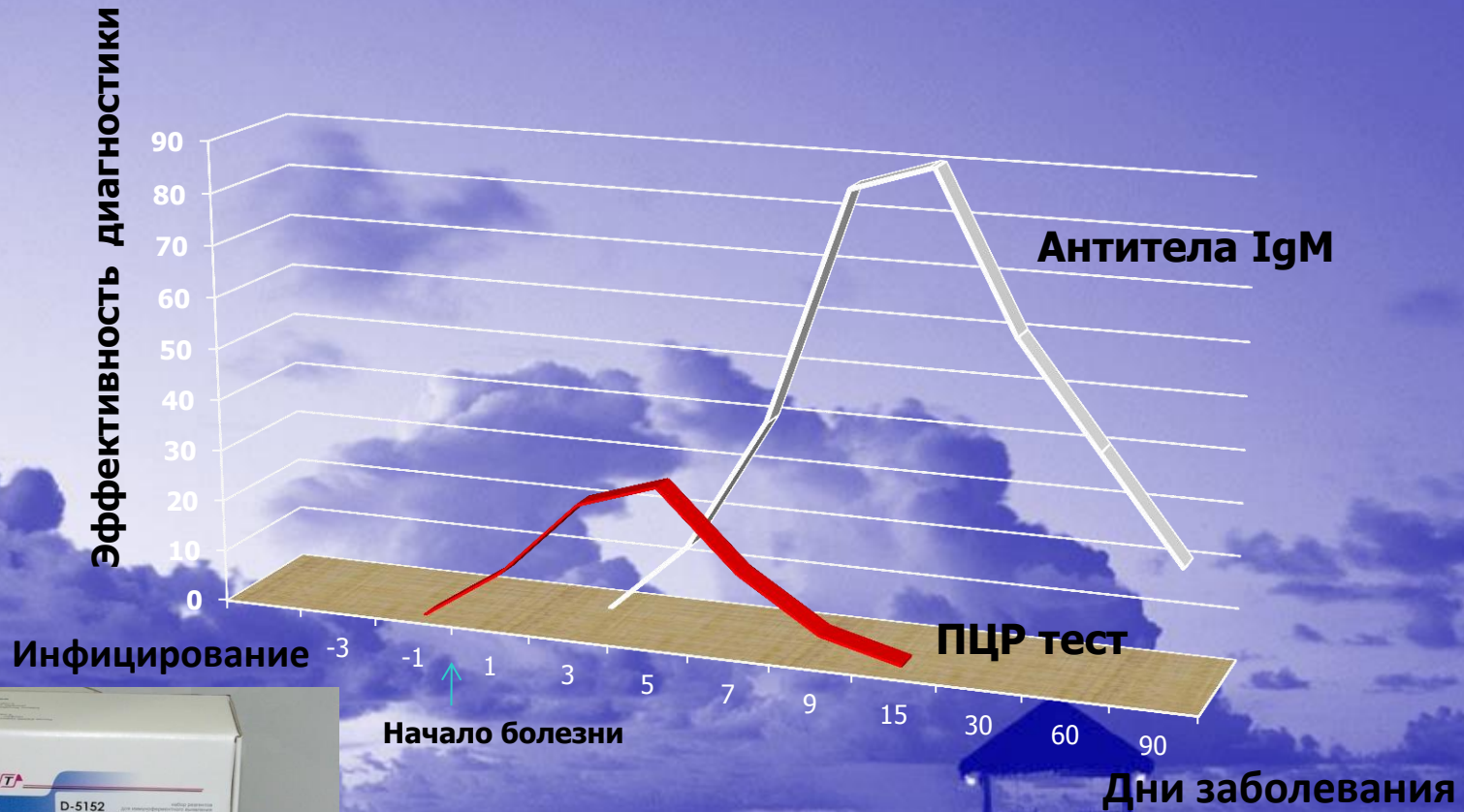
- Переливание крови;
 - Пересадка органов;
 - Кормление грудью;
 - Стволовые клетки, трансплантация;
 - Лабораторные случаи;
 - Трансплацентарная передача.
- 

WNV, vectors and hosts:

- > 64 species of mosquitoes
- > 326 species of birds
- > 35 species of mammals and reptilians
- - Human

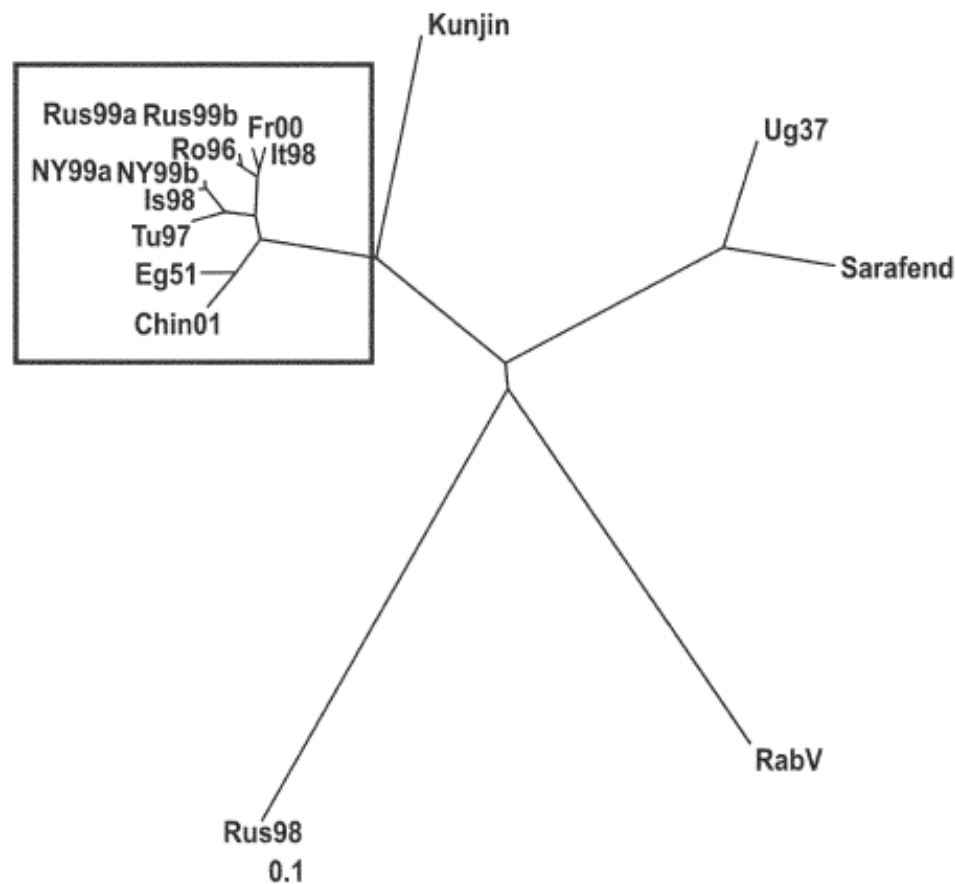


Особенности лабораторной диагностики флавивирусов (ВЗН, ВКЭ)



Лихорадка Энцефалит Выздоровление

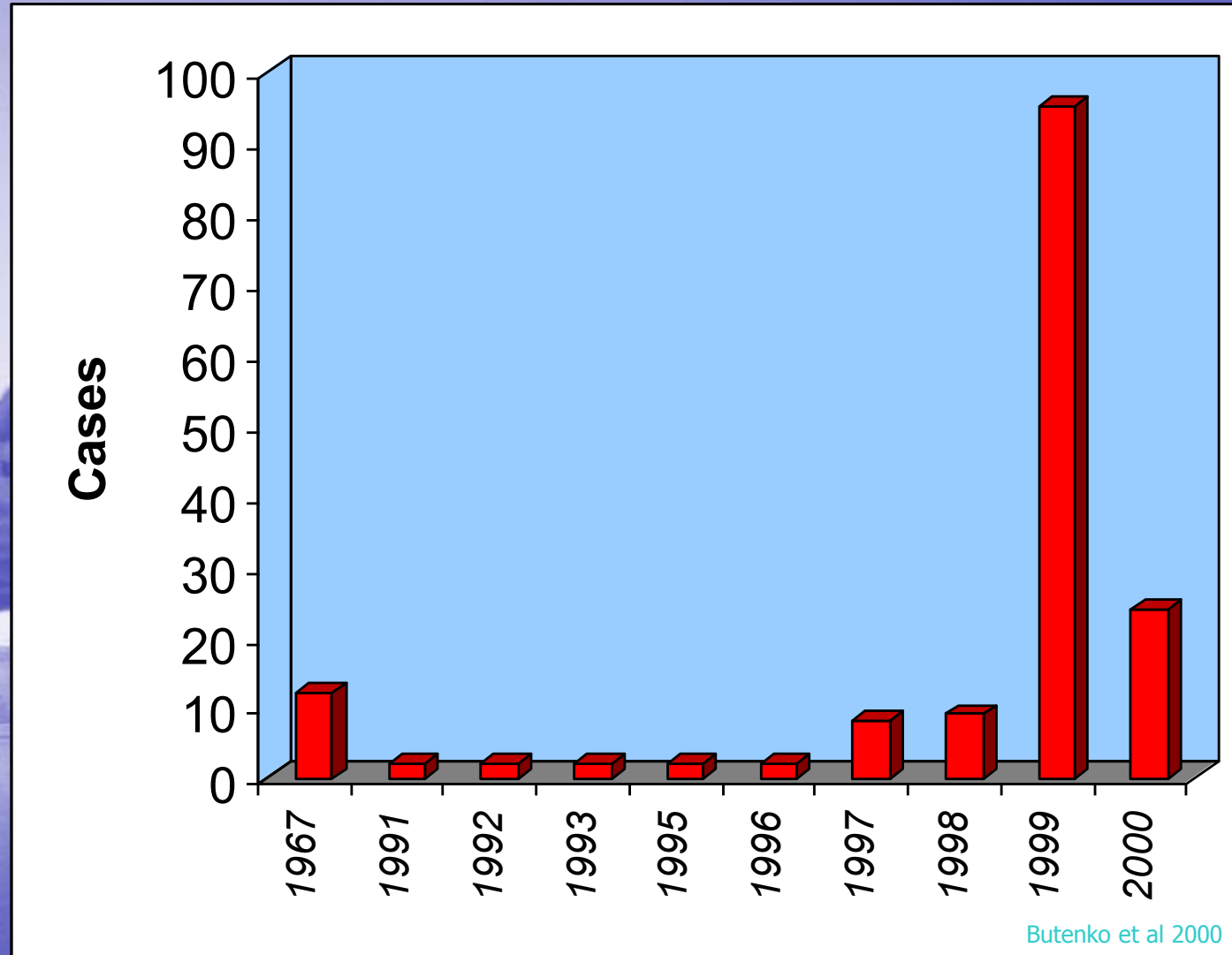




Февраль 2005, опубликовано описание нового флавивируса, выделен в Чешской республике – назван Рабенсбург. Изолят 1997 года.

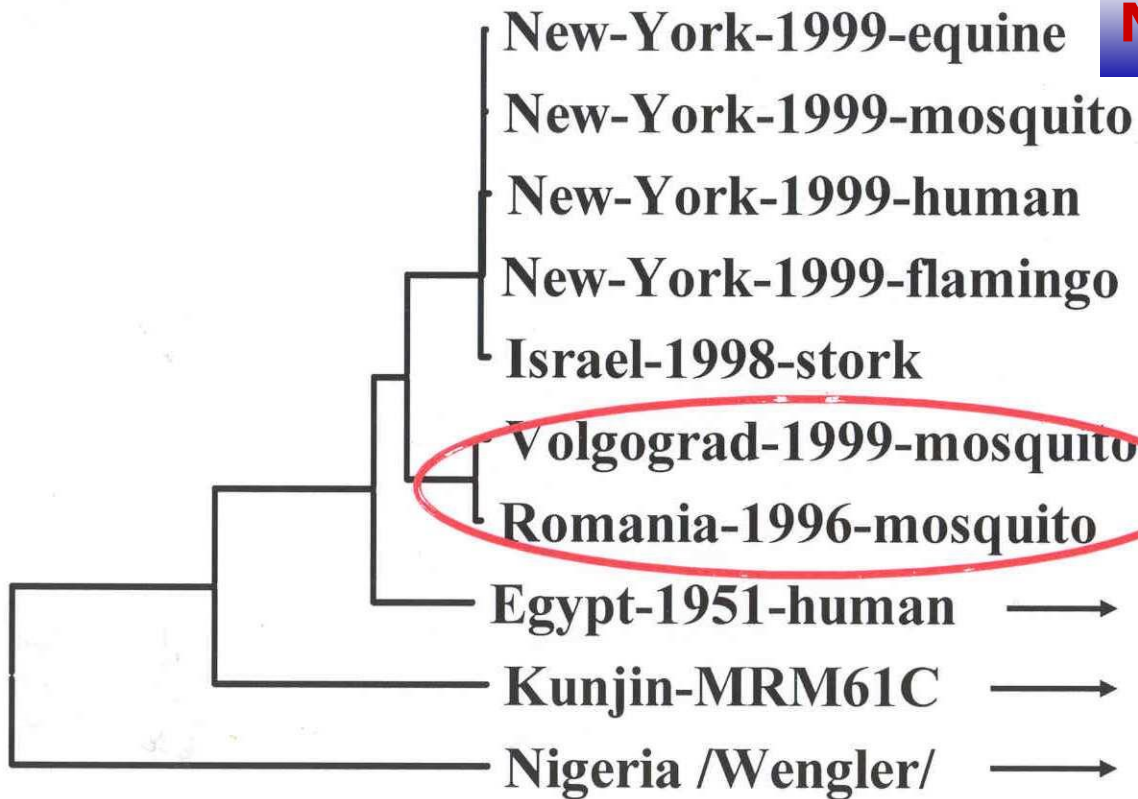


West Nile in Astrakhan Region





Phylogenetic tree of West Nile viruses



Nucleotide differences

NY group – 0,2%

From Israel – 0,4%
From Volgograd – 3,5%

Romania and
Volgograd -0,4%

From Volgograd – 4,5%
- 13,3%
- 20,6%

0.02

Основные генотипы ВЗН

1.

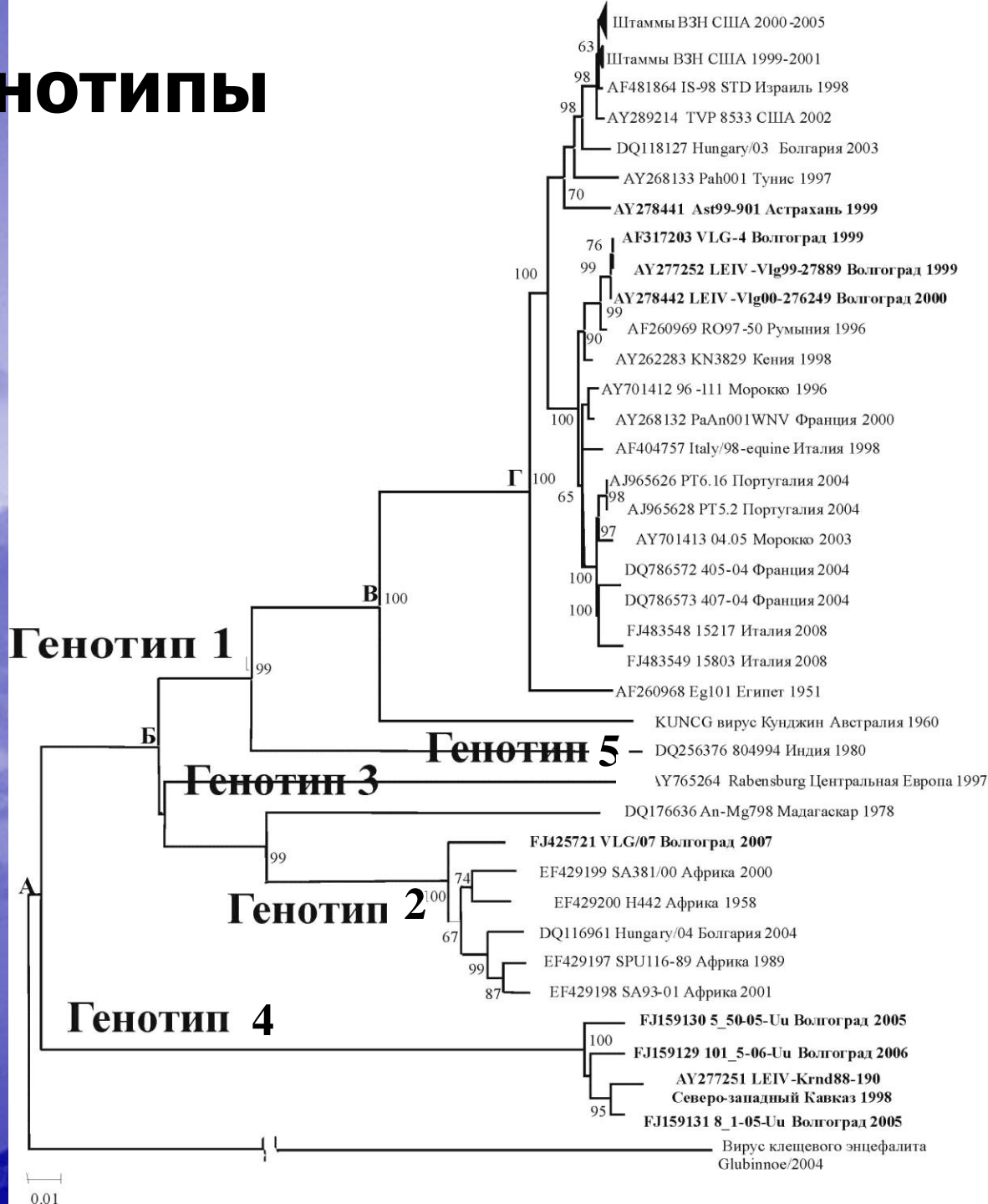


2. Программное обеспечение.

3. Высокоскоростной интернет.

4. Специалисты в области анализа генетических текстов.

5. Лаборатория, обеспечивающая определение нуклеотидных последовательностей генома патогенов.

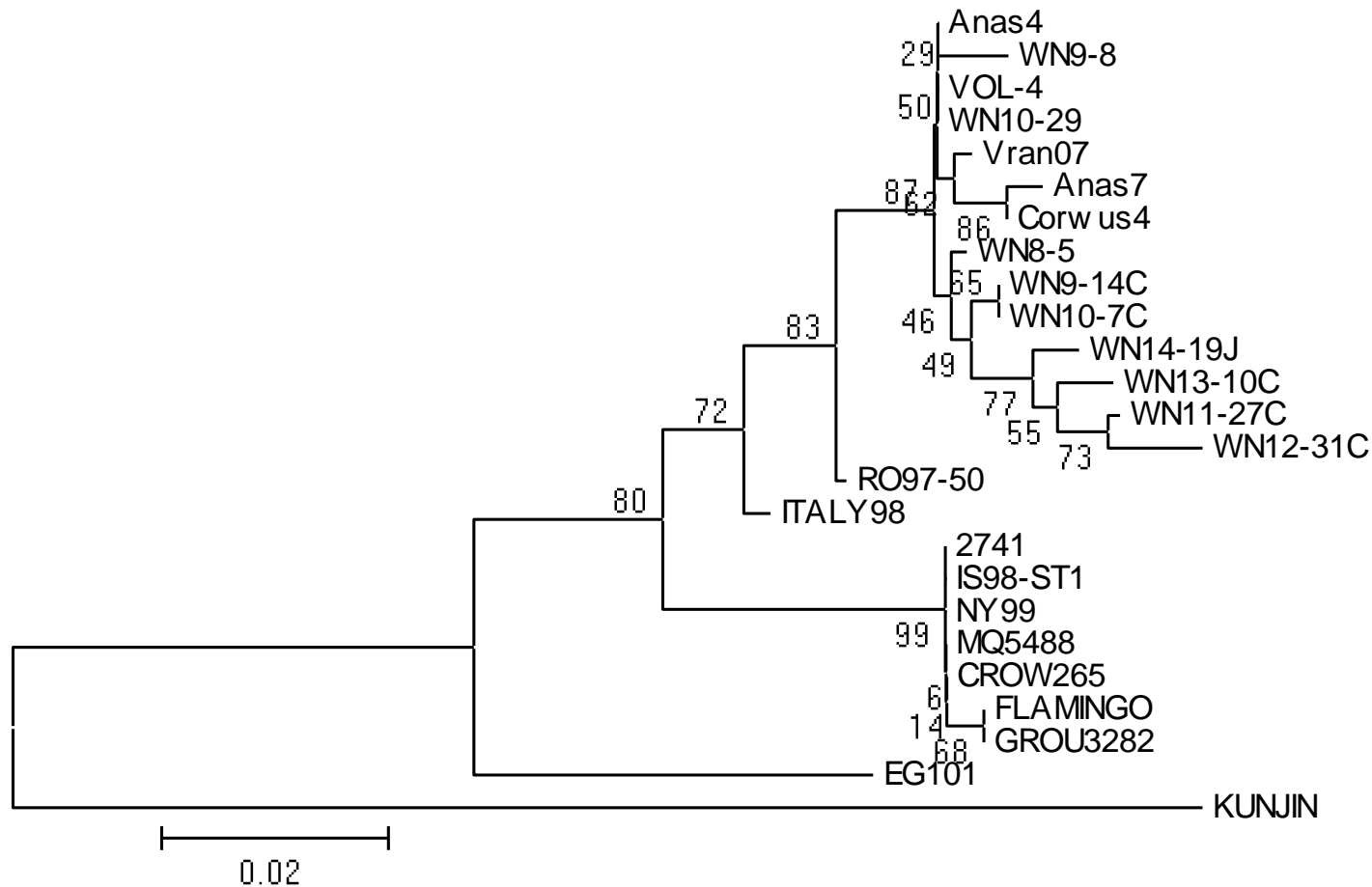


WNV in Russia, 2003-2007.



Новосибирск, лихорадка ЗН, 2004

- Инкубационный период – 14 дней?
- Клиническая картина – лихорадка
- Вакцинация против ВКЭ
- Титр против КЭ (IgG) – 1:400 (день поступления)
- Титр против ВЗН (IgG) – 1:1600 (14 день)
- ОТ-ПЦР – положительно
- Выделен фрагмент кДНК (ген белка E) – секвенирование показало, что это оригинальный вариант ВЗН



Филогенетическое дерево Сибирских вариантов ВЗН (фрагмент): VOL-4 -штамм LEIV-Vlg99-27889; Anas 4, Corvus 4 и Anas 7, Новосибирская обл., 2002; WN9-8 - красноклювая ворона, Монголия. 2003; WN10-29 и WN8-5 – баклан большой, Монголия, 2003; Vran 07 – грач, Карасук, 2003. Образцы 2004г.:

- WN9-14C: Грач, Чаны, 2004;**
- WN10-7C: Грач, Чаны, 2004;**
- WN11-27C: Грач, Чаны, 2004;**
- WN12-31C: Ворона, Карасук, 2004;**
- WN13-10C: Ворона, Карасук, 2004;**
- WN14-19J: Человек, 2004**

Генотип 1
1999 - 2005 гг.

Смена
генотипа
ВЗН !?

Генотип 2

2007 - 2010 гг.

