

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018  
УДК 578.824.11:578.5:577.21.083(470.331)

Гулюкин А.М.<sup>1</sup>, Шабейкин А.А.<sup>1</sup>, Макаров В.В.<sup>1,2</sup>, Зайкова О.Н.<sup>1,3</sup>, Гребенникова Т.В.<sup>1,3</sup>, Забережный А.Д.<sup>1</sup>,  
Полякова И.В.<sup>1</sup>, Южаков А.Г.<sup>1,3</sup>

## ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗОТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА БЕШЕНСТВА, ВЫЯВЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ

<sup>1</sup>ФГБНУ «Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко», 109428, г. Москва;

<sup>2</sup>ФГАОУ «Российский университет дружбы народов», 117198, г. Москва;

<sup>3</sup>Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Рассмотрена современная эпизоотическая ситуация по бешенству в Тверской области. Проанализирован видовой и количественный состав животных с лабораторно подтвержденным заболеванием. Установлено, что особенности течения эпизоотий на территории Тверской области соответствуют закономерностям, характерным для бешенства природно-очагового типа. В результате секвенирования гена N вируса бешенства и филогенетического анализа исследуемые изоляты были отнесены к Центральной филогенетической группе. При помощи геоинформационной системы были получены нозологические карты Тверской области и проведено исследование пространственно-временных особенностей течения эпизоотического процесса рабической инфекции.

Ключевые слова: бешенство; эпизоотология; геоинформационная система; картография; секвенирование генома; филогенетический анализ.

**Для цитирования:** Гулюкин А.М., Шабейкин А.А., Макаров В.В., Зайкова О.Н., Гребенникова Т.В., Забережный А.Д., Полякова И.В., Южаков А.Г. Особенности эпизоотического процесса и молекулярно-генетическая характеристика изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Тверской области. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(3): 115-123. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-115-123>

**Gulukin A.M.<sup>1</sup>, Shabeykin A.A.<sup>1</sup>, Makarov V.V.<sup>1,2</sup>, Zaykova O.N.<sup>1,3</sup>, Grebennikova T.V.<sup>1,3</sup>, Zaberezhny A.D.<sup>1</sup>, Polyakova I.V.<sup>1</sup>, Yuzhakov A.G.<sup>1,3</sup>**

### FEATURES OF EPISOTIC PROCESS AND MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF VIRUS ISOLATES OF RABIES IN TVER REGION

<sup>1</sup>All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary named after Ya. R. Kovalenko, Moscow, 109428, Russian Federation;

<sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198, Russian Federation;

<sup>3</sup>D.I. Ivanovsky Institute of Virology, «National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, 123098, Russian Federation

Rabies epidemic situation in the Tver Region has been studied. Animals of different species that had confirmed clinical rabies were statistically analyzed. It was established that the features of the course of epizootics in the Tver region correspond to the regularities characteristic of rabies of the natural-focal type. As a result of sequencing of the rabies virus N gene and phylogenetic analysis, the isolates studied were assigned to the central phylogenetic group. With the help of the geoinformatic system, nosological maps of the Tver region were obtained and the spatial-temporal features of the course of the epizootic process of rabies infection were studied.

Key words: rabies; epidemiology; geography information system; cartography; genome sequencing; phylogenetic analysis.

**For citation:** Gulukin A.M., Shabeykin A.A., Makarov V.V., Zaykova O.N., Grebennikova T.V., Zaberezhny A.D., Polyakova I.V., Yuzhakov A.G. Features of episodic process and molecular-genetic characteristics of virus isolates of rabies in Tver region. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(3): 115-123. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-115-123>

**For correspondence:** Aleksey M. Gulukin, Candidate of Biological Sciences, leading researcher in laboratory of epizootology, deputy director of All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary named after Ya.R. Kovalenko, Moscow, 109428, Russian Federation. E-mail: [plych@mail.ru](mailto:plych@mail.ru)

#### Information about authors:

Gulyukin A.M., <https://orcid.org/0000-0003-2160-4770>;

Makarov V.V., <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>;

Zaberezhny A.D., <https://orcid.org/0000-0001-7635-2596>;

