

# Chorobotwórczość wirusa Powassan

Zdzisław Gliński, Krzysztof Kostro

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

W XXI w. choroby przenoszone przez kleszcze stanowią jedno z ważnych zagrożeń epidemiologicznych dla człowieka i zwierząt. Kleszcze są wektorami około 130 wirusów, 200 gatunków piroplazm i filarii, 20 gatunków riketsji oraz wielu gatunków bakterii (1, 2). U ludzi z chorób odkleszczowych coraz powszechniej występuje borelioza i odkleszczowe zapalenia mózgu, anaplazmoza granulocytarna, w niektórych krajach tularemia (2, 3), u zwierząt zaś borelioza, babeszjoza, hepatoozooza, porażenie pokleszczowe i erlichioza (4, 5). W Polsce na boreliozę reagują serologicznie konie, psy, bydło. Najwięcej kleszczy zakażonych przez *Borrelia burgdorferi* notuje się w Polsce północno-wschodniej, przy czym odsetek zarażonych pajączaków wynosi średnio 25%, w rejonach endemicznych dochodzi nawet do 60%. Duży odsetek pracowników służby leśnej reaguje w testach serologicznych w kierunku boreliozy (6, 7).

Endemie wirusa Powassan w USA, Kanadzie, na dalekim wschodzie Rosji zwróciły uwagę na rolę tego wirusa w patologii człowieka i zwierząt oraz na udział kleszczy

jako wektorów choroby (8). Ta nowa choroba odkleszczowa ze względu na zmiany klimatyczne na świecie i postępującą degradację środowiska uzyskała możliwość szerzenia się na nowych terenach. Kleszeczki skolonizowały bowiem niemal wszystkie ekosystemy. Zarówno kleszcze, jak i warte w nich drobnoustroje łatwiej przeżywiają łagodne zimy (9). Dłuższa wiosna i jesień w warunkach ocieplenia klimatu zwiększają prawdopodobieństwo znalezienia żywiciela, a tym samym szansę przeżycia dla kleszcza i wirusa Powassan.

Na pewno zmniejszenie bioróżnorodności w środowisku powoduje, że kleszcze częściej atakują gryzonie obecne w każdym nawet silnie zdegradowanym środowisku, i częściej szerzą się one za ich pośrednictwem.

## Epidemiologia

Wirus Powassan (POWV) wyizolowano po raz pierwszy w 1958 r. z mózgu 5-letniego chłopca, który zmarł na zapalenie mózgu. Wirus nazwano od miejscowości Powassan w prowincji Ontario w Kanadzie,

## Pathogenicity of Powassan virus (POWV)

Gliński Z., Kostro K., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

This paper aims at the presentation of a pathogen from family Flaviviridae. Powassan encephalitis, a severe tick-borne disease caused by Powassan virus (POWV), is endemic to United States, Canada, and Russian Far East. Transmission of POWV in enzootic cycles involves small to medium-sized mammals. The disease is associated with a reactive inflammatory perivascular cellular infiltration of lymphocytes and macrophages and by multiple foci of parenchymal cells in the brain grey matter. Most exposures to the virus do not necessarily result in clinical disease. Clinical signs range from self-limiting febrile illness to severe neurologic disorders and death. No specific treatment is available. Strict hygienic and biosafety measures, including tick control, is pre-requisite for prevention of disease. Horses, cattle and dogs may become infected with POWV, however they are accidental "dead-end" hosts, not capable to further spread of the virus. They seroconvert upon infection and they seem to be much more resistant than humans to the clinical disease.

**Keywords:** Powassan virus, tick, encephalitis, animals.

skąd pochodził chłopiec. Wirus Powassan był też przyczyną zachorowań osób dorosłych z neurologicznymi objawami w prowincjach Quebec, New Brunswick

