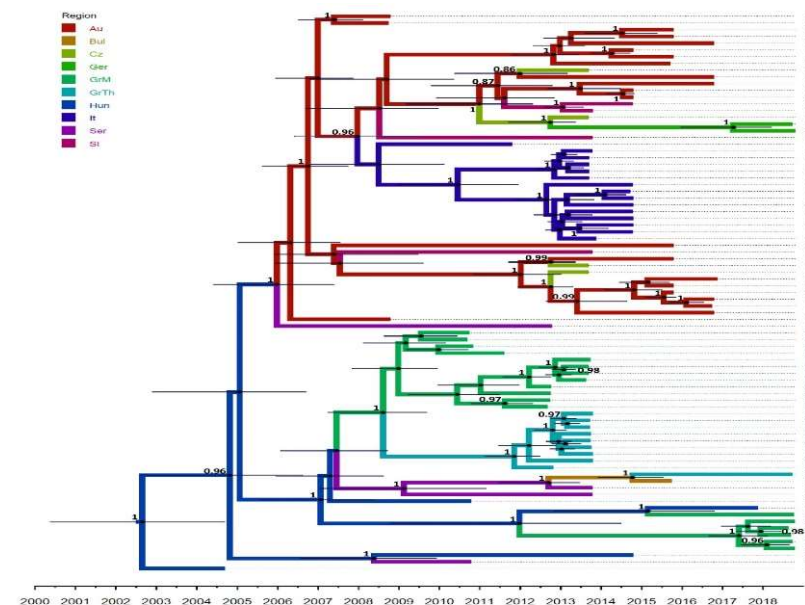
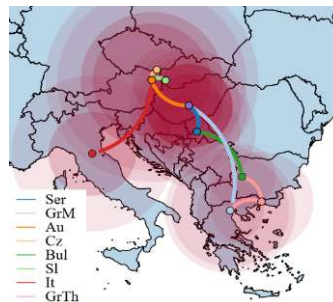




# Μοριακή επιτήρηση και επιδημιολογία των ιών με βάση την βιοπληροφορική

Χρυσόστομος Ι. Δόβας  
Διαγνωστικό Εργαστήριο  
Κλινικές Κτηνιατρικής Α.Π.Θ.



## Φυλογεωγραφία

Ασχολείται με τις αρχές και τις διαδικασίες που καθορίζουν τα **γεωγραφικά** πρότυπα των **γενεαλογικών γραμμών**, ειδικά εκείνων εντός του είδους, αλλά ακόμα και μεταξύ στενά συγγενικών εξελικτικά ειδών (Avice 2000)

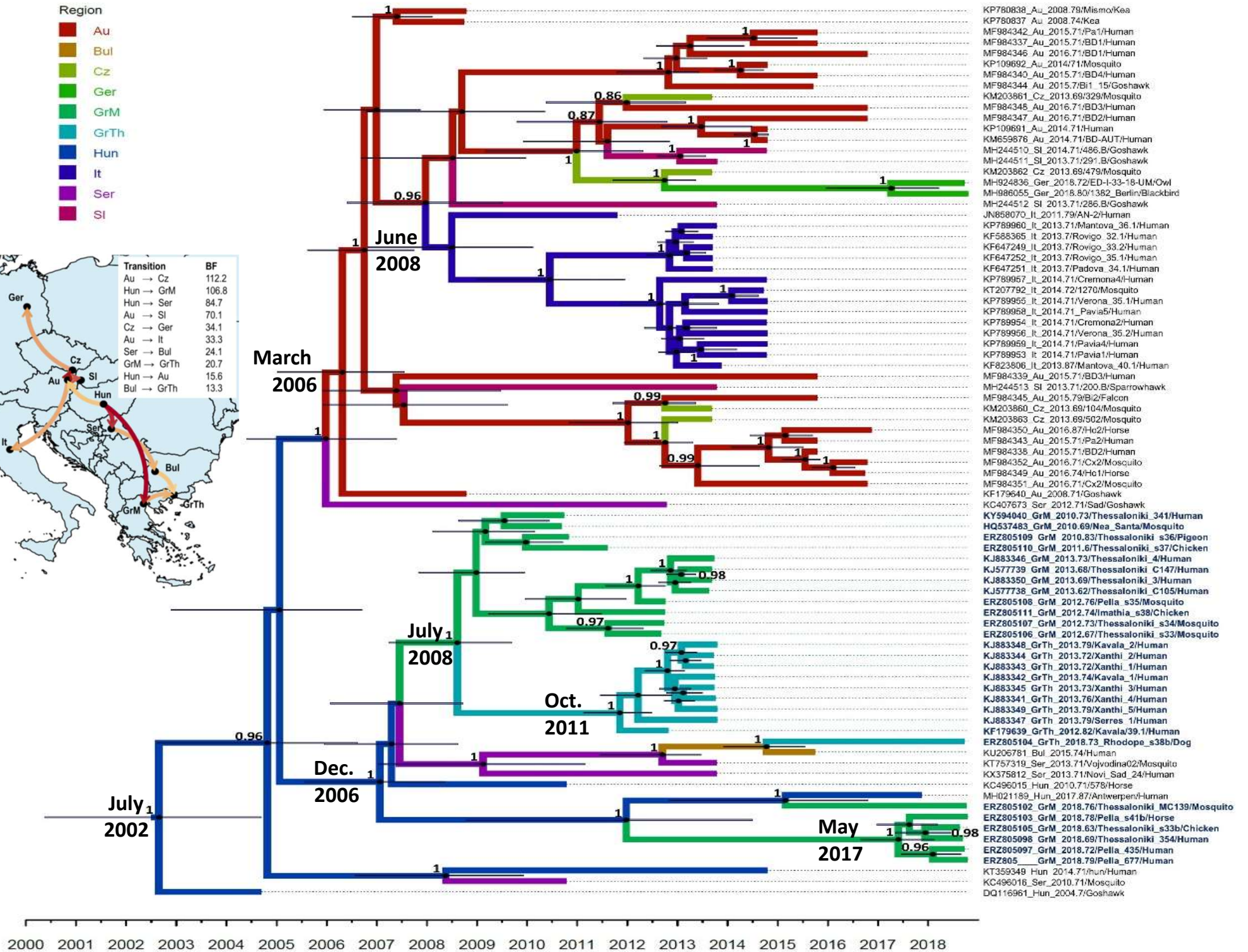
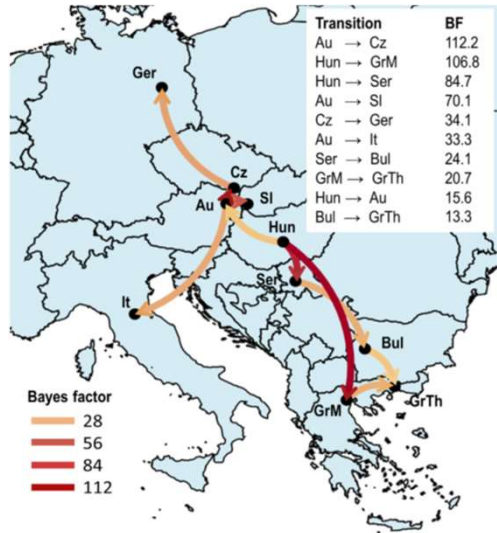
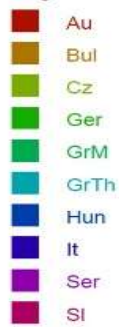
Διερεύνηση των ιστορικών διαδικασιών που σχετίζονται με τη χωρική και χρονική διασπορά των ιών, οι οποίες έχουν αφήσει τα εξελικτικά τους αποτυπώματα στη σύγχρονη γεωγραφική κατανομή των γονιδιακών γραμμών των ιών

**Η φυλογεωγραφία είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τη φυλογένεση**

Αφορά συσχετισμένη ανάλυση των γεωγραφικών και γενετικών αποστάσεων μεταξύ των πληθυσμών

1. Κατασκευάζουμε ένα **φυλογενετικό δέντρο για να** πιστοποιήσουμε τις γενετικές σχέσεις μεταξύ των πληθυσμών ενός είδους (ή συγγενικών ειδών)
2. Συνδέουμε το **δέντρο με την γεωγραφία**

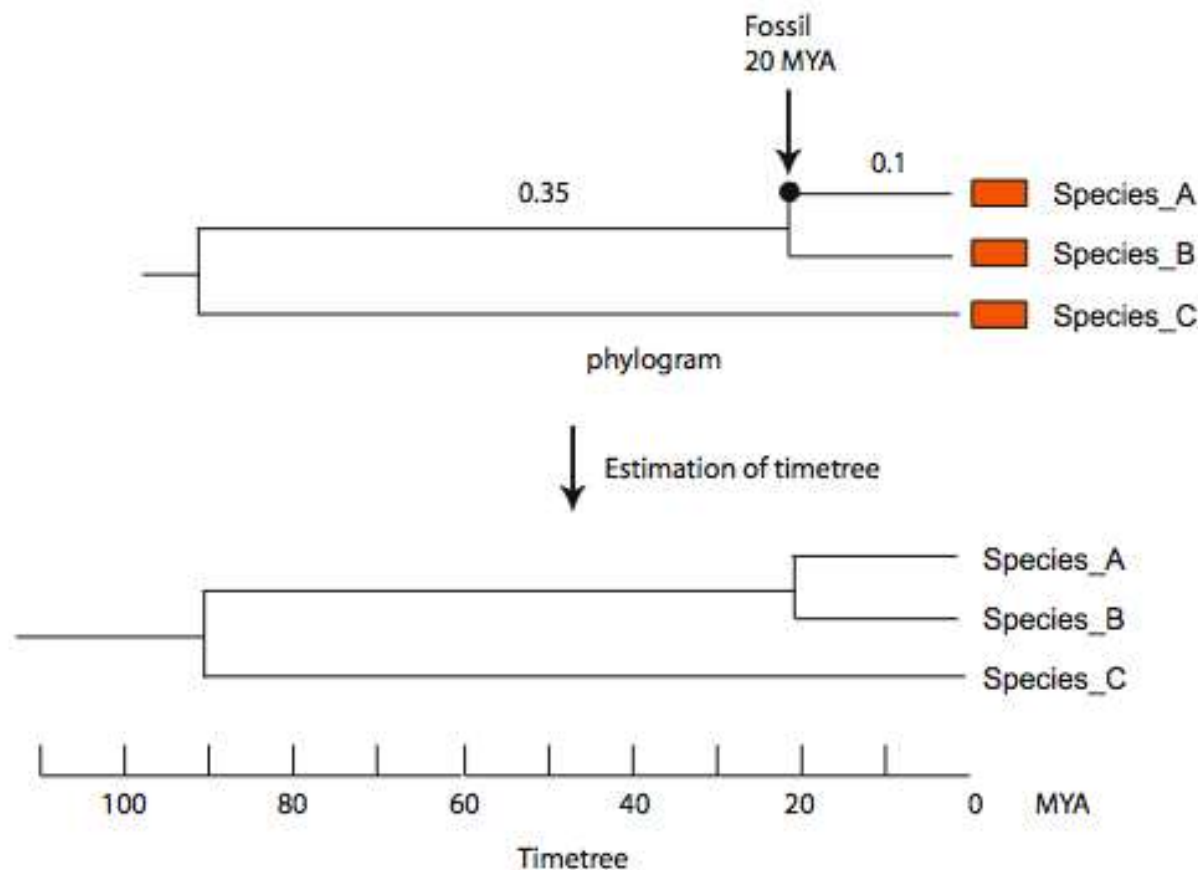
Region



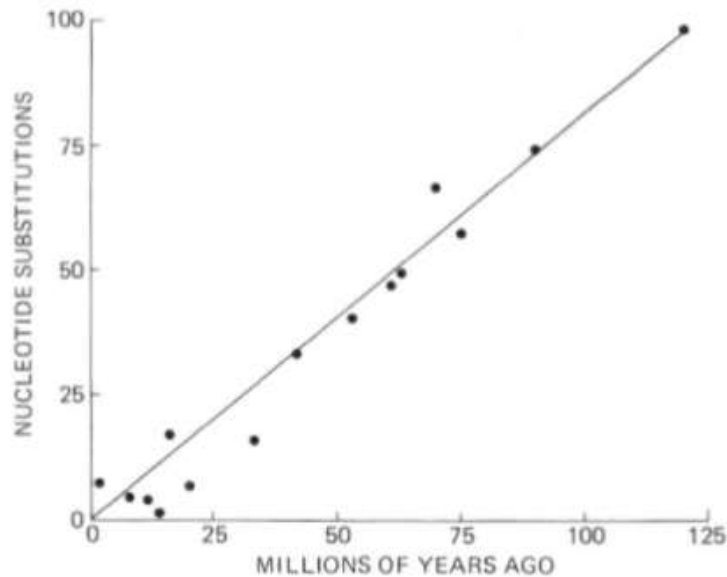
- KP780838\_Au\_2008.79/Mismo/Kea
- KP780837\_Au\_2008.74/Kea
- MF984342\_Au\_2015.71/Pa1/Human
- MF984337\_Au\_2015.71/BD1/Human
- MF984346\_Au\_2016.71/BD1/Human
- KP109692\_Au\_2014.71/Mosquito
- MF984340\_Au\_2015.71/BD4/Human
- MF984344\_Au\_2015.7/BI1\_15/Goshawk
- KM203861\_Cz\_2013.69/329/Mosquito
- MF984348\_Au\_2016.71/BD3/Human
- MF984347\_Au\_2016.71/BD2/Human
- KP109691\_Au\_2014.71/Human
- KM659876\_Au\_2014.71/BD-AUT/Human
- MH244510\_Sl\_2014.71/486.B/Goshawk
- MH244511\_Sl\_2013.71/291.B/Goshawk
- KM203862\_Cz\_2013.69/479/Mosquito
- MH924836\_Ger\_2018.72/ED-I-33-18-UM/Owl
- MH986055\_Ger\_2018.80/1382\_Berlin/Blackbird
- MH244512\_Sl\_2013.71/286.B/Goshawk
- JN858070\_It\_2011.79/AN-2/Human
- KP789960\_It\_2013.71/Mantova\_36.1/Human
- KF588365\_It\_2013.7/Rowigo\_32.1/Human
- KF647249\_It\_2013.7/Rowigo\_33.2/Human
- KF647252\_It\_2013.7/Rowigo\_35.1/Human
- KF647251\_It\_2013.7/Padova\_34.1/Human
- KP789957\_It\_2014.71/Cremona4/Human
- KT207792\_It\_2014.72/1270/Mosquito
- KP789955\_It\_2014.71/Verona\_35.1/Human
- KP789958\_It\_2014.71/Pavia5/Human
- KP789954\_It\_2014.71/Cremona2/Human
- KP789956\_It\_2014.71/Verona\_35.2/Human
- KP789959\_It\_2014.71/Pavia4/Human
- KP789953\_It\_2014.71/Pavia1/Human
- KF823806\_It\_2013.87/Mantova\_40.1/Human
- MF984339\_Au\_2015.71/BD3/Human
- MH244513\_Sl\_2013.71/200.B/Sparrowhawk
- MF984345\_Au\_2015.79/B2/Falcon
- KM203860\_Cz\_2013.69/104/Mosquito
- KM203863\_Cz\_2013.69/502/Mosquito
- MF984350\_Au\_2016.87/Hc2/Horse
- MF984343\_Au\_2015.71/Pa2/Human
- MF984338\_Au\_2015.71/BD2/Human
- MF984352\_Au\_2016.71/Cx2/Mosquito
- MF984349\_Au\_2016.74/Hc1/Horse
- MF984351\_Au\_2016.71/Cx2/Mosquito
- KF179640\_Au\_2008.71/Goshawk
- KC407673\_Ser\_2012.71/Sad/Goshawk
- KY594040\_GrM\_2010.73/Thessaloniki\_341/Human
- HQ537483\_GrM\_2010.69/Nea\_Santa/Mosquito
- ERZ805109\_GrM\_2010.83/Thessaloniki\_s36/Pigeon
- ERZ805110\_GrM\_2011.6/Thessaloniki\_s37/Chicken
- KJ883346\_GrM\_2013.73/Thessaloniki\_4/Human
- KJ577739\_GrM\_2013.68/Thessaloniki\_C147/Human
- KJ883350\_GrM\_2013.69/Thessaloniki\_3/Human
- KJ577738\_GrM\_2013.62/Thessaloniki\_C105/Human
- ERZ805108\_GrM\_2012.76/Pella\_s35/Mosquito
- ERZ805111\_GrM\_2012.74/Imathia\_s38/Chicken
- ERZ805107\_GrM\_2012.73/Thessaloniki\_s34/Mosquito
- ERZ805106\_GrM\_2012.67/Thessaloniki\_s33/Mosquito
- KJ883348\_GrTh\_2013.79/Kavala\_2/Human
- KJ883344\_GrTh\_2013.72/Xanthi\_2/Human
- KJ883343\_GrTh\_2013.72/Xanthi\_1/Human
- KJ883342\_GrTh\_2013.74/Kavala\_1/Human
- KJ883345\_GrTh\_2013.73/Xanthi\_3/Human
- KJ883341\_GrTh\_2013.76/Xanthi\_4/Human
- KJ883349\_GrTh\_2013.79/Xanthi\_5/Human
- KJ883347\_GrTh\_2013.79/Sorres\_1/Human
- KF179639\_GrTh\_2012.82/Kavala/39.1/Human
- ERZ805104\_GrTh\_2018.73\_Rhodope\_s38b/Dog
- KU206781\_Bul\_2015.74/Human
- KT757319\_Ser\_2013.71/Vojvodina02/Mosquito
- KX375812\_Ser\_2013.71/Novi\_Sad\_24/Human
- KC496015\_Hun\_2010.71/578/Horse
- MH021189\_Hun\_2017.87/Antwerpen/Human
- ERZ805102\_GrM\_2018.76/Thessaloniki\_MC139/Mosquito
- ERZ805103\_GrM\_2018.78/Pella\_s41b/Horse
- ERZ805105\_GrM\_2018.63/Thessaloniki\_s33b/Chicken
- ERZ805098\_GrM\_2018.69/Thessaloniki\_354/Human
- ERZ805097\_GrM\_2018.72/Pella\_435/Human
- ERZ805\_GrM\_2018.79/Pella\_677/Human
- KT359349\_Hun\_2014.71/Hun/Human
- KC496016\_Ser\_2010.71/Mosquito
- DQ116961\_Hun\_2004.7/Goshawk

# Μοριακά ρολόγια

- Υποθέτουν ένα σταθερό ρυθμό μεταλλάξεων για μια εξελικτική γραμμή
- Χρονολογημένα δείγματα επιτρέπουν την 'ζυγοστάθμιση' (calibration) του μοριακού ρολογιού
- Ρυθμός εξέλιξης διαφέρει μεταξύ γονιδίων
- Στην πραγματικότητα όμως ο ρυθμός εξέλιξης μπορεί να μεταβάλλεται (επιβράδυνση ή επιτάχυνση) κατά τη διάρκεια εξέλιξης ενός κλάδου



# Η υπόθεση του Μοριακού ρολογιού

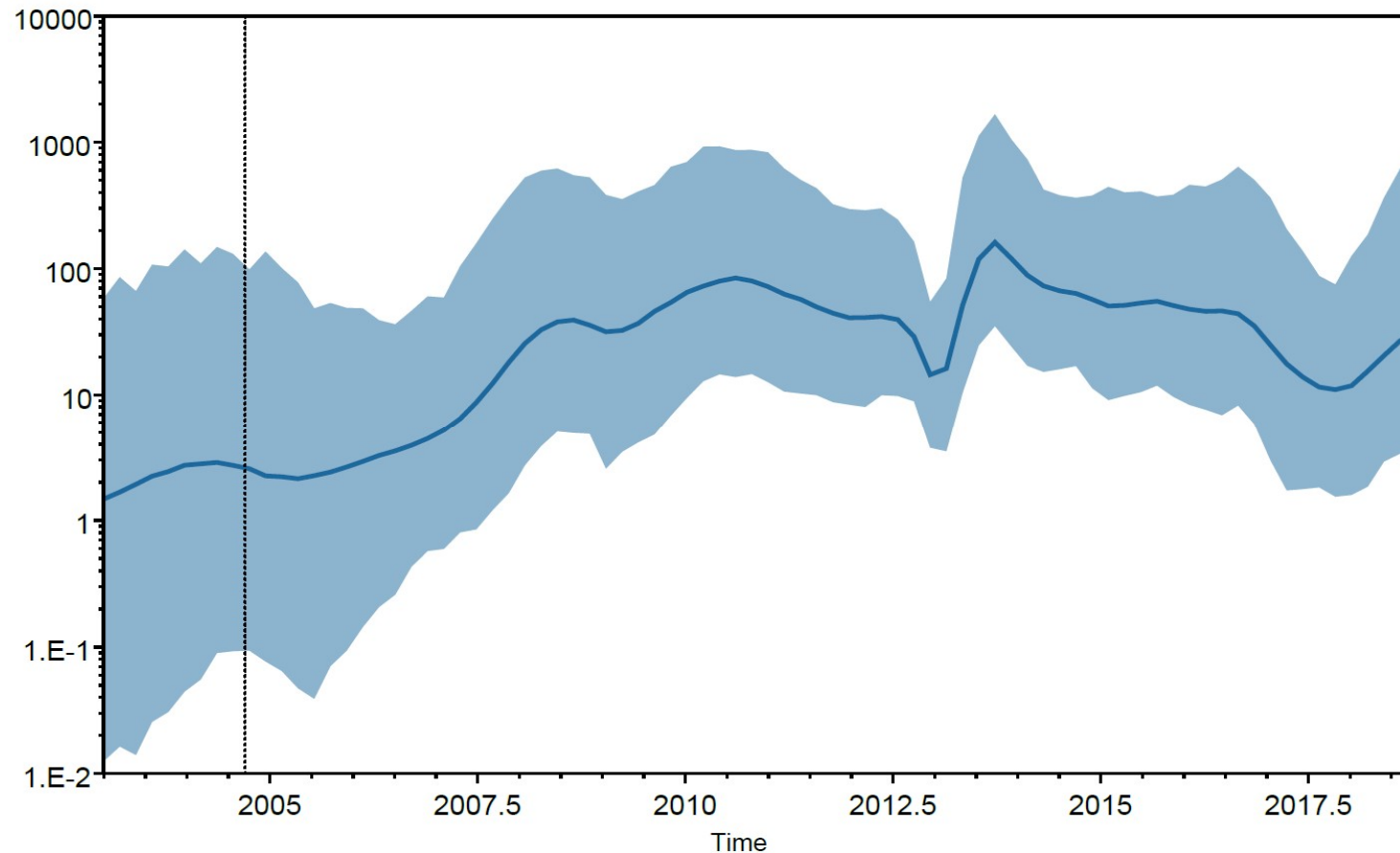


from AC Wilson, 1976

- Διάγραμμα που απεικονίζει τη σχέση των νουκλεοτιδικών διαφορών 17 ειδών θηλαστικών σε 7 γονιδιακά προϊόντα σε σχέση με το χρόνο
- Η ισχυρή γραμμική συσχέτιση υποδεικνύει οι μοριακές διαφορές ανάμεσα στα είδη είναι ανάλογες του χρόνου διαχωρισμού τους

**Ρολόι μη σταθερού ρυθμού εξέλιξης**, π.χ. οι ρυθμοί αντικατάστασης των βάσεων σε κάθε κλάδο του δέντρου είναι ανεξάρτητοι και καθορίζονται από μία διακριτή λογαριθμοκανονική κατανομή (Uncorrelated lognormal relaxed clock, ULRC)

## **Δραστικό πληθυσμιακό μέγεθος του ιού στην Ευρώπη** (σχετίζεται με τον ρυθμό μετάδοσης του ιού σε κάθε χρονική στιγμή)



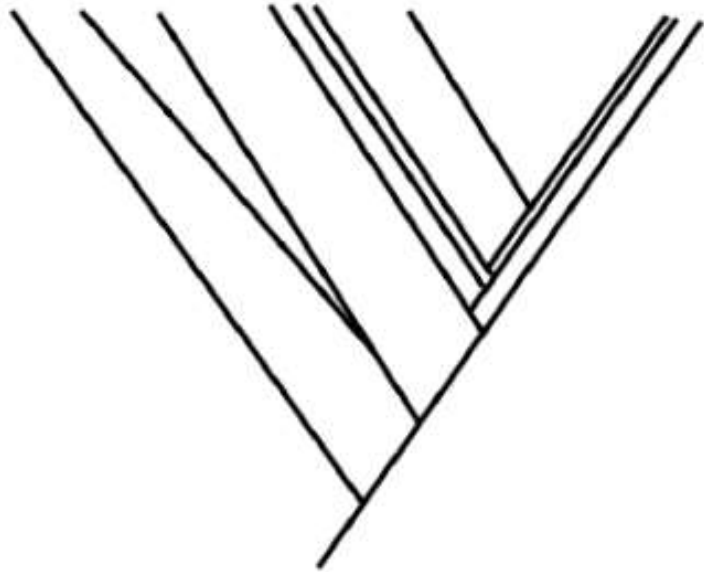
### **Δραστικό μέγεθος του πληθυσμού (Ne)**

Ο αριθμός των ενεργά αναπαραγόμενων ατόμων σε ένα ιδεατό πληθυσμό που εμφανίζουν την ίδια δυνατότητα διασποράς των αλληλομόρφων κάτω από τυχαία γενετική παρέκκλιση

Η **Θεωρία της σύμφυσης** (Coalescent theory) στοχεύει στο να ερμηνεύσει την πορεία προς τον κοινό πρόγονο σε ένα γονιδιακό δέντρο με βάση διάφορες εξελικτικές διαδικασίες όπως η γενετική παρέκκλιση, η μετανάστευση, οι αλλαγές στο πληθυσμιακό μέγεθος και η επιλογή

Οι γενεαλογίες θα συγκλίνουν (coalesce) **στον πιο πρόσφατο κοινό τους πρόγονο** (most common recent ancestor, MRCA)

**Η ανάλυση του τρόπου σύγκλισης των γενεαλογιών μπορεί να μας δώσει εκτιμήσεις για τον πληθυσμό του ιού στην πορεία του χρόνου**



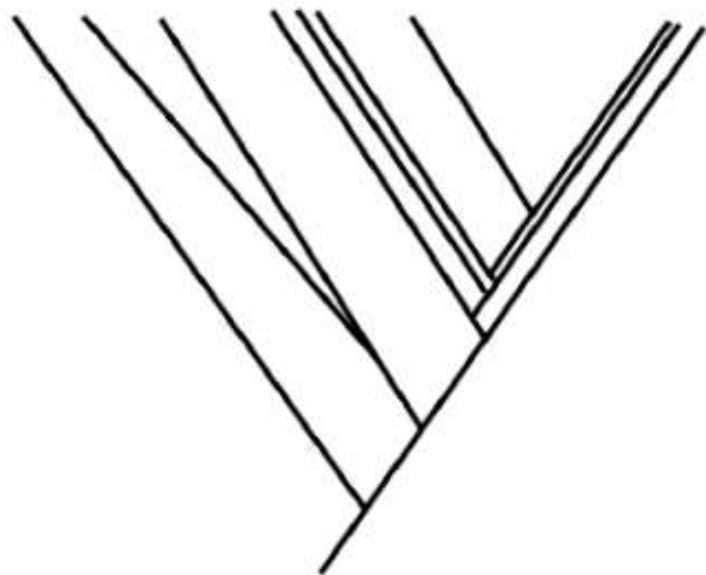
Coalescence is happening much slower than expected

Coalescence is happening much faster than expected

Coalescence is happening moderately faster than expected

Κατά τη διαδικασία της εξέλιξης, η πλειονότητα των νουκλεοτιδικών αντικαταστάσεων είναι αποτέλεσμα τυχαίας γενετικής παρέκκλισης (genetic drift)

Η τυχαία γενετική παρέκκλιση αφορά νουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις με μικρή ή καθόλου επίδραση στην αρμοστικότητα



Population size is v. large

Population bottleneck!