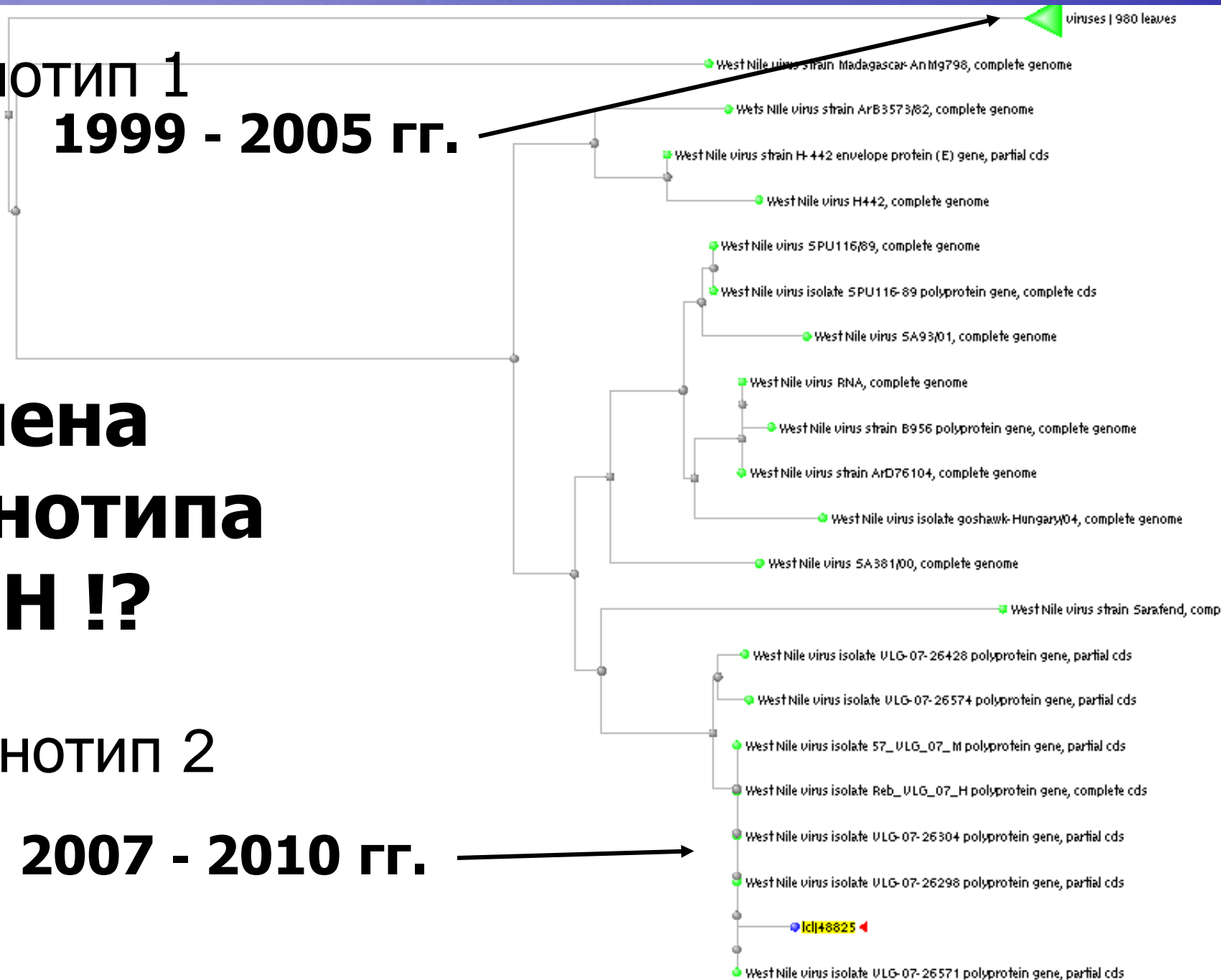
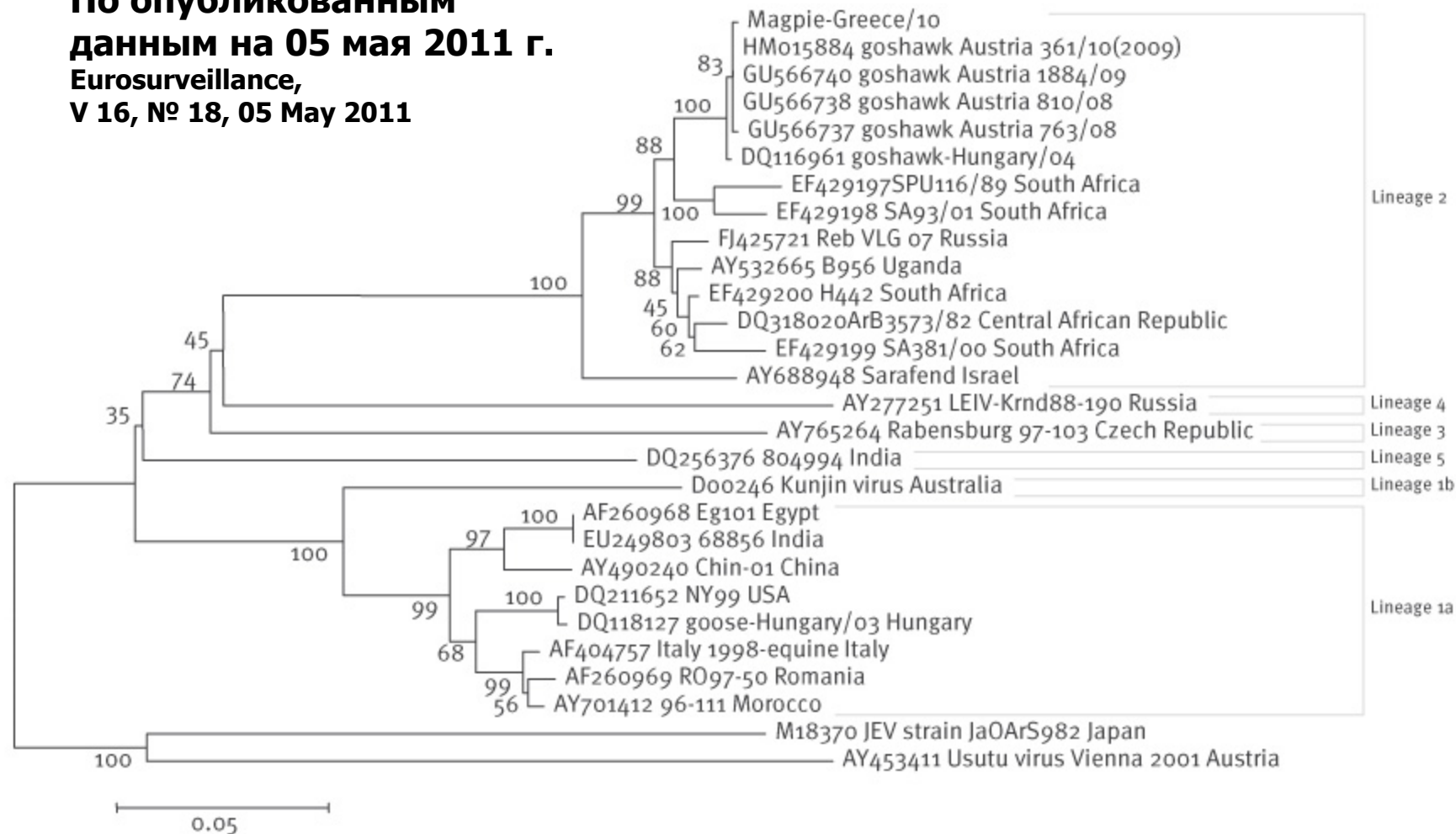


FIGURE 2

Phylogenetic tree of West Nile Virus strains based on nt sequences of the NS5 genomic region

**По опубликованным
данным на 05 мая 2011 г.
Eurosurveillance,
V 16, № 18, 05 May 2011**



The sequence from the present study is shown in bold.

The sequences used to derive the phylogenetic tree were 797 nt long.

GenBank accession numbers and geographic origins of strains are shown.

Bootstrap values (in per cent) are represented at each tree node.

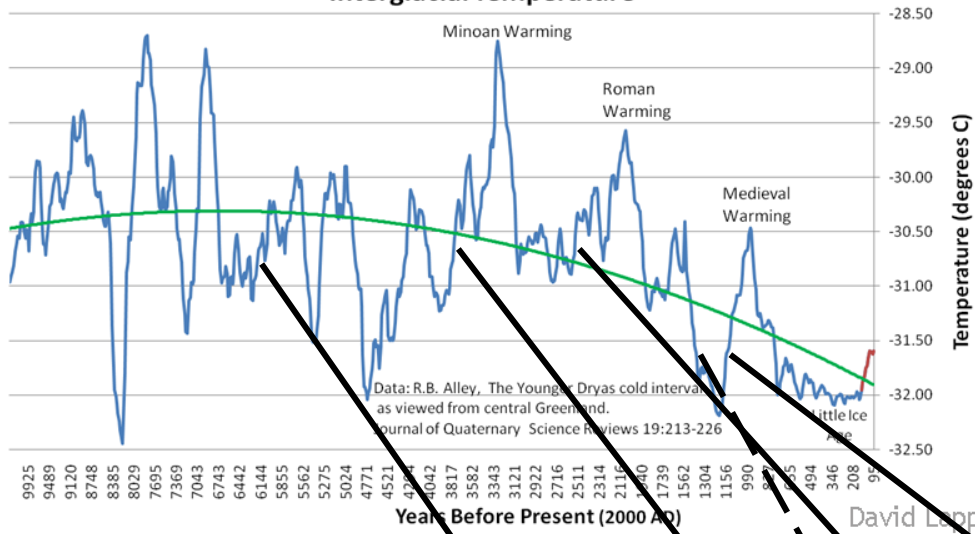
Лихорадка Западного Нила, Россия

- В период с июля по октябрь 2010 г. на территории России был зарегистрирован эпидемический подъем ЛЗН с вовлечением Волгоградской, Ростовской, Воронежской, Астраханской областей, Краснодарского края, Челябинской области, Республики Калмыкии, Республики Татарстан и г. Москвы с общим числом пострадавших 527 человек.
- Мониторинг за ВЗН в 2008-2010 гг. показал наличие антител к ВЗН у населения 21-й территории из 25-ти обследованных (Астраханской, Волгоградской, Ростовской, Саратовской, Воронежской, Калининградской, Новосибирской, Иркутской, Томской, Сахалинской областей, Краснодарском, Ставропольском, Приморском, Красноярском, Хабаровском, Алтайском краях, республик Адыгея, Татарстан, Калмыкия, Хакасия, Бурятия, Саха), что свидетельствует о латентно протекающей, не диагностируемой инфекции.

– Коллегия Роспотребнадзора от 01 апреля 2011 г.
О совершенствовании эпидемиологического надзора и профилактике лихорадки Западного Нила в Российской Федерации

Greenland GISP2 Ice Core - Last 10,000 Years

Interglacial Temperature

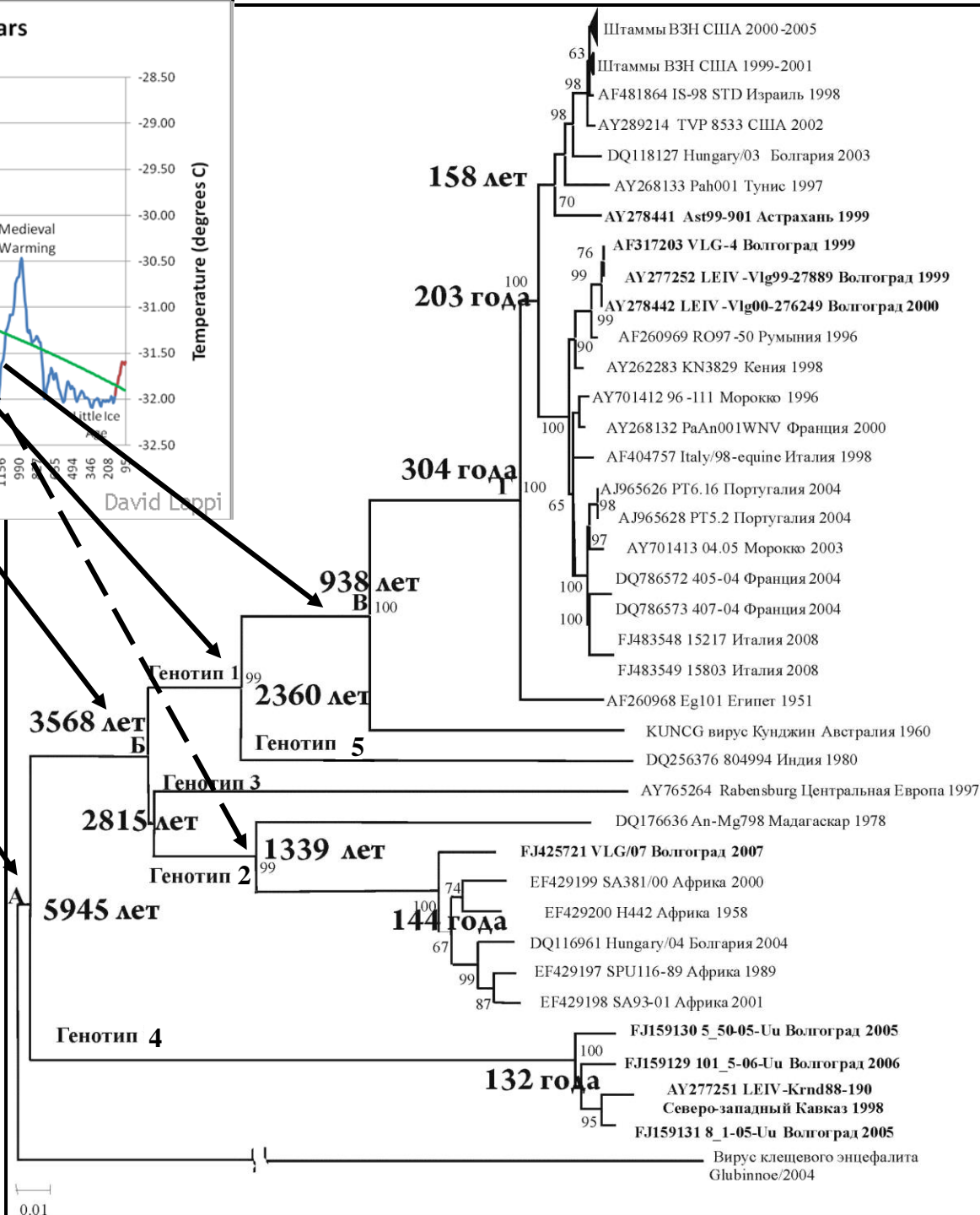


joannenova.com.au

David Leppi



Молекулярные часы и климат



Филогенетический анализ геномных (фрагментов) последовательностей флавивирусов

Сегодня в **Genbank**

депонировано нуклеотидных последовательностей:

вирус Западного Нила – **42930 (Россия - 173)**

вирус клещевого энцефалита – **1863 (1081)**

вирус гепатита С – **233534 (860)**

ПОЛНАЯ НУКЛЕОТИДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПОЛИПРОТЕИНА ШТАММА КОЛАРОВО/2008 СИБИРСКОГО СУБТИПА, ИЗОЛИРОВАННОГО ИЗ ИКСОДОВОГО КЛЕЩА.

Genbank

депонировано **СИНТЕТИЧЕСКИХ**

последовательностей:

вирус Западного Нила – **22303**

вирус клещевого энцефалита – **0**

вирус гепатита С – **34169**

```
1 agatthttctt gcaoctgogt gogthttgctt cagatagcat tagcagocggc aggtthtgaa
61 gagacattgt ctogthttcta ctagtogtga acgtgttgag agaaagacag cttaggagaa
121 caagagctgg ggatggccag aaaggccatt ctgaaaggaa agggggggcgg tccccctoga
181 ogagocgctga aagagacocg aaagaagacg cgtcaatcca gagtccaaat gccaaatgga
241 ctogtgthtga tgcgcatgat ggggatcttg tggcatgcca tagctggcac tgccagaagc
301 cccgthtttga aatcattctg gaaaccagtt cctctgaaac aggccacggc agcactccgg
361 aaaatcaaga aggcagtgag cgtthttgatg gtaggcttgc aaagacgtga aaaaaaggg
421 tcaacaacag attggatggg ctggctgctc gtcactgttt tctgagggat tagactcag
481 gcaacagtac ggaaggaagg ggcagccacc actgtgatca gctgctgctc gctgctgctc
541 gcaactcagg tgcgogtgga gaacggcacc tgtgtgatta tctgctgctc gctgctgctc
601 tgggtgtgatg actcactgto ctatgagtgt gtgactatag gctgctgctc gctgctgctc
661 gatgtggatt gctthttgag aaatgttgat ggggtctacc gctgctgctc gctgctgctc
721 aaacaggaag ggtcaaggac aaggocgctca gtgctgattc gctgctgctc gctgctgctc
781 ctcaocggaa ggggacacaa atggctggaa ggagattcat gctgctgctc gctgctgctc
841 gttgaagggt gggthttgaa aaacaaacta cttgcccctgg cagtggtagc cgtggtgtgg
901 ttgaccogtg aaagtgtggt gacctgagtc gccaaggtgg cctgctgctc cgtgctgctc
961 ccgthttatg cgtcactgat cacatctcty gagaataggg acctgctcac tggcactcag
```

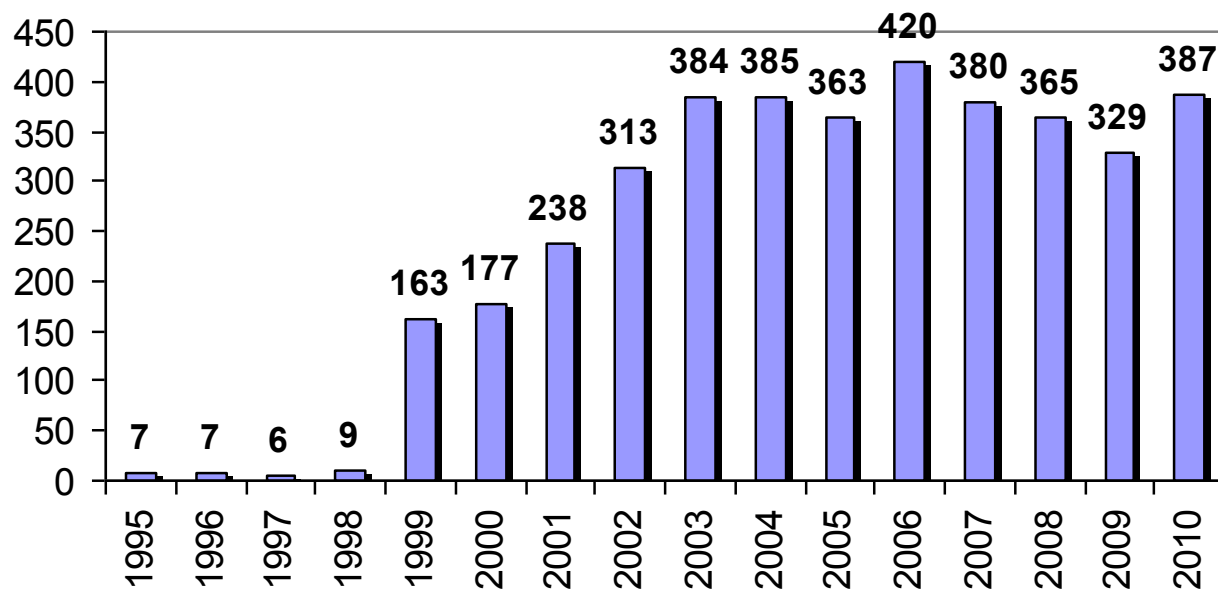


Ixodes scapularis, whole genome DNA; Length: 895,741,386

23 сентября 2013 г.

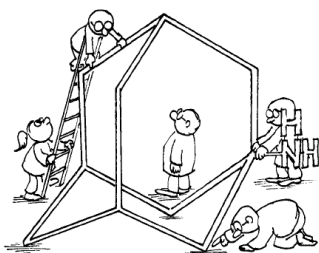
Количество публикаций по вирусу Западного Нила (данные PubMed)

Number of publication



2

- В 2011 году опубликовано - **422** статей
- 2012 году опубликовано - **382** статьи (РФ – 0)
- 2013 году на 23 сентября – **310** (РФ - 1)





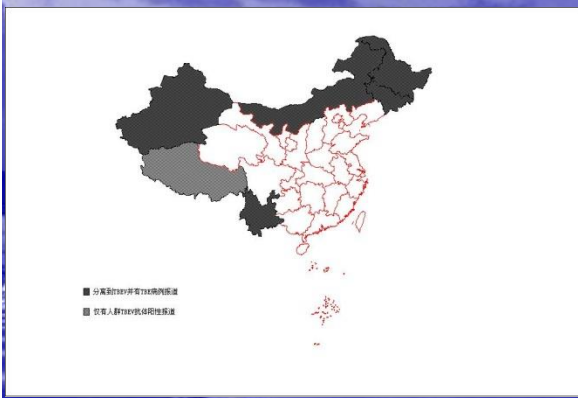
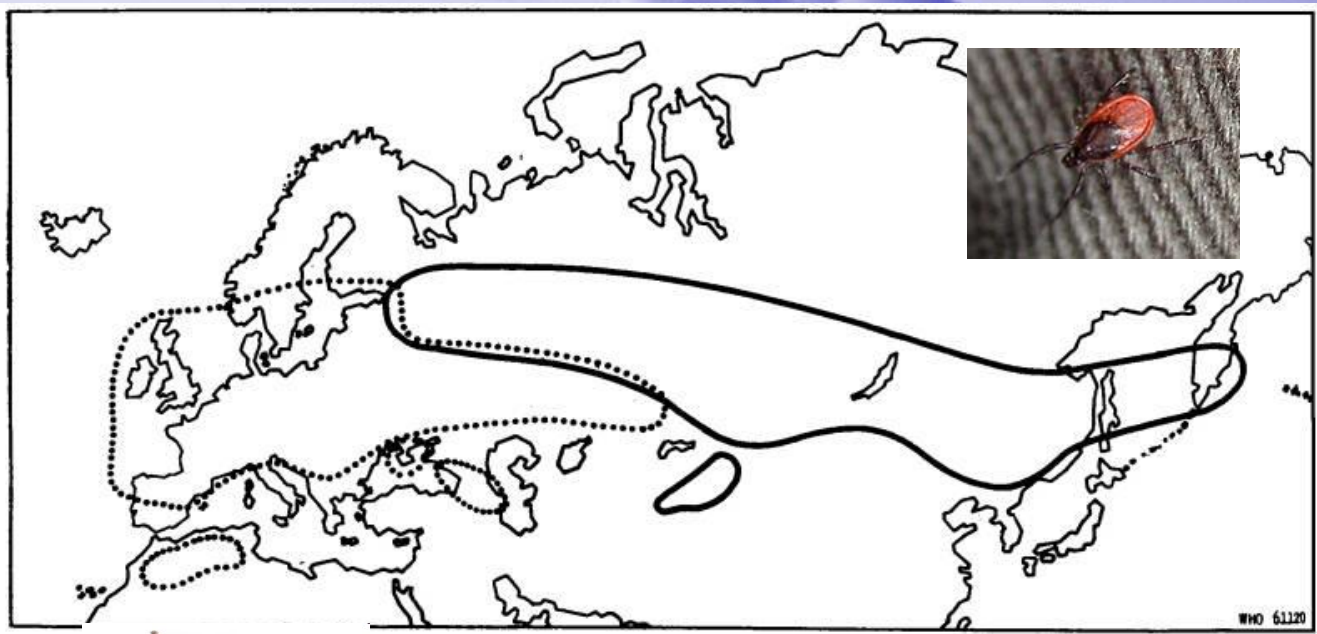
1937 – год открытия ВКЭ, вид из космоса на поселок Обор и место предполагаемого расположения лаборатории.



Первая дальневосточная экспедиция, открывшая вирус клещевого энцефалита. Июнь 1937 г. Исследование материала в пос. Обор. М.П.Чумаков (до заболевания клещевым энцефалитом) лаборант Г.Н.Зорина-Николаева и начальник северного отряда Е.Н.Левкович.



Заболееваемость клещевым энцефалитом регистрируется более чем в 25 европейских и 7 азиатских странах. На этой территории проживает около 700 миллионов человек, даже не включая Китай. Систематических данных по количеству случаев клещевого энцефалита (КЭ) в Китае нет; однако, имеется сообщение (одно) о регистрации 3500 случаев в 1994 году



27 вирусов были обнаружены в клещах в Европе?!



- **Flaviviruses:** TICK-BORNE ENCEPHALITIS, LOUPING-ILL, Tyuleniy and Meaban;
- **Orthobunyaviruses:** Bahig, Matruh;
- **Phleboviruses:** Grand Arbaud, Ponteves, Uukuniemi, Zaliv Terpeniya and St. Abb's Head;
- **Nairoviruses:** Soldado, Puffin Island, Avalon, Clo Mor, CRIMEAN-CONGO HEMORRHAGIC FEVER;
- **Bunyavirus :** Bhanja;
- **Coltivirus :** Eyach;
- **Orbiviruses:** Tribec, Okhotskiy, Cape Wrath, Mykines, Tindholmur and Bauline
- **Thogotoviruses :** Thogoto , Dhor;
- **Asfivirus :** AFRICAN SWINE FEVER VIRUS

Hubálek Z, Rudolf I. Tick-borne viruses in Europe. Parasitol Res. 2012 Apr 18.

На территории России также такие вирусы как: Омская геморрагическая лихорадка, вирус Западного Нила, Повассан, Кемерово

Основные клещевые инфекции в средней полосе России



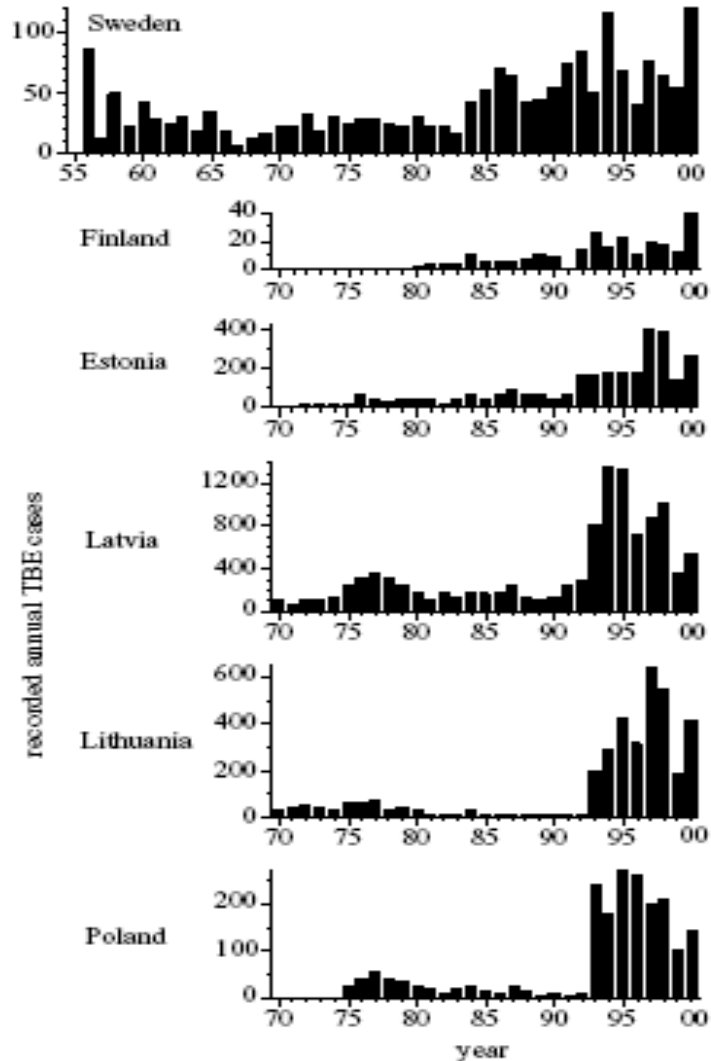
- Клещевой энцефалит
- Клещевые боррелиозы
- Клещевые риккетсиозы
- Энцефалит Повассан
- Омская геморрагическая лихорадка
- Анаплазмозы
- Эрлихиозы
- Бартоanelезы
- Лихорадка Западного Нила - !?