i Ontario (8). Badania serologiczne świadczą o zakażeniach wywołanych przez ten wirus w USA, Kanadzie i na Syberii oraz o jego krążeniu na Alasce i w Nowym Meksyku wśród drobnych i średniej wielkości ssaków (10). W oparciu o badania ekologii oraz genomu wirusa ustalono istnienie dwóch serologicznie identycznych, ale genetycznie odrębnych i krążących w odrębnych cyklach enzoptycznych (11), rodów (lineages) wirusa: ród I, którego prototypem jest wirus Powassan, oraz ród II, którego prototypem jest wirus jeleni przenoszony przez kleszcza *Ixodes scapularis* (DTV, deer tick virus). Obydwa rody mają 84% identycznych sekwencji nukleotydowych i 94% sekwencji aminokwasowych (12), ale różnią się gatunkiem kleszcza-wektora oraz często atakują różne gatunki zwierząt (11, 13, 14). W Ameryce Północnej wirus Powassan krąży w trzech cyklach enzoptycznych pomiędzy *Ixodes cookei* i świstakiem, *Ixodes marxi* i wiewiórkami oraz pomiędzy *Ixodes scapularis* i myszami. Człowieka najczęściej atakuje *I. scapularis* (15). Natomiast wirusy z rodu II krążą w cyklu *I. scapularis* oraz myszak białostopy (*Peromyscus leucopus*; 6). Obydwa rody rozdzieliły się przed około 100 laty (14) i powodują zachorowania ludzi w USA i w Rosji.

Wirus Powassan jest nie tylko przyczyną chorób ludzi, ale i zwierząt w USA, Kanadzie i Rosji (17). U ludzi następstwa zakażenia wywołują objawy różniące się nasileniem, od samoustępujących epizodów gorączki do ostrej choroby z objawami neurologicznymi i zejściem śmiertelnym. Zarówno POWV, jak i DTV izoluje się od ludzi z przypadków śmiertelnych, przy czym liczba zachorowań ponaddwukrotnie wzrosła w okresie 1958–2007 (18). Podstawowym warunkiem endemicznego występowania POWV u ludzi, psów i kotów jest obecność gryzoni i drobnych ssaków oraz kleszczy wektorów wirusa, a także możliwości przeobrażenia się kleszczy. Takie warunki istnieją również w Europie. Europa jest świetnym miejscem dla POWV ze względu na dużą gęstość zaludnienia, obecność kleszczy wektorów wirusa i dużej liczby ich siedlisk, przyjazny klimat, różnorodność oraz obfitość gatunków wrażliwych na zakażenie wirusem.

W Polsce spośród 825 gatunków kleszczy stale występuje do 20 gatunków tych pajęczaków, przy czym ta liczba może się zmienić, ponieważ inne gatunki mogą zostać zawleczone na teren Polski przez migrujące zwierzęta porażone przez kleszcze. Wektorem większości odkleszczowych chorób w Europie jest *Ixodes ricinus*. Transfer POWV jest ściśle związany ze stadiami rozwoju kleszcza, co zależy od warunków klimatycznych, głównie wilgotności i temperatury, oraz od dostępności

żywcicieli. Przejście w każde kolejne stadium rozwojowe (nimfa, imago, jaja) wymaga pobrania krwi. Kleszcze są tylko okresowymi pasożytami, ponieważ większość swojego życia pozostają poza organizmem żywiciela. W roznoszeniu chorób przez kleszcze kluczową rolę odgrywają samice, ponieważ samiec jest potrzebny tylko do zapłodnienia (19, 20).

### Wirus Powassan

Wirus Powassan jest flawiwirusem z białkiem nukleokapsydu (C), matrix (M) i z glikoproteinową otoczką (E) o właściwościach hemaglutyniny ma kształt dwudziestościanu (~30 nm). Otoczka glikoproteinowa odpowiada za przyłączenie wirusa do receptora komórki docelowego działania oraz za jego internalizację na drodze endocytozy z neuronami gospodarza. Białko otoczki odpowiada przy tym za działanie cytopatyczne i apoptozę, podobnie jak proteaza serynowa NS3, która łącząc się z kaspazą 8, uruchamia szlak apoptozy (21). Restrykcja ekspresji białka otoczki umożliwia przeżycie wirusa w organizmie. Białko niestrukturalne 1 (NS1) jest zaangażowane w replikację wirusa i odpowiedź immunologiczną, indukuje syntezę przeciwciał neutralizujących wirus oraz przeciwciał działających ochronnie. Białko niestrukturalne 2A (NS2A) bierze udział w replikacji wirusowego RNA i tworzeniu kapsydu, podczas gdy białko niestrukturalne 2B (NS2B) jest kofaktorem proteazy serynowej NS3. Peptyd 2k jest cząsteczką sygnałową dla białka niestrukturalnego 4 (NS4B). Genom POWV jest zbudowany z jednoniciowego RNA (10,5kb) o polaryzacji dodatniej. Wirus replikuje się na trypsynowanej stałej hodowli komórek nerki *Macacus rhesus*, dając po 5 dniach efekt cytopatyczny (zaokrąglenie się komórek i wakuolizacja cytoplazmy). Hemaglutyniny dla erytrocytów kurzych pojawiają się w supernatancie hodowli tkankowej o pH 6,4 po 4 dniach inkubacji w 22°C (22).