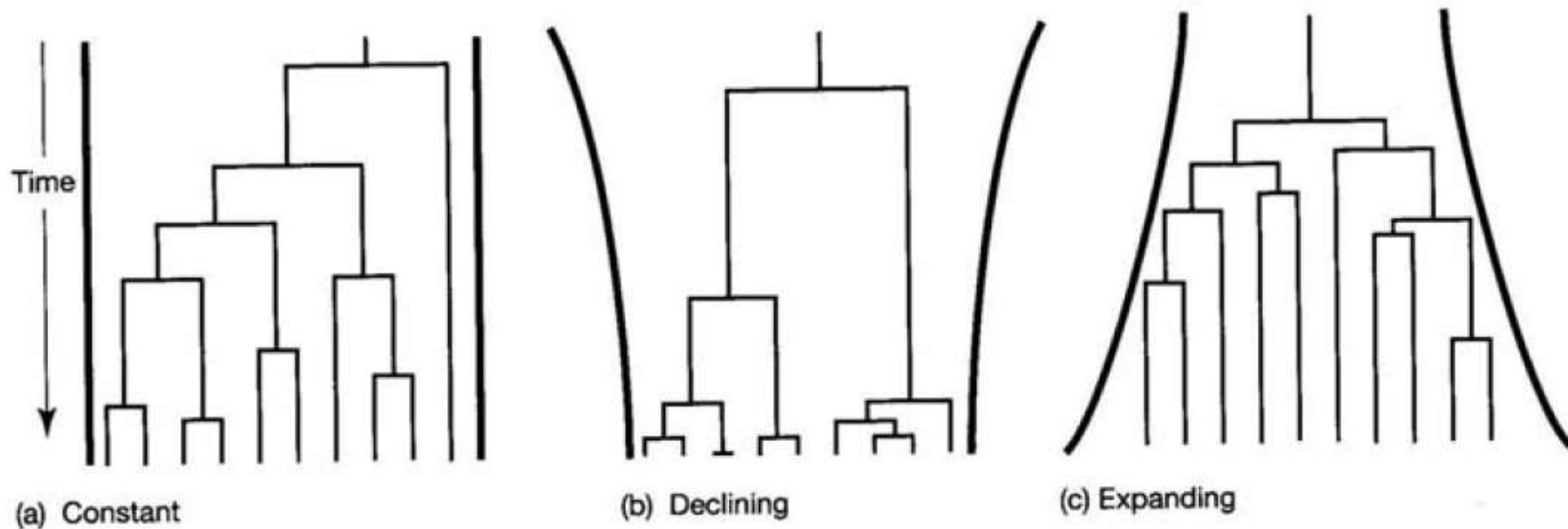
Medium-large population size

Η πιθανότητα εγκαθίδρυσης στον μικρό πληθυσμό, νουκλεοτιδικών αντικαταστάσεων που είναι αποτέλεσμα τυχαίας γενετικής παρέκκλισης είναι αντιστρόφως ανάλογη του πληθυσμιακού μεγέθους του ιού στο περιβάλλον



# Coalescent theory & Gene Genealogies

- The expected distribution of coalescent times is greatly affected by changes in population size:



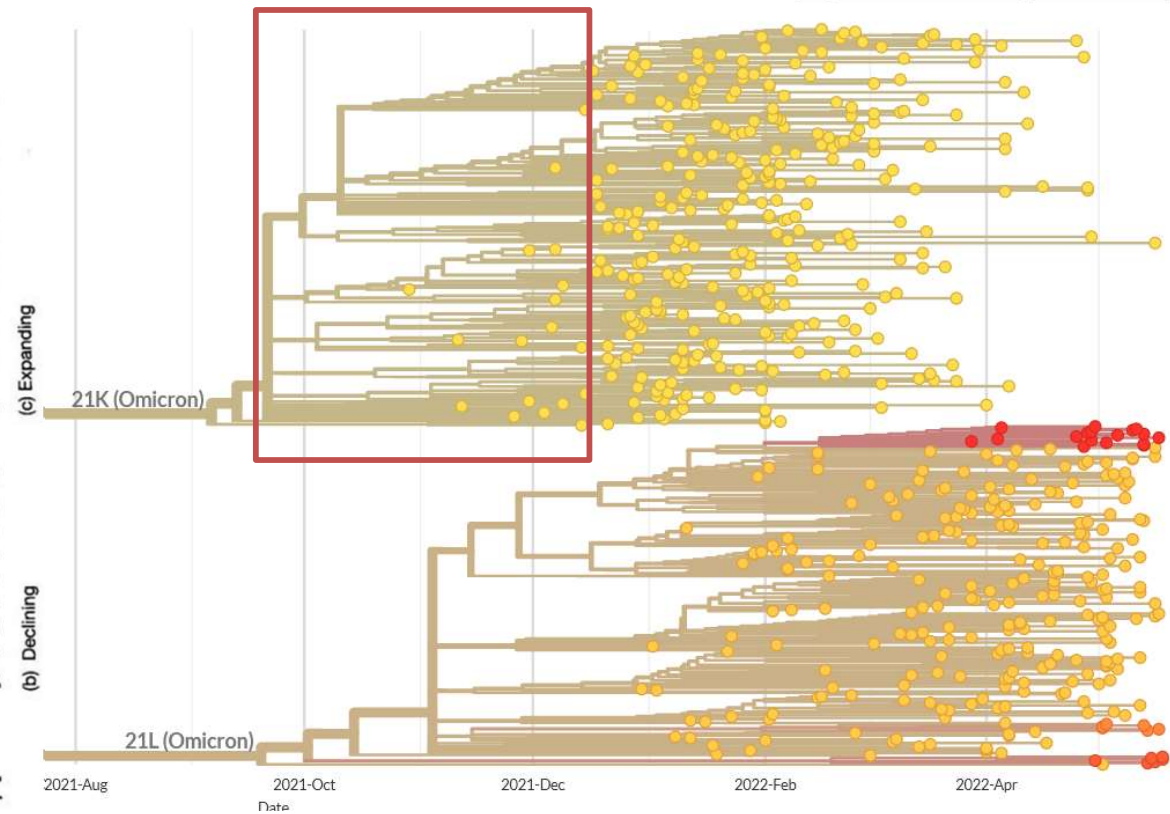
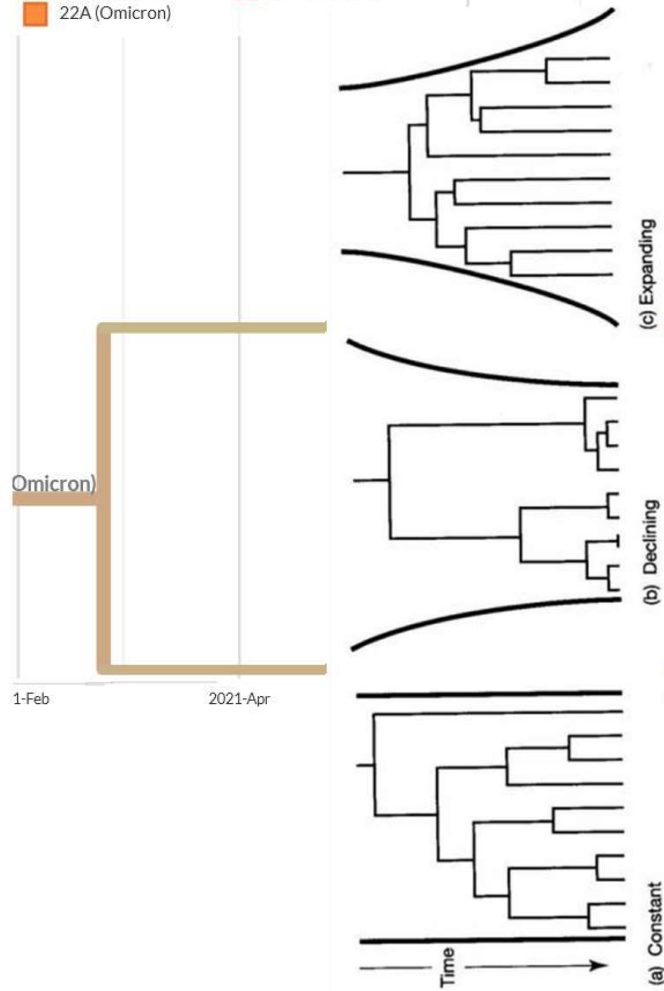
**Figure 8.18.** The theoretical distributions of coalescent times in genealogies with 10 contemporary samples under three scenarios of historical population change: (a) constant population size, (b) declining population size, and (c) increasing population size (Garrigan *et al.*, 2002). The distance between the thick lines indicates the relative population sizes at different times, and the genealogies reflect coalescent events in periods of relative small or large population sizes, respectively.

Showing 586 of 3081 genomes sampled between Oct 2021 and May 2022.

### Phylogeny

Clade ▲

- 21K (Omicron)
- 21L (Omicron)
- 22A (Omicron)
- 22B (Omicron)
- 22C (Omicron)



ZOOM TO SELECTED RESET LAYOUT

### Daily new confirmed COVID-19 cases per million people

7-day rolling average. Due to limited testing, the number of confirmed cases is lower than the true number of infections.

LINEAR  LOG



Source: Johns Hopkins University CSSE COVID-19 Data

Our World in Data

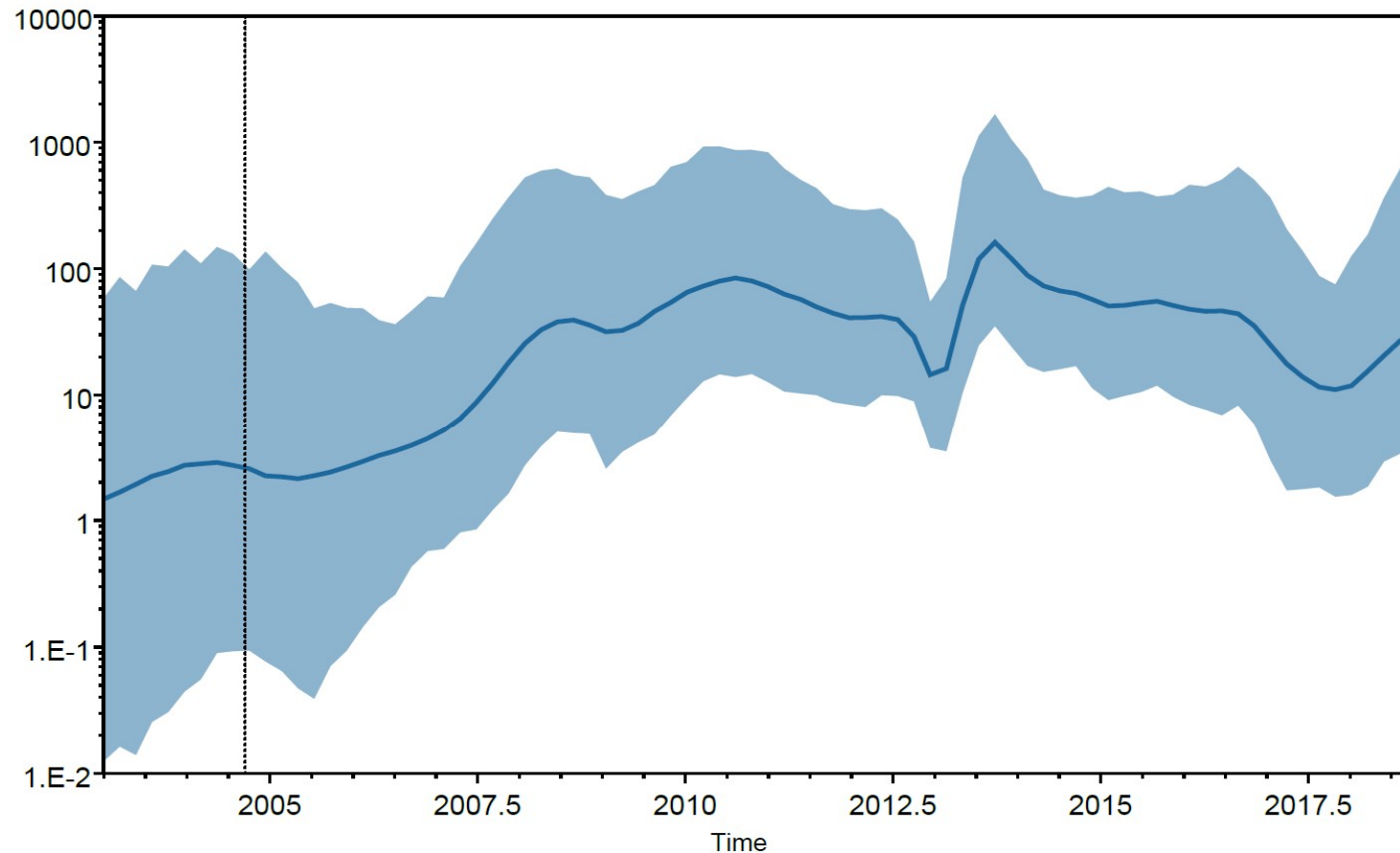
▶ Mar 10, 2020

○

○ Jun 3, 2022

CC BY

## **Δραστικό πληθυσμιακό μέγεθος του ιού στην Ευρώπη** (σχετίζεται με τον ρυθμό μετάδοσης του ιού σε κάθε χρονική στιγμή)



### **Δραστικό μέγεθος του πληθυσμού (Ne)**

Ο αριθμός των ενεργά αναπαραγόμενων ατόμων σε ένα ιδεατό πληθυσμό που εμφανίζουν την ίδια δυνατότητα διασποράς των αλληλομόρφων κάτω από τυχαία γενετική παρέκκλιση

# Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees

## Contents

Getting Started	▼
Software Packages	▼
Tutorials	▼
How-To Guides	▼
Advanced Tutorials	▼
Workshop Tutorials	▼
Reference	▼
Help	▼



# BEAST

Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees

## What is BEAST?

BEAST is a cross-platform program for Bayesian analysis of molecular sequences using MCMC. It is entirely orientated towards rooted, time-measured phylogenies inferred using strict or relaxed molecular clock models. It can be used as a method of reconstructing phylogenies but is also a framework for testing evolutionary hypotheses without conditioning on a single tree topology. BEAST uses MCMC to average over tree space, so that each tree is weighted proportional to its posterior probability. We include a simple to use user-interface program for setting up standard analyses and a suit of programs for analysing the results.

This website is for BEAST v1.X (currently version [v1.10.4](#)). For details about BEAST2, an independent project led by the University of Auckland, [please look here](#).

## Παραλλαγή μεθόδων μέγιστης πιθανοφάνειας

### Programs distributed as part of the core BEAST package



**BEAUti** | Bayesian Evolutionary Analysis Utility. This program is used to import data, design the analysis, and generate the BEAST control file.



**BEAST** | Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees. This is the main program that takes a control file generated by BEAUti and performs the analysis.

## Tracer



Tracer is a graphical tool for visualization and diagnostics of MCMC output.

## FigTree



FigTree is a program for viewing trees, including summary information produced by TreeAnnotator, and producing publication quality figures.



**TreeAnnotator** | This is a post-analysis program that will produce a summary tree from the output of BEAST.



**LogCombiner** | This is a utility program that will combine log files from different runs and reduce the sampling frequency (thin them).

## SPREAD

SPREAD (Spatial Phylogenetic Reconstruction of Evolutionary Dynamics) is a user-friendly application to analyze and visualize phylogeographic reconstructions resulting from Bayesian inference of spatio-temporal diffusion.

**«ποια είναι η πιθανότητα το δέντρο  $T$  να είναι σωστό, δεδομένων των παρατηρήσεων μου και του μοντέλου;»**

- Η Μπεϋζιανή συμπερασματολογία είναι μία μεθοδολογική προσέγγιση η οποία συνθέτει τη θεωρητική ή εμπειρική αντίληψη μιας τυχαίας δοκιμασίας, με τα παρατηρηθέντα δεδομένα
- Είναι η διαδικασία κατά την οποία η εκ των προτέρων γνώση (a-priori) που έχουμε για μία παράμετρο βελτιώνεται, μέσω εκτίμησης της πιθανοφάνειας, στην εκ των υστέρων γνώση (posterior) που θα έχουμε για αυτή
- Η Μπεϋζιανή προσέγγιση θέτει εκ των προτέρων πληροφορία στις άγνωστες παραμέτρους, μέσω μιας εκ των προτέρων κατανομής, και μας παρέχει τις εκ των υστέρων κατανομές των παραμέτρων

- Ελέγχουμε για ένα νόσημα (ΝΟΣ)
- Πριν διενεργηθεί τεστ ο επιπολασμός του ΝΟΣ στην κοινότητα πιθανά είναι 1% (**εκ των προτέρων πιθανότητα**) με βάση την επιστημονική γνώση και παλαιές μελέτες
- Έχουμε ένα διαγνωστικό τεστ με διαγνωστική ευαισθησία 90% & διαγνωστική ειδικότητα 90%

**Ένα άτομο ελέγχεται ως θετικό από το τεστ. Ποια είναι η πιθανότητα να νοσεί από ΝΟΣ;**

**Η εκ των προτέρων πιθανότητα είναι 1%**

Ας το δούμε με 1000 άτομα: Τα 10 νοσούν και 9 από αυτά θα εντοπισθούν με το τεστ. Τα υπόλοιπα 990 δεν νοσούν αλλά 99 από αυτά θα έχουν θετικό αποτέλεσμα στο τεστ.

Ελέγχοντας 1000 άτομα έχουμε 108 θετικά αποτελέσματα αλλά γνωρίζουμε ότι μόνο 9 από αυτά είναι σωστά. Η πιθανότητα να έχεις ΝΟΣ εάν βρεθείς θετικός στο τεστ είναι  $9/108=8\%$  (**εκ των υστέρων πιθανότητα**, εκτιμάται αφού γίνει το τεστ).

Αν το τεστ επαναληφθεί θετικό τότε η εκ των υστέρων πιθανότητά αναθεωρείται.

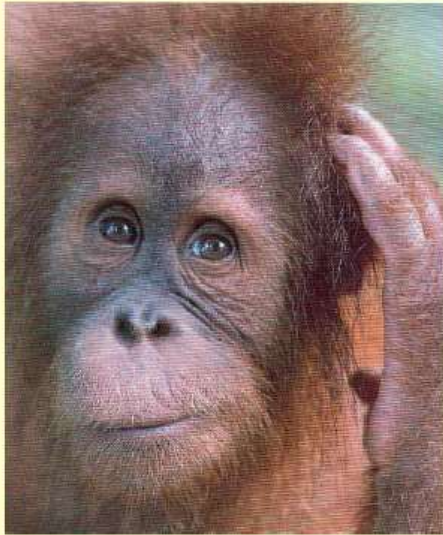
Εάν γίνουν πολλές επαναλήψεις τεστ το τελικό αποτέλεσμα επηρεάζεται ελάχιστα από την πολύ μικρή αρχική εκ των προτέρων πιθανότητα 1%. Εάν στο τεστ ενσωματώσουμε και άλλους παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση του πχ ηλικία, ιστορικό κλπ, έχουμε πλέον ένα μοντέλο.