Природные очаги ВКЭ в Европе

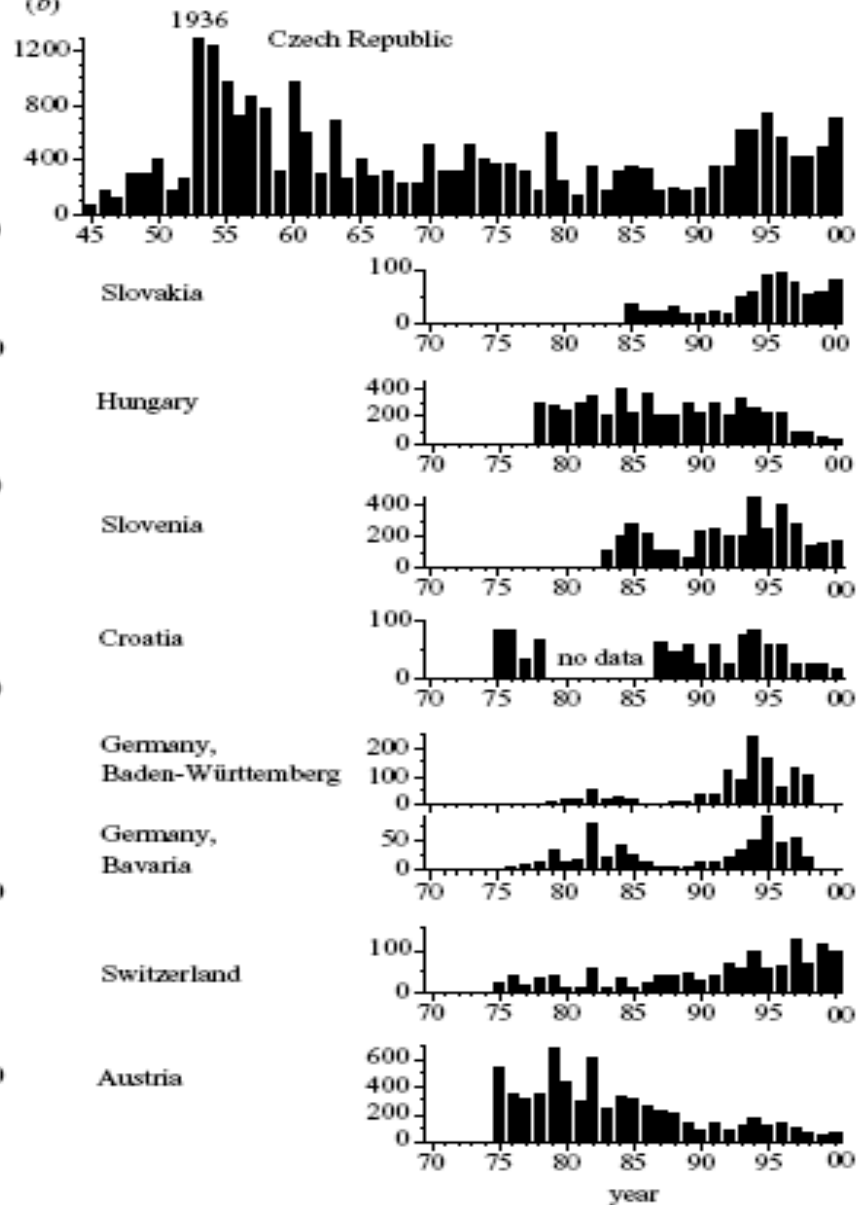


European distribution of natural foci of tick-borne encephalitis (CEE and RSSE) and louping ill (asterisks). Explanation: black dots and black areas, TBE virus isolation or the virus disease. The dotted line shows the limits of the *Ixodes ricinus* plus *I. persulcatus* area

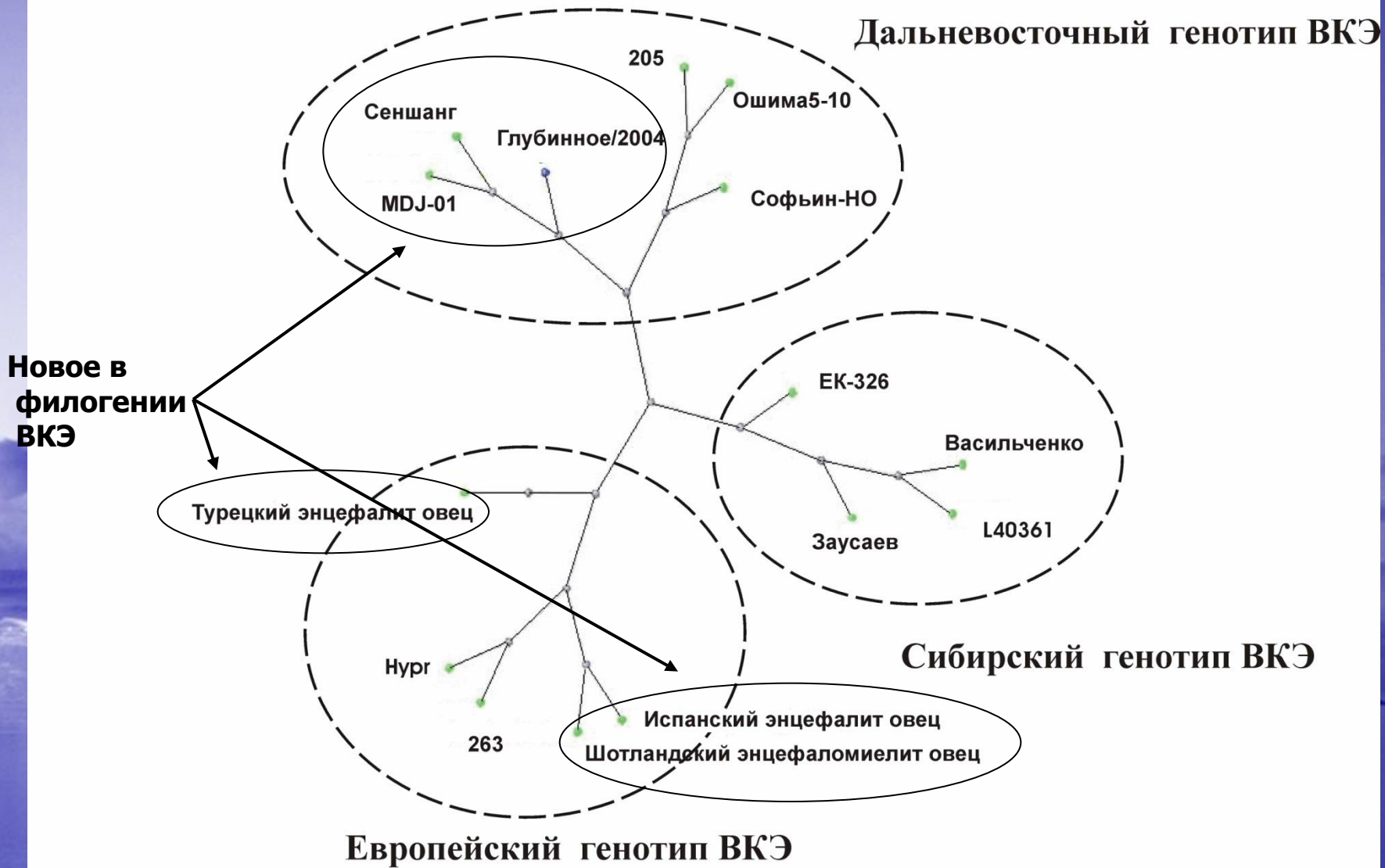
(a)



(b)



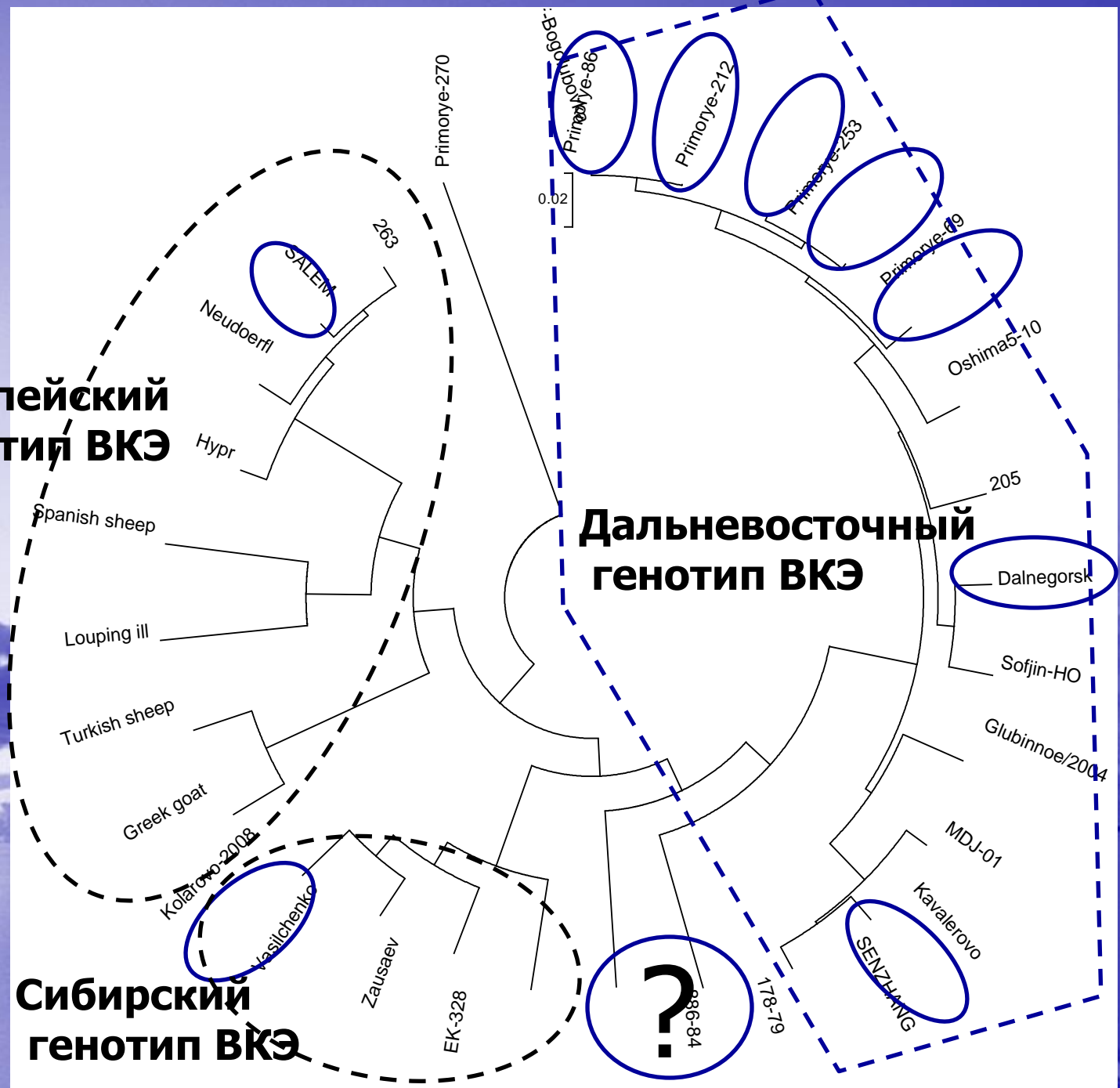
Tick borne encephalitis in Europe.



**Европейский
генотип ВКЭ**

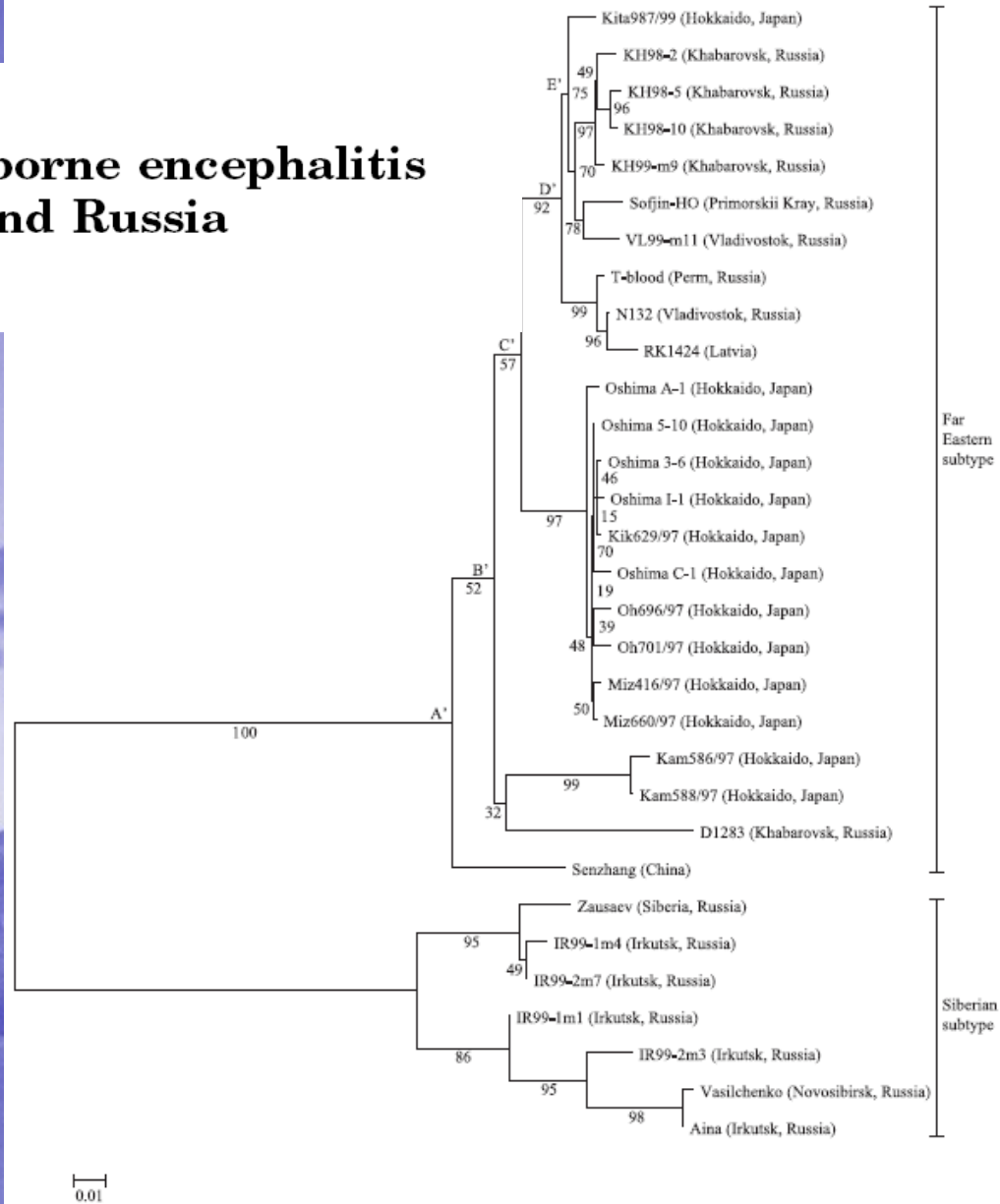
**Дальневосточный
генотип ВКЭ**

**Сибирский
генотип ВКЭ**



Multiple transmissions of tick-borne encephalitis virus between Japan and Russia

Yoshiyuki Suzuki*



2. Phylogenetic tree of the 31 sequences of Japanese TBEV and the Far Eastern and Siberian subtypes constructed by the method using the TrN model with Γ distribution ($\alpha = 0.26$) for all nucleotide sites of the E gene (1488 nt). The geographical location of the viral strain is indicated in the parentheses after the strain name. The number attached to each interior branch indicates the bootstrap trap probability. A', B', C', D', and E' are labels for the interior nodes. The scale bar indicates the number of nucleotide substitutions per site.

Nucleotide (Nt) and amino acid (A.a) identity (%)

		Far Eastern Subtype			Siberian Subtype		European Subtype	
A.a. \ Nt	205	Sofjin	Oshima 5-10	Vasilchenko	Zausaev	Hypr	Neuerdorfl	
205		91	89	81	82	80	78	
Sofjin	94		93	85	85	83	81	
Oshima 5-10	92	96		84	83	81	82	
Vasilchenko	90	94	92		93	84	83	
Zausaev	91	93	91	97		85	82	
Hypr	89	91	90	91	93		94	
Neuerdorfl	87	90	90	91	90	95		

Геморрагический клещевой энцефалит (Новосибирск, 1999)

Возраст:	44 - 69 лет
Инкубационный период	12,8 дней
Начало заболевания	0 день
Первые геморрагические симптомы	7 день
Поражение ЦНС	10 день
Массивные кровотечения	13-14 день
Летальный исход	16 день



Alkhurma virus – new heavy hemorrhagic flavivirus infection in human

- In 1995, Alkhurma virus was isolated from patients in Saudi Arabia

Emerging Infectious Diseases Vol. 11, No. 5, May 2005

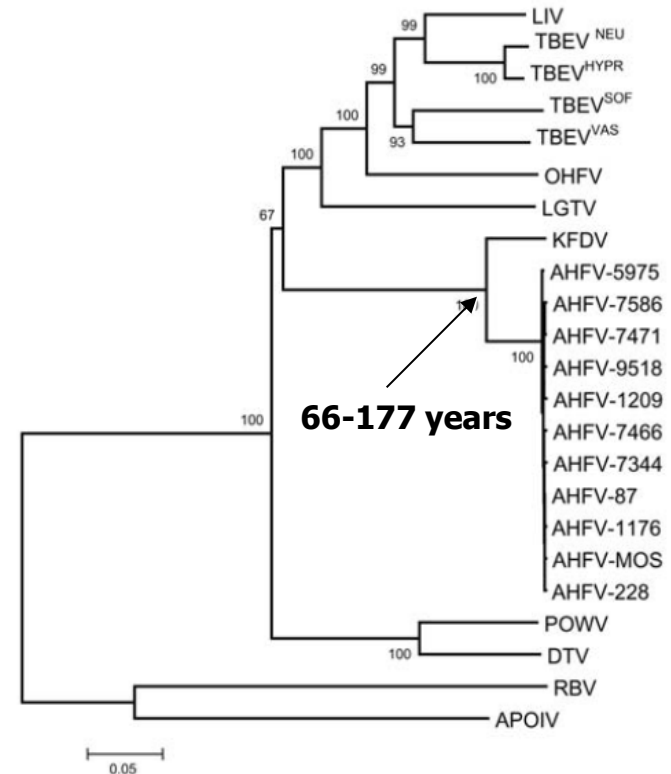
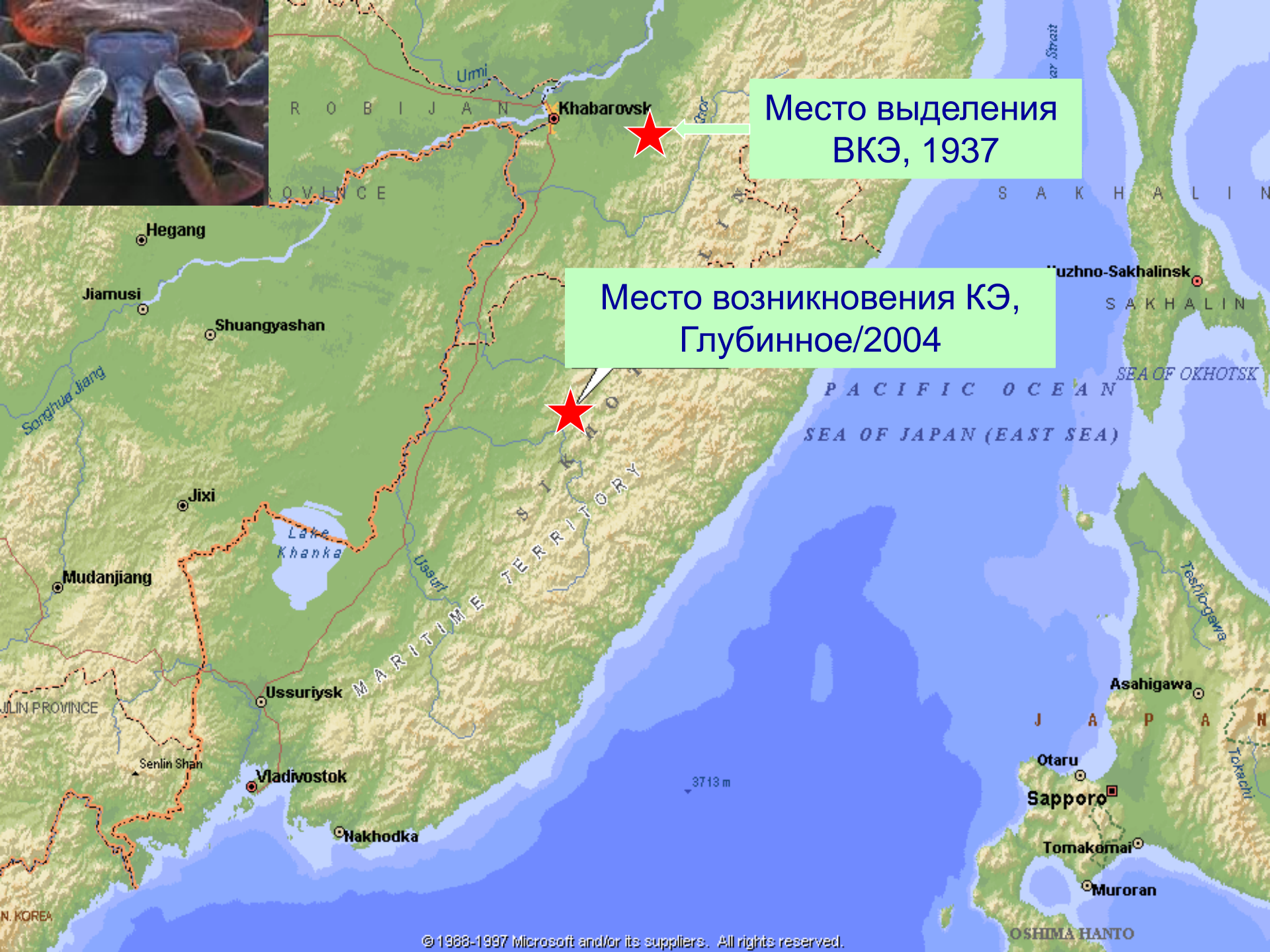


Figure 2. Phylogenetic analysis of Alkhurma hemorrhagic fever virus isolates and selected tickborne and nonvector-borne flaviviruses based on a 2097-nucleotide (nt) sequence constituted by the colinearization of E, NS3, and NS5 sequences (699, 713, and 685 nt, respectively). Distances and groupings were determined by the Jukes-Cantor algorithm and neighbor-joining method with the MEGA 2.1 software program (7). Bootstrap values are indicated and correspond to 500 replications.



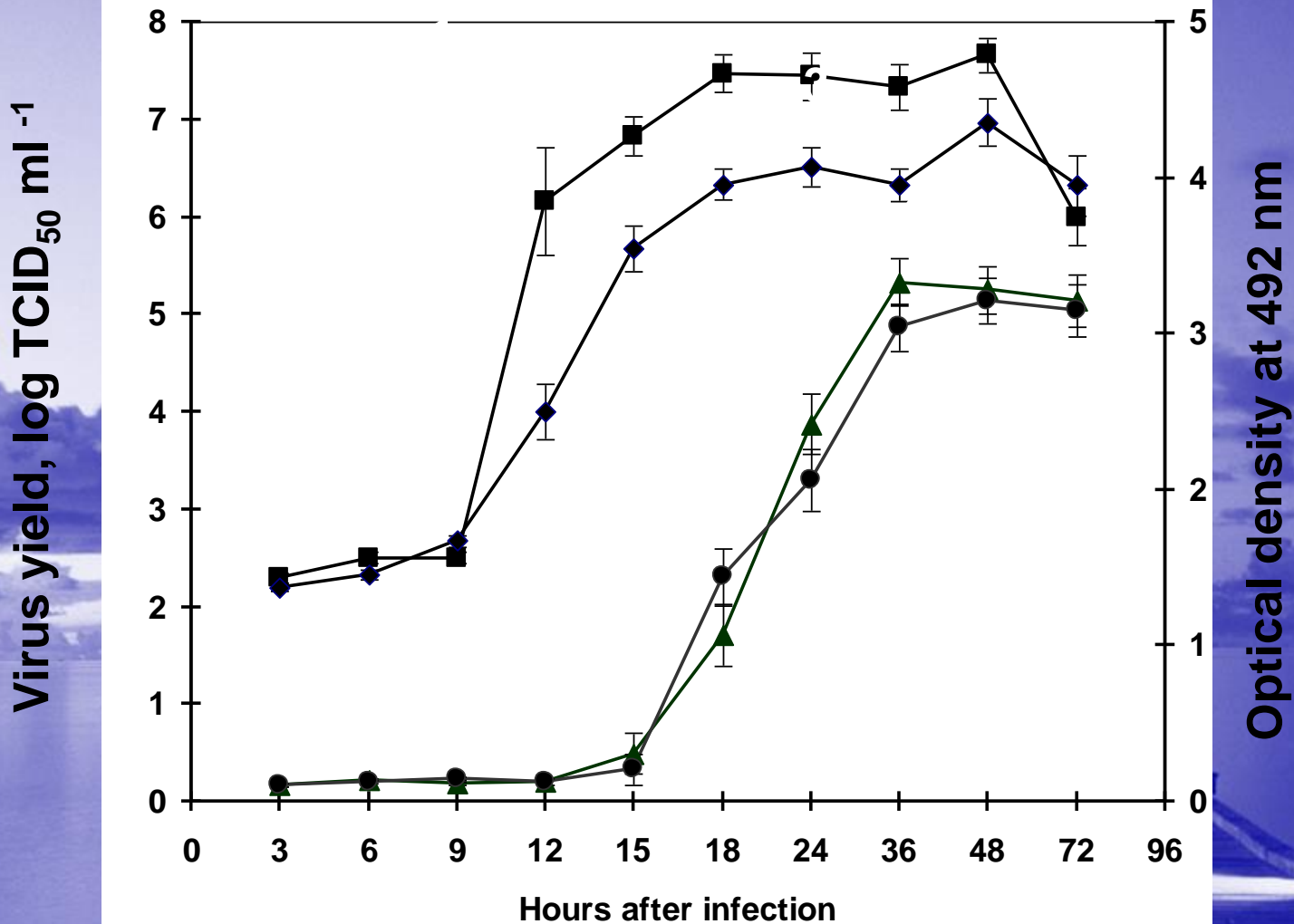
Место выделения
ВКЭ, 1937

Место возникновения КЭ,
Глубинное/2004

Случай КЭ, вызванный штаммом Глубинное/2004 ВКЭ

Возраст пациента:	15 лет
Дата укуса клещем	30 мая, 2004
Инкубационный период	8 дней
Клинические проявления:	
Тяжелая лихорадка	1 день
Первые признаки энцефалита	2 день
Поражение ЦНС (Санитарная авиация, Владивосток, активная реанимация на 4 день заболевания)	4 день
Кома и остановка дыхания	5 день
Смерть (остановка сердца)	10 день