### Chorobotwórczość dla zwierząt

Chorobotwórczość wirusa Powassan dla zwierząt domowych, a także dla psów i kotów budzi pewne kontrowersje. Są one spowodowane przez fakt, że w odkleszczowych wirusowych chorobach neurologicznych zwierząt przez długi okres nie identyfikowano rodzaju wirusów będących przyczyną choroby, co miało związek z brakiem precyzyjnych metod diagnostycznych. Ponadto rzadko badano serologicznie w kierunku POWV zwierzęta w celu wykrywania zakażeń bezobjawowych lub nosicielstwa wirusa na terenach endemicznego występowania odkleszczowych chorób układu nerwowego u ludzi. Ze względu na fakt,

ze rezerwuarem POWV są drobne gryzoni, w USA i Kanadzie świstaki, pęgowce amerykańskie i wiewiórki, większość badań dotyczy tych gatunków zwierząt. Z tych względów nagromadzone obserwacje nie upoważniają do uznania POWV za ważnego patogenu zwierząt domowych oraz uznania tych zwierząt za wtórne źródło zakażenia dla ludzi. Jednak coraz więcej badań przemawia za możliwościami coraz powszechniejszego szerzenia się POWV w populacji zwierząt i człowieka, przynajmniej w niektórych krajach (8). W tym kontekście na uwagę zasługują badania przeprowadzone u koni, u których POWV wywołuje ogniskowe nieropne zapalenie mózgu i opon mózgowych, martwicę neuronów i parenchymy mózgu. Obserwacje przeprowadzone w prowincji Ontario w Kanadzie wykazały, że 13% koni jest seropozytywnych. Natomiast w ujściu rzeki Kuban (Kanada) 0,2% koni i bydła reagowało dodatnio w testach ELISA, seroneutralizacji i zahamowania hemaglutynacji w kierunku odkleszczowego zapalenia mózgu. Pomimo to nie powiodła się izolacja POWV od seropozytywnych zwierząt domowych zakażonych na drodze naturalnej. Dokładny opis objawów klinicznych i zmian anatomopatologicznych uzyskano u koni zakażonych eksperymentalnie POWV. Objawy neurologiczne pojawiały się w ciągu 8 dni po zakażeniu domózgowym lub dożylnym. Cechowały się one podkasaniem brzucha, drżeniem głowy i szyi, sztywnym i spowolnionym chodem, zataczaniem się, osowieniem i obfitym pienistym ślinotokiem. Przeciwciała dla POWV były obecne w surowicach wszystkich zakażonych zwierząt, a u niektórych występowały ponadto w płynie mózgowo-rdzeniowym. POWV izolowano wyłącznie z mózgu i rdzenia kręgowego zwierząt zakażonych domózgowo (24).

U bydła wśród objawów nerwowych dominuje opadnięcie głowy, porażenie nerwów twarzowych, ślepotą, zmniejszona ruchliwość, hipermetria, sztywność karku, ślinotok i niezdolność ruchowa. Przy silnym osłabieniu zwierzęta leżą, łaknienie jest osłabione, chore zwierzęta zgrzytają zębami. Obecność wirusa stwierdzono w mleku kóz drugiego tygodnia po zakażeniu. U zakażonych doświadczalnie świń, kóz i kotów nie występują objawy choroby.