Η πιθανότητα των αποτελεσμάτων του ελέγχου με βάση το μοντέλο είναι η πιθανοφάνεια

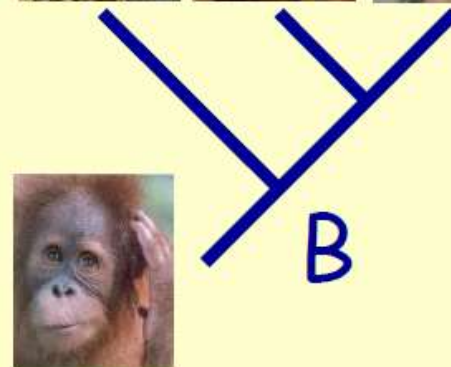
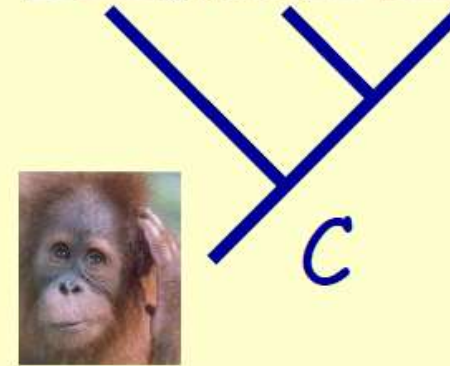
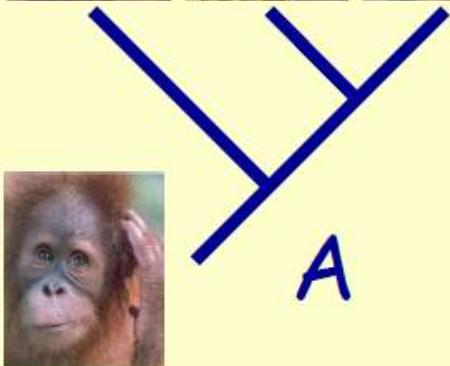
Infer relationships among three species:



Outgroup:



# Three possible trees (topologies):





## Δεδομένα

- Αλληλουχίες
- Χρόνος δειγματοληψίας
- Περιοχή δειγματοληψίας

## *D* The data

Taxon Characters



ACG TTA TTA AAT TGT CCT CTT TTC AGA



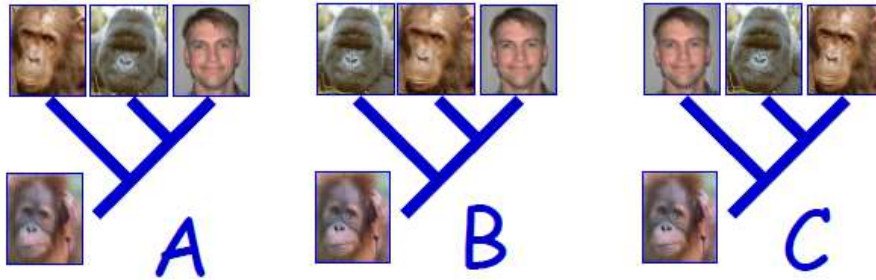
ACG TGT TTC GAT CGT CCT CTT TTC AGA



ACG TGT TTA GAC CGA CCT CGG TTA AGG

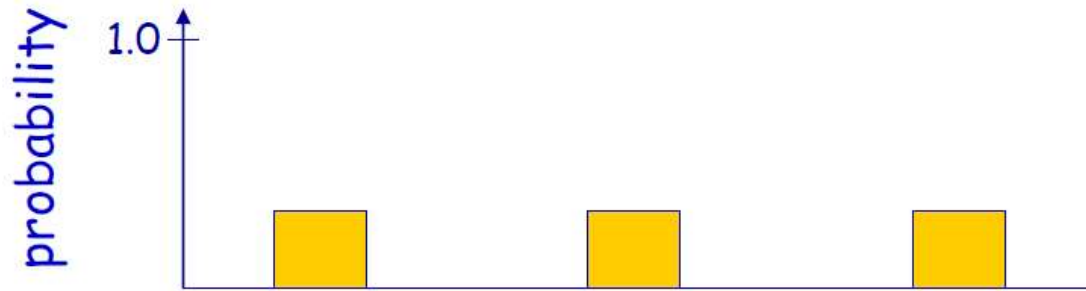


ACA GGA TTA GAT CGT CCG CTT TTC AGA



## Model

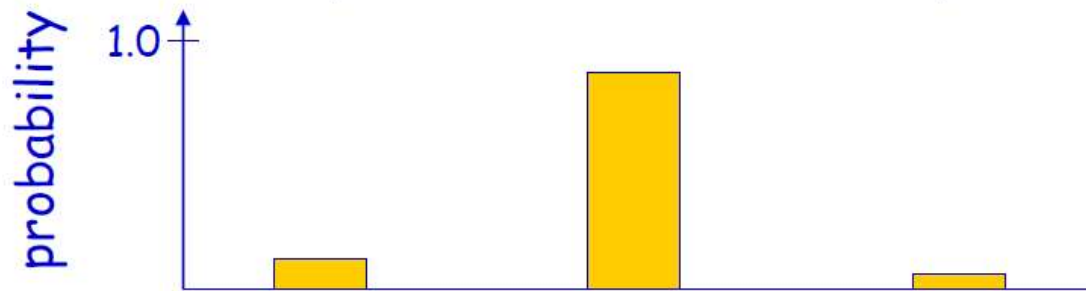
Ρυθμοί αντικατάστασης  
βάσεων, Μοριακό ρολόι



## Prior distribution

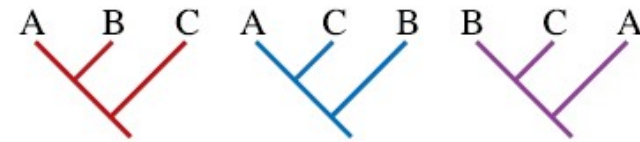
εκ των προτέρων κατανομή

↓ Data (observations) ↓

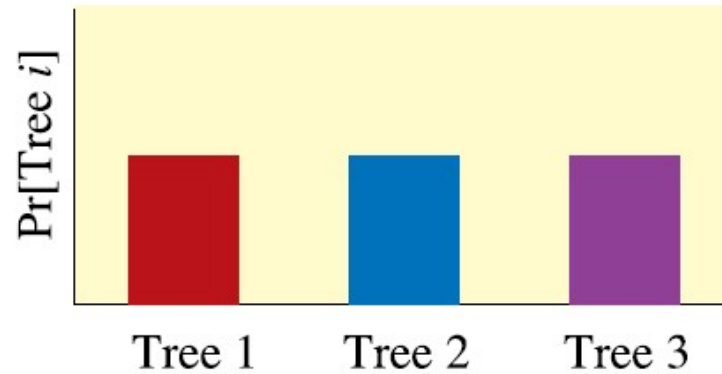


## Posterior distribution

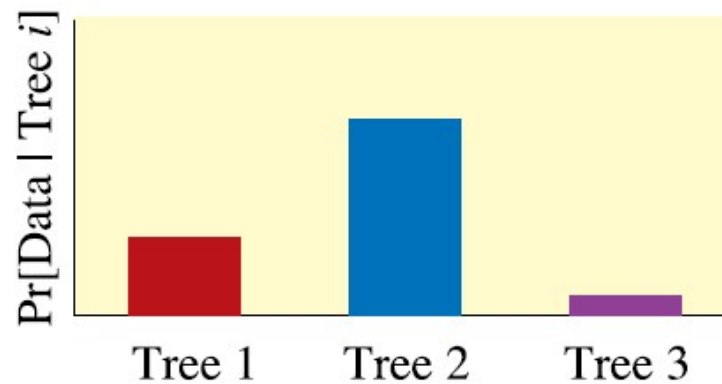
εκ των υστέρων κατανομή



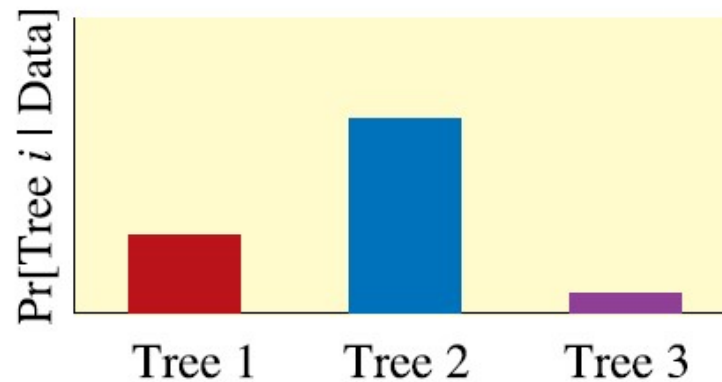
The **prior probability** of a tree represents the probability of the tree before the observations have been made. Typically, all trees are considered equally probable, a priori. However, other information can be used to give some trees more prior probability (e.g., the taxonomy of the group).



The **likelihood** is proportional to the probability of the observations (often an alignment of DNA sequences) conditional on the tree. This probability requires making specific assumptions about the processes generating the observations.

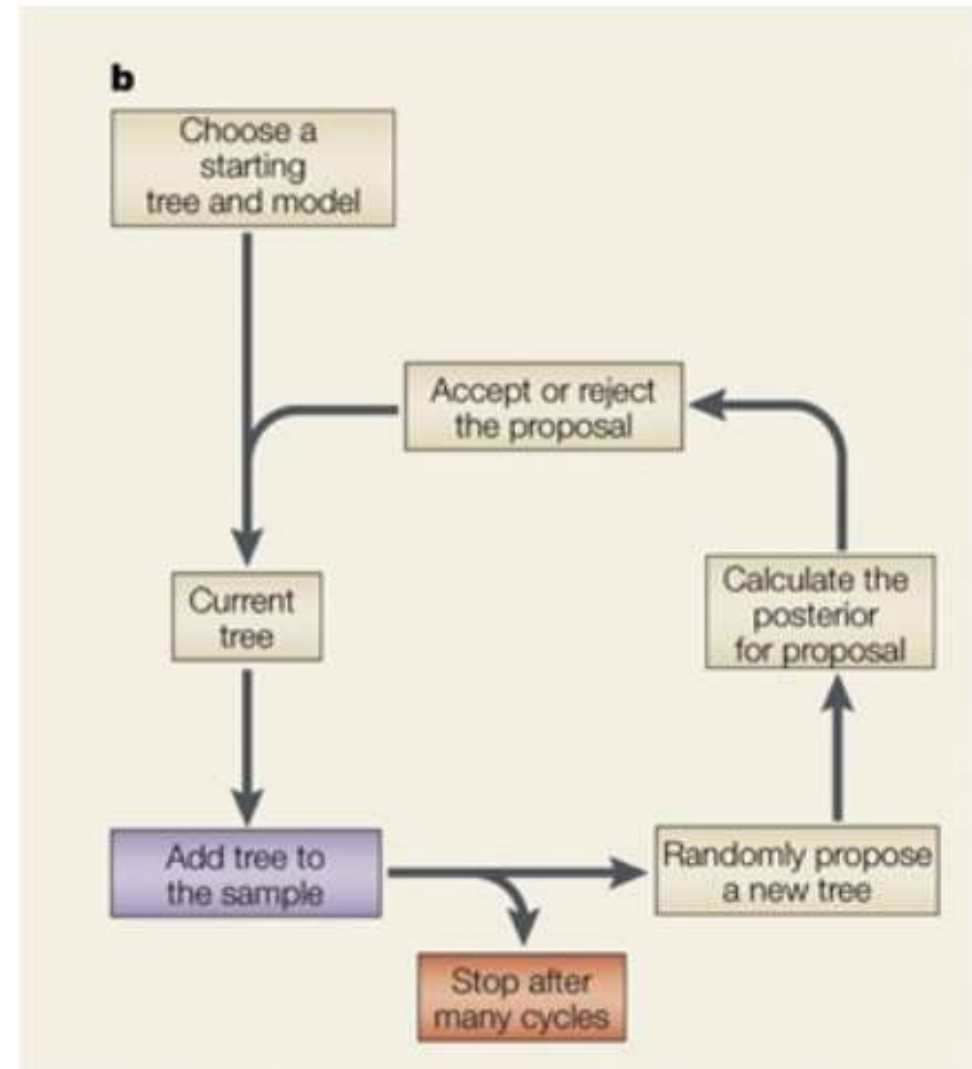


The **posterior probability** of a tree is the probability of the tree conditional on the observations. It is obtained by combining the prior and likelihood for each tree using Bayes' formula.



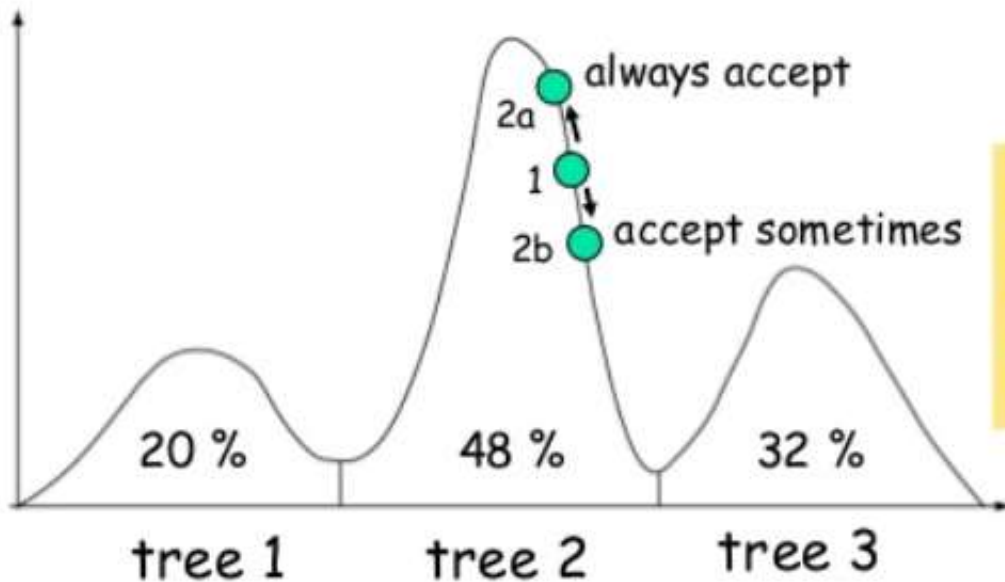
# Markov chain Monte Carlo

- The Markov chain Monte Carlo (MCMC) methodology is similar to the tree-searching algorithm.
- From an initial tree, a new tree is proposed. The moves that change and the tree must involve a random choice.
- The MCMC algorithm also specifies the rules for when to accept or reject a tree.



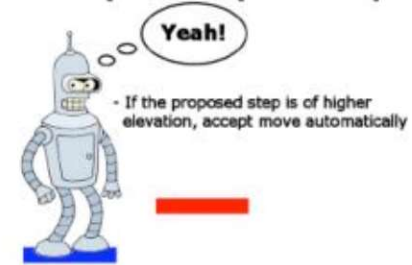
# Markov chain Monte Carlo

- Start at an arbitrary point
- Make a small random move
- Calculate height ratio ( $r$ ) of new state to old state:
  - $r > 1 \rightarrow$  new state accepted
  - $r < 1 \rightarrow$  new state accepted with probability  $r$ . If new state not accepted, stay in the old state
- Go to step 2

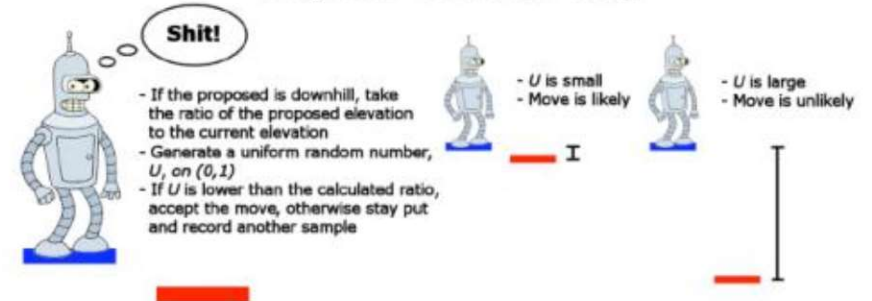


The proportion of time the MCMC procedure samples from a particular parameter region is an estimate of that region's posterior probability density

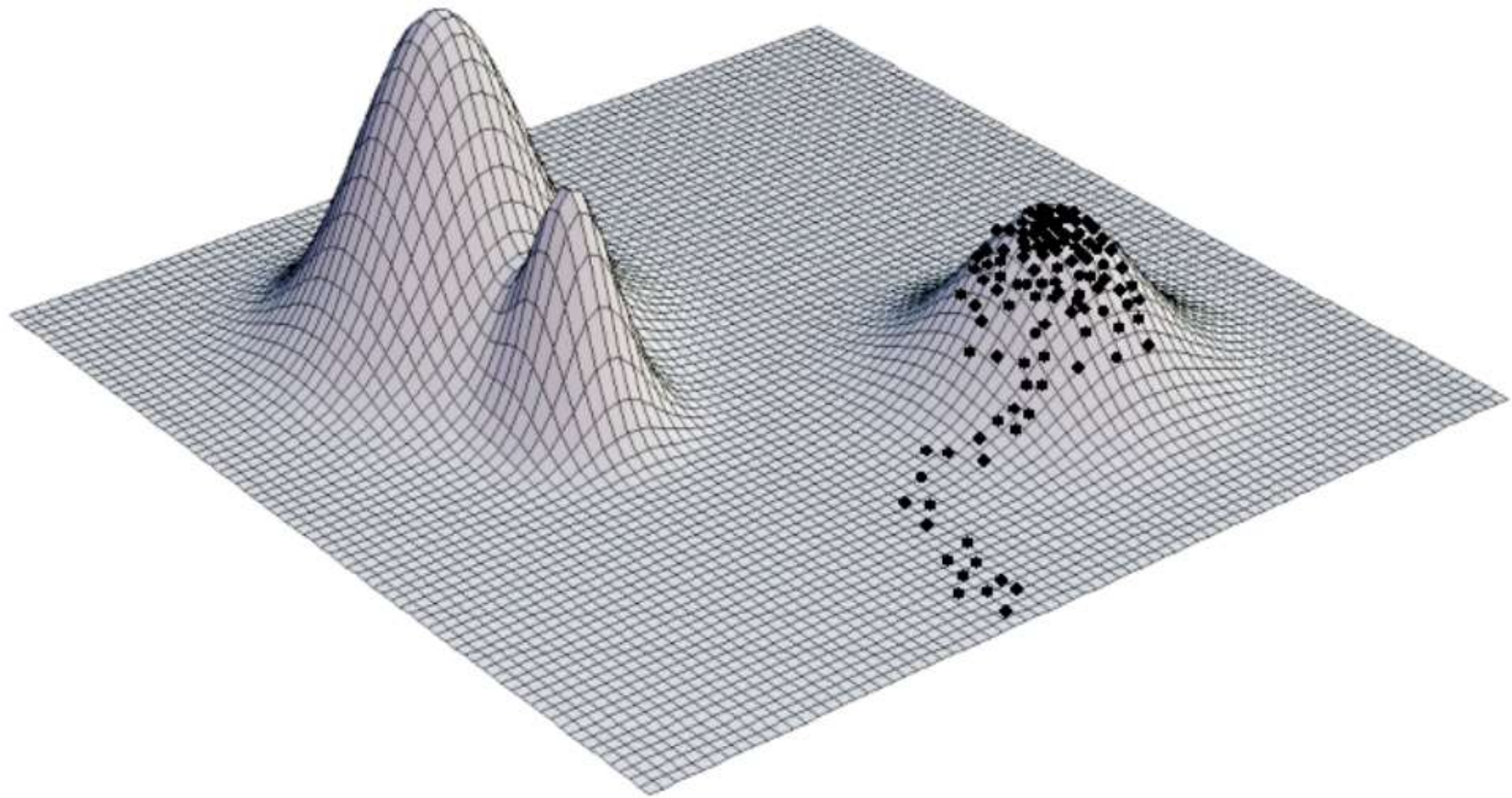
## Proposed "Uphill" Step



## Proposed "Downhill" Step



# Markov chain Monte Carlo



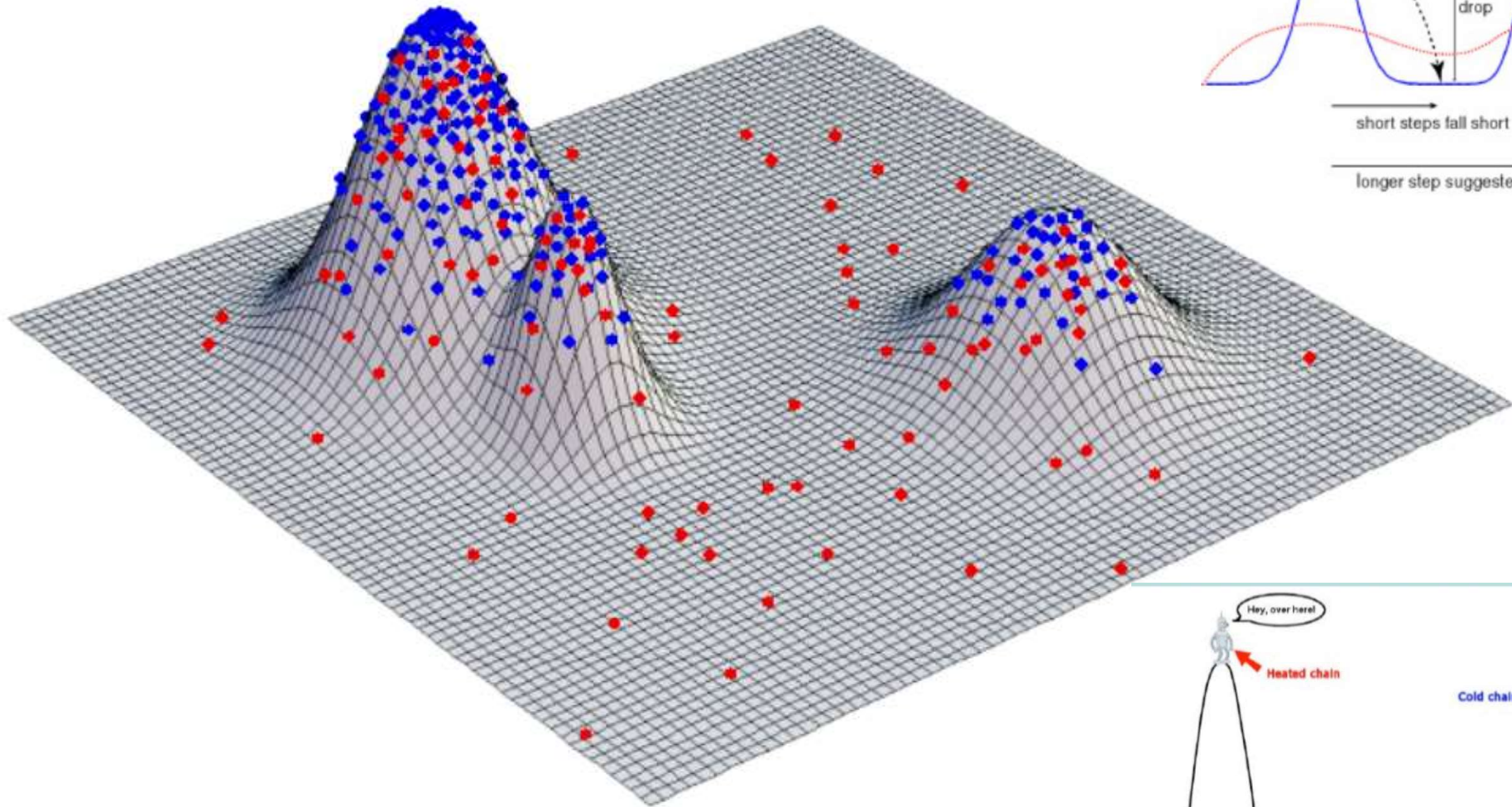
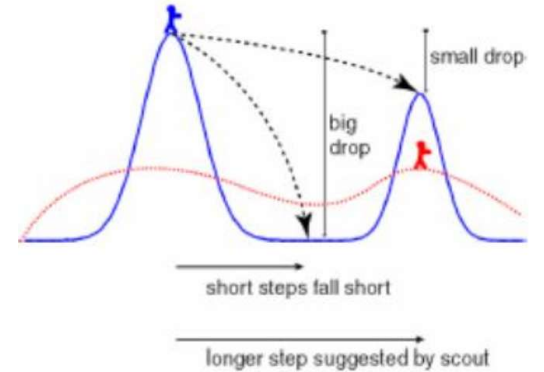
**Sampling the universe of possible trees:  
Markov-chain Monte Carlo methods**



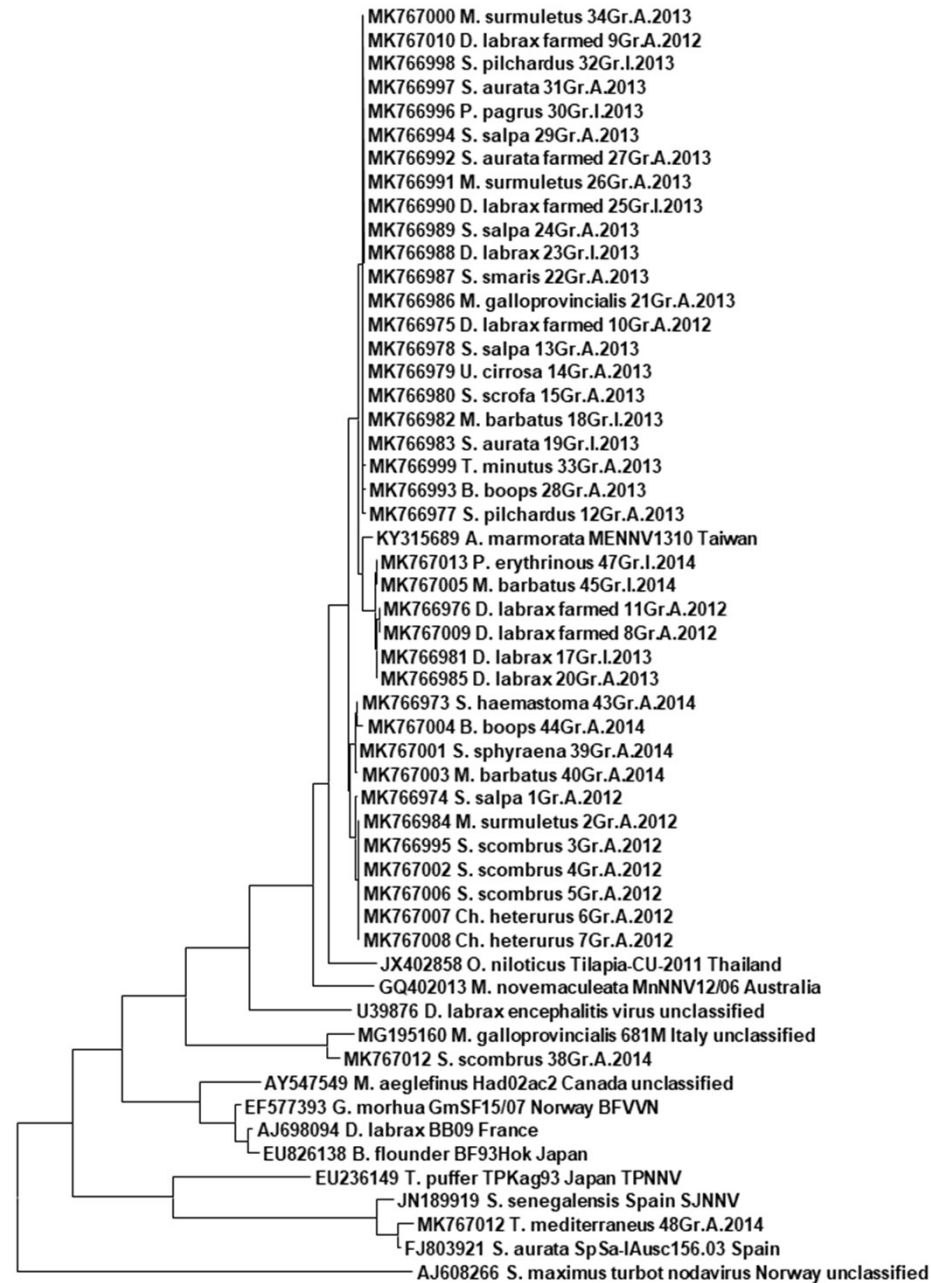
- **At each step in the chain a new tree is proposed by altering the topology, or by changing branch lengths or the parameters of the model of sequence evolution.**
- **The Metropolis-Hastings algorithm is then used to accept or reject the new tree.**