Yuzhakov A.G., <http://orcid.org/0000-0002-0426-9678>

Shabeykin A.A., <https://orcid.org/0000-0003-3413-8131>;

Grebennikova T.V., <http://orcid.org/0000-0002-6141-9361>;

Polyakova I.V., <https://orcid.org/0000-0002-7392-0364>;

**Для корреспонденции:** Гулюкин Алексей Михайлович, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпизоотологии, заместитель директора по инновационной работе ФГБНУ «Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко», 109428, г. Москва. E-mail: [plych@mail.ru](mailto:plych@mail.ru)

**Acknowledgments.** The authors are grateful to the members of FGBI «Federal Centre for Animal Health» M. I. Shul'pin and S. A. Chupin.

This work was supported by the RF state budget.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 10 December 2017

Accepted 12 December 2017

## Введение

Бешенство – это острая вирусная инфекция, поражающая центральную нервную систему. Возбудитель – РНК-содержащий вирус рода *Lyssavirus* семейства *Rhabdoviridae*. Восприимчивы теплокровные млекопитающие большинства видов, в том числе человек [1–10].

Для Российской Федерации проблема бешенства не теряет актуальности. По данным Центра ветеринарии, за период после 2000 г. в среднем регистрируется около 3,5 тыс. неблагополучных пунктов за год и, как видно на рис. 1, в целом за этот период линия тренда находится в равновесном положении, что указывает на отсутствие каких-либо существенных изменений [1, 2, 9, 11–25].

Наибольшее число неблагополучных пунктов традиционно приходится на Центральный и Приволжский федеральные округа. Территория Тверской области входит в состав обширного ареала бешенства, покрывающего большую часть ЦФО и, согласно архиву лаборатории эпизоотологии ВИЭВ, регулярно демонстрирует вспышки болезни на протяжении последних 25 лет [8, 12, 13, 21, 22, 24, 26–29].

Рассматривая ситуацию в Тверской области за последние 4 года, можно отметить волнообразный характер эпизоотического процесса, что объясняется цикличностью бешенства природного типа и совпадает с периодами подъёмов и спадов на всей европейской части РФ. Так, в 2013 г. было выявлено 93 случая бешенства, в 2014 г. – 56, в 2015 г. – 115, в 2016 г. – 104, а с января по май 2017 г. выявлено 39 случаев бешенства среди животных. Бешенство регистрировалось практически во всех районах Тверской области.

Всего за 2013–2016 гг. зарегистрировано 368 случаев бешенства, из которых более 90% представлены случаями среди диких и домашних плотоядных животных. Такая видовая структура заболевания характерна для бешенства природного типа, когда болезнь распространяют дикие плотоядные, и объяснима их высокой восприимчивостью к возбудителю инфекции, строением ротового аппарата, позволяющего легко наносить укусы, агрессивностью, склонностью к миграции, способностью к быстрому восстановлению численности популяции.

Домашние плотоядные в силу поведенческих особенностей представляют собой наибольшую группу риска заражения при эпизоотиях природного типа, но, в условиях относительно холодного климата центральной части России, собаки и кошки сильно привязаны к жилью человека, что ведёт к территориальному сегментированию популяции на изолированные микрокластеры и препятствует длительной циркуляции вируса среди животных этих групп из-за их малочисленности и низкой вирулентности природно-очагового вируса лисьего экотипа. При этом проводимая программа вакцинопрофилактики не полностью охватывает популяцию мелких домашних животных, и при одновременном наличии большого числа безнадзорных животных это приводит к нередким заражениям бешенством собак и кошек. Учи-

тая близость мелких домашних животных к человеку, случаи их заболевания представляют огромную эпидемиологическую опасность [2, 4, 8, 9, 13, 30–32].

Основным методом борьбы с природным бешенством общепризнанно считается оральная вакцинация диких плотоядных, которая должна проводиться под контролем её эффективности (поедаемость вакцинных приманок по тетрациклиновому маркеру, наличие вируснейтрализующих антител в протективных титрах) и с постоянным эпизоотологическим мониторингом. Важным элементом в понимании особенностей и механизмов территориального продвижения эпизоотий являются методы *молекулярной эпизоотологии*, объединяющие молекулярно-генетические исследования и методы нозогеографии [17, 22, 28].