Psy są przypadkowymi gospodarzami wirusa Powassan, występuje u nich serokonwersja, lecz rzadko chorują. W pełni udokumentowanym przypadku zakażenia POWV u psów występowała tylko albo przejściowo gorączka, albo obserwowano różnorodne objawy świadczące o zajęciu układu nerwowego, najczęściej były to drgawki, osłupienie (stupor), porażenie wszystkich kończyn, ślepotą, nadwrażliwość na bodźce, agresja, ruchy

maneżowe, opadnięcie głowy i osowienie. Choroba kończyła się śmiercią. W preparatach histologicznych mózgu stwierdza się limfocyarno-histiocyarne zapalenie opon mózgowych, martwicę neuronów, rozpad jąder komórek glejowych oraz rozplem komórek mikrogleju. Nacieki limfocyarne wokół naczyń dotyczą wszystkich regionów mózgu. Antygen wirusowy zidentyfikowano metodą immunohistochemiczną w neuroparenchymie otaczającej czwartą komorę mózgu, mózdzku, śródmózgowiu, wzgórzu, pławikoniku i nowej korze mózgowej. Przeciwciała dla wirusa zidentyfikowano testem ELISA w surowicy krwi (8).

POWV izolowano często od pręgowców amerykańskich (gryzoni z rodziny wiewiórkowatych), świstaków i dzikich wiewiórek (25, 26). Testem seroneutralizacji oraz testem redukcji lysinek stwierdzono przeciwciała dla POWV u świstaków, oposów i ptaków (27). U myszy zakażonych dootrzewnowo  $10^5$  pfu wirusa rozwija się wiremia oraz stwierdza się około 10 pfu wirusa u larw kleszcza *I. scapularis* żerującego na myszach w stadium wiremii.

Keane i wsp. (28) badali testem zahamowania hemaglutynacji surowice kotów z prowincji Ontario w kierunku zakażenia trzema arbowirusami: POWV, SSHV (Snowshoe hare) i JCV (Jamestown Canyon), lecz nie stwierdzili obecności przeciwciał dla POWV. Ale u 6 kotów zakażonych domózkowo i 6 zakażonych dożylnie POWV pomimo braku objawów neurologicznych badaniem histologicznym u wszystkich kotów zakażonych domózkowo i jednego z 6 kotów zakażonych dożylnie stwierdzono nieropne zapalenie mózgu. Przeciwciała dla POWV były obecne w surowicach wszystkich zakażonych kotów. Nie występowały one natomiast w płynie mózgowo-rdzeniowym zakażonych zwierząt.

Pomimo że króliki zakażone doświadczalnie domózkowo szczepem M794 POWV nie chorują w ich mózgu, rozwija się nacieki limfocytarne wokół naczyń krwionośnych, limfocytarne zapalenie mózgu i limfocytarne zapalenie naczyń w okolicy oka. Nie udało się jednak izolacja wirusa z mózgu zakażonych zwierząt (24). Możliwości zakażenia królików amerykańskich (*Lepus americanus*) na drodze naturalnej i eksperymentalnej potwierdzają Zarnke i Yuill (29). W teście seroneutralizacji w kierunku POWV w mianie 1:4 reagowało 137 z 1264 surowic królików amerykańskich. U królików zakażonych doświadczalnie rozwijała się wiremia trwająca 4–5 dni, która ustępowała z chwilą pojawienia się przeciwciał w surowicy. Przeciwciała osiągały maksymalne miano (1:119) 15 dnia po zakażeniu i utrzymywały się przez 13 miesięcy (27). Również ptaki

są wrażliwe na zakażenie przez POWV. Przeciwciała dla tego wirusa w teście zahamowania hemaglutynacji występują u wielu gatunków ptaków, zwłaszcza u kaczek w USA, Kanadzie i Rosji (30, 31). W USA tylko incydentalnie izoluje się POWV od chorych lub padłych lisów wirginijskich (*Urocyon cinereoargenteus*) i rudych lisów (*Vulpes vulpes*).