# Markov chain Monte Carlo

Heated chains act as scouts







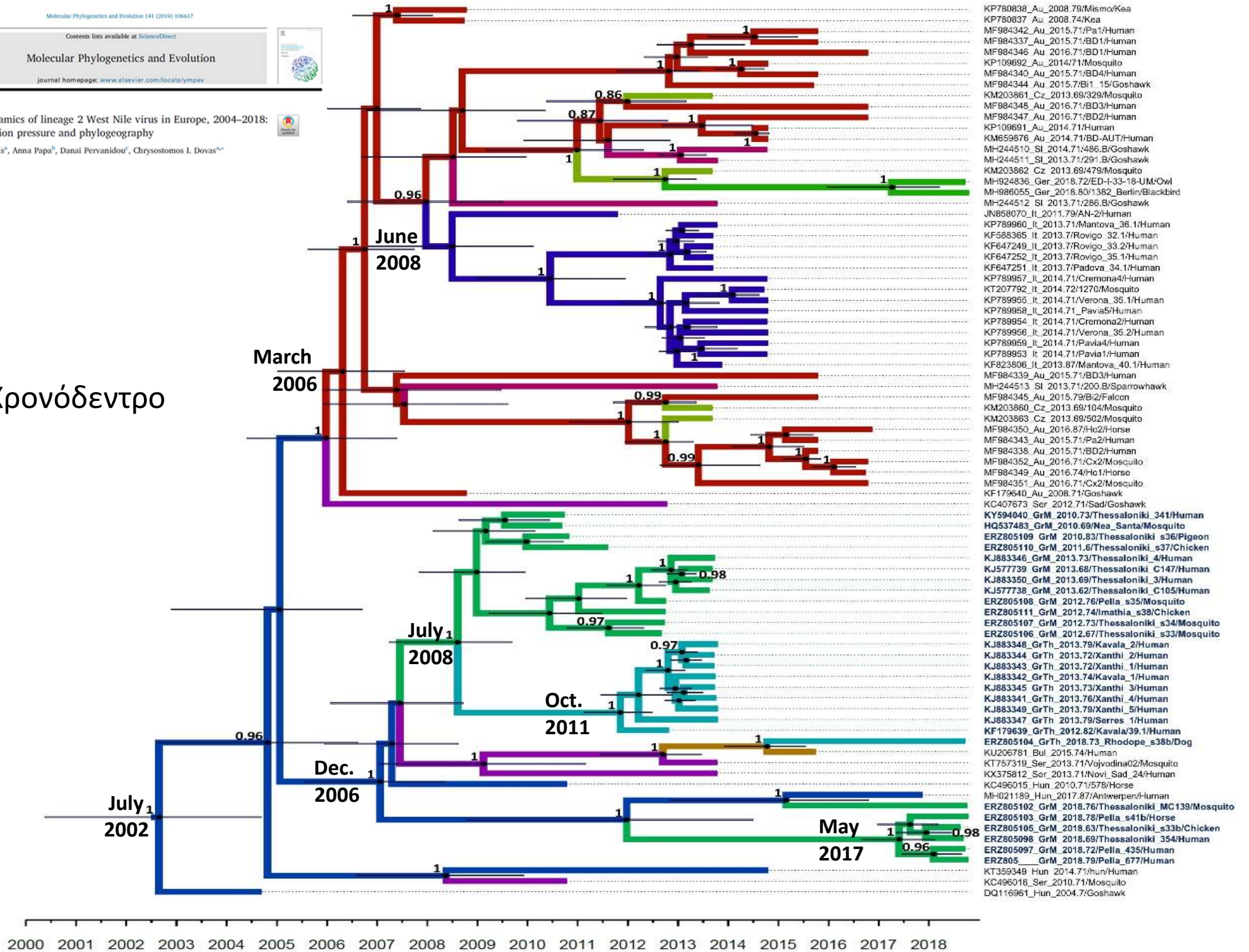
0.10



Evolutionary dynamics of lineage 2 West Nile virus in Europe, 2004–2018: Phylogeny, selection pressure and phylogeography

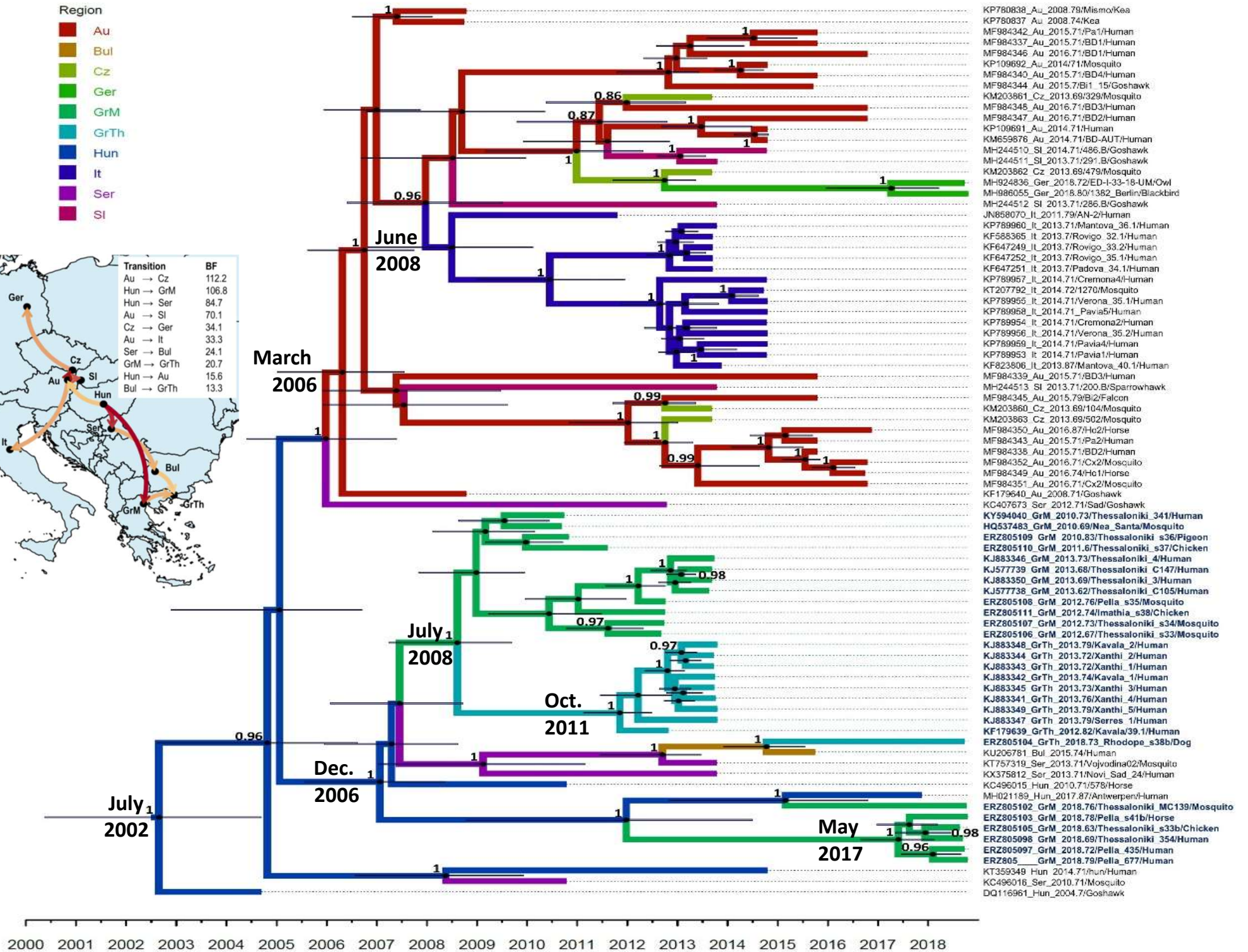
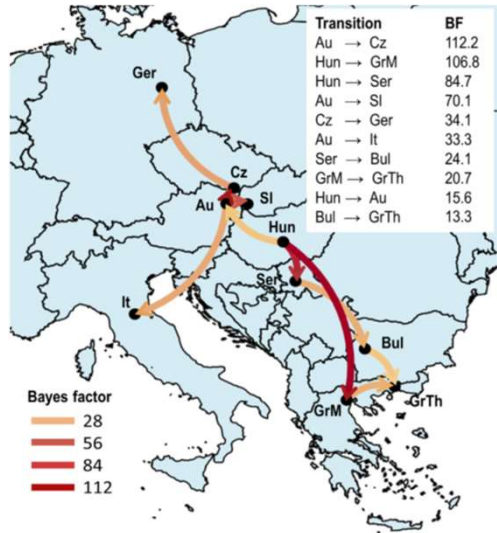
Serafeim C. Chaintoutis<sup>a</sup>, Anna Papa<sup>b</sup>, Danaï Pervanidou<sup>c</sup>, Chrysostomos I. Dovas<sup>a\*</sup>

Χρονόδεντρο

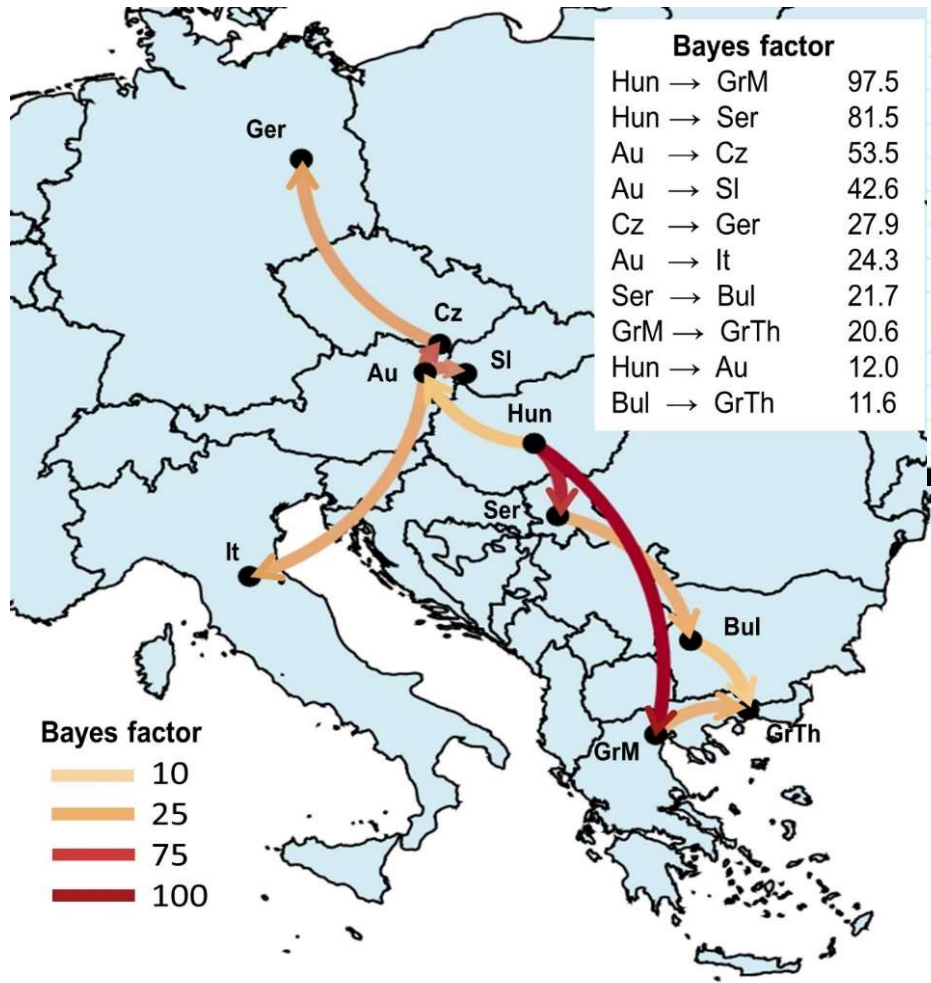


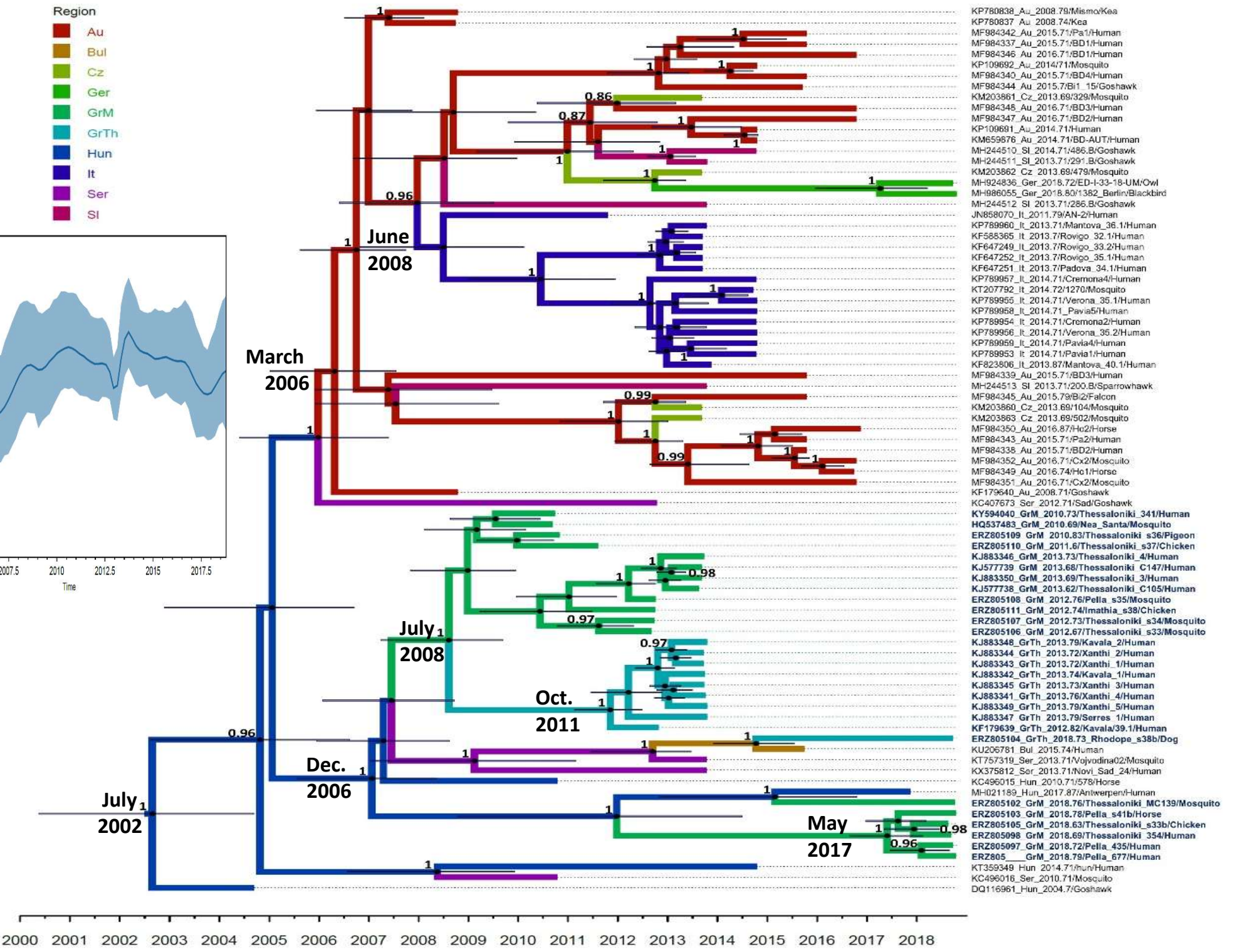
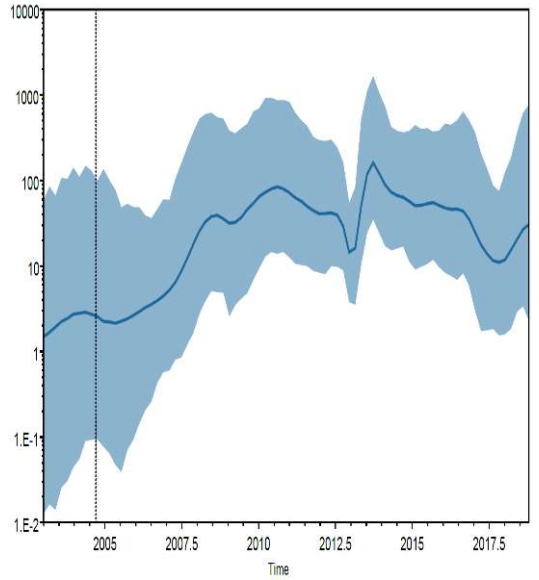
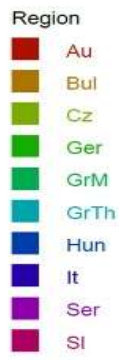
Region

- Au
- Bul
- Cz
- Ger
- GrM
- GrTh
- Hun
- It
- Ser
- SI



# Απεικόνιση των στατιστικά υποστηριζόμενων διαδρομών διασποράς του ιού





- KP780838\_Au\_2008.79/Misno/Kea
- KP780837\_Au\_2008.74/Kea
- MF984342\_Au\_2015.71/Pa1/Human
- MF984337\_Au\_2015.71/BD1/Human
- MF984346\_Au\_2016.71/BD1/Human
- KP109692\_Au\_2014.71/Mosquito
- MF984340\_Au\_2015.71/BD4/Human
- MF984344\_Au\_2015.7/BI1\_15/Goshawk
- KM203861\_Cz\_2013.69/329/Mosquito
- MF984348\_Au\_2016.71/BD3/Human
- MF984347\_Au\_2016.71/BD2/Human
- KP109691\_Au\_2014.71/Human
- KM659876\_Au\_2014.71/BD-AUT/Human
- MH244510\_SI\_2014.71/486.B/Goshawk
- MH244511\_SI\_2013.71/291.B/Goshawk
- KM203862\_Cz\_2013.69/479/Mosquito
- MH924836\_Ger\_2018.72/ED-I-33-18-UM/Owl
- MH986055\_Ger\_2018.80/1382\_Berlin/Blackbird
- MH244512\_SI\_2013.71/286.B/Goshawk
- JN858070\_IL\_2011.79/AN-2/Human
- KP789960\_IL\_2013.71/Mantova\_36.1/Human
- KF588365\_It\_2013.7/Rowigo\_32.1/Human
- KF647249\_IL\_2013.7/Rowigo\_33.2/Human
- KF647252\_IL\_2013.7/Rowigo\_35.1/Human
- KF647251\_It\_2013.7/Padova\_34.1/Human
- KP789957\_IL\_2014.71/Cremona4/Human
- KT207792\_IL\_2014.72/1270/Mosquito
- KP789955\_IL\_2014.71/Verona\_35.1/Human
- KP789958\_IL\_2014.71\_Pavia5/Human
- KP789954\_It\_2014.71/Cremona2/Human
- KP789956\_IL\_2014.71/Verona\_35.2/Human
- KP789959\_IL\_2014.71/Pavia4/Human
- KP789953\_It\_2014.71/Pavia1/Human
- KF823806\_IL\_2013.87/Mantova\_40.1/Human
- MF984339\_Au\_2015.71/BD3/Human
- MH244513\_SI\_2013.71/200.B/Sparrowhawk
- MF984345\_Au\_2015.79/B2/Falcon
- KM203860\_Cz\_2013.69/104/Mosquito
- KM203863\_Cz\_2013.69/502/Mosquito
- MF984350\_Au\_2016.87/Hc2/Horse
- MF984343\_Au\_2015.71/Pa2/Human
- MF984338\_Au\_2015.71/BD2/Human
- MF984352\_Au\_2016.71/Cx2/Mosquito
- MF984349\_Au\_2016.74/Hc1/Horse
- MF984351\_Au\_2016.71/Cx2/Mosquito
- KF179640\_Au\_2008.71/Goshawk
- KC407673\_Ser\_2012.71/Sad/Goshawk
- KY594040\_GrM\_2010.73/Thessaloniki\_341/Human
- HQ537483\_GrM\_2010.69/Nea\_Santa/Mosquito
- ERZ805109\_GrM\_2010.83/Thessaloniki\_s36/Pigeon
- ERZ805110\_GrM\_2011.6/Thessaloniki\_s37/Chicken
- KJ883346\_GrM\_2013.73/Thessaloniki\_4/Human
- KJ577739\_GrM\_2013.68/Thessaloniki\_C147/Human
- KJ883350\_GrM\_2013.69/Thessaloniki\_3/Human
- KJ577738\_GrM\_2013.62/Thessaloniki\_C105/Human
- ERZ805108\_GrM\_2012.76/Pella\_s35/Mosquito
- ERZ805111\_GrM\_2012.74/Imathia\_s38/Chicken
- ERZ805107\_GrM\_2012.73/Thessaloniki\_s34/Mosquito
- ERZ805106\_GrM\_2012.67/Thessaloniki\_s33/Mosquito
- KJ883348\_GrTh\_2013.79/Kavala\_2/Human
- KJ883344\_GrTh\_2013.72/Xanthi\_2/Human
- KJ883343\_GrTh\_2013.72/Xanthi\_1/Human
- KJ883342\_GrTh\_2013.74/Kavala\_1/Human
- KJ883345\_GrTh\_2013.73/Xanthi\_3/Human
- KJ883341\_GrTh\_2013.76/Xanthi\_4/Human
- KJ883349\_GrTh\_2013.79/Xanthi\_5/Human
- KJ883347\_GrTh\_2013.79/Sorres\_1/Human
- KF179639\_GrTh\_2012.82/Kavala/39.1/Human
- ERZ805104\_GrTh\_2018.73\_Rhodope\_s38b/Dog
- KU206781\_Bul\_2015.74/Human
- KT757319\_Ser\_2013.71/Vojvodina02/Mosquito
- KX375812\_Ser\_2013.71/Novi\_Sad\_24/Human
- KC496015\_Hun\_2010.71/578/Horse
- MH021189\_Hun\_2017.87/Antwerpen/Human
- ERZ805102\_GrM\_2018.76/Thessaloniki\_MC139/Mosquito
- ERZ805103\_GrM\_2018.78/Pella\_s41b/Horse
- ERZ805105\_GrM\_2018.63/Thessaloniki\_s33b/Chicken
- ERZ805098\_GrM\_2018.69/Thessaloniki\_354/Human
- ERZ805097\_GrM\_2018.72/Pella\_435/Human
- ERZ805\_GrM\_2018.79/Pella\_677/Human
- KT359349\_Hun\_2014.71/Hun/Human
- KC496016\_Ser\_2010.71/Mosquito
- DQ116961\_Hun\_2004.7/Goshawk

Η ανάλυση Μπεϋζιανής συμπερασματολογίας έγινε με το λογισμικό BEAST (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees) v.1.10.4., με εφαρμογή των αλγόριθμων προσομοίωσης Monte Carlo με χρήση Μαρκοβιανών αλυσίδων (Markov chain Monte Carlo, MCMC).

Ο αλγόριθμος MCMC εφαρμόστηκε για  $2 \times 10^8$  γενεές, με δειγματοληψία δέντρων ανά  $2 \times 10^4$  γενεές.

Τα δεδομένα των δέντρων που λήφθηκαν δειγματοληπτικά κατά τη διάρκεια της ανάλυσης, στη συνέχεια αναλύθηκαν με το λογισμικό TreeAnnotator (v.1.10.1). Δεν λήφθηκε υπόψη 10% των δέντρων που εκτιμήθηκαν στην αρχή της ανάλυσης.

Από τα υπόλοιπα δέντρα επιλέχθηκε εκείνο με το μέγιστο άθροισμα των εκ των υστέρων συχνοτήτων (posterior frequencies) των κλάδων, το λεγόμενο MCC (Maximum clade credibility) δέντρο.

Στη συνέχεια, το συναγόμενο MCC δέντρο οπτικοποιήθηκε με το λογισμικό FigTree (v.1.4.4).

Τέλος, η προσομοίωση της γεωγραφικής διασποράς του ιού, που εκτιμήθηκε μέσω της MCMC ανάλυσης, προβλήθηκε σε χάρτη. Για τον σκοπό αυτό εφαρμόστηκε το λογισμικό SpreaD3 (Spatial Phylogenetics Reconstruction of Evolutionary Dynamics using Data-Driven Documents).