Статья написана в рамках выполнения Государственного задания по программе фундаментальных научных исследований государственных академий наук по теме «Получить новые знания о генетической структуре вируса классического бешенства, распространённого на территории России» (№ 0578-2015-0003).

Целью работы было исследование современных особенностей эпизоотического процесса рабической инфекции на территории Тверской области с использованием геоинформационных систем и молекулярных филогенетических исследований.

## Материал и методы

### *Эпизоотологическое исследование*

Использованы дескриптивные методы сравнительно-исторического и сравнительно-географического исследования, а при эпизоотологическом анализе – методы аналитической и экспериментальной эпизоотологии.

Работа выполнена в лаборатории эпизоотологии ВИЭВ им. Я.Р. Коваленко. Были проанализированы статистически обработанные данные ежегодной первичной отчетности ветеринарных служб Тверской области.

**Разработка ГИС-проекта.** В разработанном в лаборатории эпизоотологии ВИЭВ тематическом проекте географической информационной системы (ГИС) были построены цифровые нозологические карты Тверского региона и европейской части РФ. На цифровых картах отражено эпизоотологическое районирование территорий и с использованием «тепловых» карт определены зоны напряжённости эпизоотологической ситуации за различные периоды времени. В ходе работы была использована программная платформа ArcGIS компании «ESRI» [7, 21–23, 25, 27, 33–35].

### *Молекулярно-генетическая характеристика и филогенетический анализ*

Материалом для исследования послужили 5 очищенных ПЦР-продуктов, содержащих ген *N* вируса бешенства (см. таблицу). Для сравнительного анализа были использованы нуклеотидные последовательности гена *N* штаммов вируса бешенства, содержащиеся в базе данных NCBI.

Для секвенирования ампликонов использовали те

**Естественная история изолятов, использованных для молекулярно-генетического анализа**

Изолят	Вид животного	Регион
Tver_8_2014	Енотовидная собака	Тверская область, Кесовогорский район, 600 м от дер. Столбово
Tver_13_2014	Собака	Тверская область, Кесовогорский район, дер. Федцово
Tver_647_2014	Енотовидная собака	Тверская область, Пеновский район, урочище Михайловщина
Tver_127_2015	То же	Тверская область, Осташковский район
Tver_125_2015	« «	То же

же праймеры, что и в ПЦР. В работе применяли набор BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», США) и капиллярный ДНК-секвенатор ABI Prism 3100 («Applied Biosystems», США). Для выравнивания нуклеотидных последовательностей и проведения филогенетического анализа применяли пакет программ DNASTAR v 3.12 («Lasergene Inc.», США) и BioEdit 7.0.1. Для оценки достоверности топологии филогенетической дендрограммы был проведен bootstrap-анализ с привлечением 1000 псевдореплик.

**Результаты**

**Эпизоотологическое исследование бешенства на территории Тверской области в период с 2013 г. по май 2017 г.**

С 2013 по 2016 г. в Тверской области выявлено 368 случаев бешенства животных, а с января по май 2017 г. – 39 случаев. Основную часть заболевших животных составили лисы, енотовидные собаки и домашние плотоядные. На рис. 2 показано процентное распределение случаев бешенства среди разных групп животных за период с 2013 по май 2017 г.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что наибольшее число случаев бешенства в регионе регистрировалось среди диких животных, а именно енотовидных собак и лис (51 и 28% соответственно). Доля домашних плотоядных (собаки и кошки) составила в целом 17%. Среди других групп животных, как диких, так и домашних, регистрировались единичные случаи бешенства.