### Chorobotwórczość dla człowieka

W większości przypadków zakażenia ludzi przez wirus Powassan mają charakter incydentalny, przy czym konieczne jest ukąszenie przez zakażonego kleszcza-wektora wirusa. Czas transferu wirusa do organizmu człowieka nie przekracza 30 minut (26). Z tych względów przeważający odsetek ukąszenia przez zakażone kleszcze kończy się zakażeniem. Okres inkubacji choroby wynosi od 8 do 34 dni. W żadnym przypadku w okresie wiremii stężenie POWV we krwi nie osiąga poziomu, który może zakazić kleszcza. Z tych względów człowiek, podobnie jak pies, jest uznany za żywiciela końcowego (dead-end host). Kleszcze zarażają się wirusem od zwierząt bądź zakażenie jest przekazywane u kleszczy na drodze transowarialnej w cyklu zakażona matka → jajo → nimfa → imago. Brak jest patognomicznych objawów zakażenia. Gama objawów jest różnorodna: od przejściowej gorączki aż do ciężkiego zapalenia mózgu. Najczęściej występują bóle i zawroty głowy, gorączka do 39,4°C, dreszcze, złe samopoczucie, wymioty, czasem niewyraźna mowa i często porażenie połowiczne. Obrazowanie mózgu i badania wirusologiczne potwierdzają rozpoznanie kliniczne zapalenia mózgu (1, 32). Umiera 10–15% pacjentów (33), przy czym u około 50% pacjentów, którzy przeżyli, występują różnorodne problemy neurologiczne, najczęściej połowiczne porażenie ciała, bóle głowy, bóle mięśniowo-stawowe, zaburzenie koordynacji ruchowej i zaburzenia pamięci (8, 34).

W preparatach histopatologicznych osób zmarłych występują nacieki okołonaczyniowe w obszarze wzgórza, śródmózgowia i w mózdzku, w których dominują limfocyty i makrofagi oraz liczne nacieki komórkowe w istocie szarej mózgu (35).

Do rozpoznania choroby wykorzystuje się albo bezpośrednie stwierdzenie obecności wirusa bądź wirusowego RNA w krwi pobranej w fazie wiremii w teście RT-PCR, izolację wirusa na hodowli komórkowej albo wykrycie przeciwciał dla POWV w klasach IgM i IgG w teście ELISA, immunofluorescencji lub w teście seroneutralizacji (36). W zapobieganiu istotne znaczenie odgrywa zabezpieczenie przez kleszczami przez stosowanie repelentów i odpowiedniej odzieży oraz jak

najszybsze usunięcie kleszcza z ciała (34). Nie przeprowadzono badań nad skutecznością w profilaktyce dostępnych w Europie szczepionek przeciwko odkleszczowemu zapaleniu mózgu wywołanemu przez flawiwirusy (TBEFV). Flawiwirusy z tej grupy cechuje duże pokrewieństwo antygenowe (37, 38). Jedynym leczeniem jest zminimalizowanie objawów choroby.

Na pytanie o możliwość rozprzestrzenienia się wirusa Powassan na nowe terytoria i nowych gospodarzy nie można dać jednoznacznej odpowiedzi. Z pewnością można by temu zapobiec w przypadku daleko posuniętej likwidacji kleszczy-wektorów, ograniczenia rezerwuarów wirusa jakimi są drobne ssaki oraz opracowanie szczepionki i przeprowadzanie szczepień na terenach endemicznych i zagrożonych chorobą. Żaden z tych postulatów nie może być w pełni zrealizowany. Ponadto nie można wykluczyć dodatkowego negatywnego scenariusza. Wirus Powassan może na drodze zmian w genomie nabyć właściwości obfitego namnażania się w organizmie człowieka, zwierząt domowych i psów. W tej sytuacji nie będą one, tak jak obecnie, ostatecznym żywicielem POWV, ale w okresie wiremii staną się źródłem zakażenia dla kleszczy, co w efekcie przyczyni się do szybkiego szerzenia się choroby w populacji ludzi i zwierząt.

Obecnie przy braku możliwości radykalnego ograniczenia populacji kleszczy i likwidacji rezerwuarów POWV i braku szczepionki, w profilaktyce główny nacisk na terenach endemicznych kładzie się na szybkie wykrywanie i usuwanie kleszczy z ciała porażonych osobników, stosowanie repelentów i odpowiedniej odzieży u ludzi oraz na uświadamianie, jakim zagrożeniem dla zdrowia jest ten wirus.