## Συμπεράσματα

### Εξέλιξη και γενετική ποικιλότητα του εξ. κλάδου 2 WNV

- ✓ Νέα στελέχη μέσω μετανάστευσης
- ✓ Φυσική επιλογή (natural selection) κυρίως σταθεροποιούσα και σε πολύ περιορισμένο βαθμό θετική
- ✓ Εξέλιξη κυρίως λόγω της τυχαίας γενετικής παρέκκλισης (genetic drift) νουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις με μικρή ή καθόλου επίδραση στην αρμοστικότητα
- ✓ Πληθυσμιακοί στενωποί (bottlenecks) δραστική μείωση του ιικού πληθυσμού και απώλεια γενότυπων λόγω του μικρού αριθμού μολυσμένων κουνουπιών που επιβιώνουν τον χειμώνα

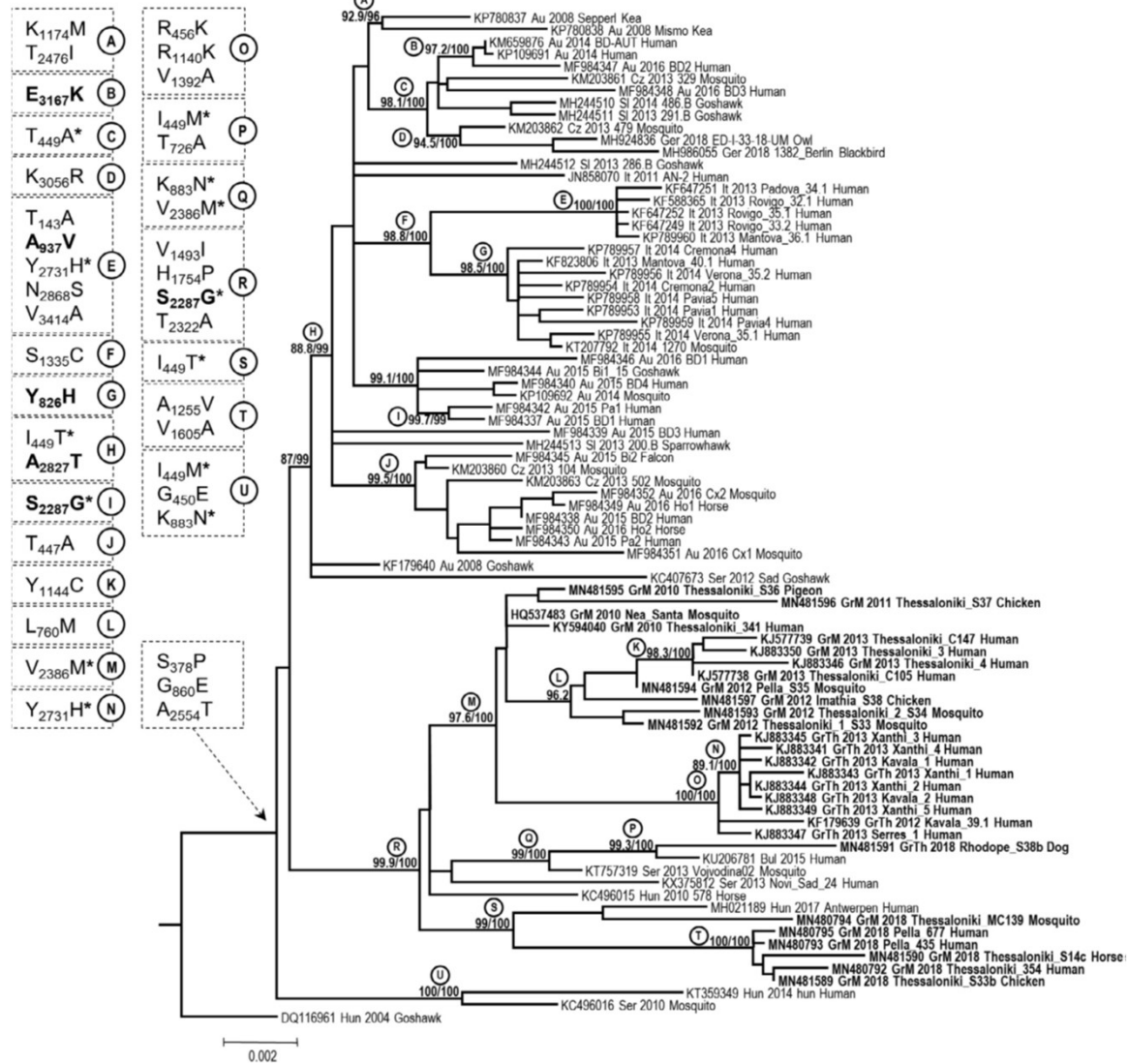
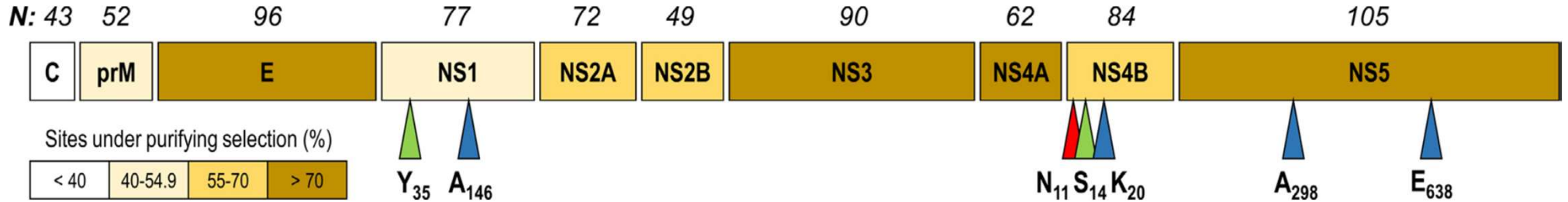
- Ο ιός συνεχίζει να εξελίσσεται με μικρό ρυθμό
- Ανάγκη μελέτης εγκαθιδρυμένων υποκαταστάσεων (αρμοστικότητα και λοιμογόνο δύναμη του ιού σε πτηνά και θηλαστικά)

## Συμπεράσματα

- Ο WNV ενδημεί και συνεχίζεται η προσαρμογή του στην Ευρώπη και την Ελλάδα
- Η Ουγγαρία είναι εστία παραγωγής και διασποράς νέων στελεχών για την Ελλάδα και άλλες Ευρωπαϊκές χώρες (μέσω ιατρικών μεταναστευτικών πτηνών)
- **Η εισβολή του ιού προηγείται 1-2 έτη της παρουσίας κρουσμάτων στον άνθρωπο**
- Η επιτήρηση να περιλαμβάνει προσδιορισμό της αλληλουχίας του πλήρους γονιδιώματος του ιού με στόχο την εξελικτική πληθυσμιακή και φυλογεωγραφική μελέτη των στελεχών
- Απαραίτητη η επικοινωνία και **άμεση συνεργασία** αρμόδιων φορέων (ΕΟΔΥ, ΥΠΑΑΤ) με τα πανεπιστήμια



# Ανάλυση θέσεων θετικής επιλογής στον WNV





## Ανάδυση του SARS-CoV-2

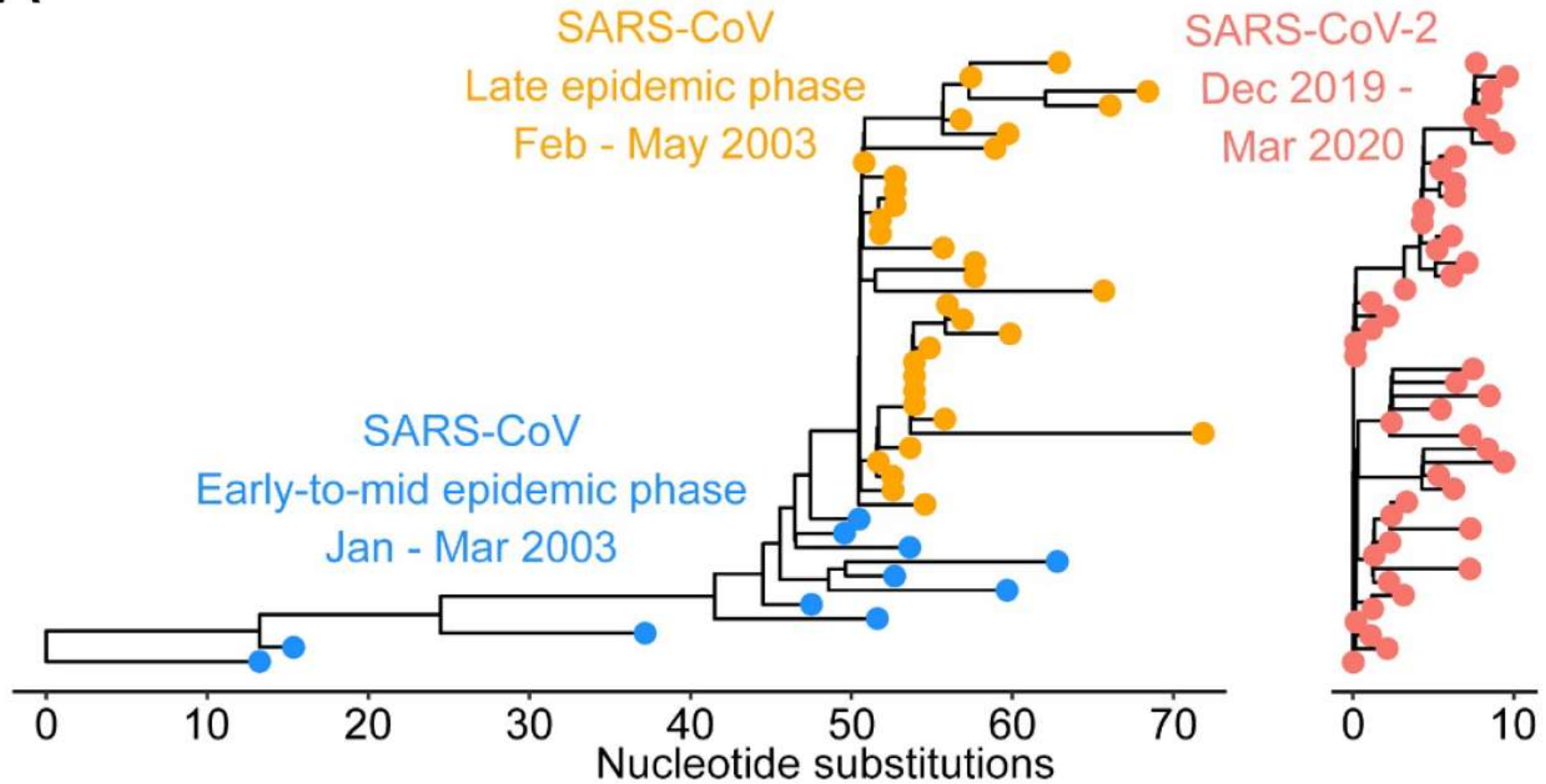


**SARS-CoV-2 is well adapted for humans.**

**What does this mean for re-emergence?**

Shing Hei Zhan<sup>1,2\*</sup>, Benjamin E. Deverman<sup>3</sup>, Yujia Alina Chan<sup>3\*</sup>

A



# Phylodynamic Analysis | 176 genomes | 6 Mar 2020

Novel 2019 coronavirus | nCoV-2019 Genomic Epidemiology



arambaut | ARTIC Network

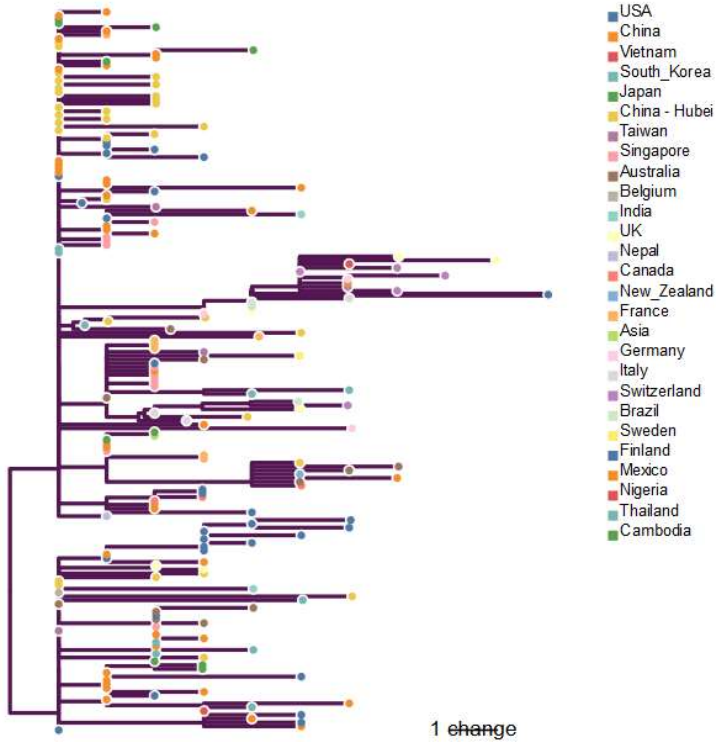
50 | Jan 29

Phylogenetic analysis of nCoV-2019 genomes

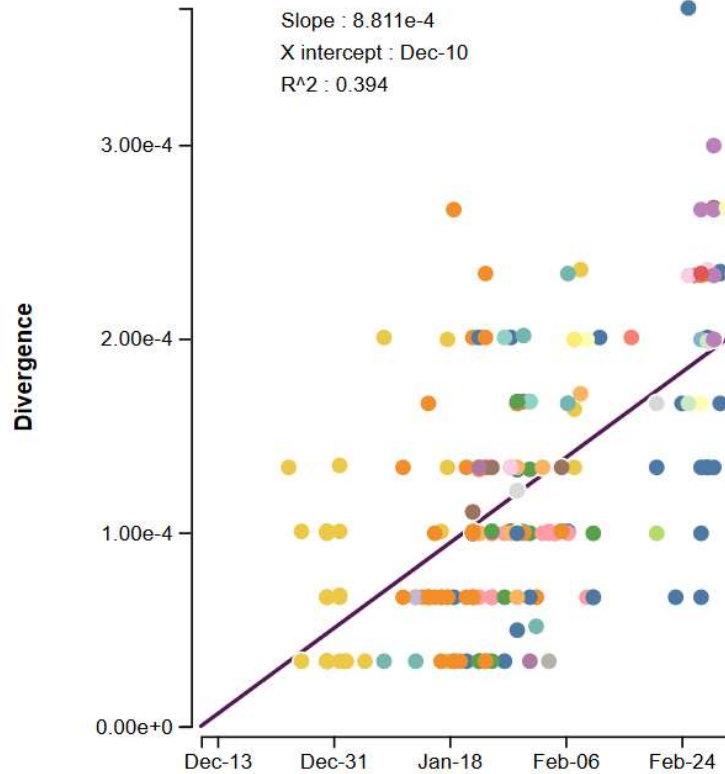
6-Mar-2020

Andrew Rambaut, University of Edinburgh, Edinburgh UK

[a.rambaut@ed.ac.uk](mailto:a.rambaut@ed.ac.uk)

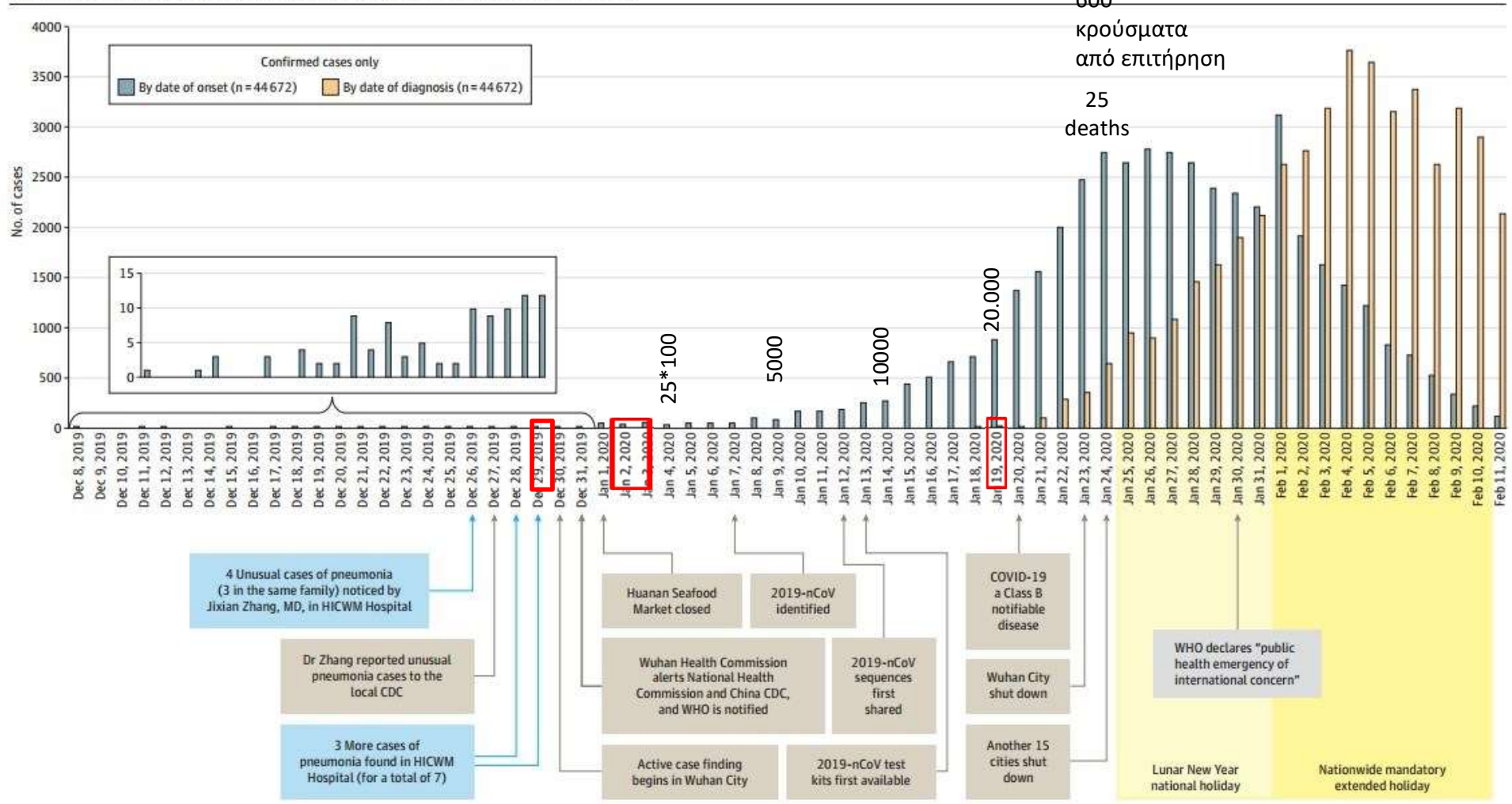


Data	growth rate (/year)	95% interval	doubling time (days)	95% interval
12-Feb, 75 genomes	41.03	20.56 – 62.17	6.2	4.1 – 12.3
24-Feb, 86 genomes	35.38	15.49 – 53.47	7.2	4.7 – 16.3



Data	Coalescent model	Estimated TMRCA	95% interval
12-Feb, 75 genomes	Exponential growth	29-Nov-2019	28-Oct-2019 – 20-Dec-2019
24-Feb, 86 genomes	Exponential growth	17-Nov-2019	27-Aug-2019 – 19-Dec-2019

Figure 1. Epidemic Curve of the Confirmed Cases of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)



Phylogenetic Analysis | 176 genomes | 6 Mar 2020

Novel 2019 coronavirus | nCoV-2019 Genomic Epidemiology

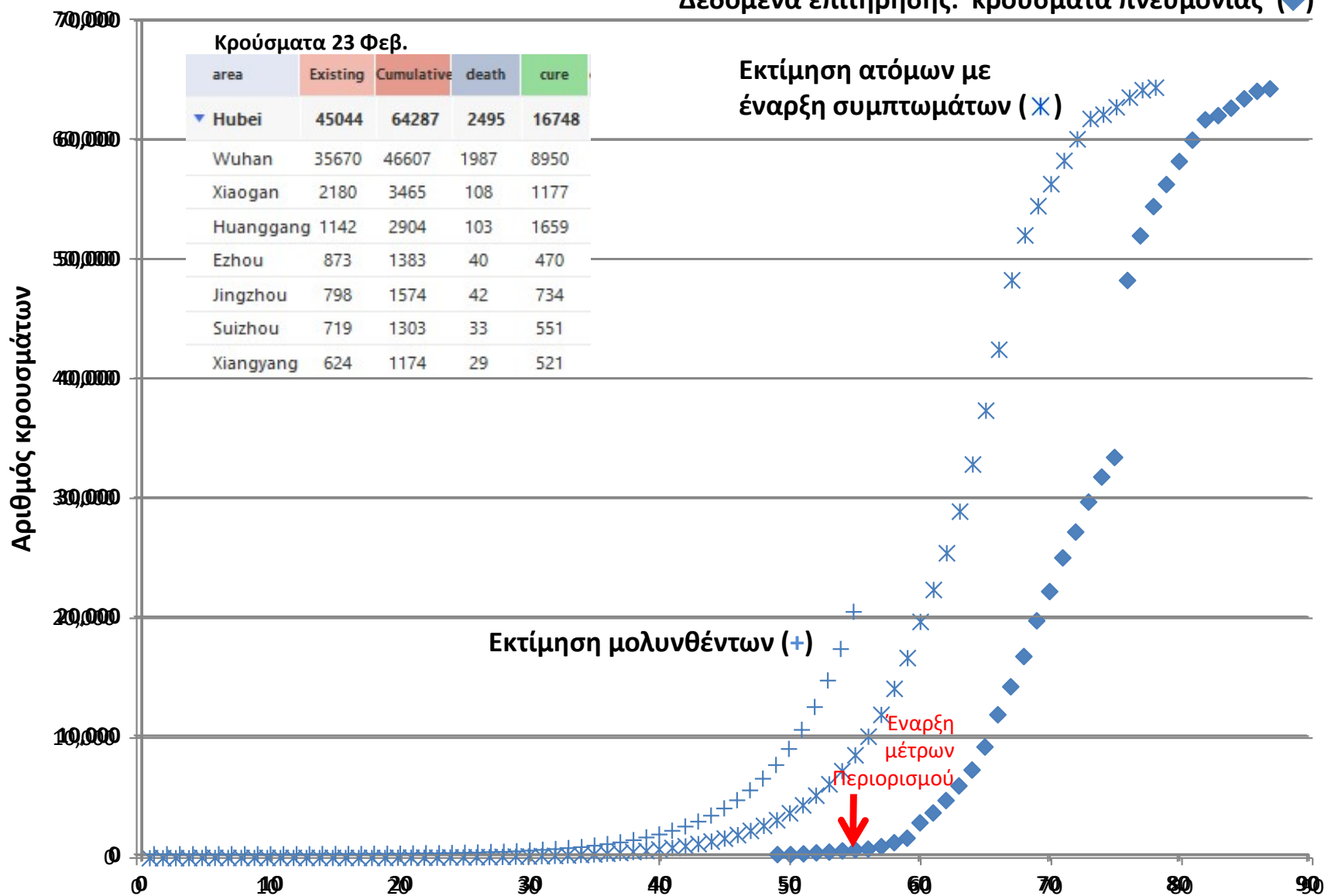
arambaut | ARTIC Network

Phylogenetic analysis of nCoV-2019 genomes

6-Mar-2020  
Andrew Rambaut, University of Edinburgh, Edinburgh UK  
a.rambaut@ed.ac.uk

Data	Coalescent model	Estimated TMRCA	95% interval
12-Feb, 75 genomes	Exponential growth	29-Nov-2019	28-Oct-2019 – 20-Dec-2019
24-Feb, 86 genomes	Exponential growth	17-Nov-2019	27-Aug-2019 – 19-Dec-2019

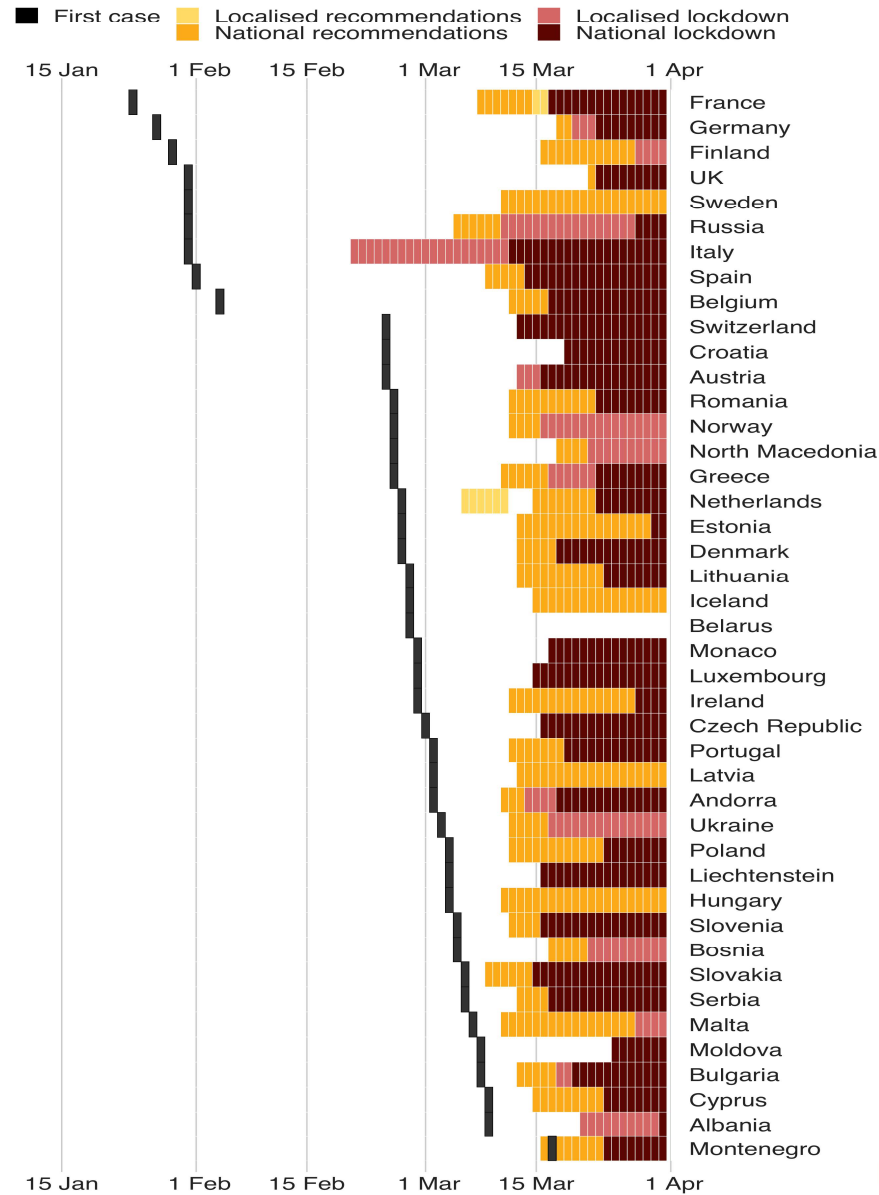
Δεδομένα επιτήρησης: κρούσματα πνευμονίας (◆)



Ημέρες από το 1<sup>ο</sup> εκτιμώμενο περιστατικό ανάδυσης και διασποράς του COVID-19 στον άνθρωπο

## European countries in lockdown

Dates and severity of restricted internal movement by country



Source: Oxford COVID-19 Government Response Tracker, BBC Research



## Ποσοστό πληθυσμού που μολύνθηκε

Imperial College  
London

COVID-19 model

Country % of total population infected  
(mean [95% credible interval])

Austria	0.76%	[0.59%-0.97%]
Belgium	8.73%	[6.73%-11.27%]
Denmark	1.06%	[0.82%-1.39%]
France	3.48%	[2.72%-4.46%]
Germany	0.89%	[0.69%-1.14%]
Greece	0.13%	[0.10%-0.18%]
Italy	4.65%	[3.75%-5.81%]
Netherlands	3.44%	[2.72%-4.36%]
Norway	0.46%	[0.35%-0.60%]
Portugal	1.11%	[0.88%-1.43%]
Spain	5.59%	[4.44%-7.07%]
Sweden	4.06%	[3.04%-5.46%]
Switzerland	1.93%	[1.52%-2.43%]
United Kingdom	5.38%	[4.22%-6.87%]

Posterior model estimates of percentage of total population infected over the course of the pandemic. Estimates as of 2020-05-07.