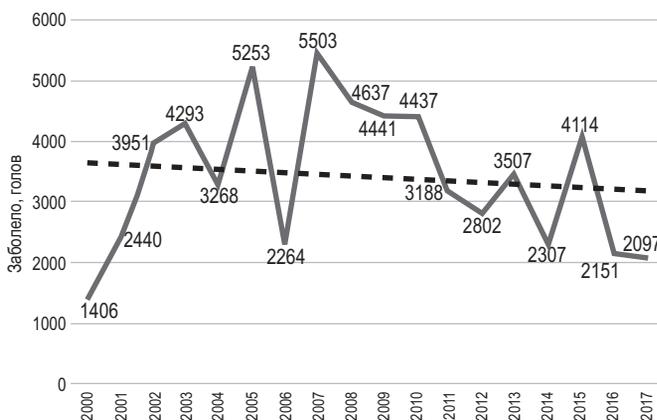


Рис. 1. Динамика случаев заболевания бешенством животных в Российской Федерации за 2000 – 2016 гг.

Как видно на рис. 3, циклы сезонных подъёмов заболеваемости енотовидной собаки почти полностью совпадают с циклами сезонности у лисицы, что указывает на существующую между ними связь.

Для исследования особенностей пространственного продвижения волны эпизоотии бешенства по территории Тверской области в ГИС-проекте «Бешенство в Российской Федерации», разрабатываемом в лаборатории эпизоотологии ВИЭВ, были сформированы серии последовательных нозокарт.

В правой части рис. 4 приведена последовательность «тепловых» карт европейской части страны, на которых отображена интенсивность эпизоотического процесса через градиентную заливку, где жёлтым цветом показаны районы с низкой плотностью регистрации вспышек бешенства и красным цветом показаны районы, где плотность расположения вспышек болезни максимальная. В левой части рисунка синхронно приведены эпизоотологические карты Тверской области, где число вспышек в каждом районе показано кружками пропорционального размера.

Как видно из карт на рис. 4, за этот период бешенство регистрировалось в большинстве районов Тверской области, в большей степени затрагивая центр и восток, значительно реже демонстрируя активность на западе. С января 2013 г. по май 2017 г. наибольшее число случаев бешенства приходилось на районы, граничащие с Московской областью: Калининский (53), Калязинский (31), Zubовский (22).

Филогенетический анализ изолятов вируса бешенства, выделенных на территории Тверской области

Определена первичная структура гена N вируса бешенства для 5 изолятов из Тверской области. На основании полученных нуклеотидных последовательностей и материалов, опубликованных в базе данных GenBank, была построена филогенетическая дендрограмма и проведен филогенетический анализ (рис. 5).

Для филогенетического анализа использовали вакцинные и референсные штаммы вируса бешенства ERA, SAD B19, SAG 2, RV-97, Moscow 3253, CVS, SRV9, изо-

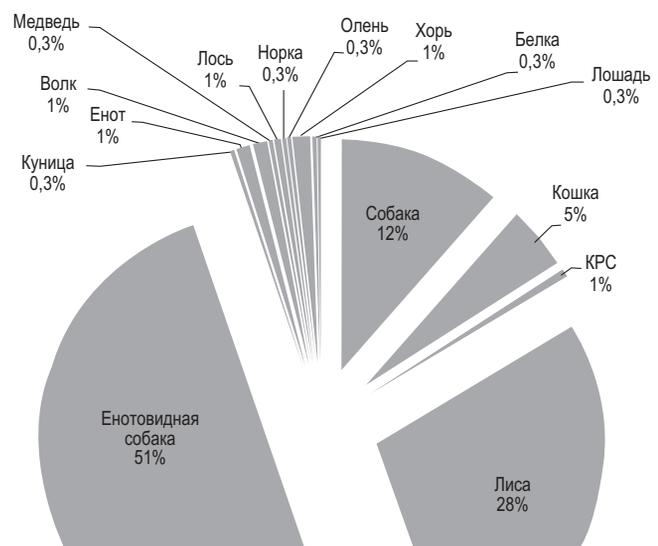


Рис. 2. Процентное распределение случаев бешенства среди разных групп животных в Тверской области за 2013 – май 2017 г.

КРС – крупный рогатый скот.