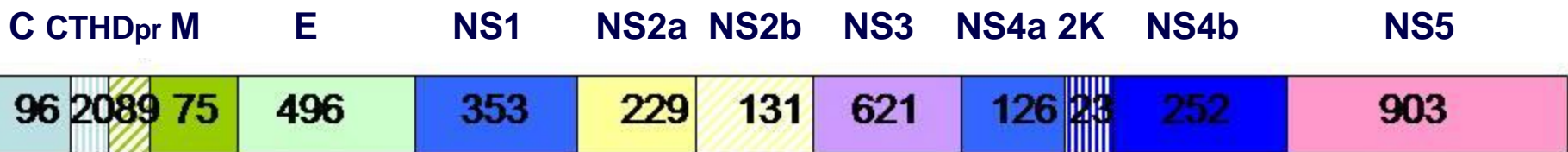
Инфекционность штамма Глубинное/2004 ВКЭ для культуры клеток



Nucleotide (Nt) and amino acid (A.a) identity (%)

Nt A.a.	Glubinnoe/ 2004	205	Sofjin	Oshima 5-10	Vasilchenko	Zausaev	Hypr	Neuerdorfl
Glubinnoe /2004		91	94	92	85	85	83	81
205	94		91	89	81	82	80	78
Sofjin	97	94		93	85	85	83	81
Oshima 5- 10	95	92	96		84	83	81	82
Vasilchen ko	93	90	94	92		93	84	83
Zausaev	93	91	93	91	97		85	82
Hypr	91	89	91	90	91	93		94
Neuerdorfl	90	87	90	90	91	90	95	

Расположение аминокислотных мутаций у штамма Глубинное/2004 в сравнении со штаммами 205 и Софьин ВКЭ



Comparison with strain 205

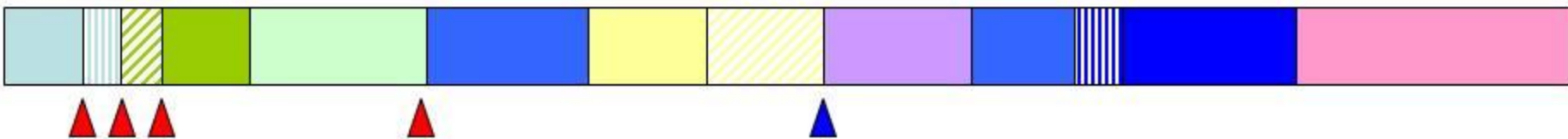
0	5	0	1	4	4	5	1	10	2	0	5	16	Tot: 53
3	5	0	3	4	2	6	1	12	2	0	3	16	Tot: 57

Comparison with Sofjin-HO


CTHD - C-terminal hydrophobic domain

Расположение сайтов протеолиза у штамма Глубинное/2004 ВКЭ

C CTHD pr M E NS1 NS2a NS2b NS3 NS4a 2K NS4b NS5



 – Putative host cell signalase cleavage site

 – Putative viral NS3 protease cleavage site

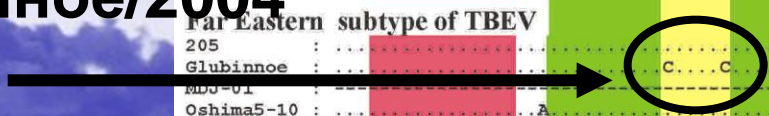


Siberian subtype of TBEV

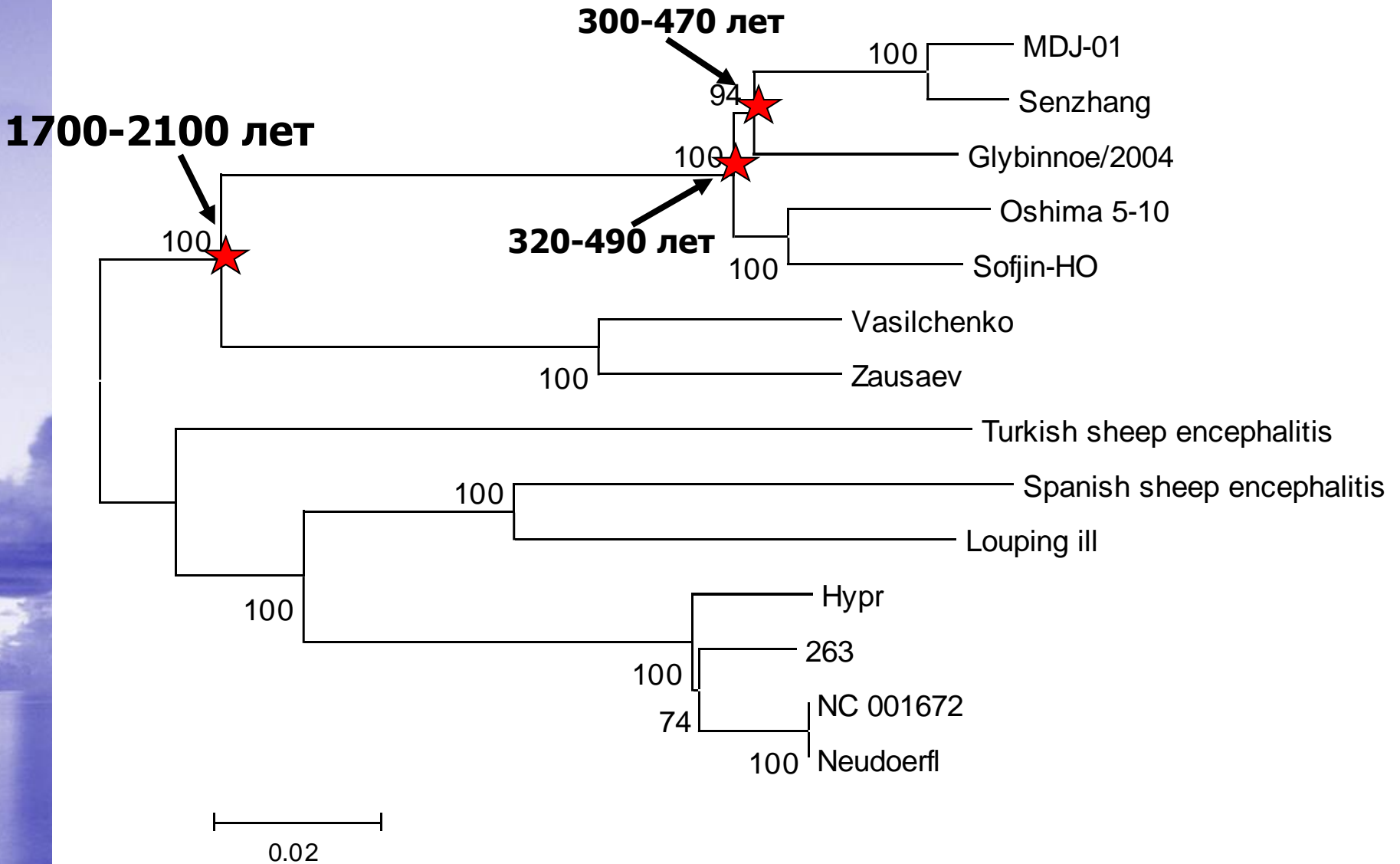
Putative Site for RNA-RNA pol.

	A1	B1	B2	C1	C2	A2						
	20	40	60	80	100							
Zauzaev	AGATTTTCTTCACAGT	GCGTGCCTTTCCT	TCGGATAGCATTAGCAGCGGCAGGTC	CGGAAGACATC	CGTCTCGTTTCTACTAGTCGT	GAACGTGTTGAGAAAAG	106					
Vasilchenko			C	T	T		5					
ek328	TA	C	C	A	T	A	11					
EU715139*	A	A	C	T	T	G	6					
EU715140*	A	A		T	T	G	5					
EU715141*	A	A		T	T	G	5					
EU715142*	A	A		T	T	G	5					
EU715143*	A T T T	A	A	T	T	G	9					
EU715144*	A	A		T	T	G	5					
EU715145*	A	A		T	T	G	5					
EU715148*	A	A		T	T	G	5					
EU715149*	A			T	T		3					
EU715150*	T	A		T	T	A	4					
EU715151*	A			T	T		2					
EU715152*	A	A		T G	T	G	6					
EU715174*	A	A		T	T	G	5					
EU715154*	A	A		T	T		3					
EU715155*	A	A		T	T	G	6					
EU715156*	T	A		T	T	G	3					
EU715157*	A			T	T		2					
EU715158*				T	T		1					
EU715159*	TA	A		T G	T	AG	8					
EU715160*		A		T	T	A	4					
EU715161*	TAG	A		T G	T	A	8					
EU715163*				T	T		1					
EU715146**	A	A		T	T	A G	6					
EU715147**	A	A		T	T	A G	5					
EU715153**	A			T	T	A	3					
EU715162**	A	A		T	T	TCTAC	10					
Prot3	A A A CC AG G	A C C AC G G C	C	A A CT G A			23					
Kalashova		A		T	T	G	4					
Far Eastern subtype of TBEV												
205			AC	A	T AG	G GATC T	-C TG TC	17				
Glubinnoe			AC	A	T AG	G GATC T	-C TG TC	19				
MDJ-01								-				
Oshima5-10	A		AC	A	C T AG	ATC T T	TG TC	17				
Senzhang								-				
SofjinHO			AC	A	T AG	ATC T A	C TG TC	16				
EU715164*			AC	A	T AG	G GATC T	-C TG TC	17				
Prot2	T	GC G AG G	AC	C	T AG	G		15				
EU715166*	T	A	C	AC	A	T AG	GT ATCCT	-C TG TC	21			
EU715167*	T	A	C	AC	A	T AG	GT ATCCT	-C TG TC	21			
EU715168*	A	A	C	AC	A	T AG	GT ATCCT	-C TG TC	20			
Prot1		A	C		A	T AG	GT	8				
EU715173*	TT	T	A	C	A	T AG	GT ATCCT	-C TG TC	23			
EU715165**	TT	A	C	AC	A	T AG	GT ATCCT	-C TG TC	22			
EU715169**	T	A	C	AC	A	T AG	GT ATCCT	-C TG TC	24			
EU715170**	T	A	AA	C	AC	A	T AG	GT ATCCT	-C TG TC	23		
EU715171**	T	A	C	AC	A	T AG	GT ATCCT	-C TG TC	21			
EU715172**	T	T	A	C	AC	A	T AG	GT ATCCT	-C TG TC	22		
European subtype of TBEV												
Hyp	G		C		TT	T A	A T	TC T T	T C	14		
263		A	C		TTT	T A	T	TC T T	C	13		
k23		G		G	TT	T A	T	TC T T	C C	14		
Neudoerfl	A		C		TT	T A	T	TC T T	C	12		
BE83						T A	TAT	T T	C	53		
BE100						T A	TAT	T T	AGTCGTGAG	GTGTAGAG	GA	3
BE105						T A	TAT	T T	C	3		

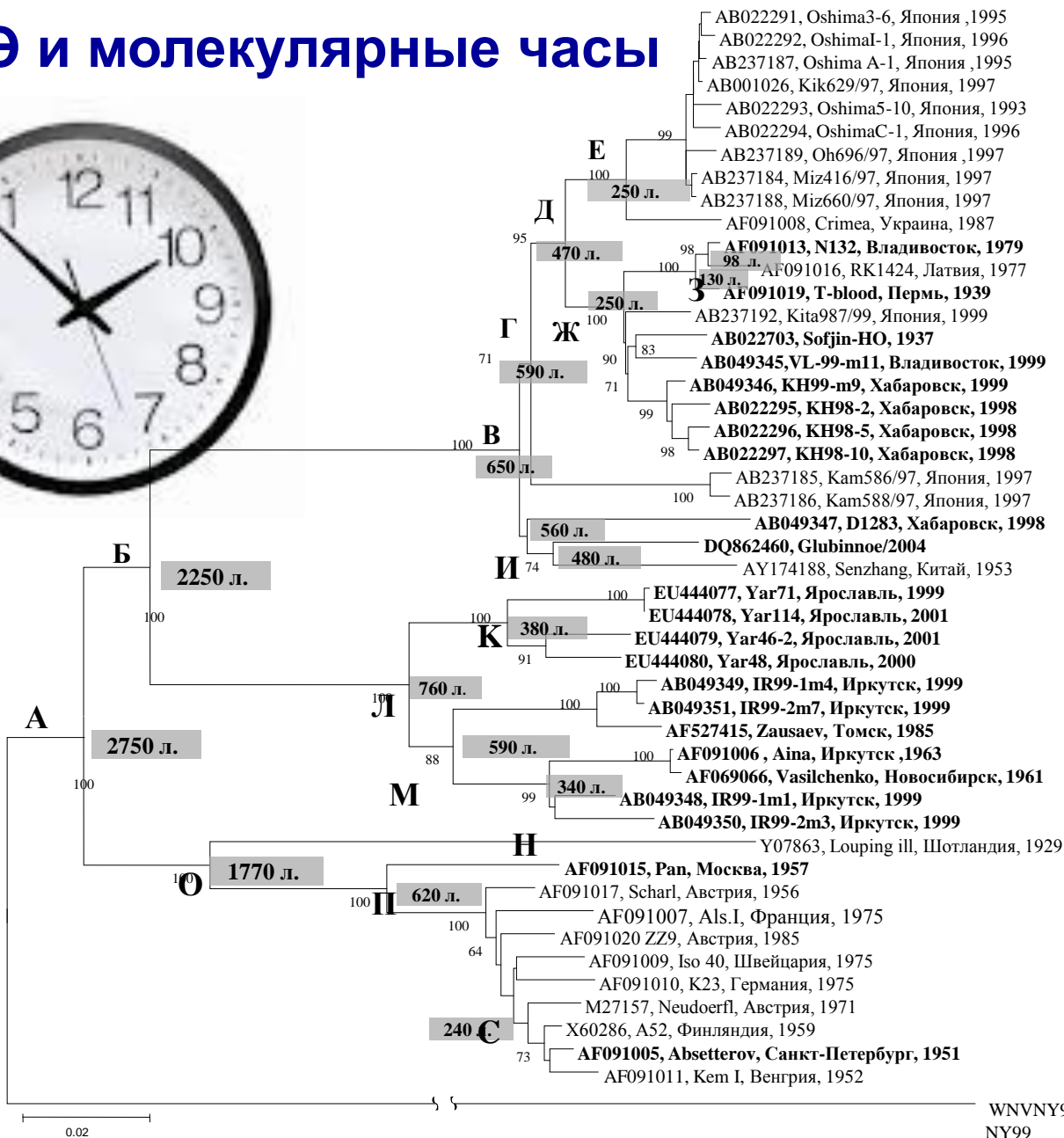
5' NCR район
Глубинное/2004



Время дивергенции для ВКЭ (молекулярные часы)



ВКЭ и молекулярные часы



ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ
ГЕНОТИП

СИБИРСКИЙ
ГЕНОТИП

ЕВРОПЕЙСКИЙ
ГЕНОТИП

WNVNY99, вирус Западного Нила, штамм NY99

Генетическая вариабельность ВКЭ в индивидуальных клещах *Ix.persulctus* и *Ix. pavlovskyi*

Западная Сибирь, Томск

VBZ-2009-0064-Chausov_1P.3D 08/12/09 4:13pm Page 1

VBZ-2009-0064-Chausov_1P
Type: research-article

VECTOR-BORNE AND ZOO NOTIC DISEASES
Volume 9, Number 00, 2009
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/vbz.2009.0064

Variability of the Tick-Borne Encephalitis Virus Genome
in the 5' Noncoding Region Derived from Ticks *Ixodes*
persulcatus and *Ixodes pavlovskyi* in Western Siberia

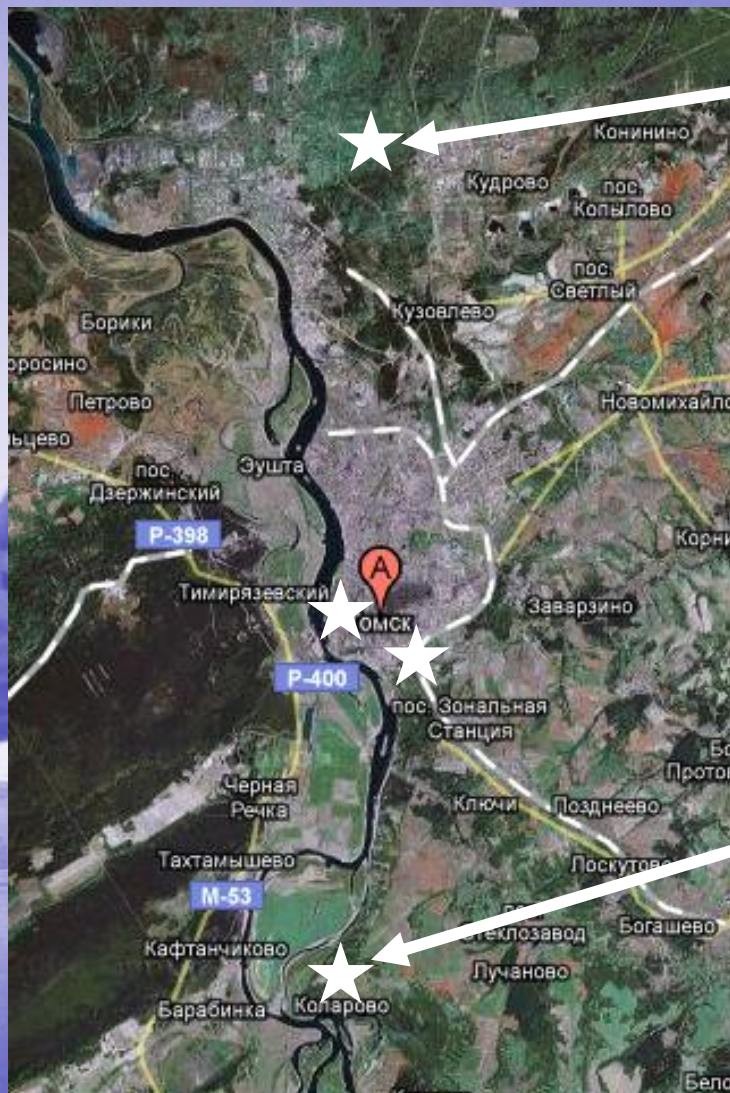
Eugene V. Chausov,¹ Vladimir A. Ternovoi,¹ Elena V. Protopopova,¹ Julia V. Kononova,¹
Svetlana N. Konovalova,¹ Natalia L. Pershikova,¹ Vladimir N. Romanenko,² Nadezda V. Ivanova,²
Natalia P. Bolshakova,² Nina S. Moskvitina,² and Valery B. Loktev¹

Томск, места сбора клещей

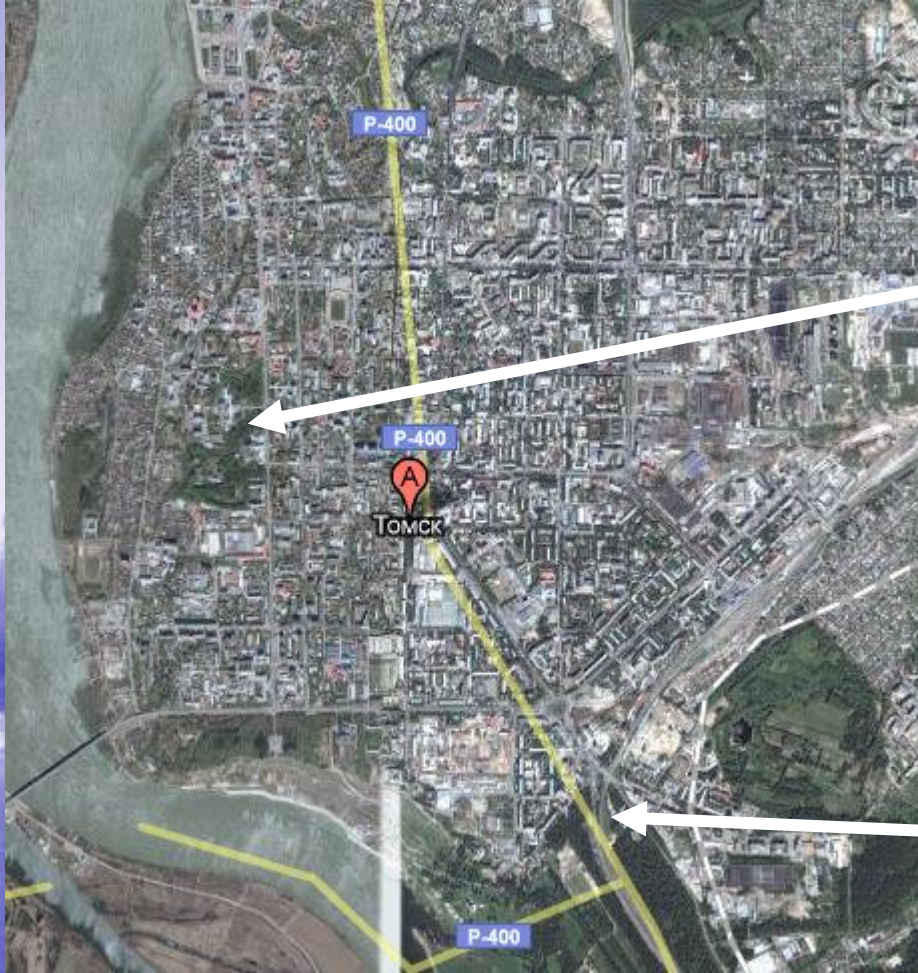
N



S

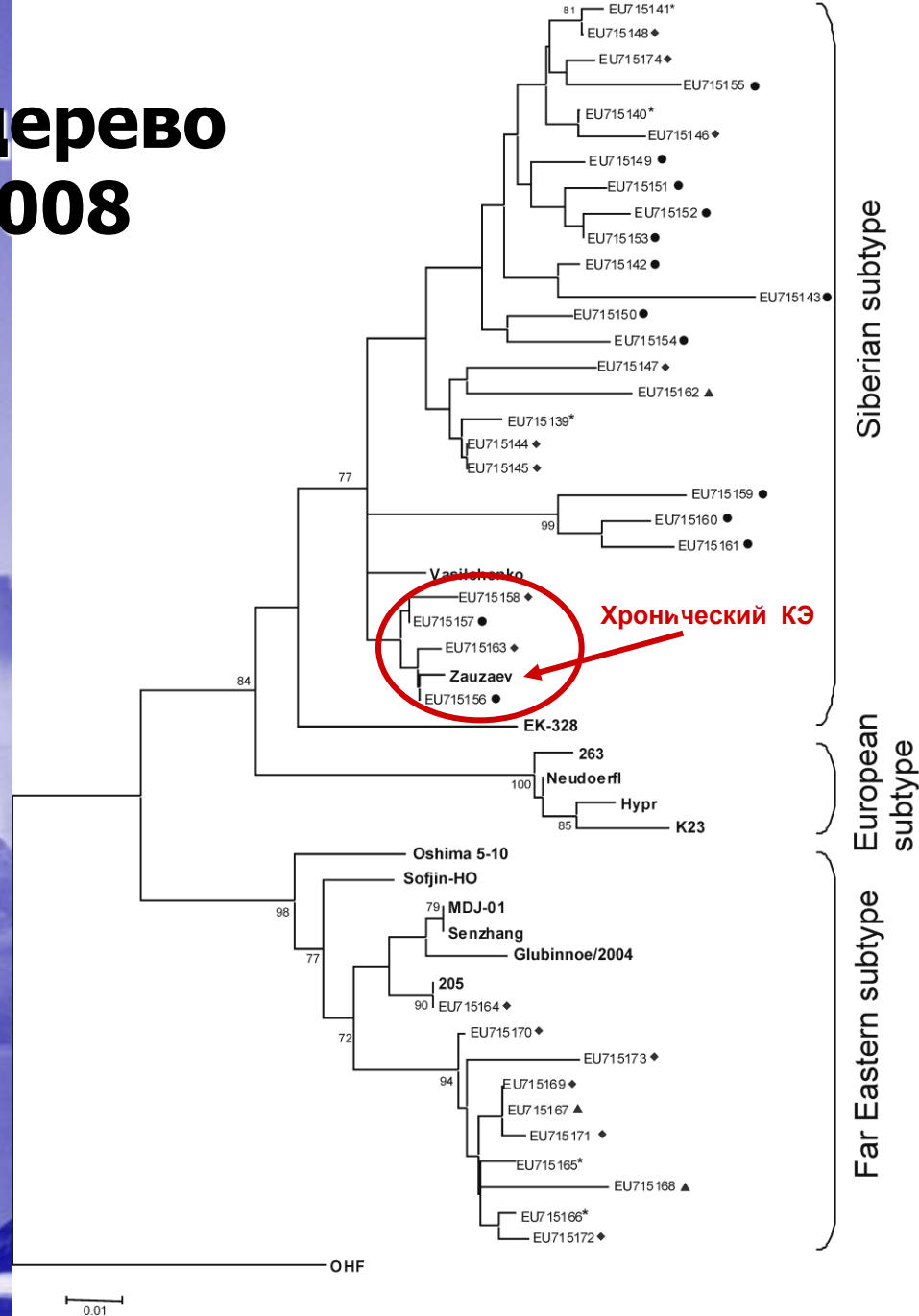


Томск, места сбора клещей

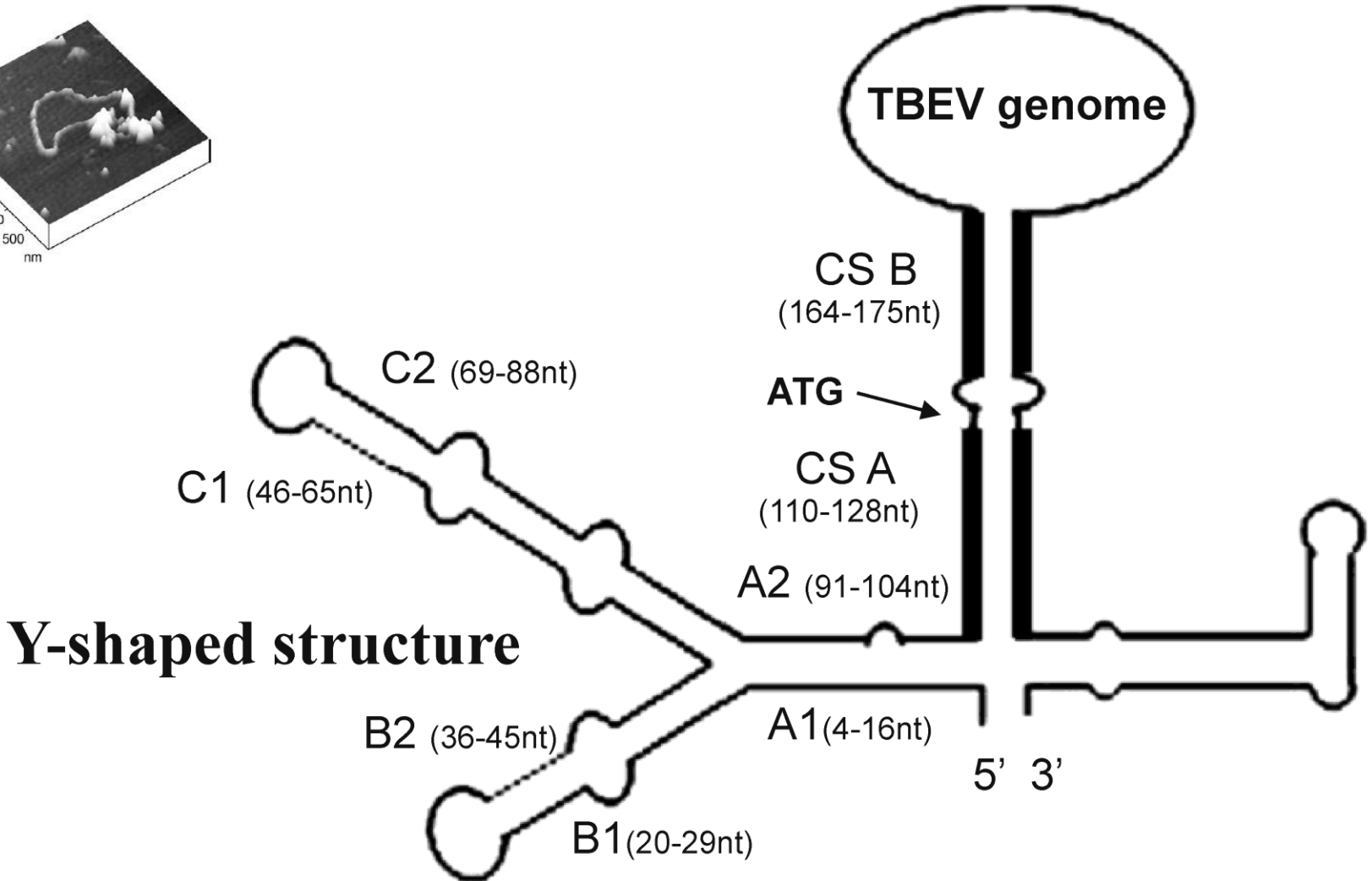
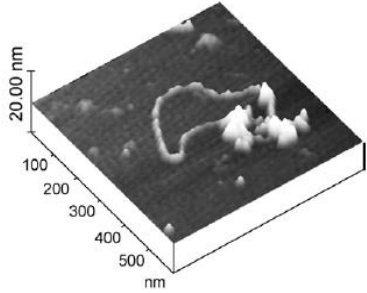