# Genomic epidemiology of novel coronavirus - Global subsampling

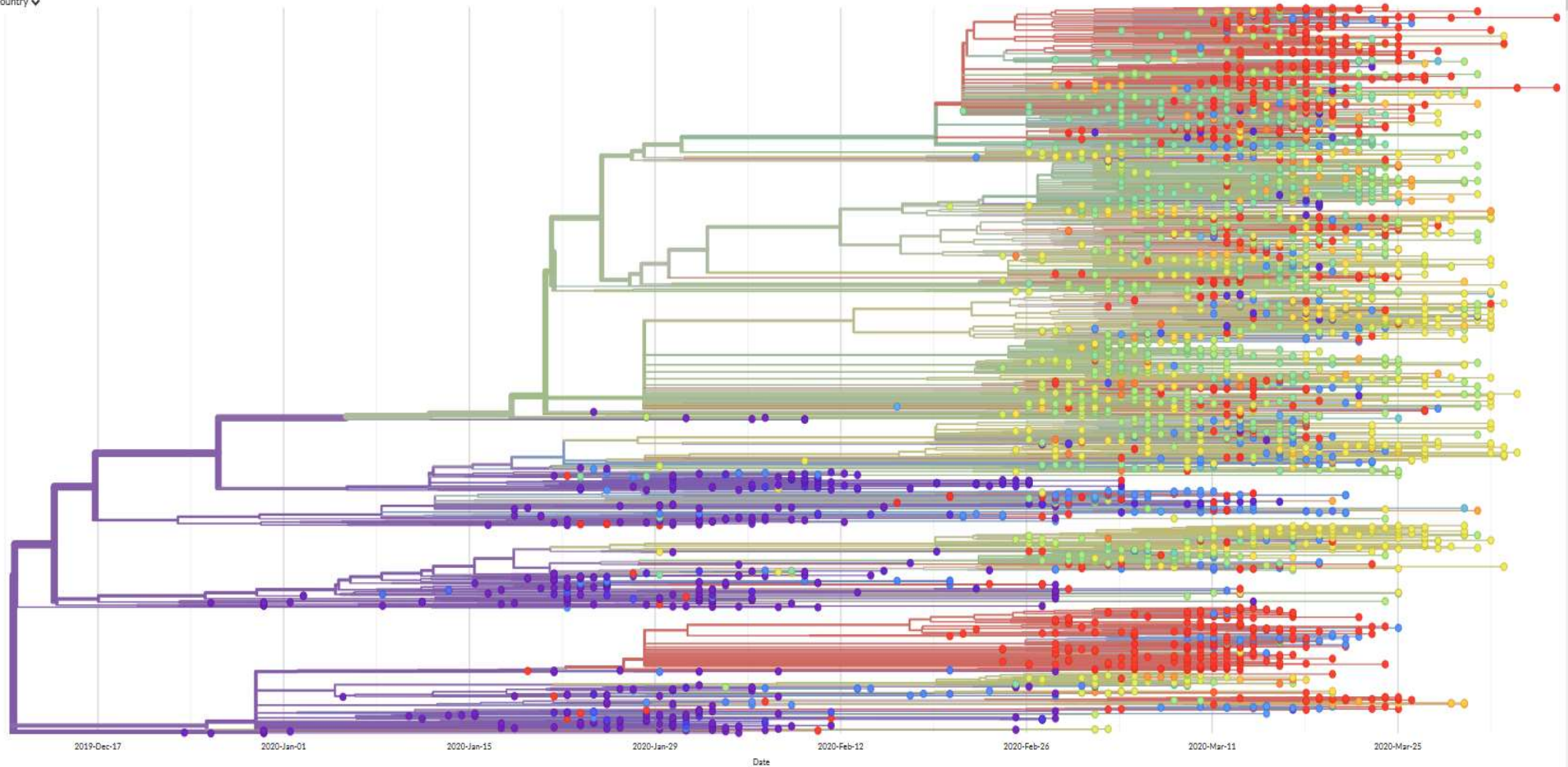
Maintained by the Nextstrain team. Enabled by data from **GISAI**

Showing 3251 of 3251 genomes sampled between Dec 2019 and Apr 2020.

Phylogeny

Country ▼

RESET LAYOUT



Inferred day 11 / 12 / 19



Country ^



### Transmissions

RESET ZOOM

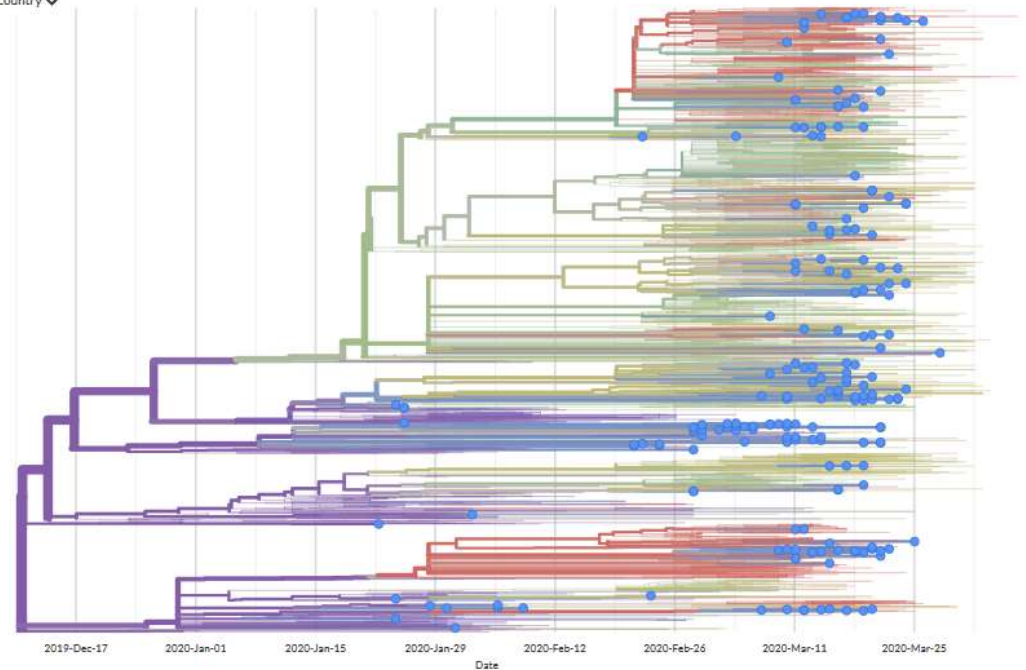


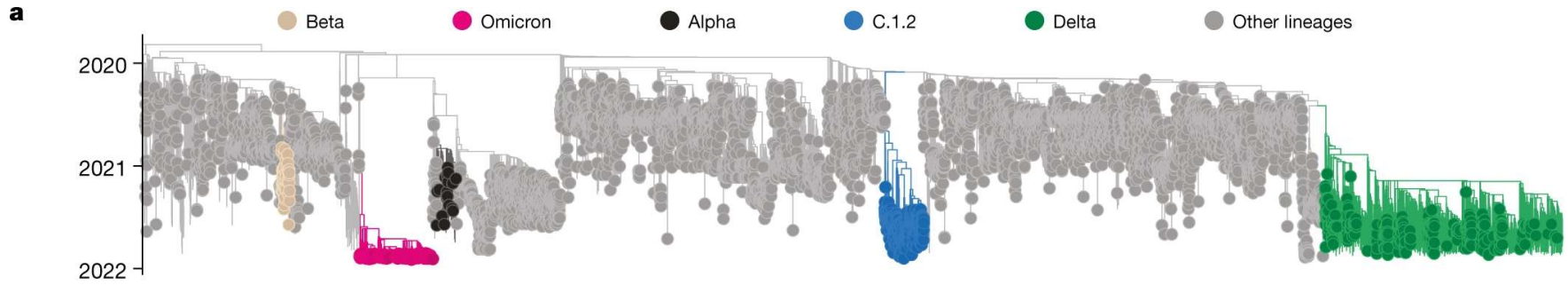
Showing 203 of 3251 genomes sampled between Jan 2020 and Mar 2020. Filtered to [Australia \(203\)](#).

### Phylogeny

Country v

RESET LAYOUT

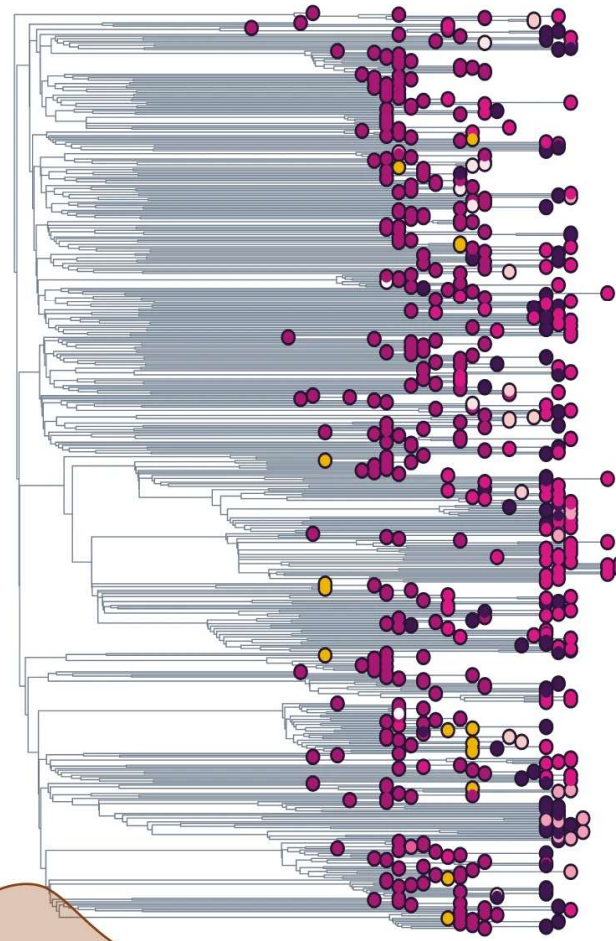




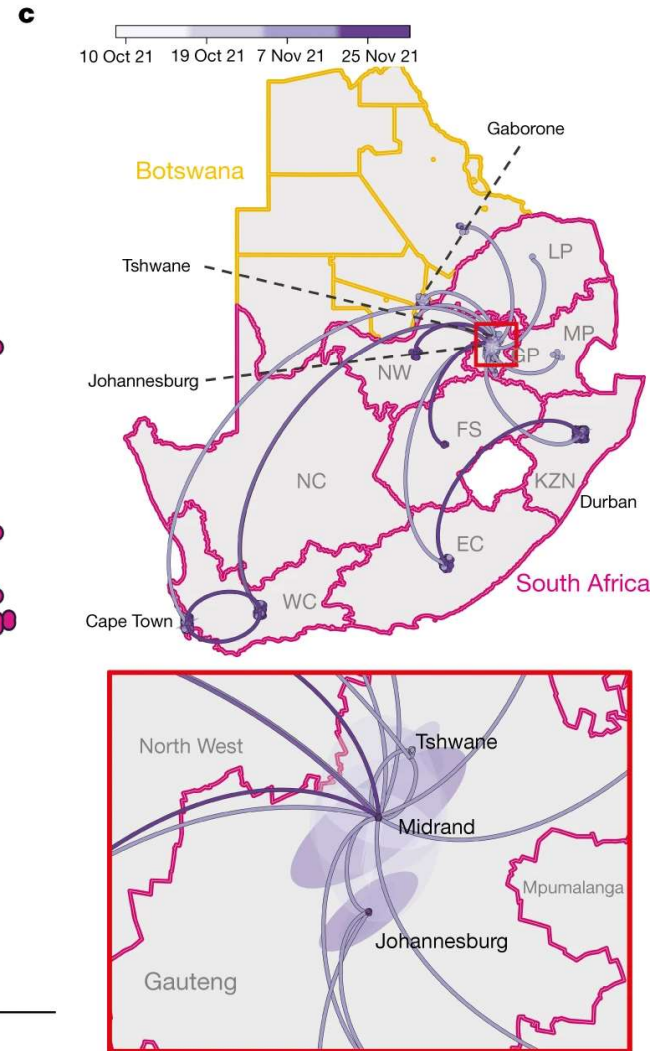
**b**

## Evolution of Omicron

- Mpumalanga: 2
- North West: 6
- Free State: 11
- Eastern Cape: 16
- Limpopo: 1
- Western Cape: 132
- Gauteng: 277
- KwaZulu-Natal: 90
  
- Botswana: 17

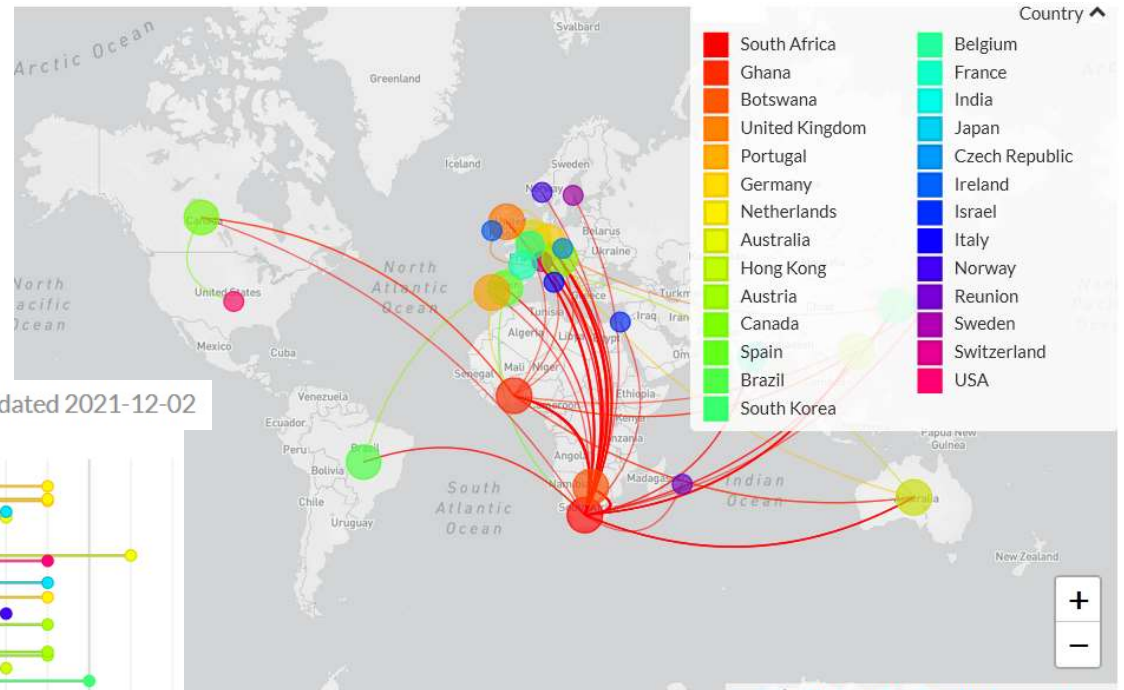
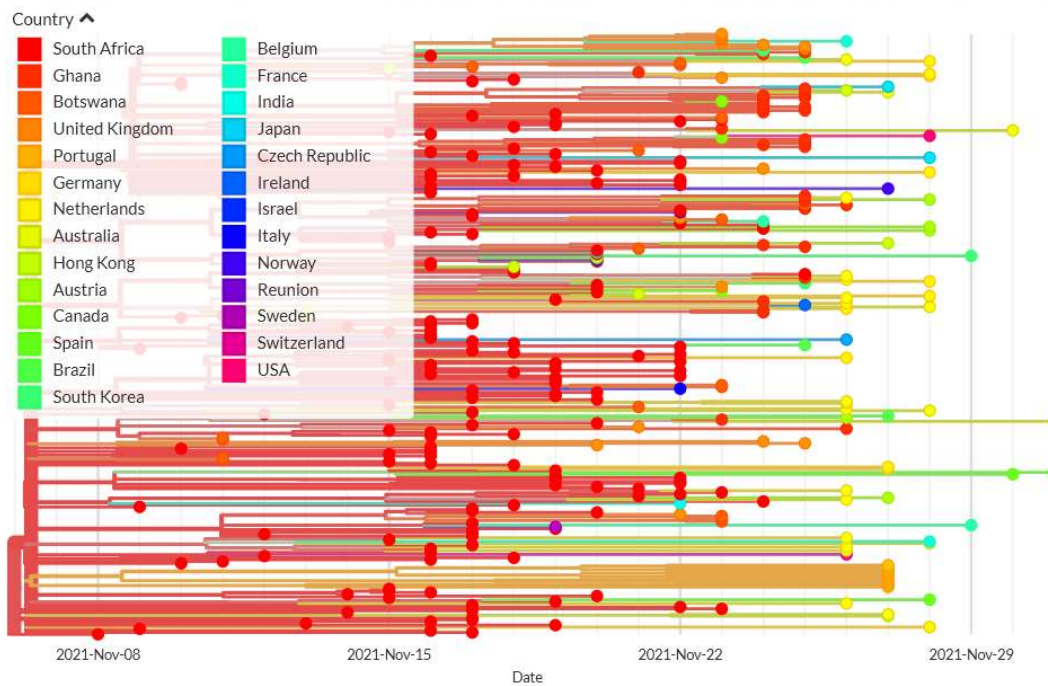


13 Sep 2021      1 Oct 2021      20 Oct 2021      7 Nov 2021      25 Nov 2021



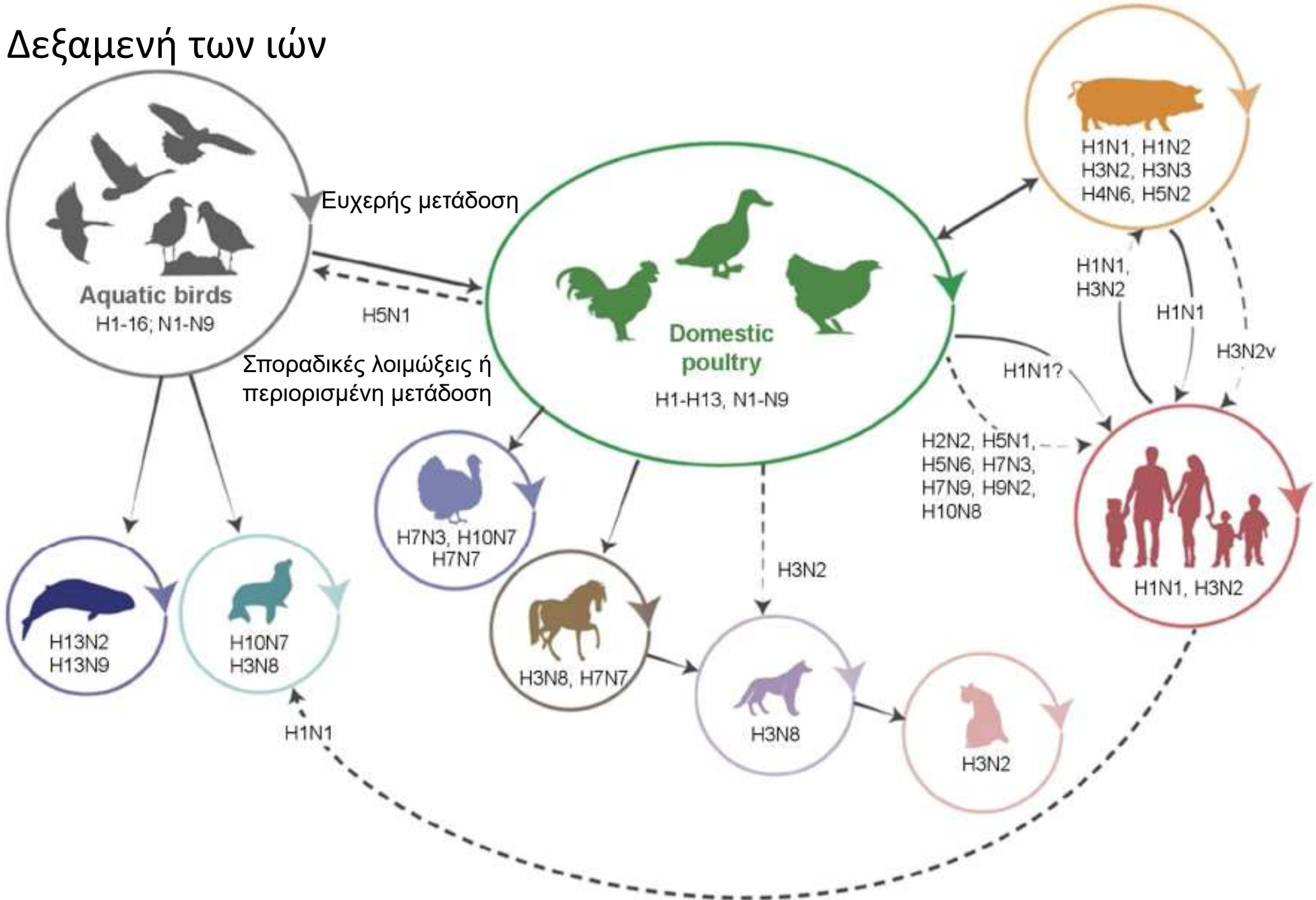
Variant: 21K (Omicron)  
also known as B.1.1.529

Showing 331 of 331 genomes collected between Nov 2021 and Nov 2021, last updated 2021-12-02



# Μετάδοση ιών γρίπης μεταξύ των ειδών και υπότυποι που εμπλέκονται

Δεξαμενή των ιών



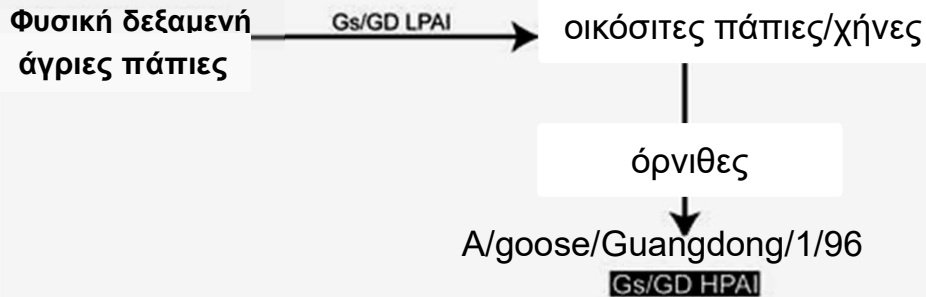
# Εξέλιξη του ΗΡΑΙΝ H5N1

Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 2009, 28 (1), 39-47

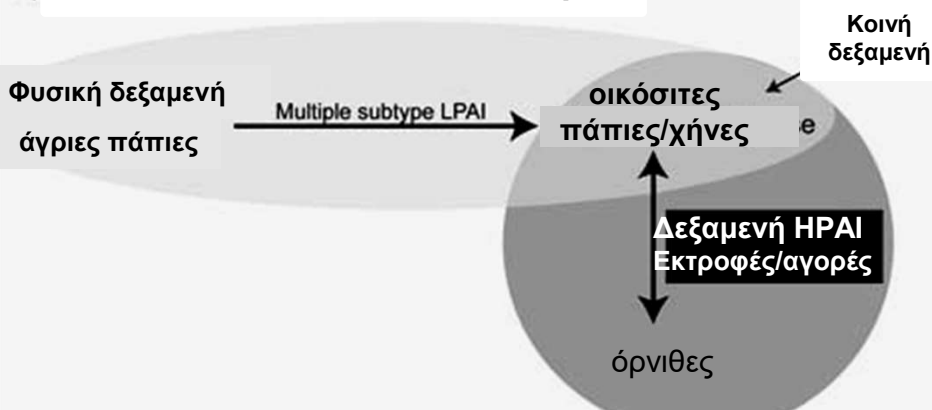
## Molecular epidemiology of H5N1 avian influenza