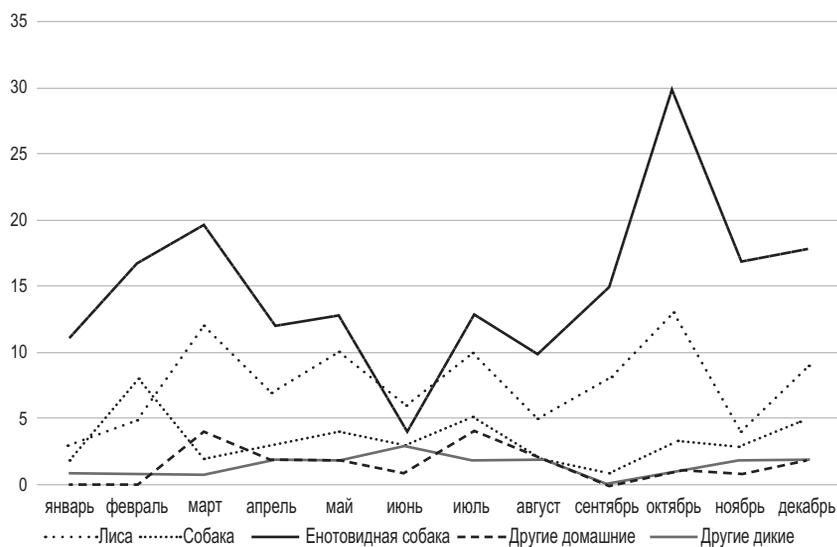


Рис. 3. Сезонное распределение случаев бешенства среди разных групп животных в Тверской области за январь 2013 г. – май 2017 г.

ляты RV299 и RV1154, а также первичные структуры гена *N* изолятов, выделенных ранее на территории Тверской области.

Размер исследуемого фрагмента составил 1110 нуклеотидных остатков (н. о.), кодирующих 370 аминокислот. На рис. 6 показаны предсказанные последовательности аминокислот всех исследуемых изолятов в сравнении с некоторыми ранее охарактеризованными и референсными штаммами вируса бешенства.

При анализе предсказанных аминокислотных последовательностей было установлено, что в позиции 94 изолят Tver\_125\_2015 содержит аминокислоту валин вместо изолейцина, а в позиции 95 все исследуемые изоляты наряду с ранее изученными и изолятом RV299 (выделен в Туле) содержат триптофан вместо валина, пролина и лейцина.

В положении 106 у всех изолятов из Тверской области содержится глицин вместо аспарагиновой кислоты. В позиции 135 изоляты Tver\_8\_2014 и Tver\_13\_2014 содержат серин вместо пролина вместе со штаммом CVS и изолятами Tver\_7574f\_2008 и Tver\_7575f\_2008.

Все изоляты из Тверской области в позиции 217 содержат остаток валина вместо изолейцина вместе с изолятом RV299. В позиции 332 изоляты Tver\_125\_2015, Tver\_127\_2015 и Tver\_647\_2014 содержат треонин вместо аланина, а в положении 379 у всех исследуемых изолятов и изолятов Tver\_7576rd\_2008, Tver\_7577f\_2008, Tver\_75796f\_2008 наблюдали аланин вместо валина или метионина.

По предсказанным аминокислотным последовательностям исследуемые изоляты отличаются от референсных штаммов и других изолятов на 3–4%. Между собой исследуемые изоляты различаются на 0,3–0,8%, а от других изолятов из Тверской области отличаются на 0,5–1,4%.

### Обсуждение

Эпизоотологическое исследование бешенства на территории Тверской области в период с 2013 по май 2017 г.

Как следует из данных эпизоотологической статистики, наибольшее число случаев бешенства в Тверской области регистрировалось среди диких животных, а

именно енотовидных собак и лис (51 и 28% соответственно). При этом ситуация по енотовидной собаке в Тверской области в значительной степени отличается от наблюдаемых процессов на всех других территориях страны и является важной эпизоотологической особенностью. Широкое распространение бешенство енотовидных собак получило в целом ряде регионов европейской части страны, и дополнительно к Тверской области такие случаи часто регистрируются в Ярославской, Московской областях, в несколько меньшей степени – в Брянской, Смоленской, Кировской областях. Однако только в Тверской области инцидентность среди енотовидных собак почти в 2 раза превышает таковую лисьего бешенства. В данном случае возникает очень важный вопрос: является ли енотовидная собака резервуаром природного бешенства или выступает в качестве очень активного амплификатора вируса лисьего экотипа