### Piśmiennictwo

- Lasala P.R., Holbrook M.: Tick-borne flaviviruses. *Clin. Lab. Med.* 2010, **30**, 221–235.
- Parola P., Raoult D.: Ticks and tick-borne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin. Infect. Dis.* 2001, **32**, 897–928.
- Charrel R.N., Attoui H., Butenko A.M., Clegg J.C., Deubel V., Frolova T.V., Gould E.A., Gristun T.S., Heinz F.X., Labuda M., Lashkevich V.A., Loktev V., Lundkvist A., Lvov D.V., Mandl C.W., Niedrig M., Papa A., Petrov V.S., Plyusnin A., Randolph S., Süß J., Zlobin V.I., de Lamballerie S.: Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004, **10**, 1040–1055.
- McQuiston J.H., McCall C.L., Nicholson W.L.: Ehrlichiosis and related infections. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 2003, **223**, 1750–1756.
- Krupka I., Straubinger R.K.: Lyme borreliosis in dogs and cats: background, diagnosis, treatment and prevention of infections with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. *Vet. Clin. North Amer. Small Anim. Pract.* 2010, **40**, 1103–1119.
- Paradowska-Stankiewicz I., Chreścińska I.: Lyme disease in Poland in 2013. *Przegl. Epidemiol.* 2015, **69**, 763–764.
- Lewandowska A., Kruba Z., Filip R.: Epidemiology of Lyme disease among workers of forest inspectorates in Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2013, **20**, 329–331.
- Dhama K., Pavaia R.V.S., Chakraborty S., Taiwari R., Verma A.K.: Powassan virus (POWV) infection in animals