Y. Guan<sup>(1)</sup>, G.J.D. Smith<sup>(1)</sup>, R. Webby<sup>(2)</sup> & R.G. Webster<sup>(2)</sup>

### a) 1996: Εμφάνιση



### b) 2001>: Γενετικοί ανασυνδυασμοί

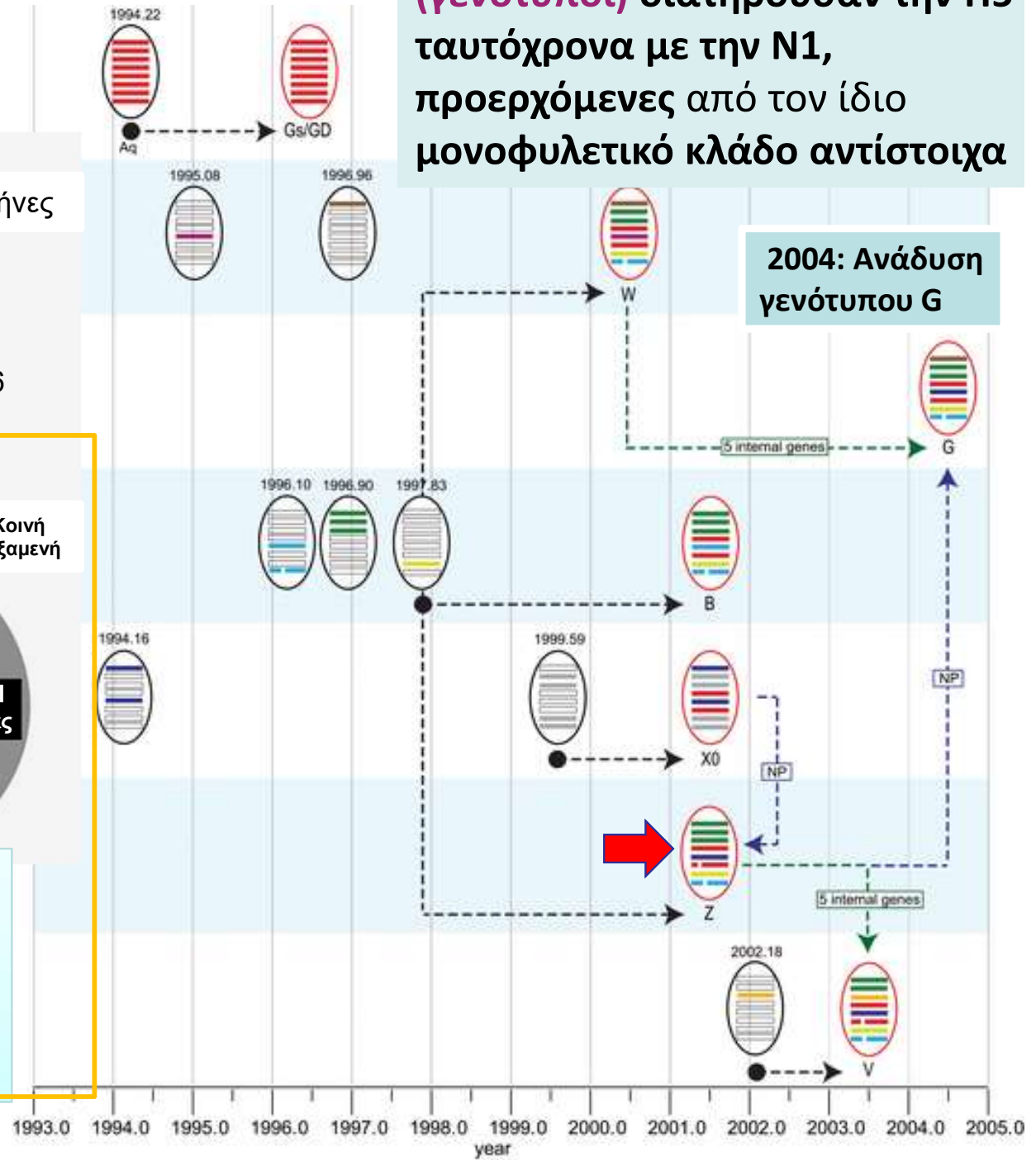


- Εισαγωγή νέων LPAIVs στους μεγάλους πληθυσμούς των οικόσιτων (πάπιες, χήνες)
- Ανασυνδυασμοί με τον Gs/GD ΗΡΑΙΝ
- Επιλογή και ανάδυση νέων γενότυπων
- Διαδοχική μετάδοση σε άλλα είδη πτηνών

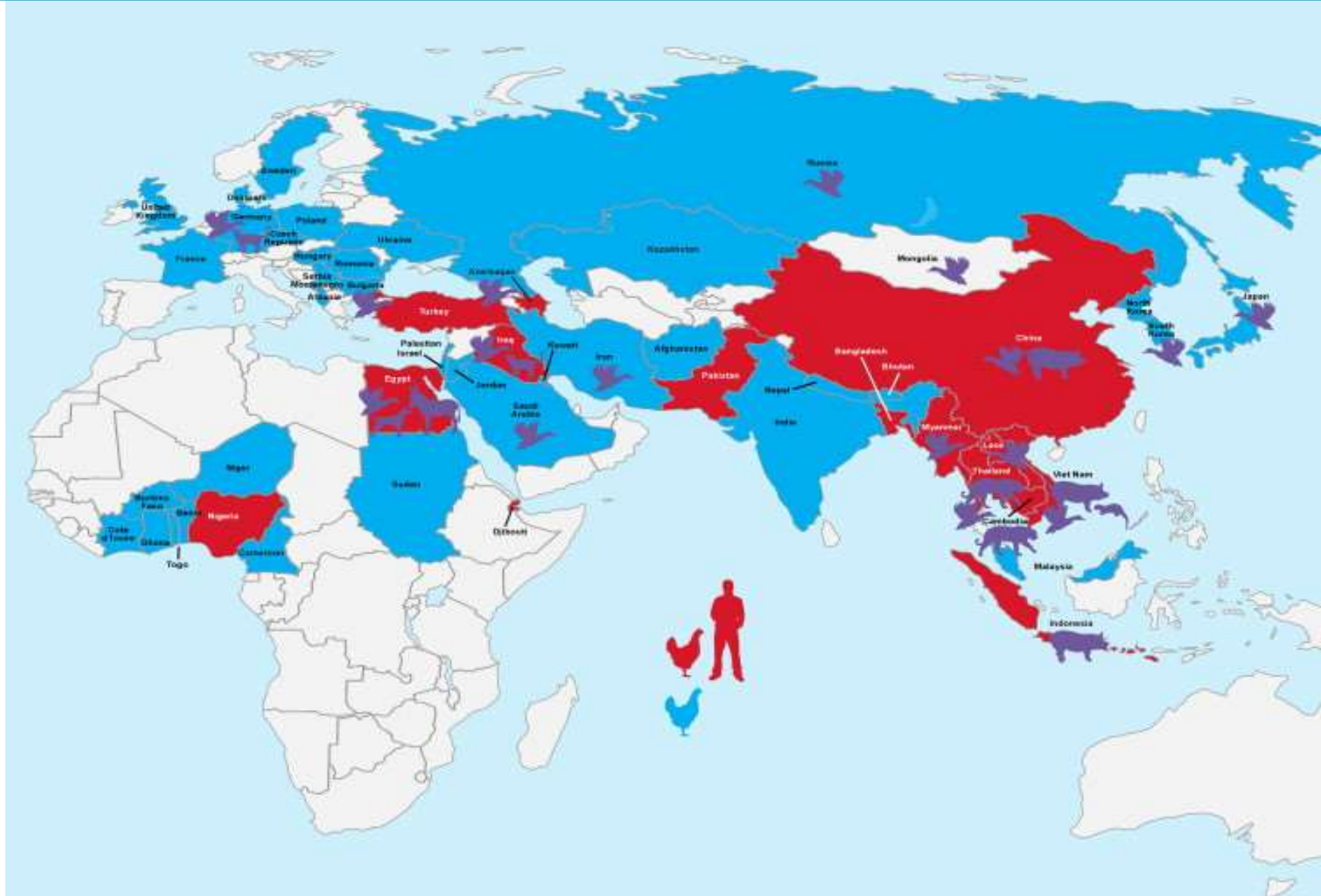
1996-2003

21 νέοι ανασυνδυασμένοι ιοί (γενότυποι) διατηρούσαν την H5 ταυτόχρονα με την N1, προερχόμενες από τον ίδιο μονοφυλετικό κλάδο αντίστοιχα

2004: Ανάδυση γενότυπου G



**Διασπορά του H5N1. Με κόκκινο οι χώρες με ταυτόχρονα κρούσματα H5N1 σε οικόσιτα πτηνά και άνθρωπο, με μπλε τα κρούσματα μόνο σε πτηνά**



Bryan S. Kaplan, Richard J. Webby

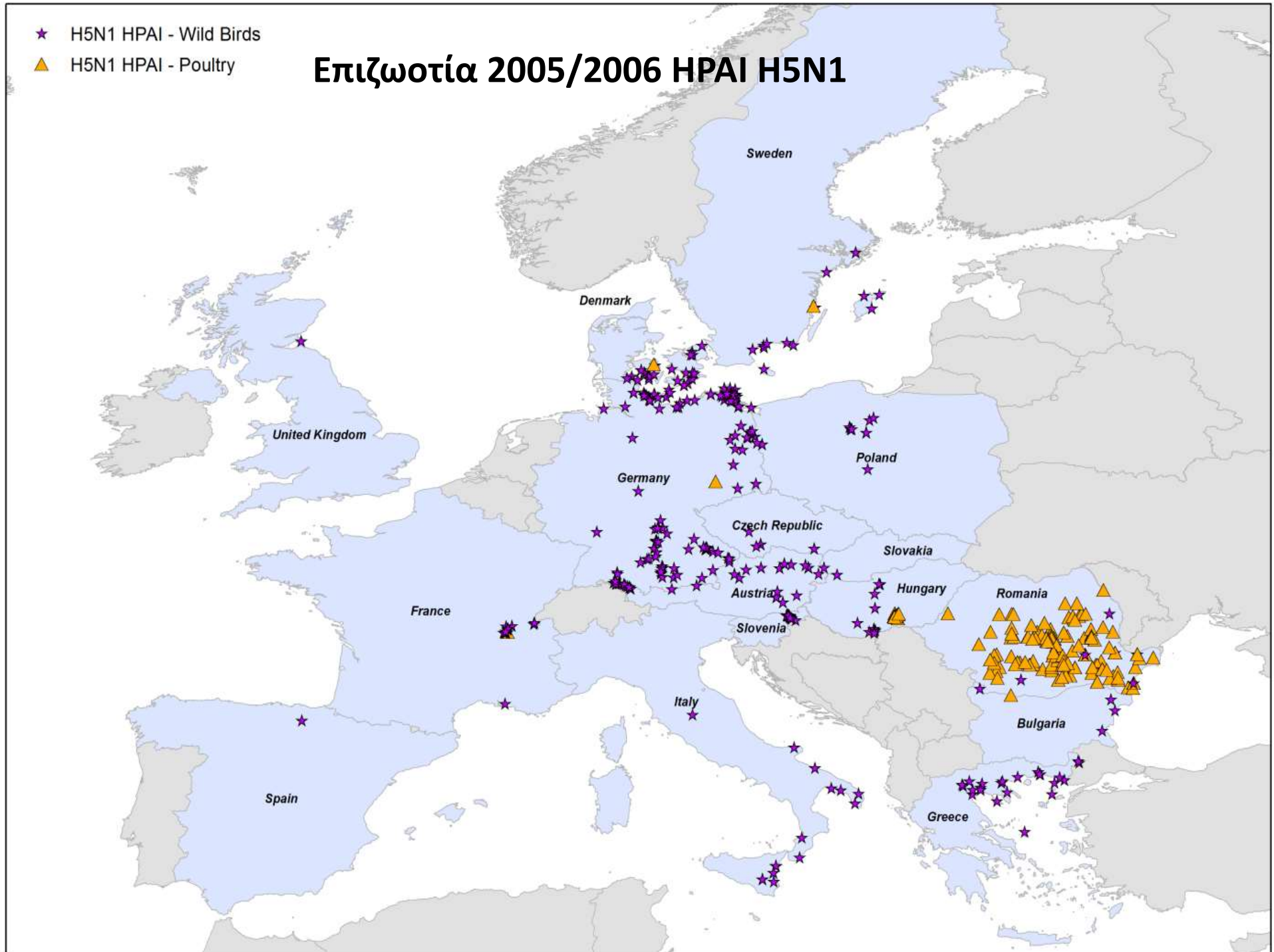
**The avian and mammalian host range of highly pathogenic avian H5N1 influenza**

Virus Research, Volume 178, Issue 1, 2013, 3–11

★ H5N1 HPAI - Wild Birds

▲ H5N1 HPAI - Poultry

## Επιζωτία 2005/2006 ΗΡΑΙ Η5Ν1

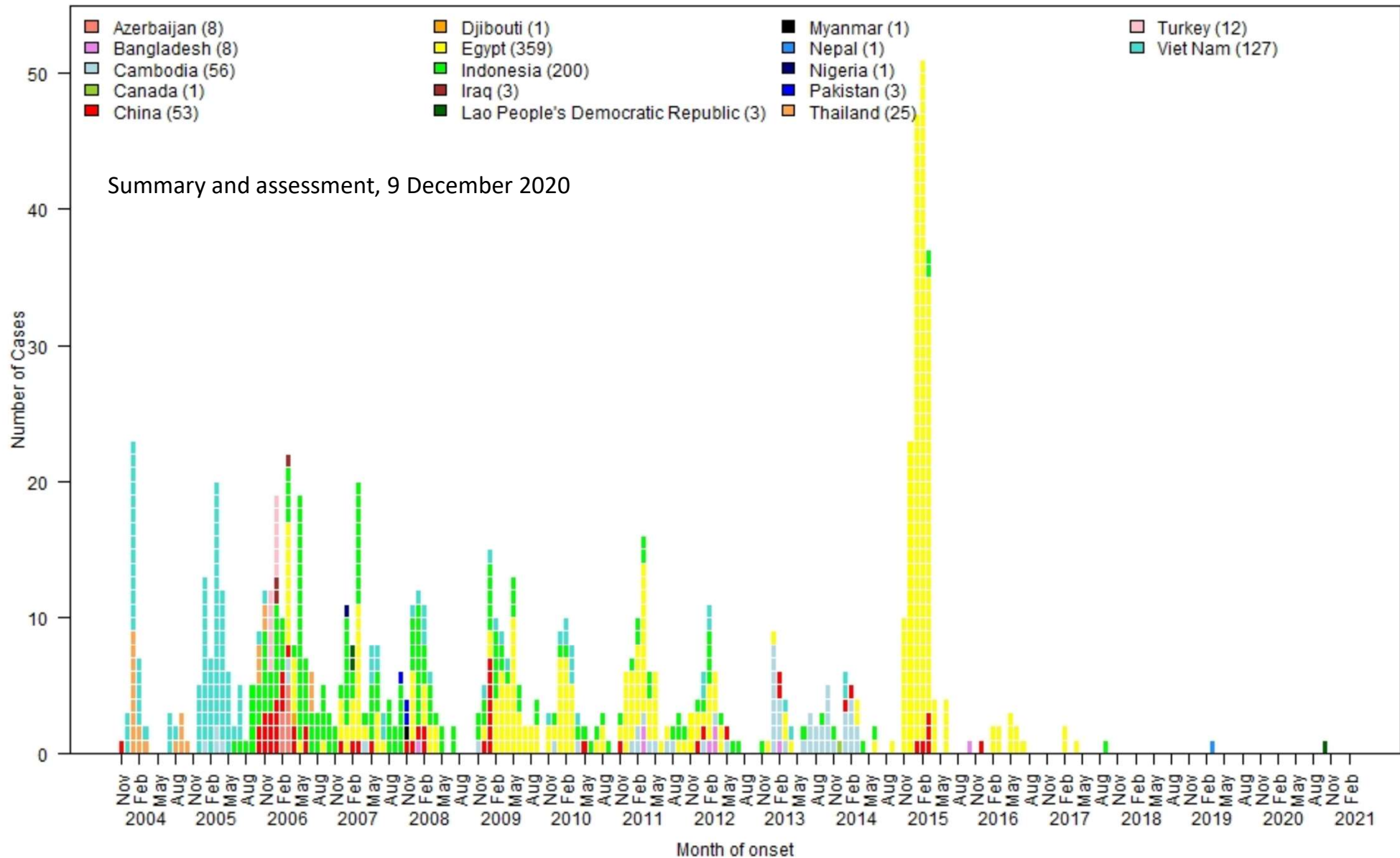


# Επιδημική καμπύλη ανθρώπινων κρουσμάτων HPAIVs H5N1 ανά μήνα, 2003-2017



Influenza at the human-animal interface

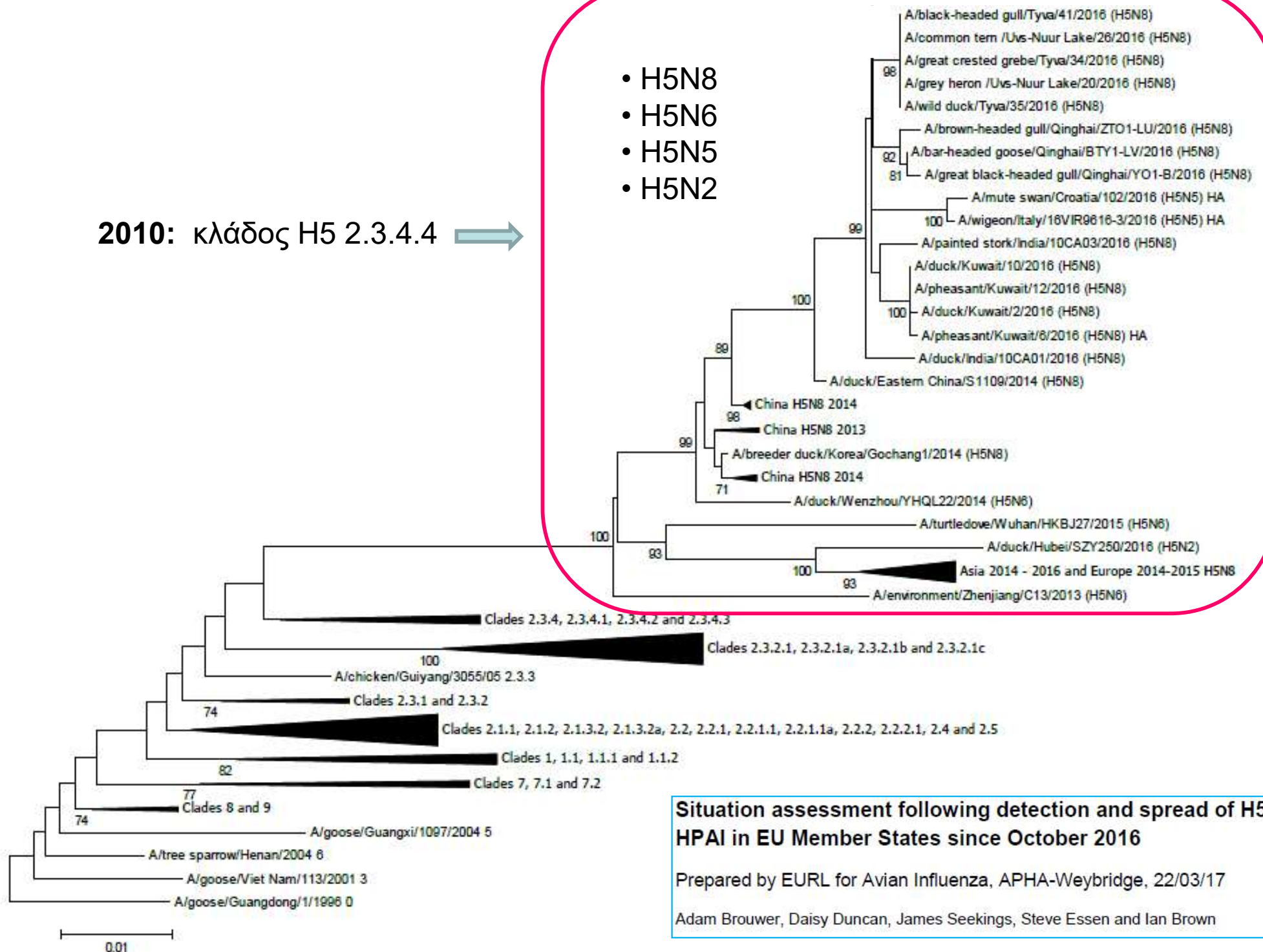
**Number of Confirmed Human H5N1 Cases by month of onset as of 2017-03-14**





2010: κλάδος H5 2.3.4.4 →

- H5N8
- H5N6
- H5N5
- H5N2



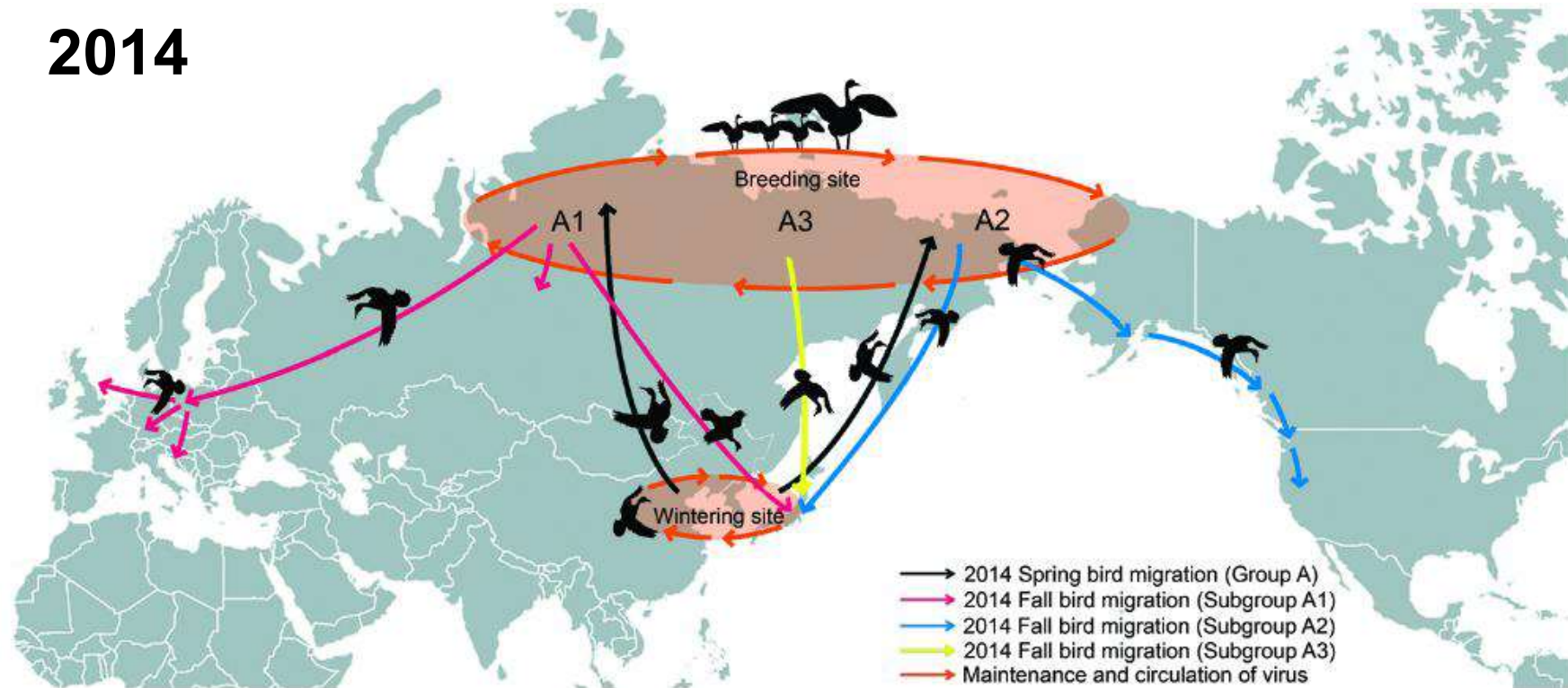
**Situation assessment following detection and spread of H5 HPAI in EU Member States since October 2016**