без возможности длительного сохранения его в своей популяции? Енотовидная собака в условиях холодной зимы нередко впадает в спячку, что может служить сильным препятствием для непрерывной циркуляции вируса в зоне природного очага или, наоборот, обеспечивать длительное сохранение хронизированной инфекции в течение неблагоприятного периода (так называемое «перезимовывание» инфекции). Однако по данным ветеринарной отчетности, за весь исследуемый период случаи бешенства у енотовидной собаки выявлялись круглый год, причём в зимние месяцы показатель инцидентности был значительно выше регистрируемой заболеваемости в летний период.

Анализ полученных данных показывает, что в условиях Тверской области енотовидная собака выступает в роли вида-индикатора, активно отражая циркуляцию вируса бешенства в дикой природе. Поэтому пока нельзя точно определить, произошла ли сукцессия природного очага с заменой вида-резерванта, и не исключено, что лисица остаётся истинным стимулятором эпизоотических волн в этом регионе, а енотовидная собака только обеспечивает их индикацию. В целом независимо от роли енотовидной собаки в эпизоотической цепи любое планирование и проведение профилактических вакцинаций в дикой природе должны проводиться с обязательным учётом ее биологии и поведенческих особенностей. Одновременно для Тверской и Ярославской областей успешность борьбы с бешенством будет напрямую зависеть от интенсивности проведения программ по регулированию численности популяций диких псовых обоих видов.

Как видно из графика сезонности (см. рис. 3), наиболее благоприятным периодом года являются июнь – август, что связано с наименьшей мобильностью диких плотоядных в это время. В связи с этим началом эпизоотологического цикла бешенства условно можно считать начало лета, и более рациональным, по мнению авторов данной статьи, будет построение графиков и нозологических карт, затрагивающих периоды с июня по май.

Кроме сезонных подъёмов, эпизоотиям природного бешенства присущи периоды циклических подъёмов