Филогенетическое дерево ВКЭ, Томск, 2006-2008

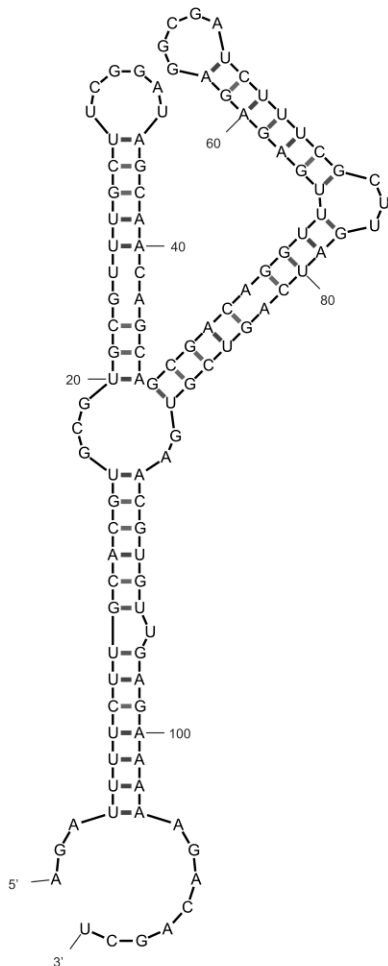
Сибирский генотип
ВКЭ
преимущественно
распространен
(89,5%) в
пригородных
биотопах, тогда как в
городских биотопах
велика доля (47%)
Дальневосточного
генотипа ВКЭ.



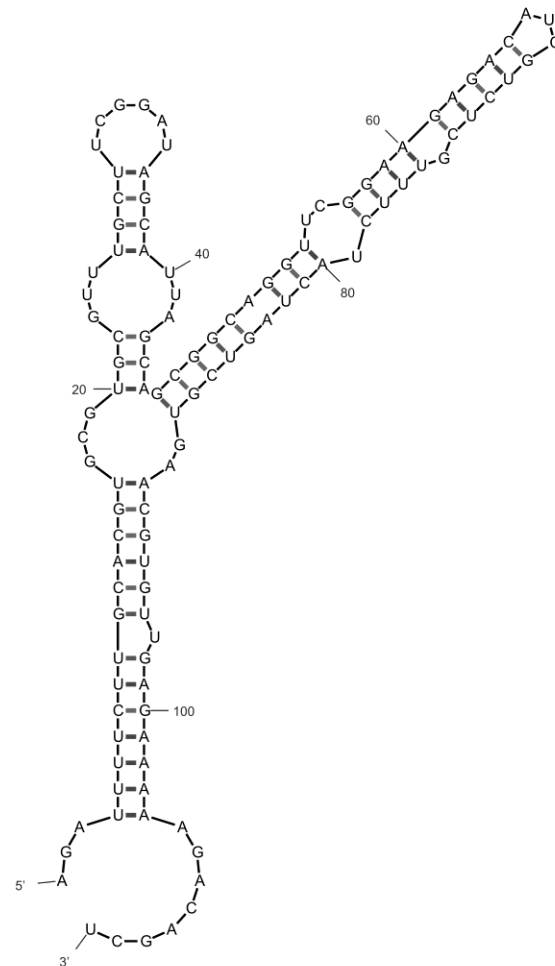
5' нетранслируемая область генома ВКЭ



Вторичная структура Y-shaped структуры у различных генотипов ВКЭ

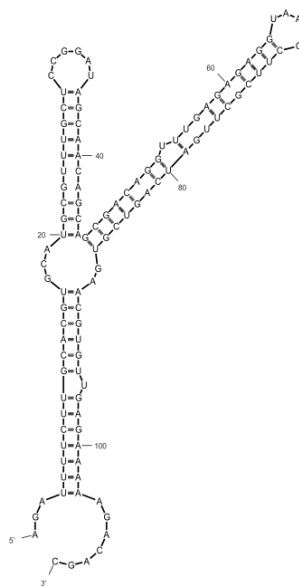


Strain 205, $dG = -31,5$ kcal/mole
Far Eastern subtype

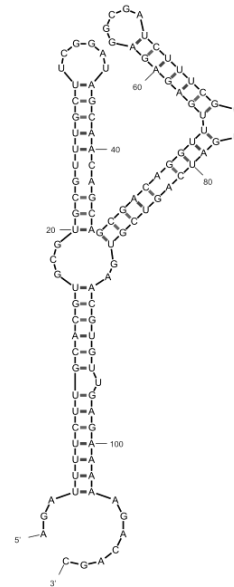


Strain Zausaev, $dG = -32,3$; Neudoerf, $dG = -31,50$
Siberian and European subtype

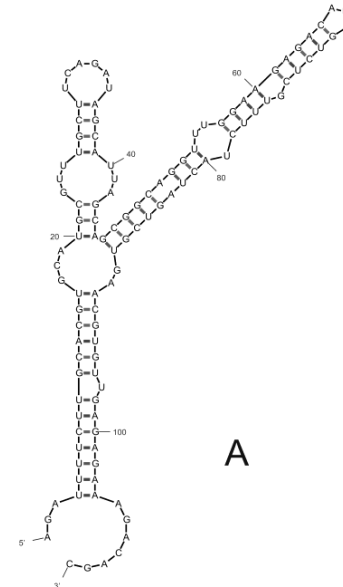
**Адаптация ВКЭ к культуре
клеток, 3 пассаж.
Структура 5'-НТО
в индивидуальном клеще**



EU 715168, dG = -29,80



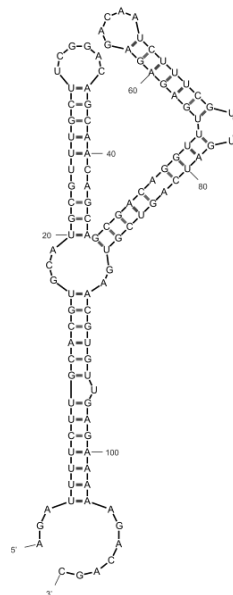
EU 715164, dG = -27,79



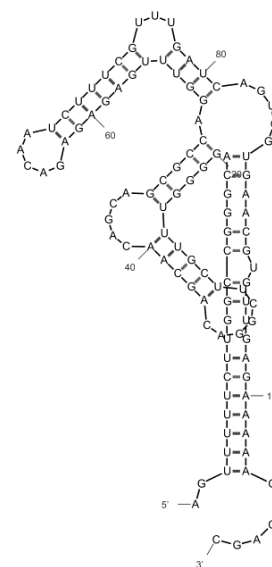
EU 715162, dG = -33,00

A

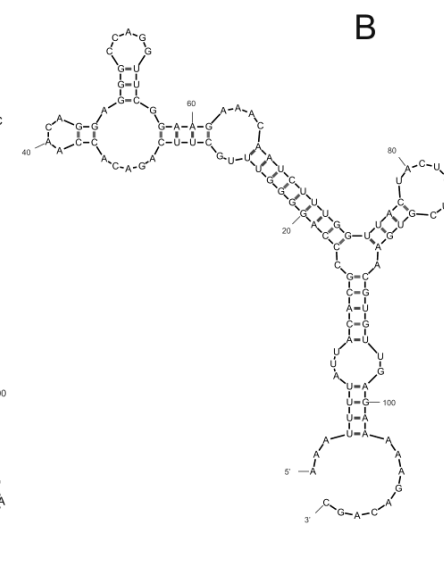
**и после 3 пассажей
на клетках СПЭВ**



Prot1, dG = - 30,90



Prot2, dG = - 30,90



Prot3, dG = - 20,40

B

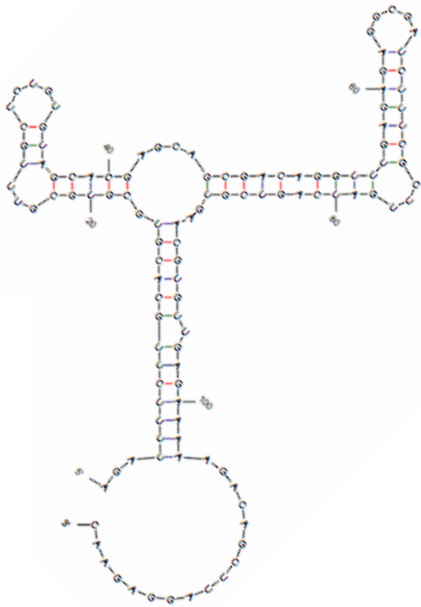
Кол-во нуклеотидных замен

14

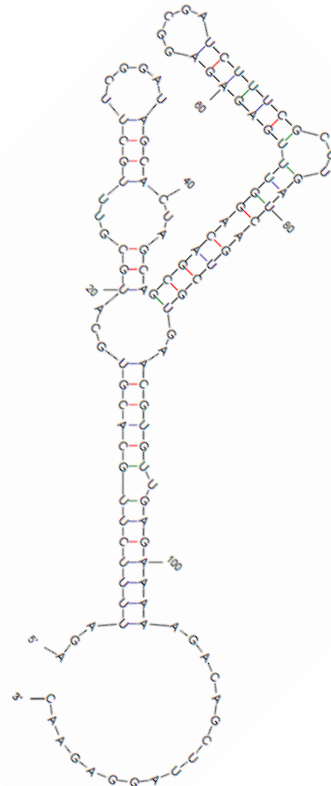
22

28

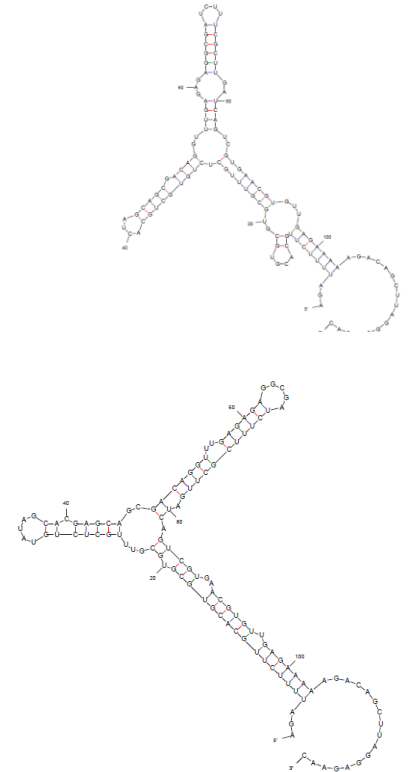
Томск, индивидуальные клещи, варианты NCR для 23 клещей



9 Клещей



8 клещей



doi:10.1016/j.jmb.2010.03.002

**Другие варианты NCR
6 клещей**

Вариабельность 5'NCR ВКЭ в индивидуальных клещах

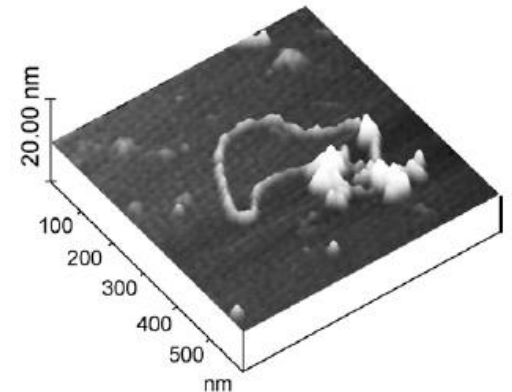
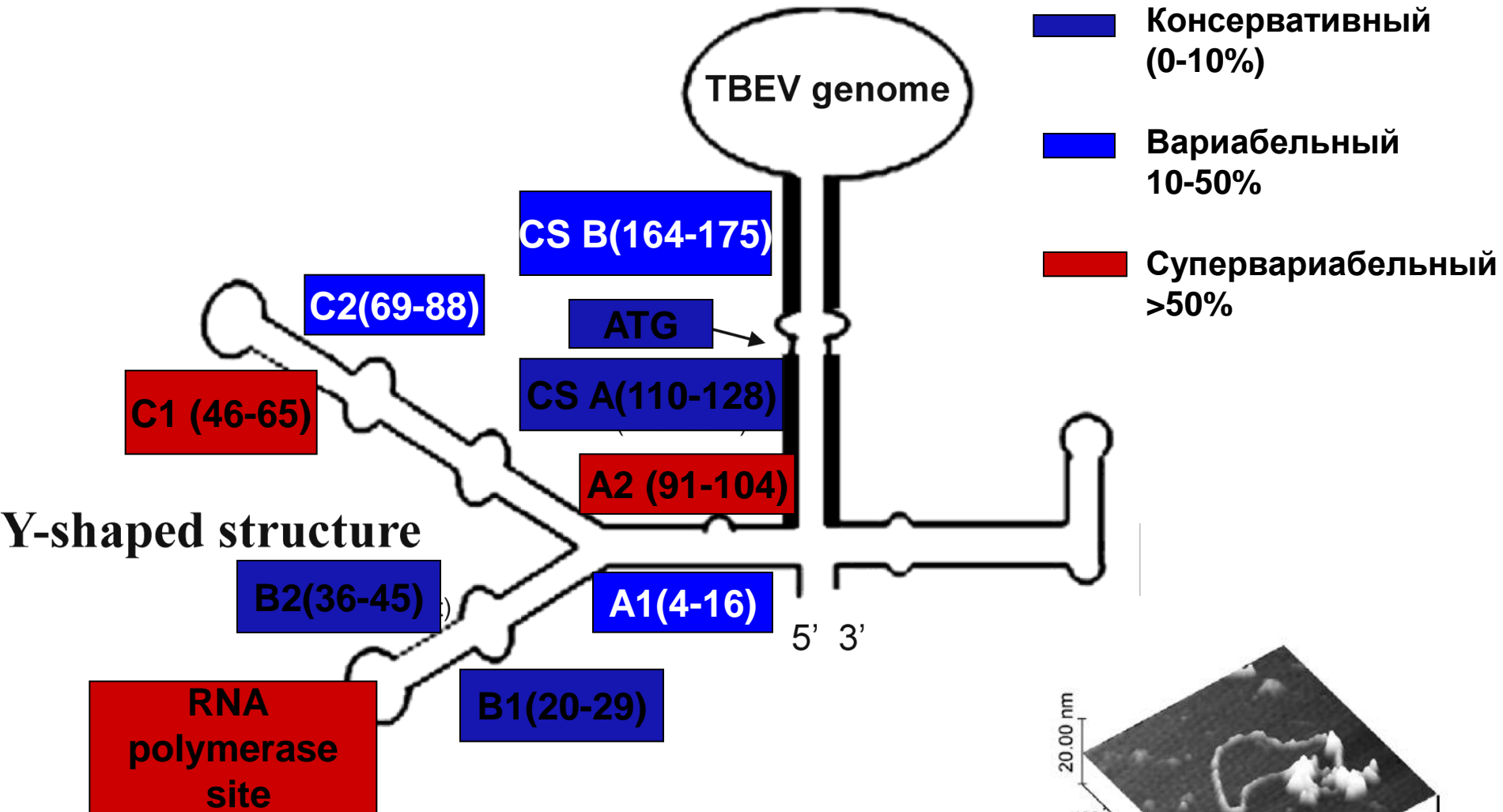
TABLE 1. VARIABILITY OF THE 5'-NONCODING REGION ELEMENTS IN TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS FROM INDIVIDUAL TICKS

<i>5'-NCR elements</i>	<i>Percentage of sequences from individual ticks with substitutions</i>	<i>Number of sequences of Siberian/Far Eastern subtype</i>	<i>Number of ticks of Ixodes persulcatus/Ix. pavlovskyi species</i>
Y-Shaped structure			
A1	13.9	3/2	4/1
A2	55.5	19/1	15/5
B1	2.8	0/1	0/1
B2	0	0/0	0/0
C1	80.6	18/9	19/8
C2	33.3	3/9	6/6
Putative site for viral RNA polymerase	72.2	17/9	18/8
CS and start codon			
CS A	8.0	3/0	3/0
CS B	22.2	6/2	6/2
ATG	0	0/0	0/0

Number of substitutions was calculated by comparing with strain Zausaev for Siberian subtype and with strain 205 for Far Eastern subtype of TBEV.

TBEV, tick-borne encephalitis virus; 5'-NCR, 5' noncoding region; CS, conserved sequence.

5' NCR of TBEV genome



- Дрозд–рябинник **основной прокормитель иксодовых клещей!?**
- До 70 клещей на одной птице, из них до 18 имаго.

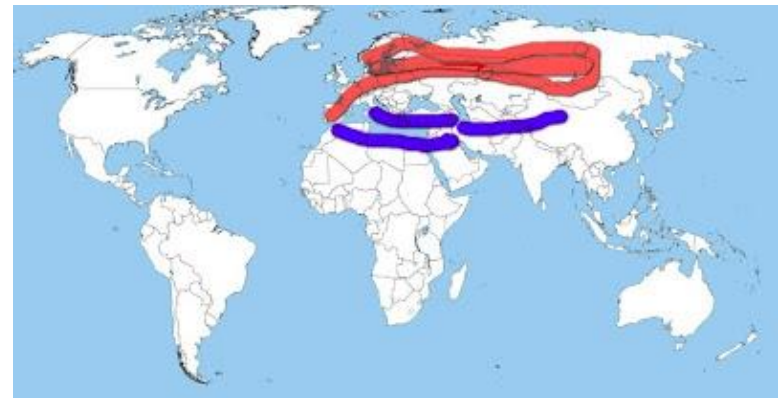


**Береговая ласточка с
*Ixodes plumbeus***

Лесной конек (*Anthus trivialis*) - 13,25 клещей/птица



Дрозд рябинник (*Turdus pilaris*) - 5,73 клещей/птица



Дрозд белобровник (*Turdus iliacus*) - 3,33 клещей/птица



Обитает в Северной Европе и Азии; гнездится на севере Европы и Азии и на Гималаях, зимой мигрирует в более южные регионы, до Африки.

The 736 wild birds representing 60 species were captured carrying a total of 804 *I. pavlovskyi*, *I. persulcatus* and *I. plumbeus* ticks.

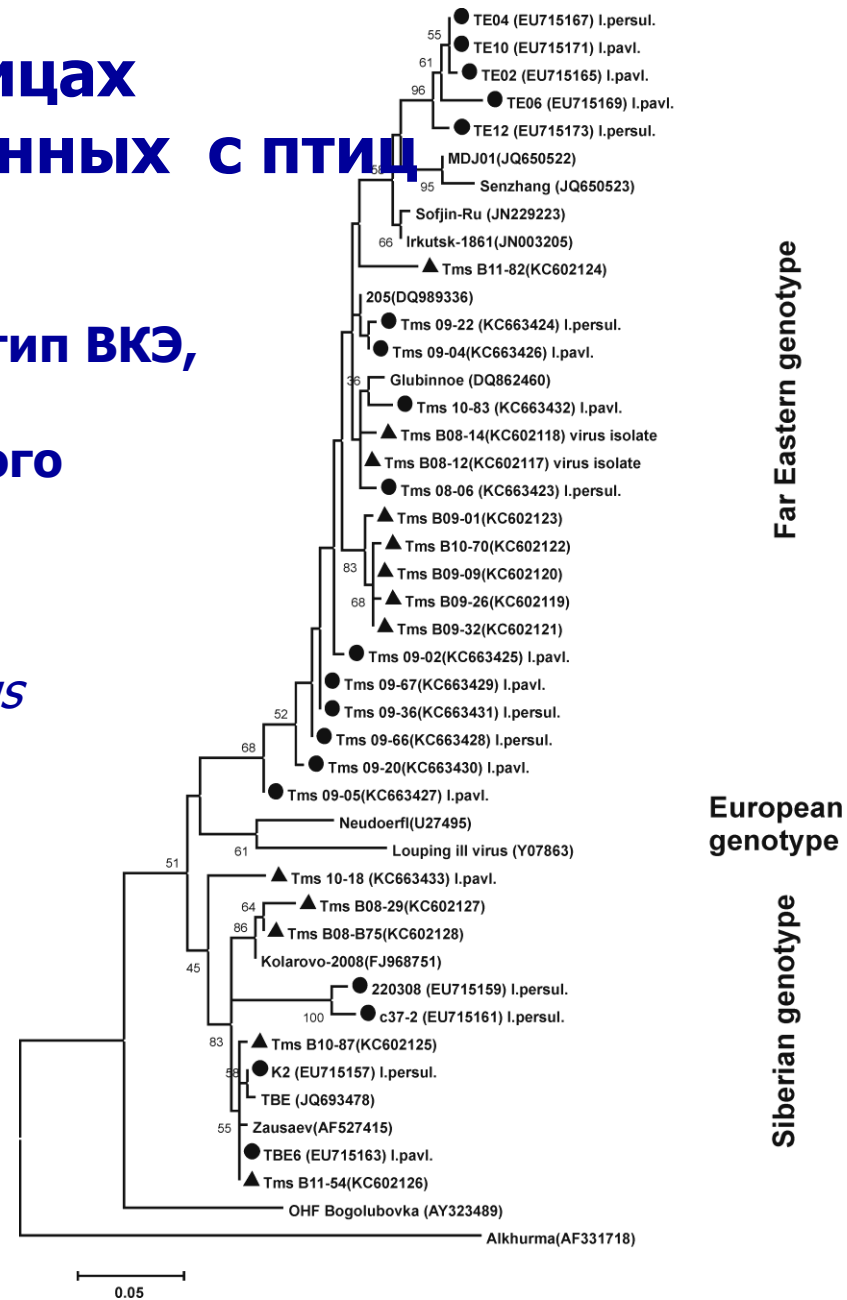
TBEV RNA and antigen were found in 9.7% and 22.8% samples collected from wild birds (40 species), respectively. TBEV markers were also detected in 9,8% *I. persulcatus* ticks, 4,7% - *I. pavlovskyi* and 4,2% - *I. plumbeus* ticks collected from wild birds.

Генотипирование ВКЭ в птицах и иксодовых клещах, собранных с птиц

- 25 изолятов дальневосточный генотип ВКЭ,
- 9 изолятов сибирский генотип ВКЭ,
- 2 вирусных штамма дальневосточного генотипа ВКЭ выделено из птиц.

Клеши переносчики (птицы) ВКЭ - *I. pavlovskyi*, *I. persulcatus* and *I. plumbeus*

***I. pavlovskyi* - необычно широкое распространение в Томске и Новосибирске!!!**



Клещевой энцефалит и Республика Коми



Заболеваемость КЭ в Республике КОМИ (на 100 тыс. насел.)