- and humans: a review. *Asian J. Anim. Vet. Med. Vet. Adv.* 2014, **9**, 177–189.
9. Gage K.L., Burkot T.R., Eisen R.J., Hayes E.B.: Climate and vectorborne diseases. *Amer. J. Prev. Med.* 2008, **35**, 438–450.
  10. Deardorff E.R., Nofchissey R.A., Cook J.A., Hope A.G., Tsvetkova A., Talbot S.L., Ebel G.D.: Powassan virus in mammals, Alaska and New Mexico, USA, and Russia, 2004–2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2013, **19**, 321–328.
  11. Beasley D.W.C., Suderman M.T., Holbrook M.R., Barrett A.D.T.: Nucleotide sequencing and serological evidence that the recently recognized deer tick virus is a genotype of Powassan virus. *Virus Res.* 2001, **79**, 81–89.
  12. Ebel D.G., Brackney D.E., Brown I.K., Nofchissey R.A., Fitzpatrick K.A.: Homogeneity of Powassan virus populations in naturally infected *Ixodes scapularis*. *Virology*, 2010, **42**, 366–371.
  13. Kuno G., Artsob H., Karabatsos N., Tsuchiya K.R., Chang G.J.: Genomic sequencing of deer tick virus and phylogeny of Powassan-related viruses of North America. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 2001, **65**, 671–676.
  14. Pesko K.N., Torres-Perez E., Hjelle B.L., Ebel G.D.: Molecular epidemiology of Powassan virus in North America. *J. Gen. Virol.* 2010, **91**, 2698–2705.
  15. Main A.J., Carey A.B., Downs W.G.: Powassan Virus in *Ixodes cookei* and *Mustelidae* in New England. *J. Wildl. Dis.* 1979, **15**, 585–591.
  16. Centers for Disease Control and Prevention. Powassan. 2010. <http://www.cdc.gov>
  17. Leonova G.N., Kondratov I.G., Ternovoi V.A., Romanova E.V., Protopopova E.V., Chausov E.V.: Characterization of Powassan viruses from Far Eastern Russia. *Arch. Virol.* 2009, **154**, 811–820.
  18. Tavakoli N.P., Wang H., Dupuis M., Hull R., Ebel G.D., Gilmore E.J.: Fatal case of deer tick virus encephalitis. *N. Engl. J. Med.* 2009, **360**, 2099–2107.
  19. Ebel G.D., Campbell E.N., Goethert H.K., Spielman A., Telford S.R. III: Zoonotic transmission of deer tick virus in New England and Wisconsin sites. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 2000, **63**, 36–42.
  20. Anderson J.F., Magnarelli L.A.: Biology of ticks. *Infect. Dis. Clin. North Amer.* 2008 **22**, 195–215.
  21. Ramanathan M.P., Chambers J.A., Pankhong P., Chattergoon M., Attatippaholkun W., Dang K., Shah N., Weiner D.B.: Host cell killing by the West Nile Virus NS2B NS3 proteolytic complex: NS3 alone is sufficient to recruit caspase 8 based apoptotic pathway. *Virology* 2006, **345**, 56–72.
  22. Abdelwahab K.S.E., Almeida J.D., Doane F.W., McLean D.M.: Powassan Virus: morphology and cytopathology. *Can. Med. Ass. J.* 1964, **90**, 1068–1072.
  23. Telford S.R. III, Armstrong P.M., Katavolos P., Foppa I., Garcia A.S., Wilson M.L.: A new tick-borne encephalitis-like virus infecting New England deer ticks, *Ixodes dammini*. *Emerg. Infect. Dis.* 1997, **3**, 165–170.
  24. Little P.B., Thorsen J., Moore W., Weninger N.: Powassan viral encephalitis: a review and experimental studies in the horse and rabbit. *Vet. Pathol.* 1985, **22**, 500–507.
  25. Timoney P.: Powassan virus infection in the grey squirrel. *Acta Virol.* 1971, **15**, 429–432.
  26. Ebel G.D., Kramer L.D.: Short report: duration of tick attachment required for transmission of Powassan virus by deer ticks. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 2004, **71**, 268–271.
  27. Dupuis A.P., Peters R.J., Prusinski M.A., Falco R.C., Ostfeld R.S., Kramer L.D.: Isolation of deer tick virus (Powassan virus, lineage II) from *Ixodes scapularis* and detection of antibody in vertebrate hosts sampled in Hudson Valley, New York State. *Parasit. Vectors* 2013, **6**, 185–172.
  28. Keane D.P., Parent J., Little P.B. California serogroup and Powassan virus infection of cats. *Can. J. Microbiol.* 1987, **33**, 693–697.
  29. Zarnke R.L., Yuill T.M.: Powassan virus infection in snowshoe hares (*Lepus maricanus*). *J. Wildl. Dis.* 1981, **17**, 303–310.
  30. Whitney E.: Serologic evidence of group A and B arthropod-borne virus activity in New York State. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 1963, **12**, 417–424.
  31. McLean D.M., Bergman S.K., Goddard E.J., Graham E.A., Purvin-Good K.W.: North–south distribution of arbovirus reservoirs in British Columbia, 1970. *Can. J. Public Health.* 1971, **62**, 120–124.
  32. Romero J.R., Simonsen K.A.: Powassan encephalitis and Colorado tick fever. *Infect. Dis. Clin. North. Amer.* 2008, **22**, 545–559.
  33. Tavakoli N.P., Wang H., Dupuis M., Hull R., Ebel G.D., Gilmore E.J.: Fatal case of deer tick virus encephalitis. *N. Engl. J. Med.* 2009, **360**, 2099–2107.
  34. Ebel G.D.: Update on Powassan virus: emergence of a North American tick-borne flavivirus. *Annu. Rev. Entomol.* 2010, **55**, 95–110.
  35. Gholam B.I., Puksa S., Provias J.P.: Powassan encephalitis: a case report with neuropathology and literature review. *Can. Med. Ass. J.* 1999, **161**, 1419–1422.
  36. Deardorff E.R., Nofchissey R.A., Cook J.A., Hope A.G., Tsvetkova A., Talbot S.L., Ebel G.D.: Powassan virus in mammals, Alaska and New Mexico, USA, and Russia, 2004–2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2013, **19**, 232–239.
  37. Heinz F.X., Stiasny K.: Flaviviruses and their antigenic structure. *J. Clin. Virol.* 2012, **55**, 289–295.
  38. Heinz F.X., Stiasny K.: Flaviviruses and flavivirus vaccines. *Vaccine* 2012, **30**, 4301–4306.