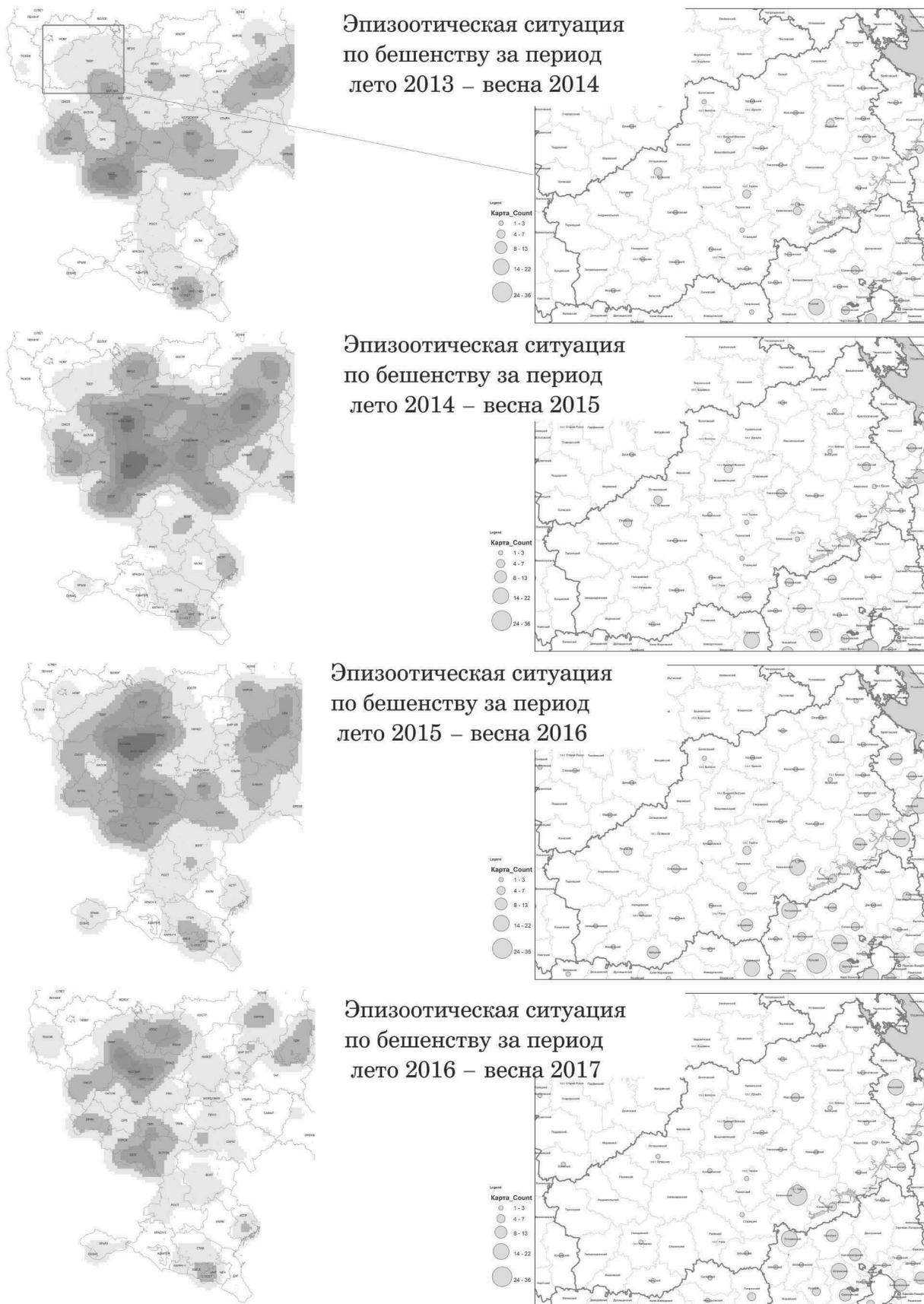


Рис. 4. Карты распределения вспышек бешенства животных по районам Тверской области в сравнении с картами плотности вспышек бешенства на европейской части Российской Федерации за период с июня 2013 г. по май 2017 г. (ГИС-проект ВИЭВ).

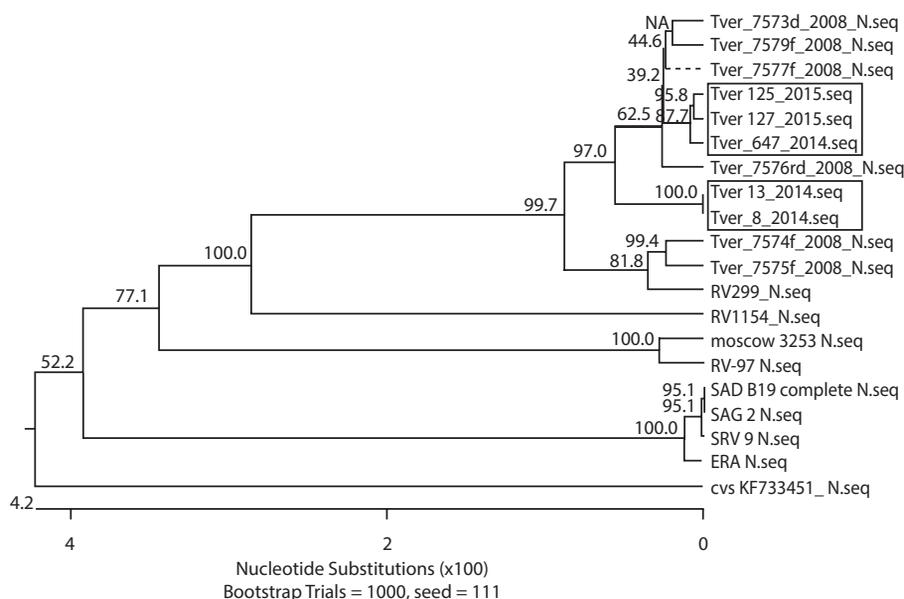


Рис. 5. Филогенетическая дендрограмма, полученная на основании данных о первичной структуре гена *N* вируса бешенства.

и спадов, затрагивающих несколько лет (см. рис. 1). В рассматриваемом временном отрезке январь 2013 г. – май 2017 г. Тверская область была вовлечена в сильный эпизоотический подъём бешенства 2014 – 2015 гг. на европейской части страны.