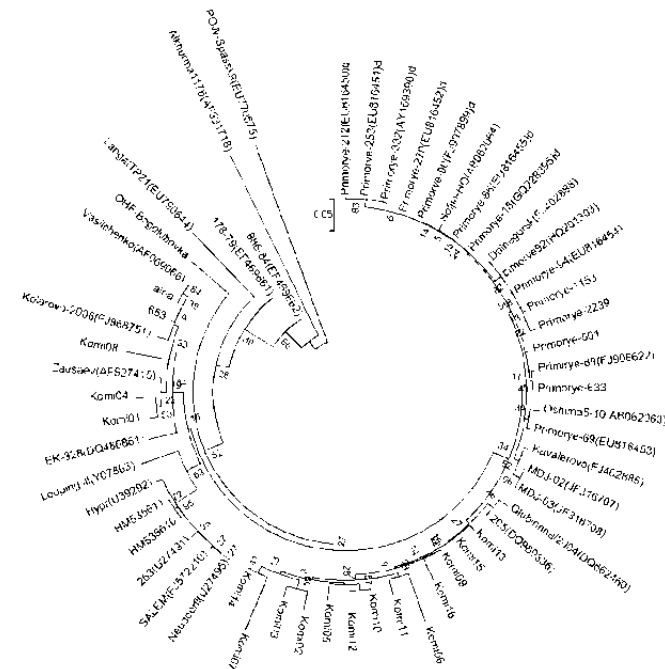
	2008	2009	2010
Российская Федерация	1,98	2,62	2,19
Республика Коми	0,42	1,80	3,30



Таежный клещ на территории Республики Коми – обнаруженные патогены:



- **вирус клещевого энцефалита,**
- **вирус Западного Нила,**
- ***Borrelia spp.,***
- ***Rickettsia spp.,***
- ***Ehrlichia spp.,***
- ***Babesia spp.,***
- ***Bartonella spp.,***
- ***Anaplasma spp.***

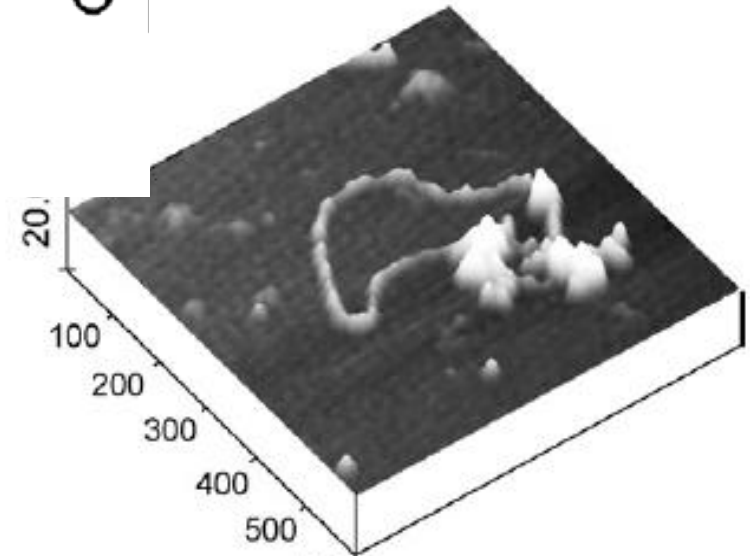
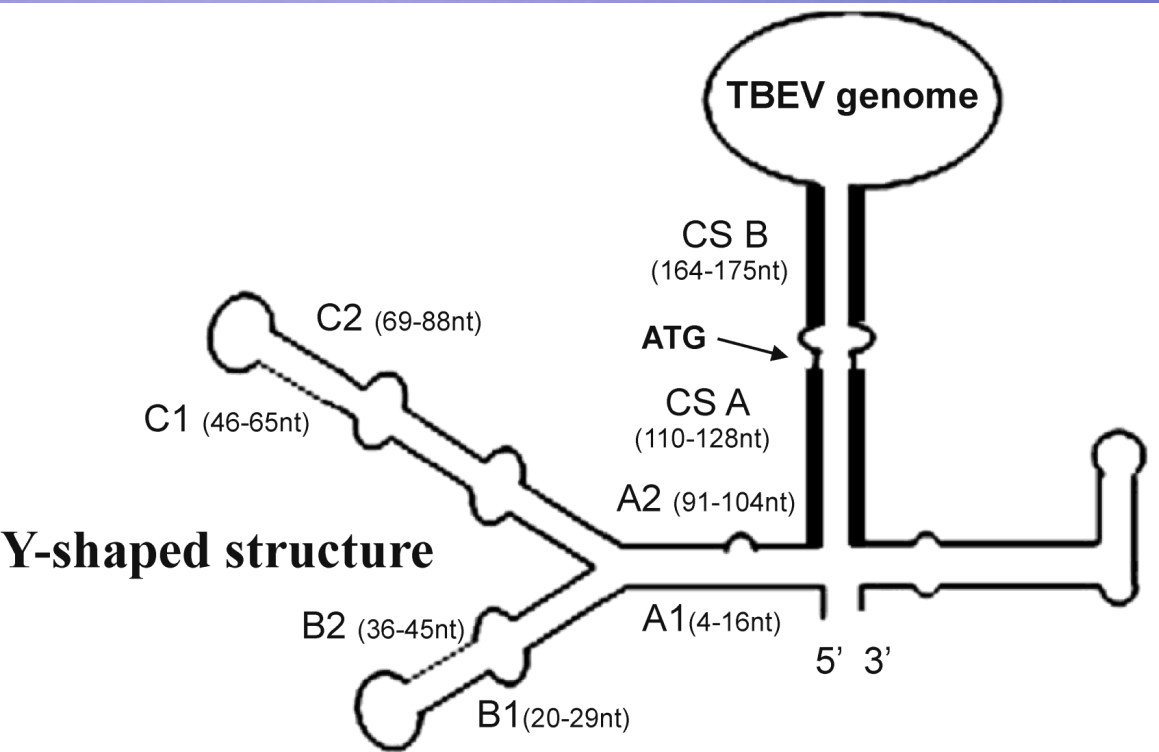


Филогенетическое дерево ВКЭ, республика Коми, 2010

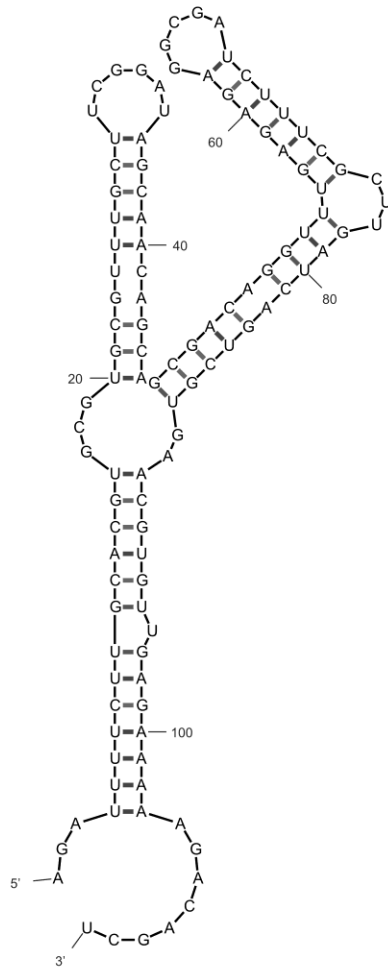
Прямое генотипирование 16 вариантов ВКЭ гомогенатах клеща на основе анализа нуклеотидной последовательности 5'-нетраслируемой области (5'-НТО) ВКЭ показало, что 3 варианта могут быть отнесены к сибирскому генотипу ВКЭ, а остальные 13 вариантов ВКЭ представлены высокопатогенным дальневосточным генотипом



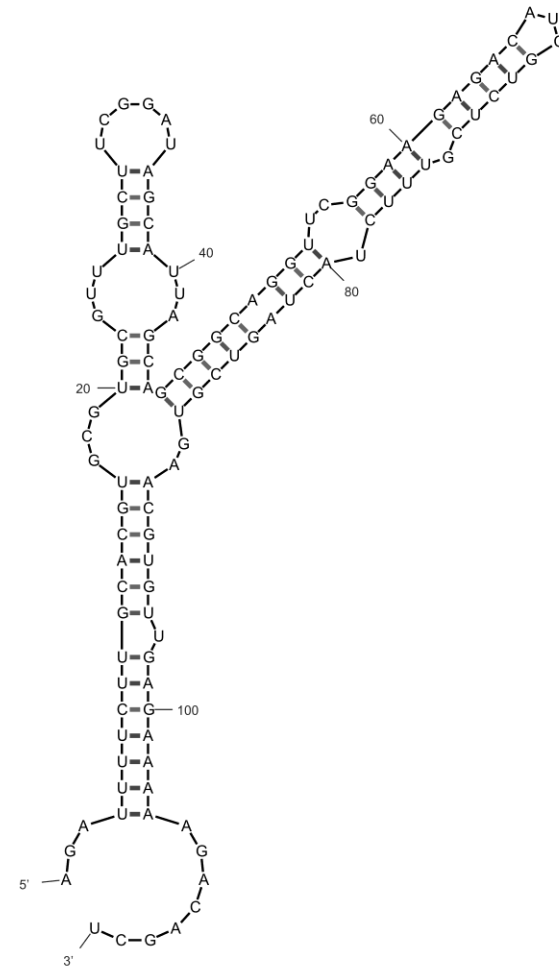
5' нетранслируемая область генома ВКЭ



Вторичная структура Y-shaped структуры у различных генотипов ВКЭ



Strain 205, $dG = -31,5$ kcal/mole
Far Eastern subtype



Strain Zausaev, $dG = -32,3$; Neudoerf, $dG = -31,50$
Siberian and European subtype

Вариабельность 5'NCR ВКЭ в индивидуальных клещах

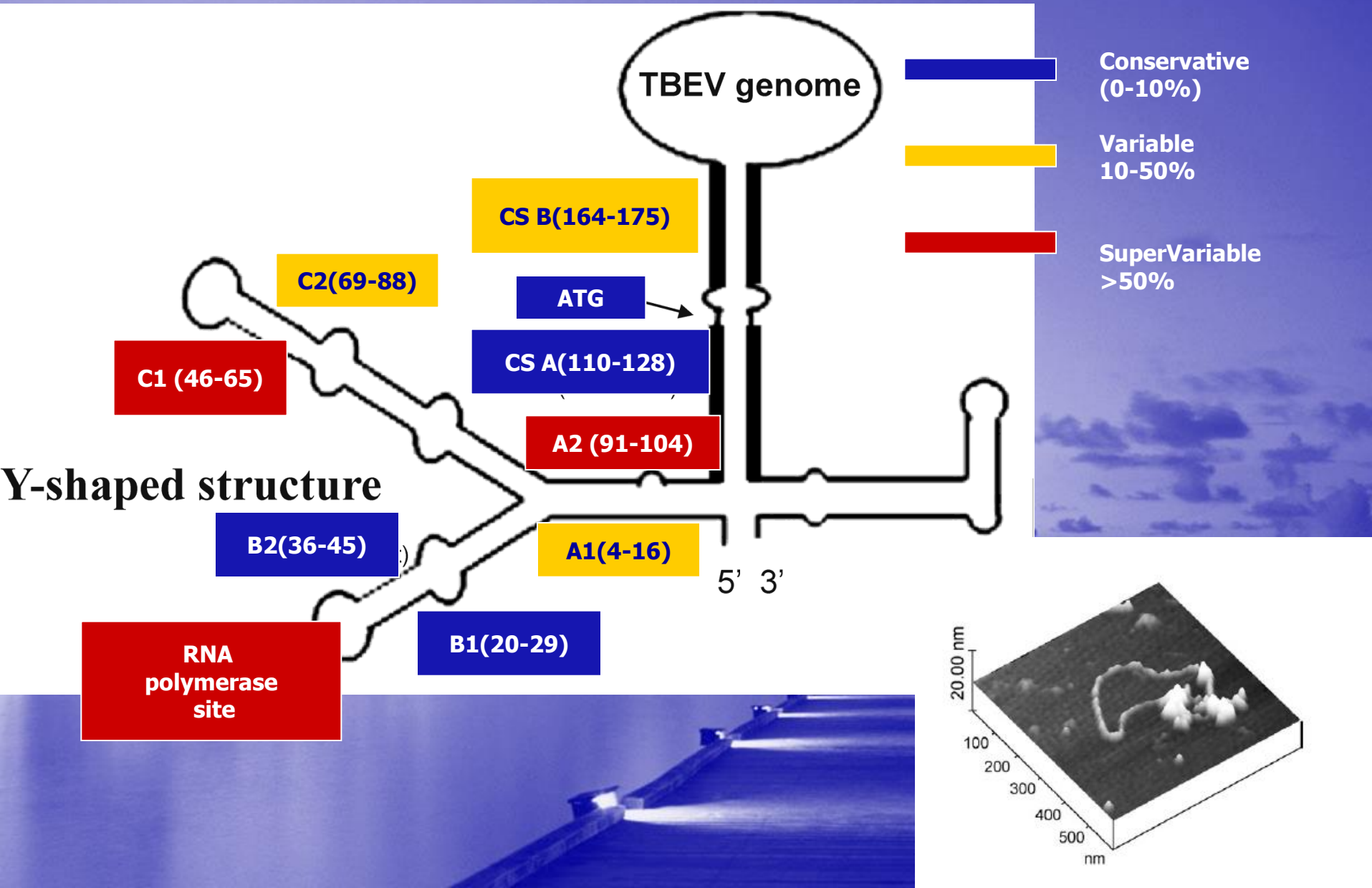
TABLE 1. VARIABILITY OF THE 5'-NONCODING REGION ELEMENTS IN TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS FROM INDIVIDUAL TICKS

<i>5'-NCR elements</i>	<i>Percentage of sequences from individual ticks with substitutions</i>	<i>Number of sequences of Siberian/Far Eastern subtype</i>	<i>Number of ticks of Ixodes persulcatus/Ix. pavlovskyi species</i>
Y-Shaped structure			
A1	13.9	3/2	4/1
A2	55.5	19/1	15/5
B1	2.8	0/1	0/1
B2	0	0/0	0/0
C1	80.6	18/9	19/8
C2	33.3	3/9	6/6
Putative site for viral RNA polymerase	72.2	17/9	18/8
CS and start codon			
CS A	8.0	3/0	3/0
CS B	22.2	6/2	6/2
ATG	0	0/0	0/0

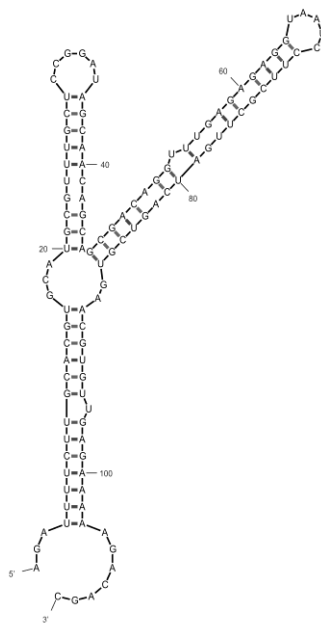
Number of substitutions was calculated by comparing with strain Zausaev for Siberian subtype and with strain 205 for Far Eastern subtype of TBEV.

TBEV, tick-borne encephalitis virus; 5'-NCR, 5' noncoding region; CS, conserved sequence.

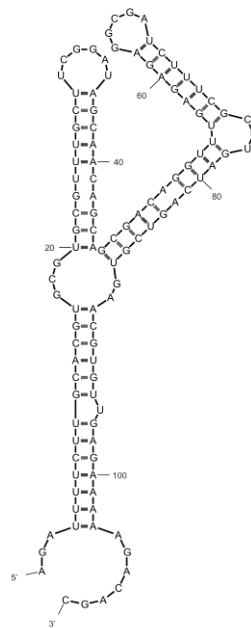
5' NCR of TBEV genome



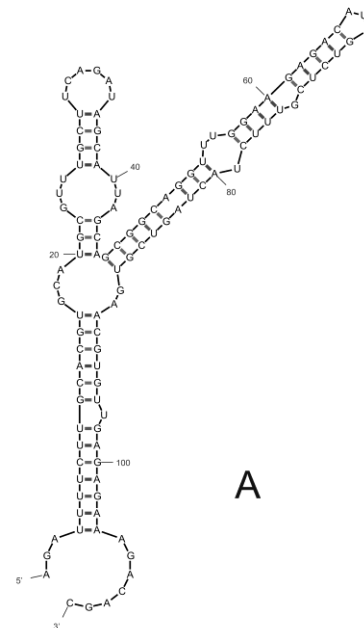
Адаптация ВКЭ к культуре клеток, 3 пассаж.
Структура 5'-НТО
в индивидуальном клеще



EU 715168, dG = -29,80



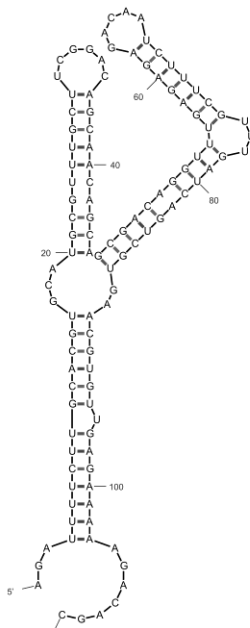
EU 715164, dG = -27,79



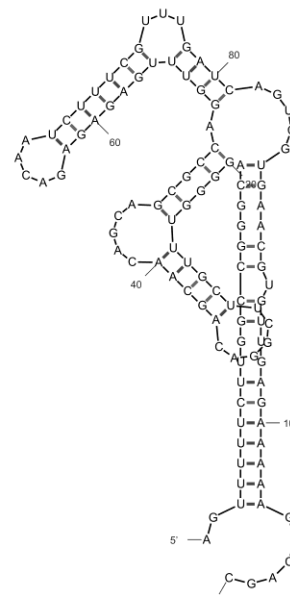
EU 715162, dG = -33,00

A

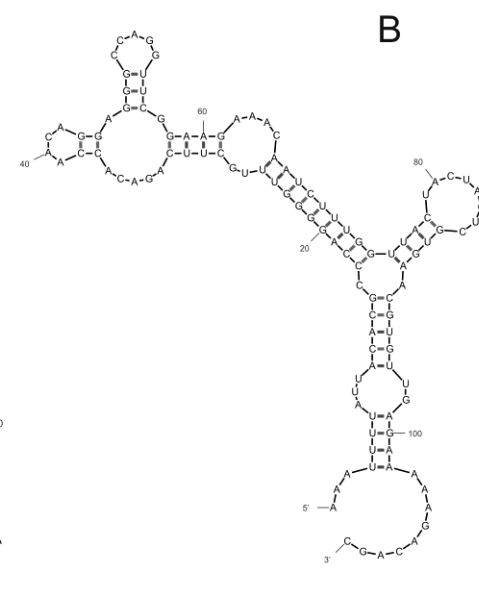
и после 3 пассажей
на клетках СПЭВ



Prot1, dG = - 30,90



Prot2, dG = - 30,90



Prot3, dG = - 20,40

B

Кол-во нуклеотидных замен 14

22

28

Профилактика клещевого вирусного энцефалита Санитарно–эпидемиологические правила СП 3.1.3.2352-07

- Утверждены и введены в действие с 1 июля 2008 года постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации Г. Г. Онищенко от 7 марта 2008 года № 19.
- Зарегистрированы в Министерстве юстиции Российской Федерации 1 апреля 2008 года, регистрационный № 11146.
- Введены взамен санитарных правил «Клещевой энцефалит. СП 3.1.038-96».

Вирус Повассан в Приморском Крае

Arch Virol (2009) 154:811–820
DOI 10.1007/s00705-009-0376-y

ORIGINAL ARTICLE



Characterization of Powassan viruses from Far Eastern Russia

Galina N. Leonova · Ilia G. Kondratov · Vladimir A. Ternovoi · Elena V. Romanova ·
Elena V. Protopopova · Eugene V. Chausov · Elena V. Pavlenko ·
Elena I. Ryabchikova · Sergey I. Belikov · Valery B. Loktev

Характеризация штаммов вируса Повассан

Table 1 Powassan virus strains used in the study

Strain	Place of origin in Primorsky krai	Year of isolation	Number of passages	Source of isolation	GenBank no.
Primorye-40 (P-40)	Khasan region	1972	18	<i>Haemaphysalis longicornis</i> Neumann, 1901	EU978948
Spassk-9 (Sp-9)	Spassk region	1975	4	<i>Dermacentor silvarum</i>	EU770575
Primorye-109 (P-109)	Spassk region	1978	6	<i>Dermacentor silvarum</i>	EU978946
Primorye-555 (P-555)	Island "Russian" (near Vladivostok)	1978	7	Blood of infected individual	EU978947
Spassk-333 (Sp-333)	Spassk region	1979	9	<i>Haemaphysalis japonica douglasii</i> Nutt et Werb	EU978945
Lubitovka-1979 (Lub-1979)	Lubitovka, Dalnerechinsk region	1979	4	Human brain, lethal case	EU978949
Nadezdinsk-1991 (Nad-1991)	Nadezdinsk region	1991	5	Blood of infected person	EU670438
Partizansk/2006 (Part/2006)	Partizansk region	2006	3	Blood of infected person	EU543649

Перекрестная реактивность вируса Повассан с другими флавивирусами

Table 3 Serological comparison of the strain Partizansk/2006 to TBEV, WNV and JEV with MAbs to TBEV and WNV

MAb	Target region of protein E	MAb specificity	Titer in EIA			
			POWV, Partizansk/2006	TBEV	WNV	JEV
MAbs to TBEV						
7F10	N-ter.		8100	72900	–	–
6B9	N-ter.		–	218700	–	–
10H10	N-ter.	HI, Group-specific	656100	656100	656100	900
4F6	N-ter.		–	218700	–	–
13F6	C-ter.		–	656100	–	–
E6B	C-ter.	HI, Nt	–	656100	–	–
EB1	C-ter.	HI	–	656100	–	–
12C7	C-ter.		8100	24300	–	–
7D3	C-ter.		2700	8100	–	–
3C3	C-ter.		2700	24300	–	–
4C7	NR	Group-specific	8100	8100	2700	2700
13D12	NR	Group-specific	24300	656100	218700	218700
E4A	NR	Group-specific	656100	656100	300	900
8C6	NR	Group-specific	72900	218700	2700	2700
Negative control			–	–	–	–
MAbs to WNV						
8G8	N-ter.		24300	–	72900	72900
6G5	N-ter.	Group-specific	8100	24300	72900	24300
2H5	N-ter.		–	2700	72900	–
2B9	N-ter.		–	–	72900	–
2H3	N-ter.		2700	–	24300	24300
3A6	C-ter.		–	–	72900	2700
6H4	C-ter.		–	–	24300	24300
Negative control			–	–	–	–

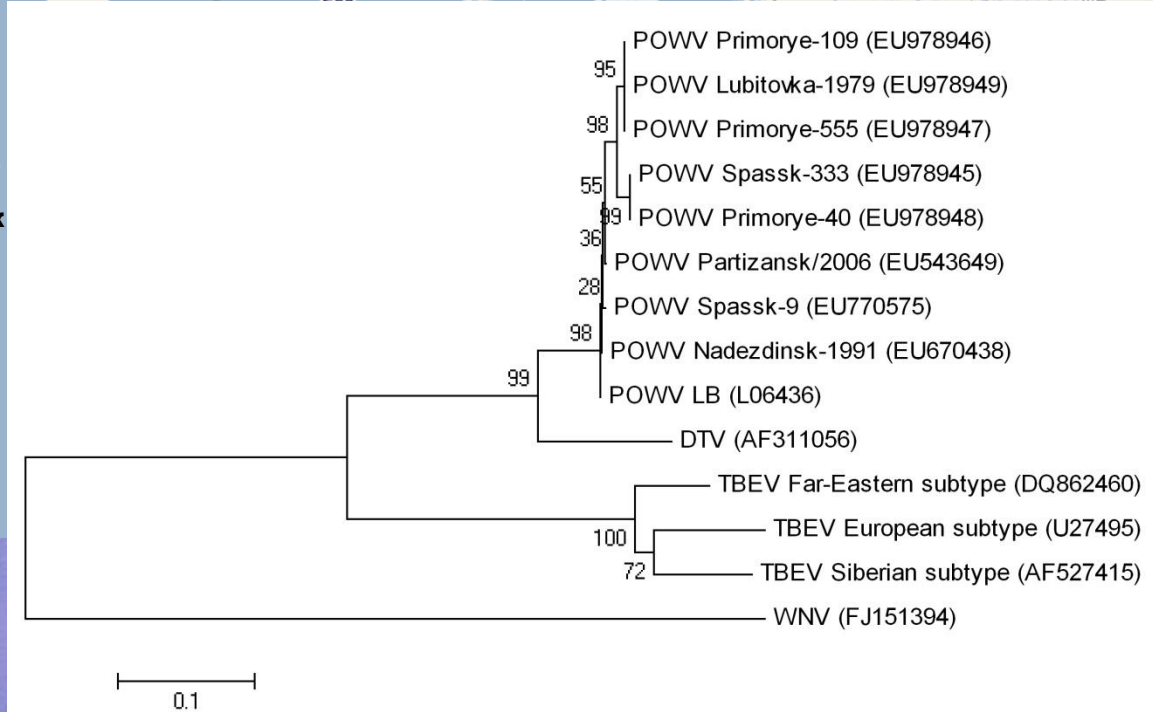
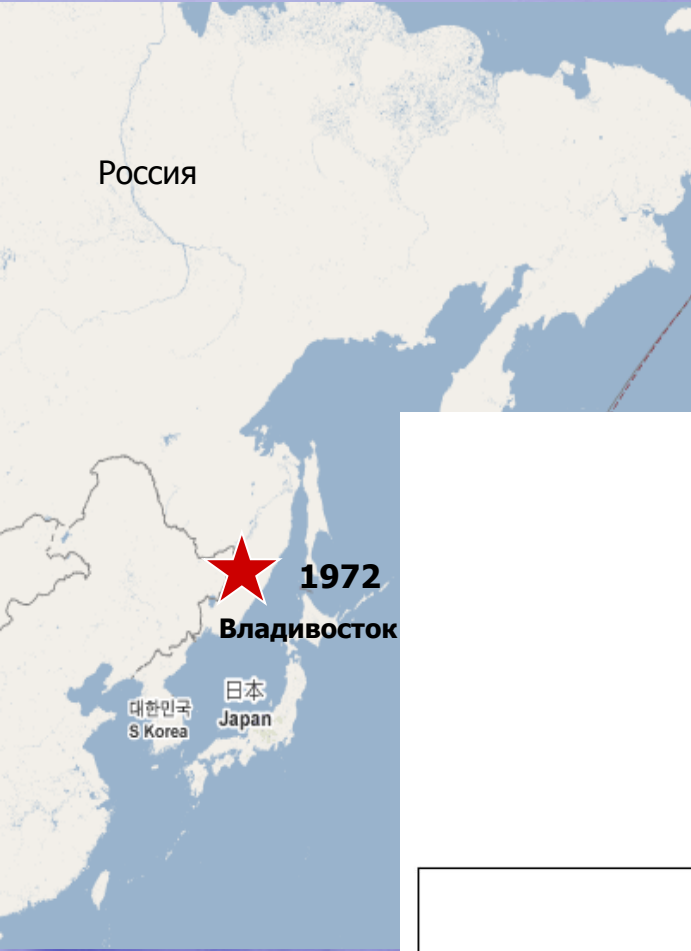
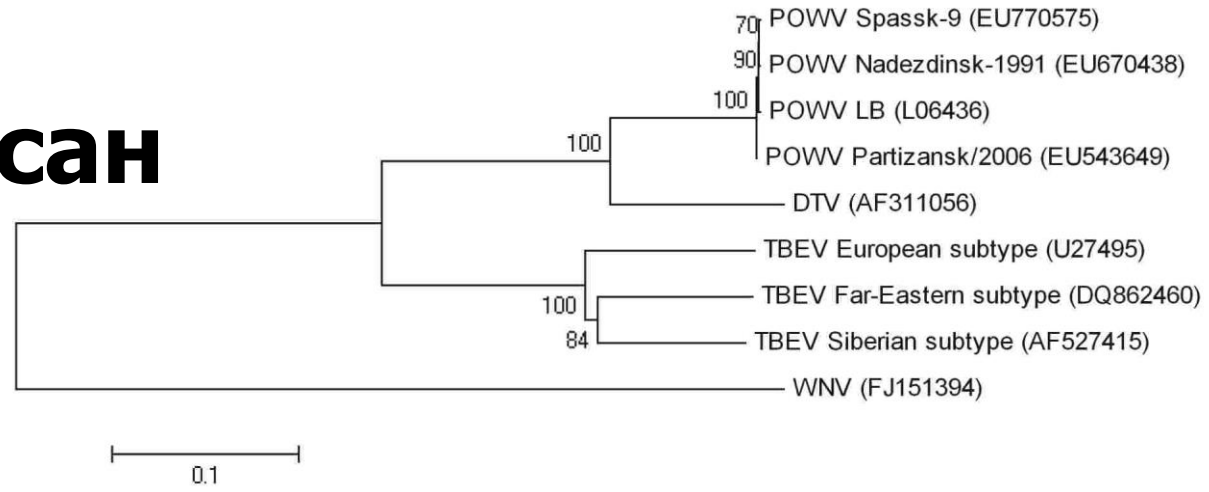
Вирус Повассан