Prepared by EURL for Avian Influenza, APHA-Weybridge, 22/03/17

Adam Brouwer, Daisy Duncan, James Seekings, Steve Essen and Ian Brown

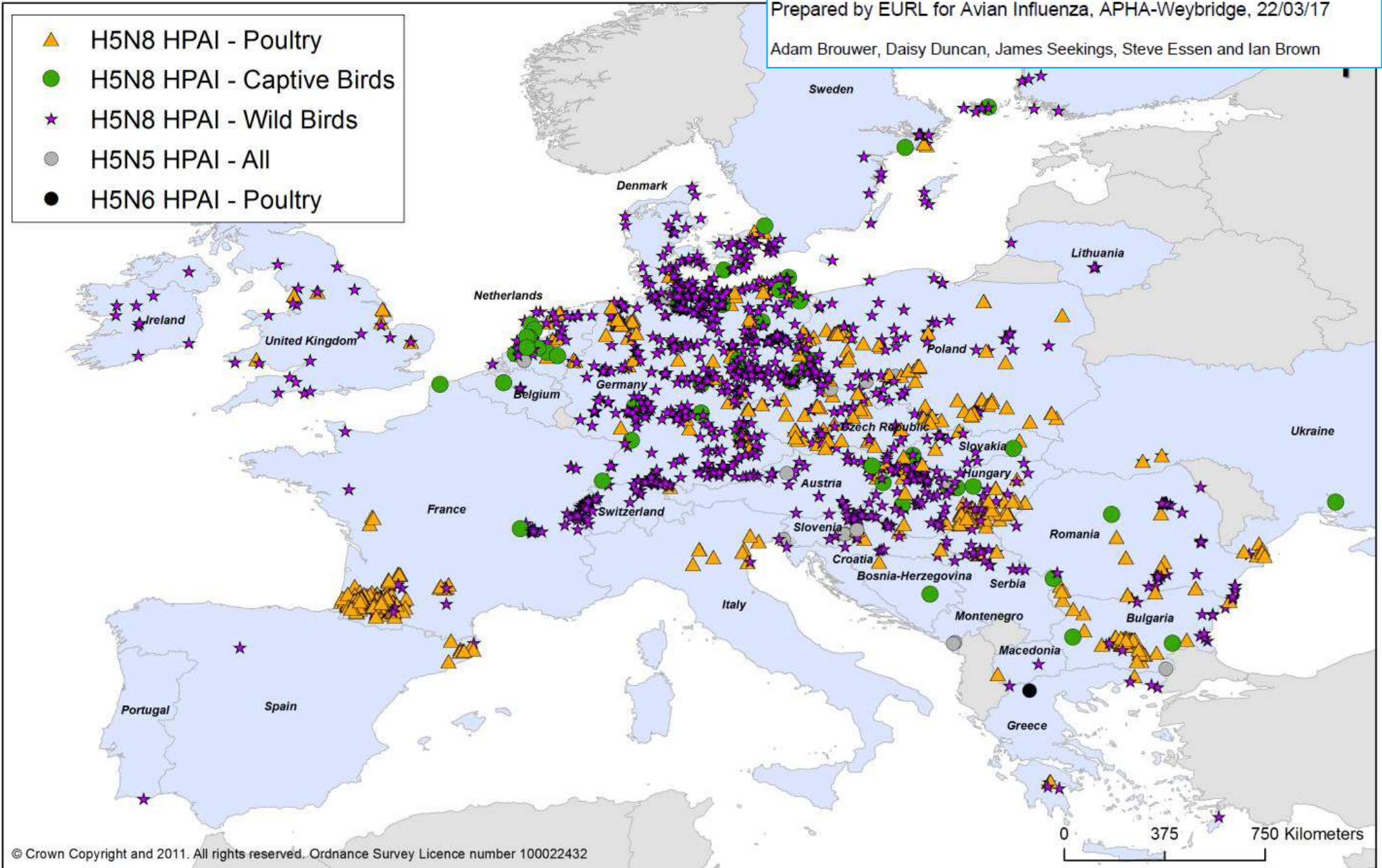
# Ανάδυση και παγκόσμια διασπορά των ΗΡΑΙΝs Η5Ν8

2014

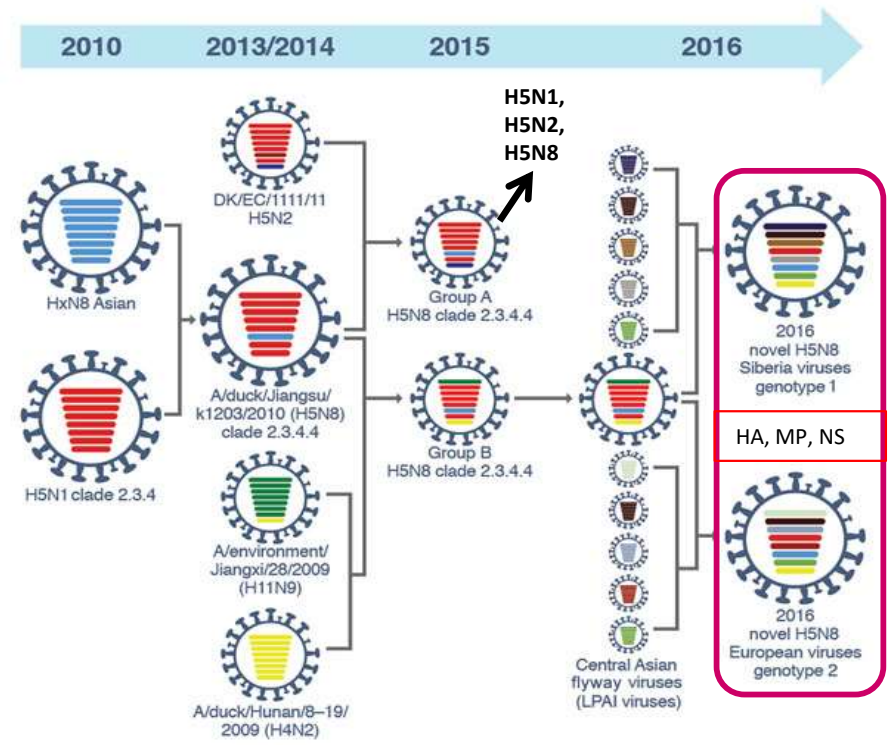
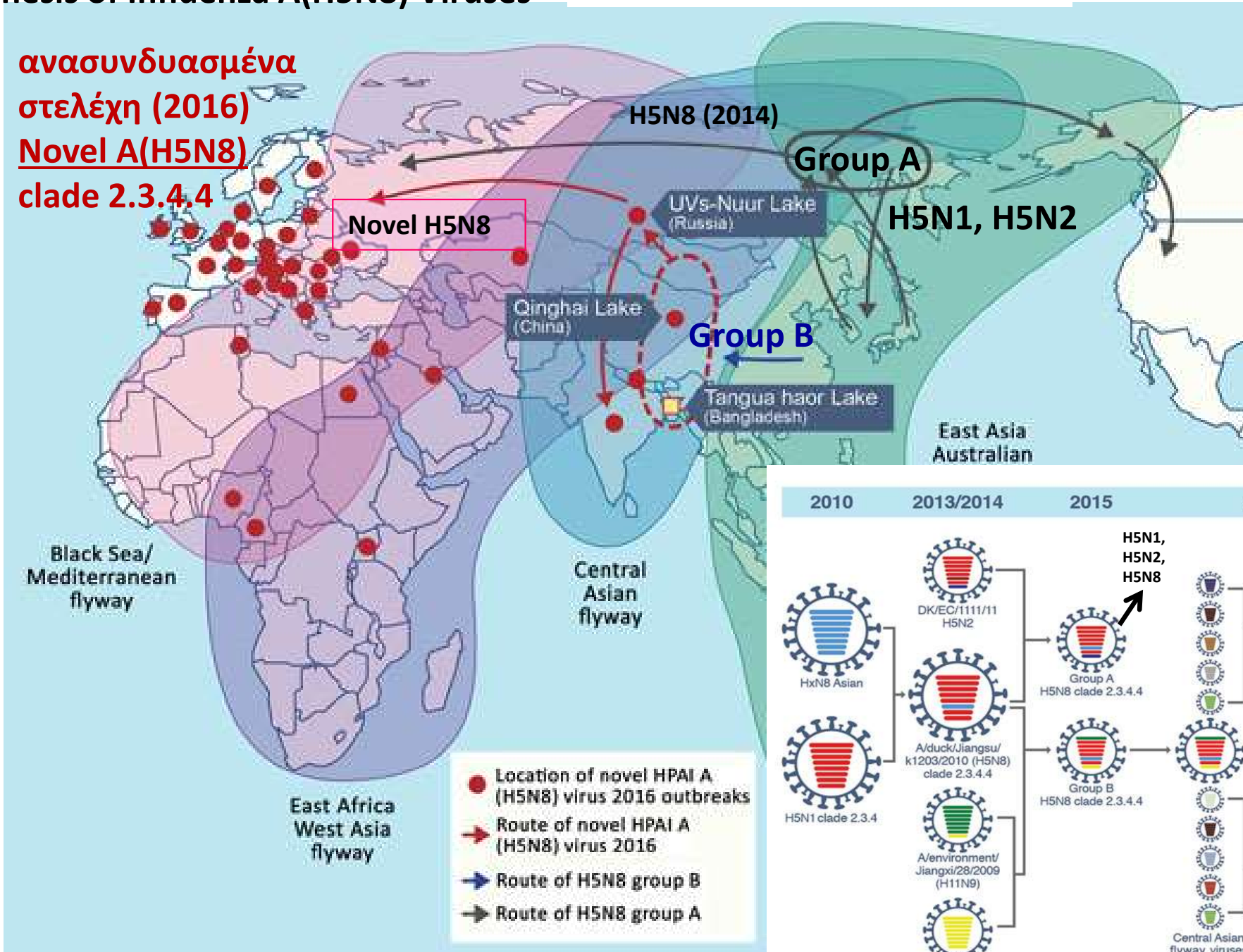


Intercontinental Spread of Asian-Origin H5N8 to North America through Beringia by Migratory Birds

Dong-Hun Lee,<sup>a</sup> Mia Kim Torchetti,<sup>d</sup> Kevin Winker,<sup>c</sup> Hon S. Ip,<sup>d</sup> Chang-Seon Song,<sup>a</sup> David E. Swayne<sup>a</sup>

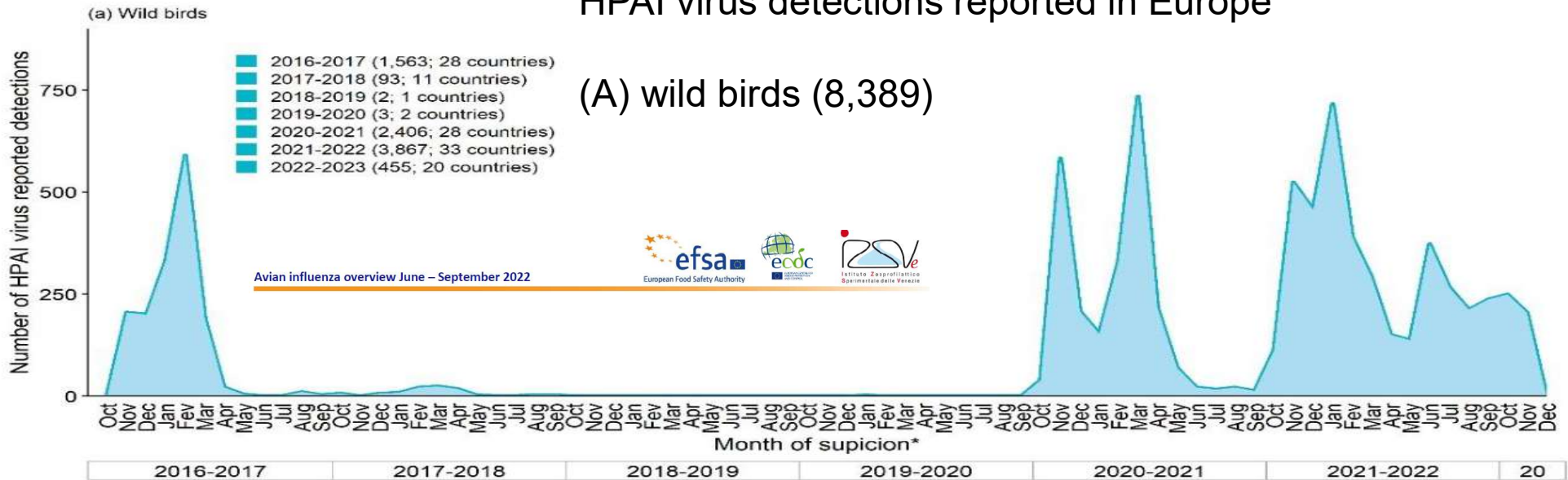


ανασυνδυασμένα  
στελέχη (2016)  
Novel A(H5N8)  
clade 2.3.4.4

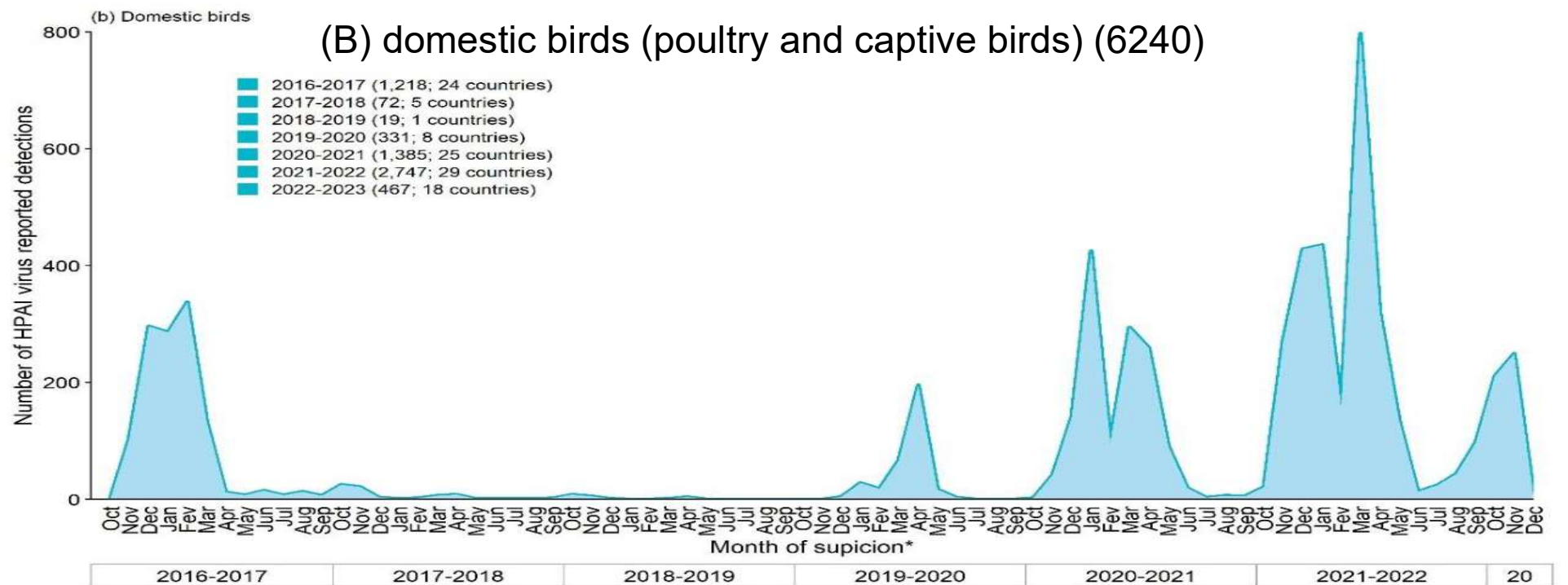


# HPAI virus detections reported in Europe

(A) wild birds (8,389)



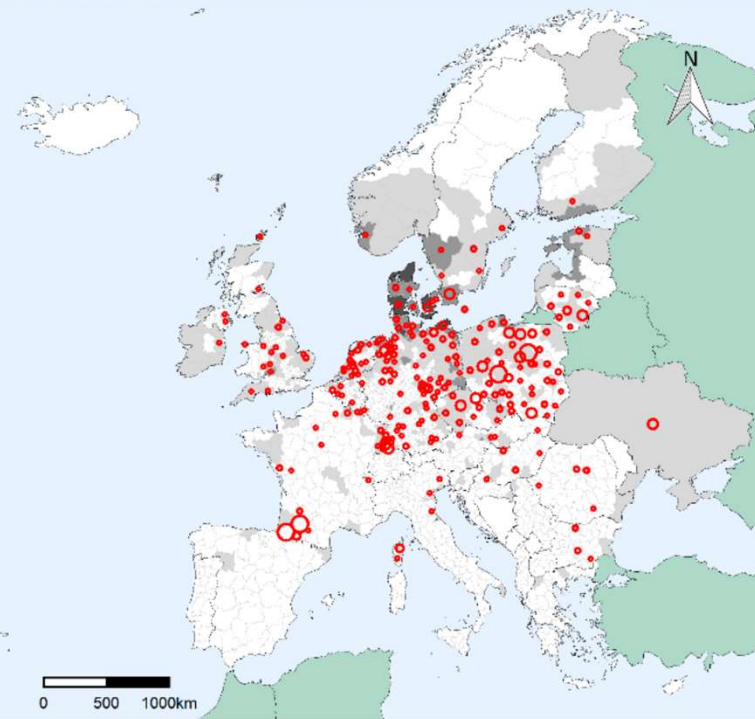
(B) domestic birds (poultry and captive birds) (6240)



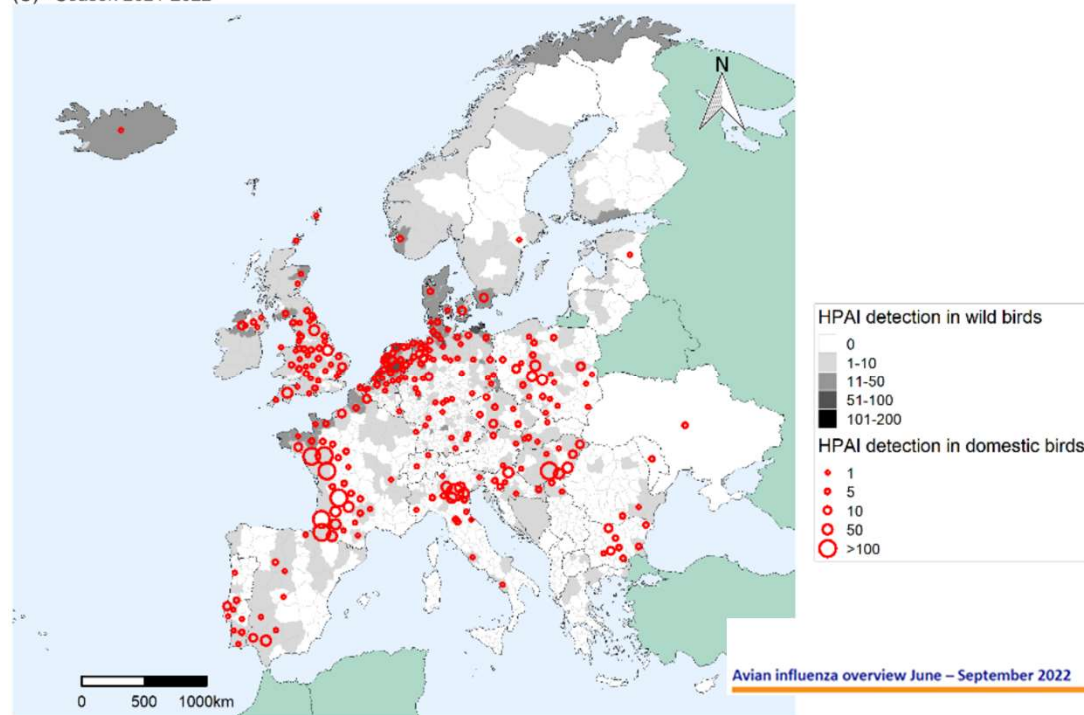
(A) - Season 2016-2017



(B) - Season 2020-2021



(C) - Season 2021-2022



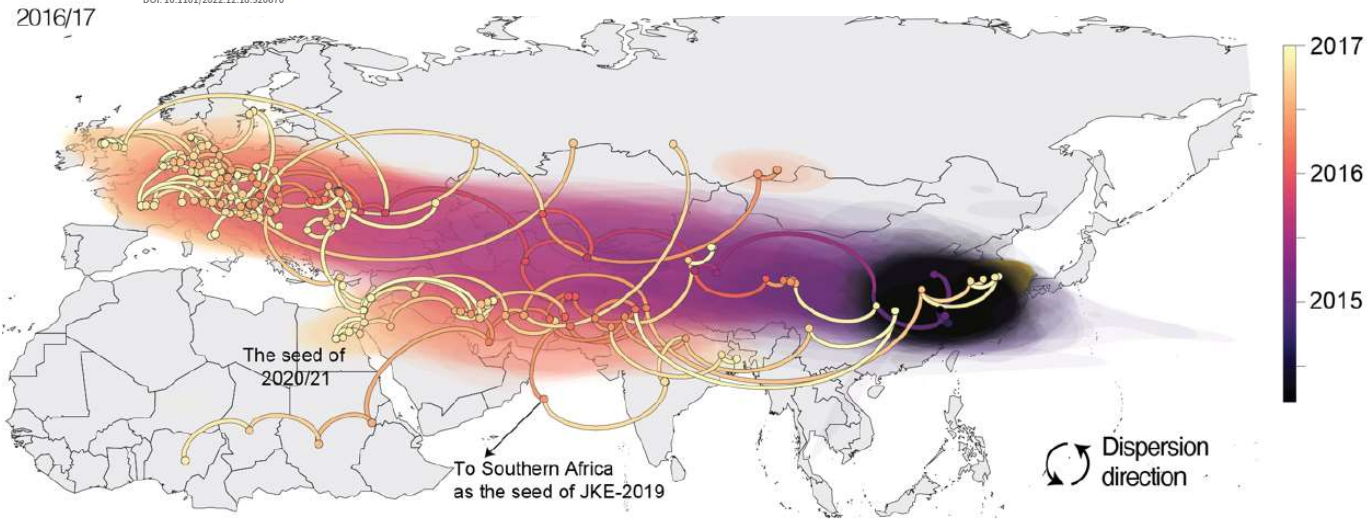
Avian influenza overview June – September 2022



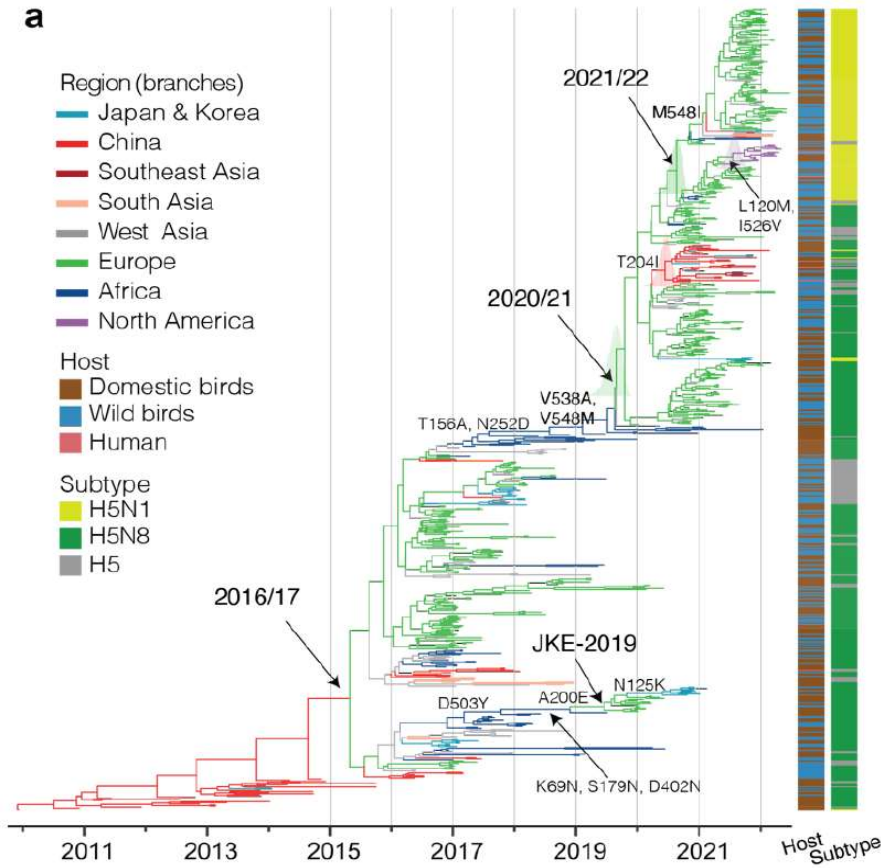
# The episodic resurgence of highly pathogenic avian influenza H5 virus

**b**

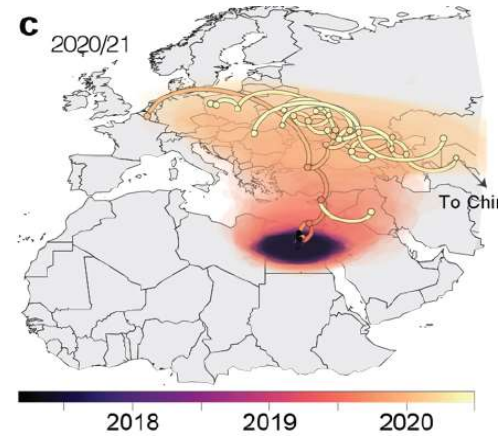
Preprint · December 2022  
DOI:10.1101/2022.12.18.520670



**a**



**c**



**d**