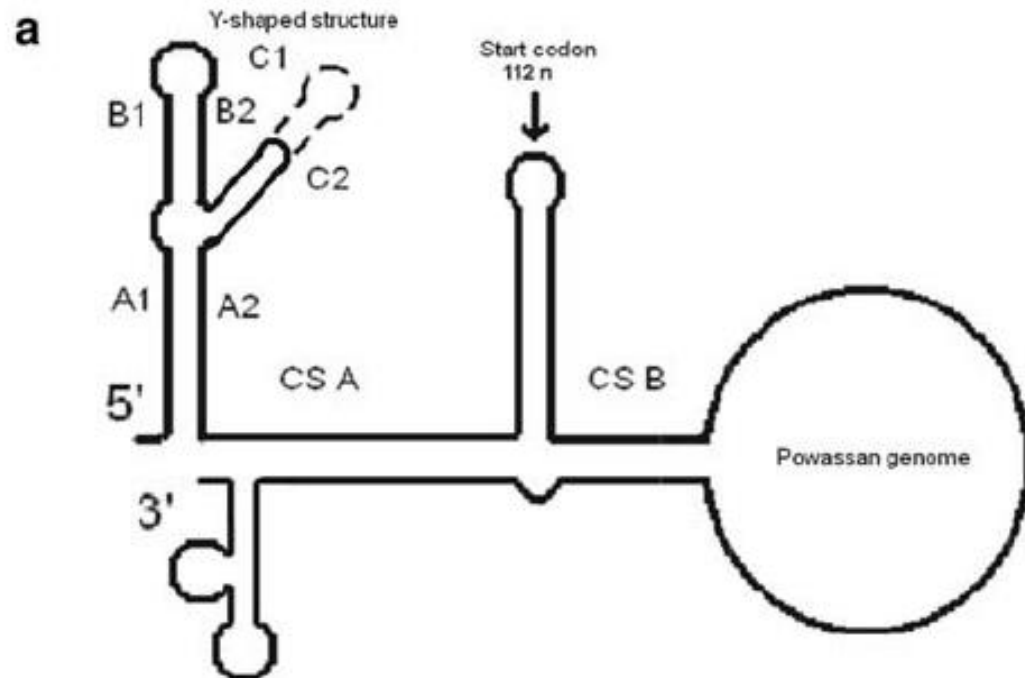
Количество замен на полный геном в сравнении с штаммом LB (Canada).

	Spassk-9 (1975г.)		Nadezdinsk-1991		Partizansk/2006	
Замены	Nucleotide	Amino acid	Nucleotide	Amino acid	Nucleotide	Amino acid
Кол-во замен	19	6	20	5	22	8

Размер генома 10839 нуклеотидов
Уровень гомологии около 99,8%
для Канадских и Российских изолятов

Вирус Повассан



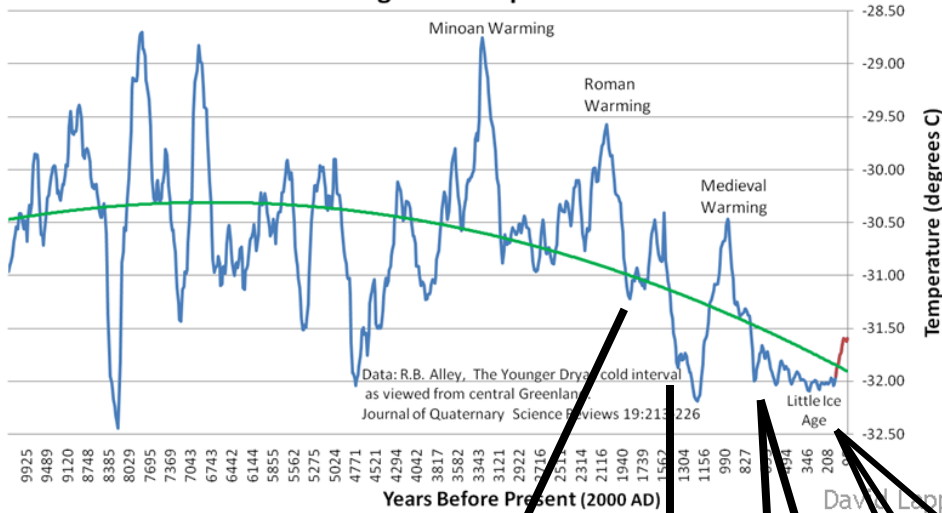


b

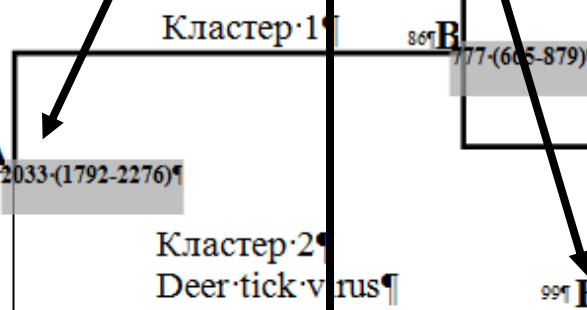
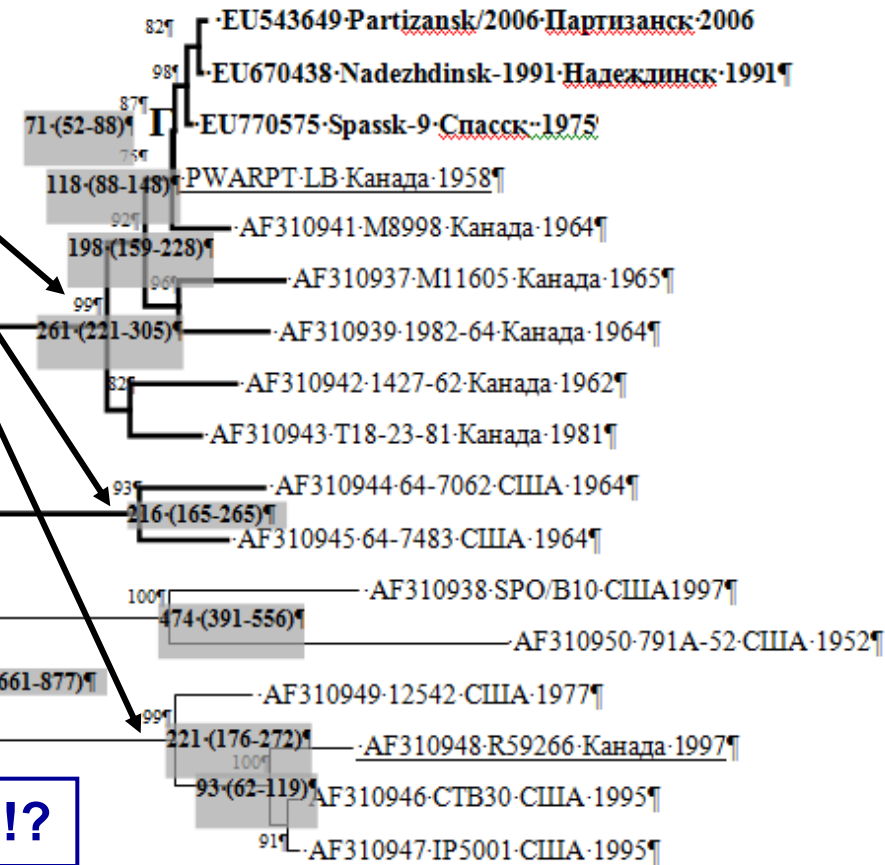
	A1	B1	B2	C1	C2	A2	
Glubinsoe/2004	AGATTTCTTGCACGTCGCGTGGCGTTTGCTCCGGACAGCAACAGCAGCAGCAGGTTTGAGAGAGGCGATCTTTGCGCTTGATCAGTCGTTGAACGTTTGAGAAAAA	20	40	60	80	100	104
205		T	T	T	T		17
LB-L06436		T	GG TTA T	TCT C		TG A	78
Deer tick		T GACA TTA T	TCT C G		CT A	GT	60
Spassk-9		OG TTA T	TCT C		TG A	GT	78
Nadezdinsk-1991		T GG TTA T	TCT C		TG A	GT	78
Partizansk/2006		T GG TTA T	TCT C		TG A	GT	78

	CSA	AIG codons	CSB				
Glubinsoe/2004	GACAGCTTAGGAGAACAAGAGCTGGGGATGGCCGGGAAGGCCATTCTGAAAGGAAAGGGGGCGGGTCCCTCCTAGACGAGTGTCCGAAAGAGACCGCGAAGAAGAC	120	140	160	180	200	208
205							20
LB-L06436		AG TTAT T A C TCT		C G CAA CTT T A T T			182
Deer tick		AG T AT GT A T C TCT		C AG AA CT T A C T			164
Spassk-9		AG TTAT T A C TCT		C G CAA CTT T A T T			182
Nadezdinsk-1991		AG TTAT T A C TCT		C G CAA CTT T A T T			182
Partizansk/2006		T AG TTAT T A C TCT		C G CAA CTT T A T T			182

Greenland GISP2 Ice Core - Last 10,000 Years Interglacial Temperature



Phylogenetic tree for Powassan viruses with molecular hours



New tick flavivirus in America !?

Вирус клещевого энцефалита
Glubinnoe/2004

joannenova.com.au

Current Flavivirus Vaccines

Live attenuated/weakened

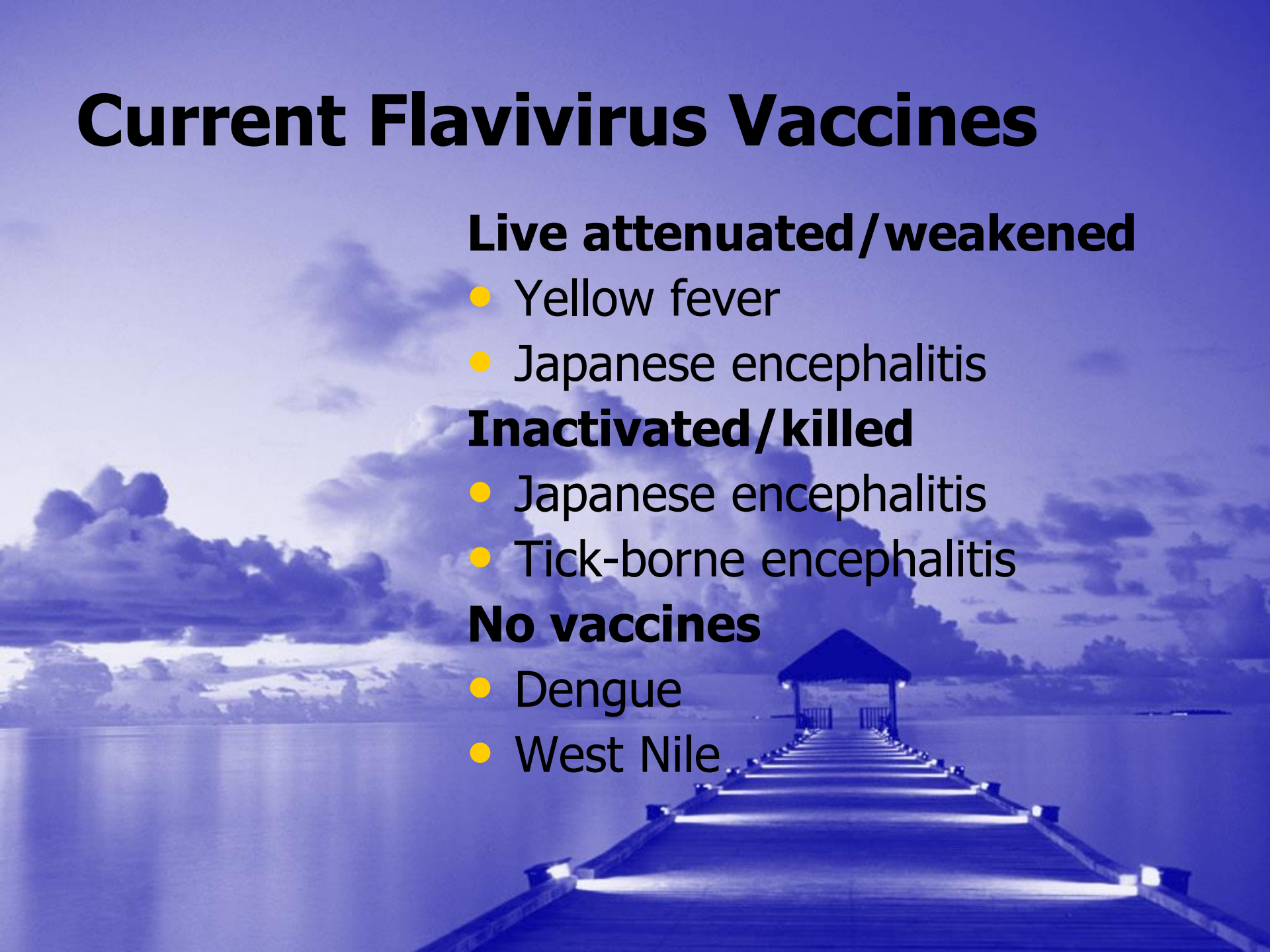
- Yellow fever
- Japanese encephalitis

Inactivated/killed

- Japanese encephalitis
- Tick-borne encephalitis

No vaccines

- Dengue
- West Nile



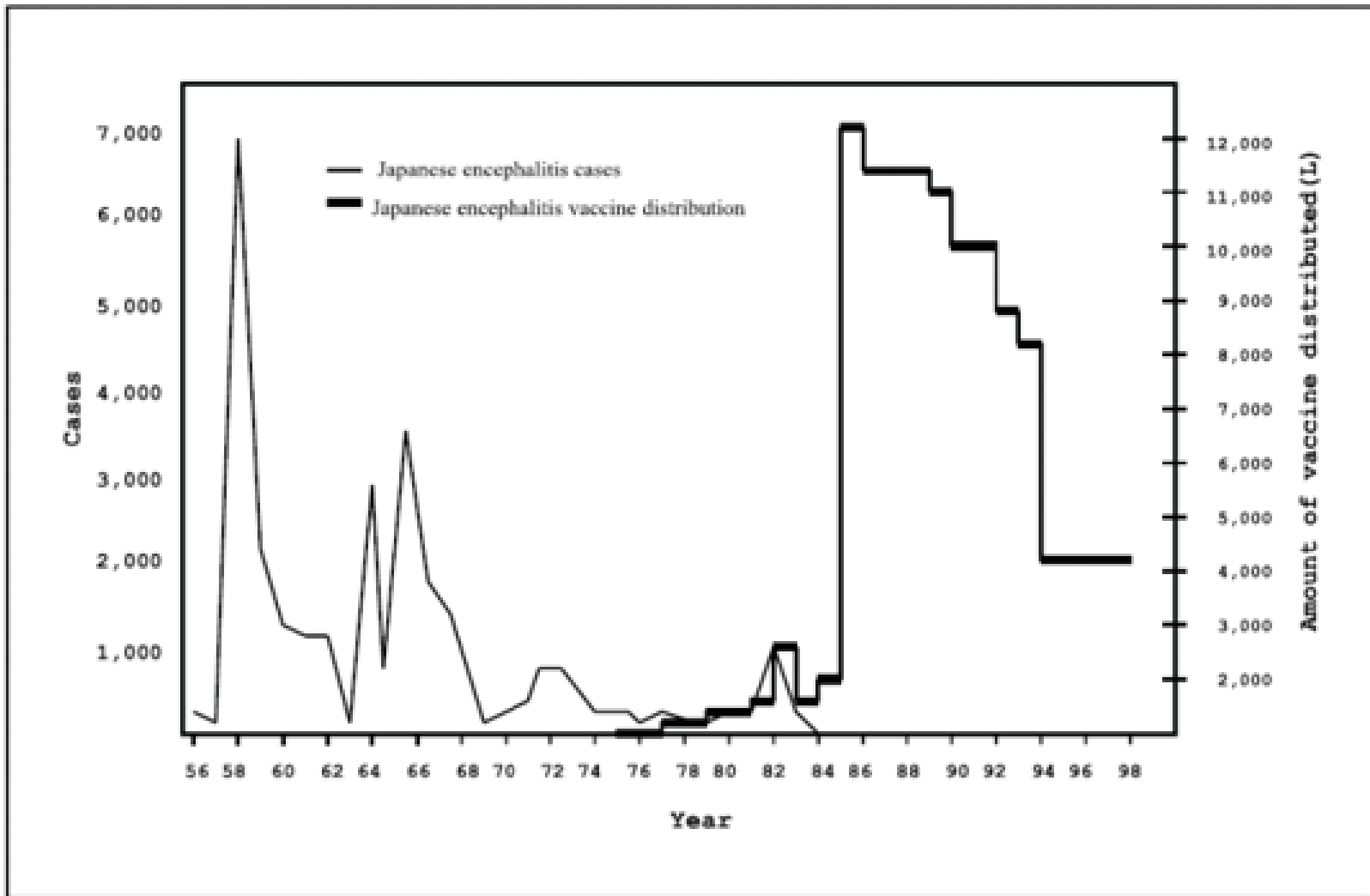
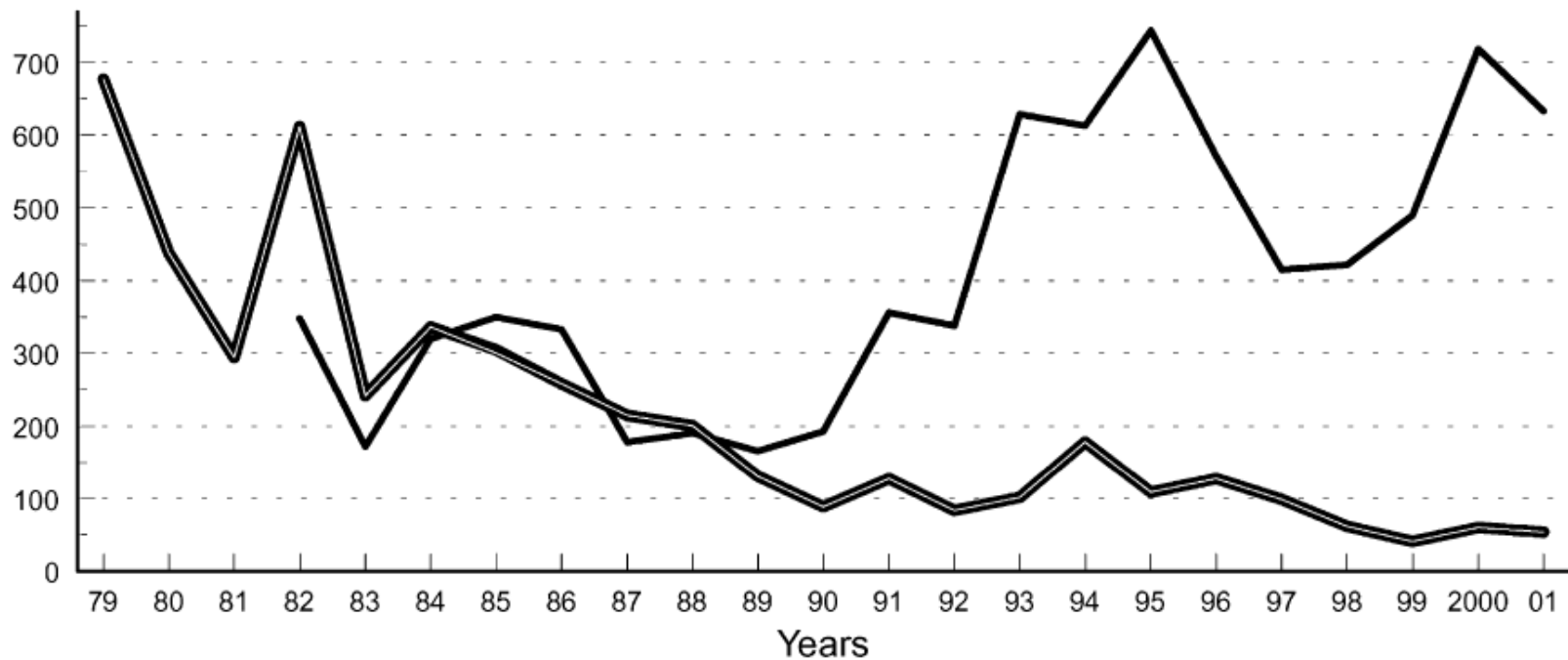


Figure 1. Cases of Japanese encephalitis by liters of vaccine distributed, 1936–1998, South Korea.

TBE infection in Austria and Czech Rep.

C. Kunz / Vaccine 21 (2003) S1/50–S1/55

Number of cases



Czech Rep. Austria

— —

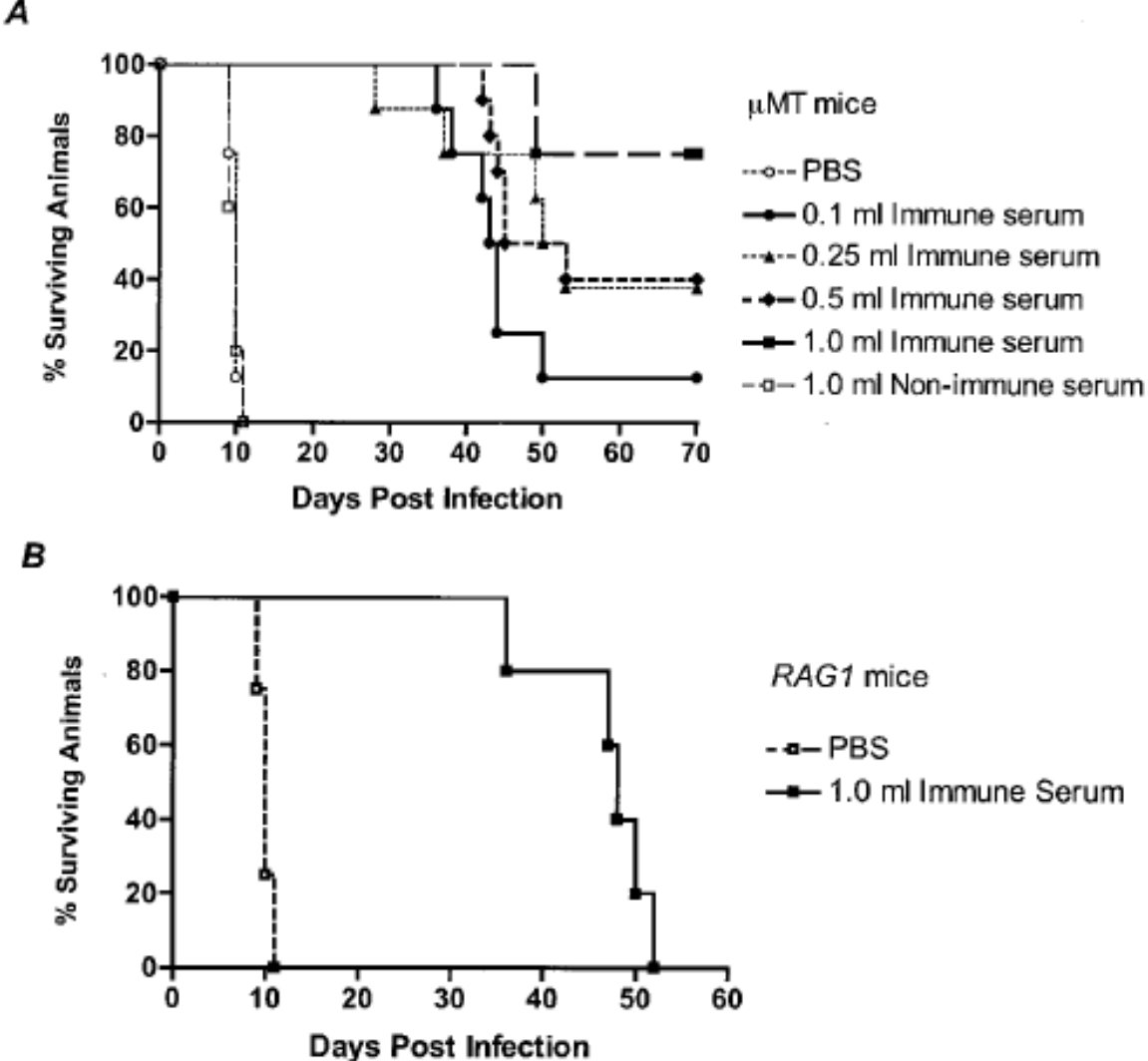
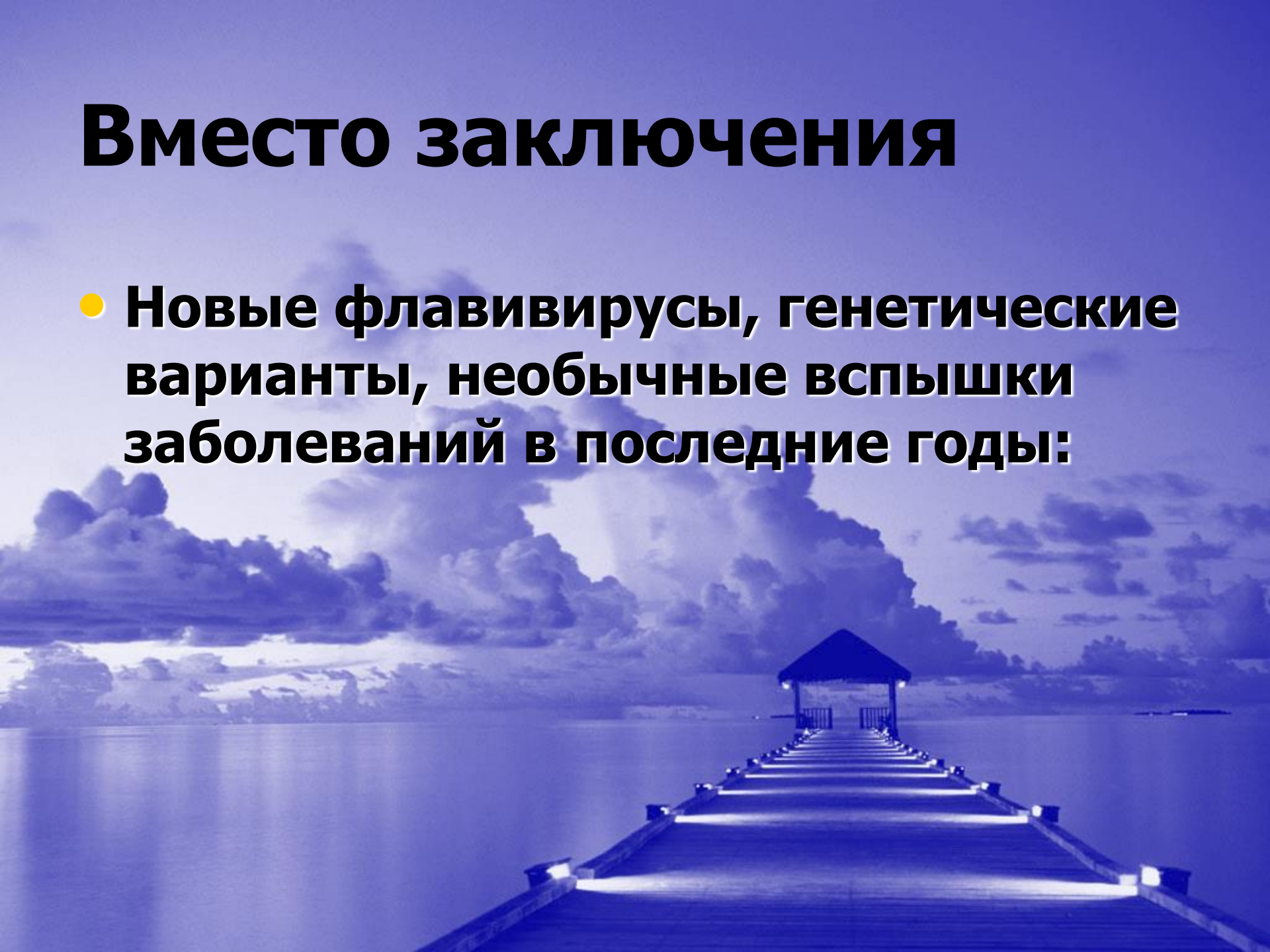


FIG. 1. (A) Passive administration of mouse serum to μ MT mice. Serum was collected from immune (day 28 postinfection; titer $\approx 1/10,000$) wild-type mice and pooled. After heat inactivation, the indicated amounts of serum were administered in a divided dose to μ MT mice 1 day prior to and after infection with 10^2 PFU of WNV. Data reflect between 5 and 10 mice per condition. (B) Passive administration of mouse serum to *RAG1* mice. Immune serum (1 ml) or PBS was administered in a divided dose to *RAG1* mice 1 day prior to and after infection with 10^2 PFU of WNV. Data reflect between 5 and 10 mice per condition.

Вместо заключения

- **Новые флавивирусы, генетические варианты, необычные вспышки заболеваний в последние годы:**



Новые флавивirusы, генетические варианты, необычные вспышки заболеваний

Год	Место	Событие
1988	Сочи, Россия	Выделение нового генотипа вируса Западного Нила, штамм LEIV-Krнд88-190
1993	Япония	Обнаружение Дальневосточного субтипа ВКЭ, штаммы Ошима, на Хоккайдо.
1994-2011	Шри-Ланка, Восточная Африка и страны тропического пояса Америки	Распространение геморрагического варианта Денге 3, субтип III
1994	Саудовская Аравия	Изоляция вируса Алькхурма, вызывающего геморрагическую лихорадку.
1996 – 2008?	Европа, Азия, Америка	Глобальное распространение вируса Западного Нила, генотипа 1a.

Новые флавивирусы, генетические варианты, необычные вспышки заболеваний

1997	Чехия	Выделение вируса Рабенсбург.
1998	Австралия	Проникновение в Австралию вируса Японского энцефалита.
1998	Австралия	Выделение вируса Нью Мапоон.
1999	Россия, Западная Сибирь	Обнаружение геморрагических форм ВКЭ.
1999	Кения	Выделение нового флавивируса - Kamiti River
2000	Австралия	Обнаружение нового генотипа вируса вируса Кокобера.
2000	Австралия	Признание факта, что Австралийский вирус Кунджин является геновариантом вируса Западного Нила.
2001-2011	Австрия, Великобритания	Обнаружение циркуляции вируса Усуту (комплекс вируса Японского энцефалита) в центре Европе.

Новые флавивирuses, генетические варианты, необычные вспышки заболеваний

2002	Вьетнам	Открытие нового флавивируса Quang Binh
2002-2003	Китай	Сиквенс нового генетического варианта ВКЭ - Senzhang
2004	Россия, Приморский край	Выявление нового генетического варианта ВКЭ, Глубинное/2004, в пределах Дальневосточного субтипа.
2005 -2011	Индия, Непал	Эпидемия Японского энцефалита, вызванная предположительно новым геновариантом генотипа G3 вируса Японского энцефалита.
2005	Турция (1969)	Установление факта значительных генетических отличий вируса Турецкого энцефалита овец от других типичных ВКЭ.
2005	Испания (1987)	Установление факта значительных генетических отличий вируса Испанского энцефалита овец от других типичных ВКЭ.

Новые флавивирусы, генетические варианты, необычные вспышки заболеваний

2006	Сенегал	Открытие нового флавивируса - Ngoye
2007	Индия	Предположительно новый генотип, ВЗН, уровень отличий 25-30%.
2007	Япония	Открытие нового флавивируса - Culex flavivirus (CxFV),
2009	Западная Африка	Открытие нового флавивируса - Nounane (NOUV)
2009	Япония	Открытие нового флавивируса - Aedes flavivirus (AEFV)
2009	Мексика	Открытие нового флавивируса – Т'Но
2009	Китай	Nanjianyin вирус – это вирус Кисуанурской лесной болезни
2007-по наст.время	Северная Евразия	Вирус Западного Нила, генотип 2

Новые флавивирусы, генетические варианты, необычные вспышки заболеваний

2007	Китай	Donggang вирус – генотип 1 вируса японского энцефалита - впервые в Китае
2010-2012	Китай	Впервые описаны вспышки заболевания Duck Tembusu вирус в Китае (вирус описан 1955, Малазия, комары Culex)
2009	Финляндия	Вирус Lammi – новый комариный флавивирус, близок к вирусу Nounane
2007, 2011	Сенегал, Израиль	Вирус Barkedji – новый комариный флавивирус , хозяин не известен, близок к вирусу Nounane
2009, 2011	Китай, Кения Корея	Chaoyang вирус, обнаружен в Китае, затем в Кении и далее в республике Корея
2012 2013	Финляндия Португалия	Вирус Hanko, – выделен из комаров, Negev-like virus гомологичен вирусу Hanko

Заключение



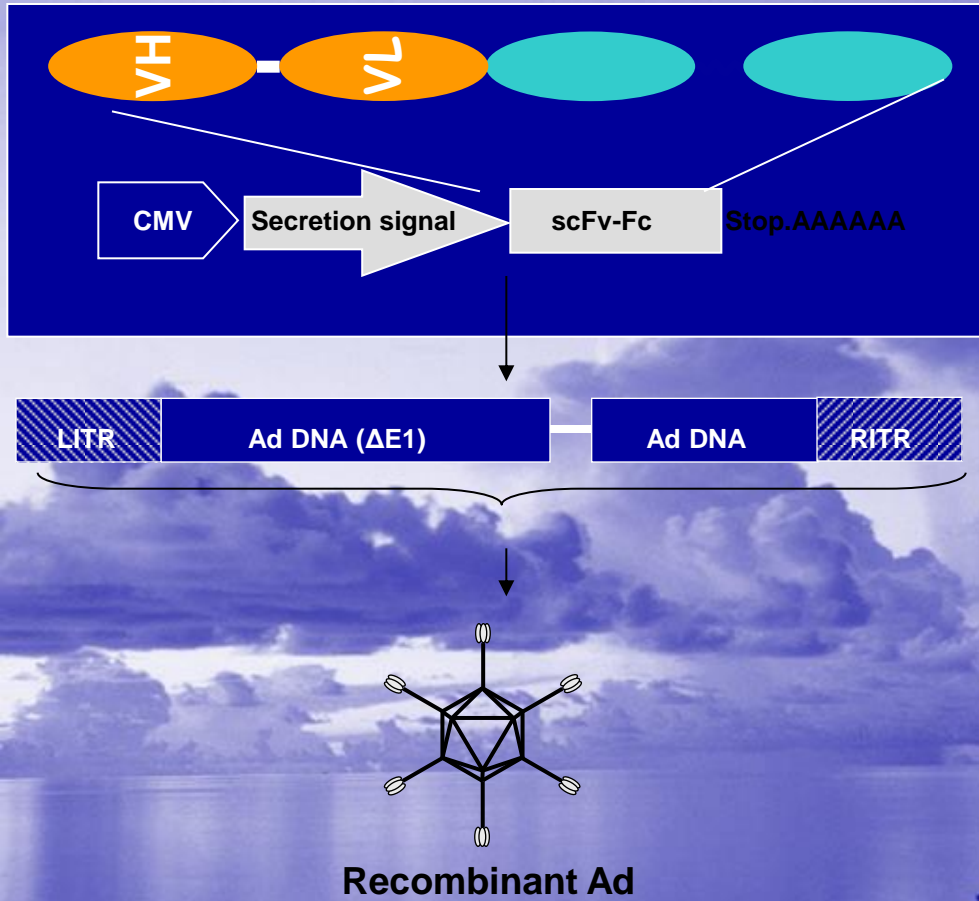
- **Флавивирусы – одна из горячих точек современной вирусологии. До 500 миллионов человек ежегодно страдает от флавивирусов.**
- **Постоянно регистрируется появление новых флавивирусов и необычное распространение уже известных флавивирусов.**
- **Флавивирусы крайне широко распространены по всему миру, причем «осваивают» новые территории с потрясающей скоростью.**

Новые подходы для лечения ЛЗН

- Новые химиопрепараты.
- Новые возможности генной терапии вирусных инфекций.



Generation of Ad/9E2-Fc



- scFv 9E2 has been generated from murine hybridoma
- Gene of scFv 9E2 fused to human Fc (IgG1) has been incorporated in recombinant Ad

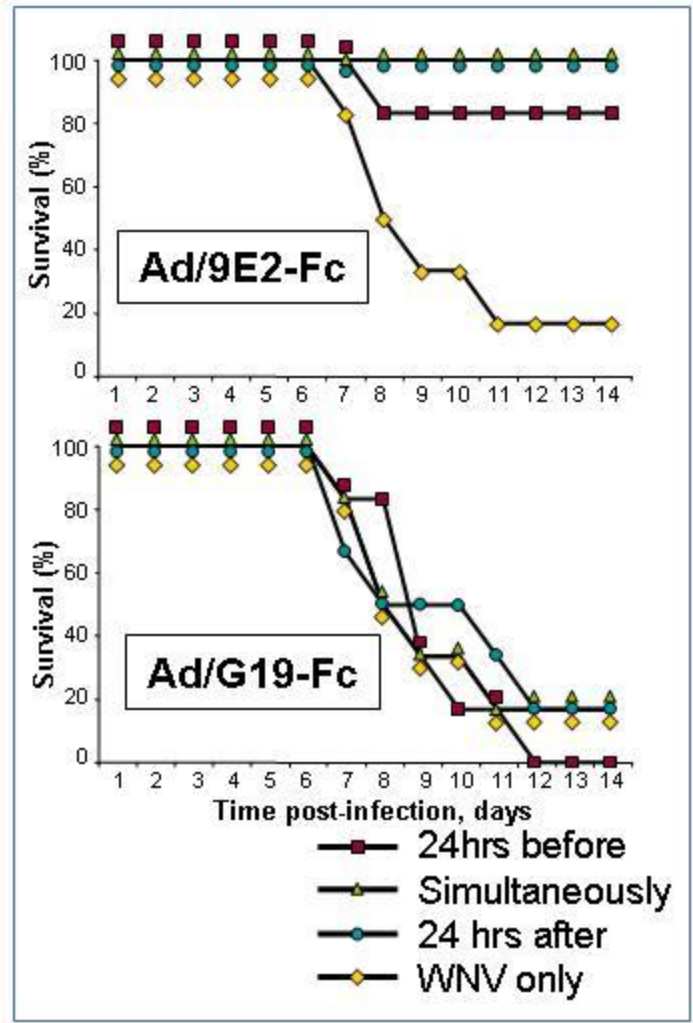
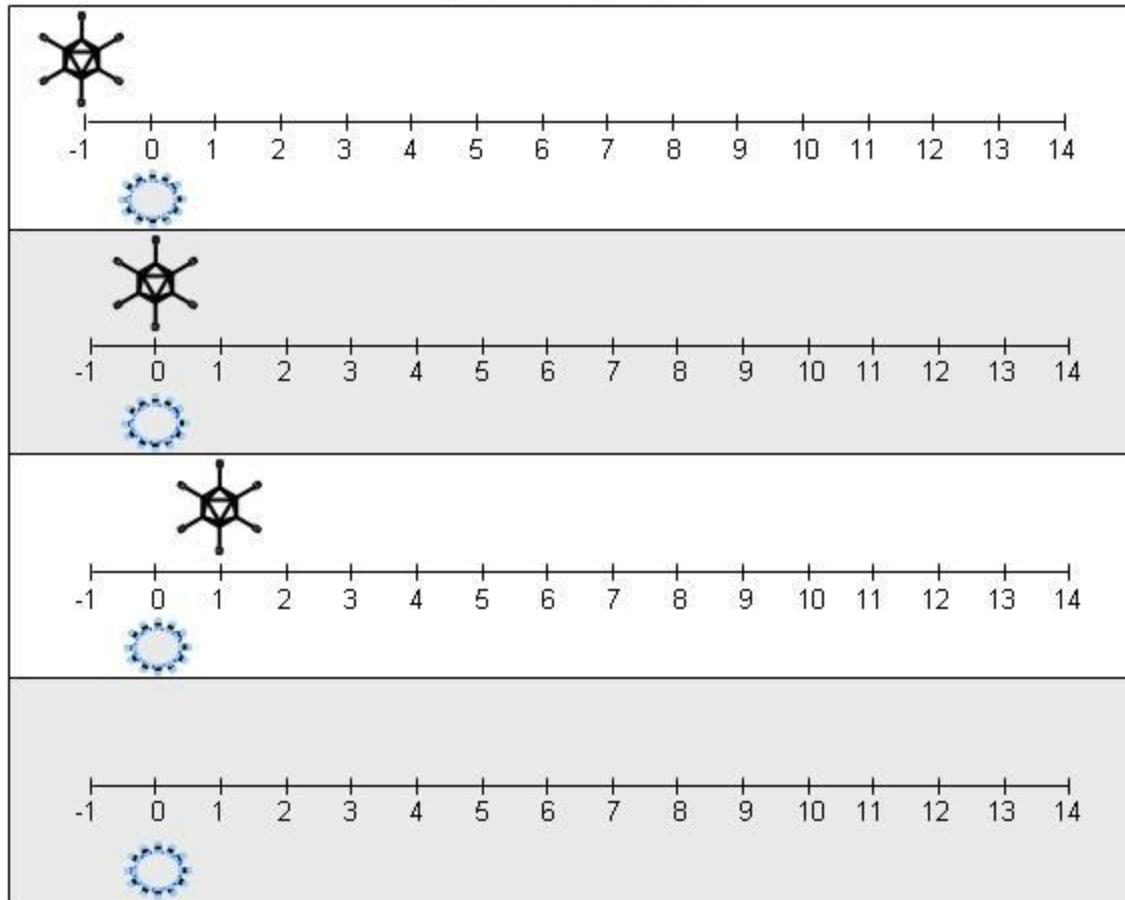
WNV-Neutralizing mAb 9E2



mAb 9E2 shows a very strong neutralizing activity against a variety of WNV strains

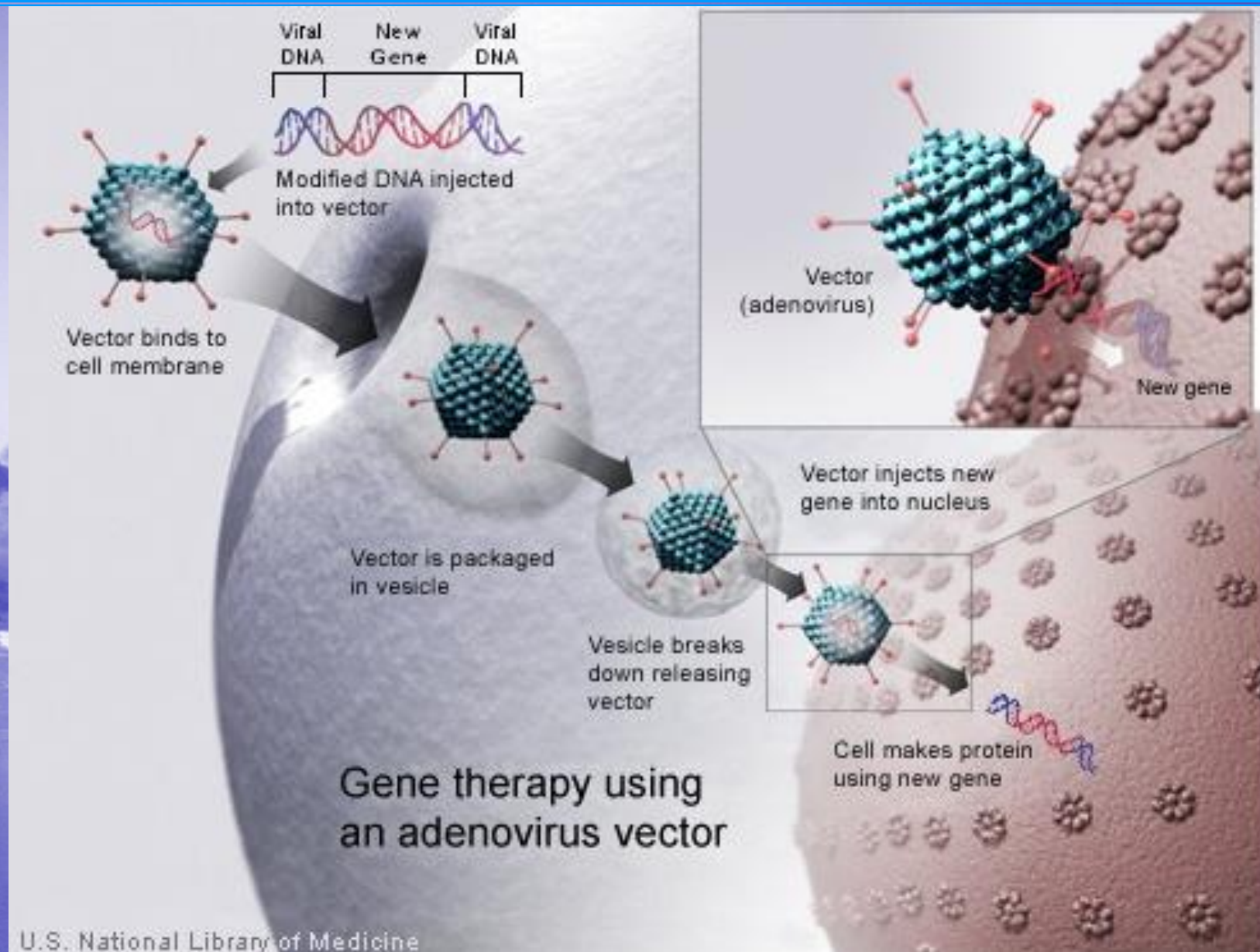
	Titers of ABs in neutralization test (reverse values)						
Antibodies	WNV, Vlg-27889	WNV, Vlg-27924	WNV,H p-94	WNV, A- 1640	WNV, Tur-2914	WNV, A- 72	WNV, Eg-101
Hyperimmune serum	128,000	64,000	400	32,000	100	6,400	128,000
mAb 9E2	1,024,000	256,000	64,000	512,000	64,000	512,000	1,024,000

Ad/9E2-Fc Gene Transfer and WNV Challenge. Survival



Ad/9E2-Fc gene transfer results in animal protection in both preventive and therapeutic settings

Вместо заключения



A broad-spectrum antiviral targeting entry of enveloped viruses

PNAS | February 16, 2010 | vol. 107 | no. 7 | 3157–3162

Structure–activity relationship analyses of the LJ-series compounds

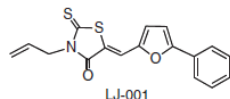


Table 1. LJ001 inhibits a variety of enveloped but not nonenveloped viruses in vitro

Virus	Family	Genome type	Envelope (yes/no)	Activity
Ebola ^L (cat A)	Filoviridae	ssRNA(–)	Y	++
Marburg ^L (cat A)	Filoviridae	ssRNA(–)	Y	++
Influenza A ^L (cat A)	Orthomyxoviridae	ssRNA(–)	Y	+++
Junin ^L (cat A)	Arenaviridae	ssRNA(–)	Y	++
Rift Valley fever ^L (cat A)	Bunyaviridae	ssRNA(–)	Y	+++
LaCrosse ^L (cat B)	Bunyaviridae	ssRNA(–)	Y	+++
Nipah ^{L,P} (cat C)	Paramyxoviridae	ssRNA(–)	Y	++
Omsk hemorrhagic fever ^L (cat C)	Flaviviridae	ssRNA(+)	Y	++
RSSE ^L (cat C)	Flaviviridae	ssRNA(+)	Y	++
PIV-5 ^L	Paramyxoviridae	ssRNA(–)	Y	++
HPIV-3 ^L	Paramyxoviridae	ssRNA(–)	Y	++
Newcastle disease ^{L*}	Paramyxoviridae	ssRNA(–)	Y	++
HIV-1 ^{L,P*}	Retroviridae	ssRNA(–)RT	Y	++
Murine leukemia ^L	Retroviridae	ssRNA(–)RT	Y	++
Yellow fever ^L	Flaviviridae	ssRNA(+)	Y	+++
Hepatitis C ^L	Flaviviridae	ssRNA(+)	Y	+++
West Nile ^L	Flaviviridae	ssRNA(+)	Y	+++
Vesicular stomatitis ^{L,P}	Rhabdoviridae	ssRNA(–)	Y	++
Cowpox ^L	Poxviridae	dsDNA	Y	+
Vaccinia ^L	Poxviridae	dsDNA	Y	++
Adenovirus ^{L,**}	Adenoviridae	dsDNA	N	–
Coxsackie B ^{L,**}	Picornaviridae	ssRNA(+)	N	–
Reovirus ^L	Reoviridae	dsRNA	N	–

Благодарности:

ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово

Иванова А.В.
Казачинская Е.И.
Качко А.В.
Коновалова С.Н.
Кононова Ю.В.
Першикова Н.Л.
Протопопова Е.В.
Разумов И.А.
Рябчикова Е.И.
Святченко В.А.
Терновой В.А.
Чаусов Е.В.
Швалов А.Н.

Институт лимнологии СО РАН, Иркутск

Беликов С.И.
Кондратов И.Г.
Романова Е.В.

Институт эпидемиологии и
микробиологии
СО РАМН, Владивосток

Леонова Г.Н.
Новиков Д.В.
Павленко Е.В.

1 клиническая муниципальная
инфекционная больница, Новосибирск

Иванов Г.Я.
Куржуков Г.П.
Соколов В.В.

Новосибирский Государственный
университет

Нетесов С.В.

University of Kansas

V. Borisevich
D. Hudman
V. Yamshchikov

University of Alabama at Birmingham

A. Pereboev
G. Tsuladze
M. Shakhmatova

Томский Государственный
университет

Агулова Л.П.
Большакова Н.П.
Гашков С.И.
Иванова Н.В.
Кравченко Л.Б.
Коробицын И.Г.
Куранова В.Н.
Москвитин С.С.
Москвитина Н.С.
Романенко В.Н.
Сучкова Н.Г.
Тютеньков О.Ю.

Громадное спасибо многим моим коллегам, работавшим и помогавшим
нам в этих исследованиях

Спасибо за внимание!



DON'T WORRY—IT'S ONLY A VIRUS!