Анализ в ГИС особенностей распределения бешенства на европейской части позволяет выделить несколько территориальных кластеров со своими ядрами, почти сливающимися в годы максимального подъёма и более отчётливо определяющимися в периоды относительного улучшения эпизоотической ситуации. Наличие кластеризации ареала бешенства подтверждается ранее проводимыми исследованиями антигенного и генетического разнообразия полевых изолятов вируса, полученных из разных регионов страны [4, 7, 11, 14–16, 20, 24].

Филогенетический анализ изолятов вируса бешенства, выделенных на территории Тверской области

Было проведено молекулярно-генетическое исследование 5 образцов (очищенных ПЦР-продуктов), содержащих нуклеопротеин вируса бешенства. Благодаря применению моноклональных антител с 70-х годов XX века стали возможными изучение разнообразия антигенной структуры лиссавирусов, идентификация серотипов и антигенных вариантов вируса бешенства. В результате многих исследований штаммы и изоляты вируса бешенства, выделенные на территории России и ближнего зарубежья, были разделены на несколько групп: Евразийскую, Кавказскую, Северо-Европейскую (Северо-Восточно-Европейскую), Центральную и Арктическую. В соответствии с данными литературы характерной особенностью Центральной группы является наличие в позиции 217 нуклеопротеина остатка валина, в то время как у всех представителей других филогенетических групп из России в этой позиции имеется остаток изолейцина [4, 7, 11, 14–16, 20, 24].

Было установлено по аминокислотному составу, что на заданном участке генома исследуемые изоляты отличаются от референсных штаммов и других изолятов на 3–4%, а между собой – на 0,3–0,8%, от других

изолятов из Тверской области – на 0,5–1,4%. Так, изоляты Tver\_8\_2014 и Tver\_13\_2014 на заданном участке генома практически идентичны по отношению друг к другу, как и изоляты Tver\_127\_2015 и Tver\_647\_2014. Существенные различия наблюдаются при сравнении с вакцинными штаммами. Изолят RV 299, выделенный в Туле, филогенетически близок к изолятам из Тверской области, образуя вместе с ними отдельный кластер на дендрограмме и имея в позиции 217 характерную для Центральной группы замену изолейцина на валин.

В ходе предыдущих исследований было неоднократно показано, что изоляты вируса бешенства, выделенные на одной территории или близлежащих территориях, генетически наиболее близки и имеют характерные молекулярные отличия. Были выявлены «маркерные» замены в последовательностях аминокислот нуклеопротеина, позволяющие предположить принадлежность изолята к той или иной группе вируса бешенства [14, 20, 27].

## Выводы

Анализ эпизоотологических особенностей распространения бешенства в Тверской области позволяет сделать ряд выводов.

Бешенство животных в области регулярно регистрировалось на протяжении последних 25 лет, что на основании данных о видовом составе заболевших, характерной сезонности и цикличности позволяет говорить о наличии в регионе непрерывной эпизоотии природно-очагового типа.

К уникальной особенности течения эпизоотии бешенства в Тверской области можно отнести превалирование случаев болезни среди енотовидных собак, что в обязательном порядке необходимо учитывать при планировании и проведении противоэпизоотических мероприятий.

Пространственный анализ распространённости бешенства на европейской территории РФ в ГИС позволяет провести кластеризацию ареала болезни, которая объединяет Тверскую область с соседними регионами в одну территориальную группу.

Проведённый филогенетический анализ полевых изолятов вируса бешенства, выделенных на территории Тверской области, позволяет сделать заключение об их значительном родстве и отнести к Центральной филогенетической группе. Это подтверждает предположение о продвижении эпизоотических волн на ограниченной территории – внутри одного территориального кластера.

Выделение в Тульской области изолята, филогенетически близкого к изолятам Тверской области, указывает на возможность вирусного обмена между Тверской, Московской и Тульской областями, входящими в один территориальный кластер. Косвенно на межрегиональное влияние указывает смещение фокуса неблагополучия на пограничные районы Тверской и Московской областей.

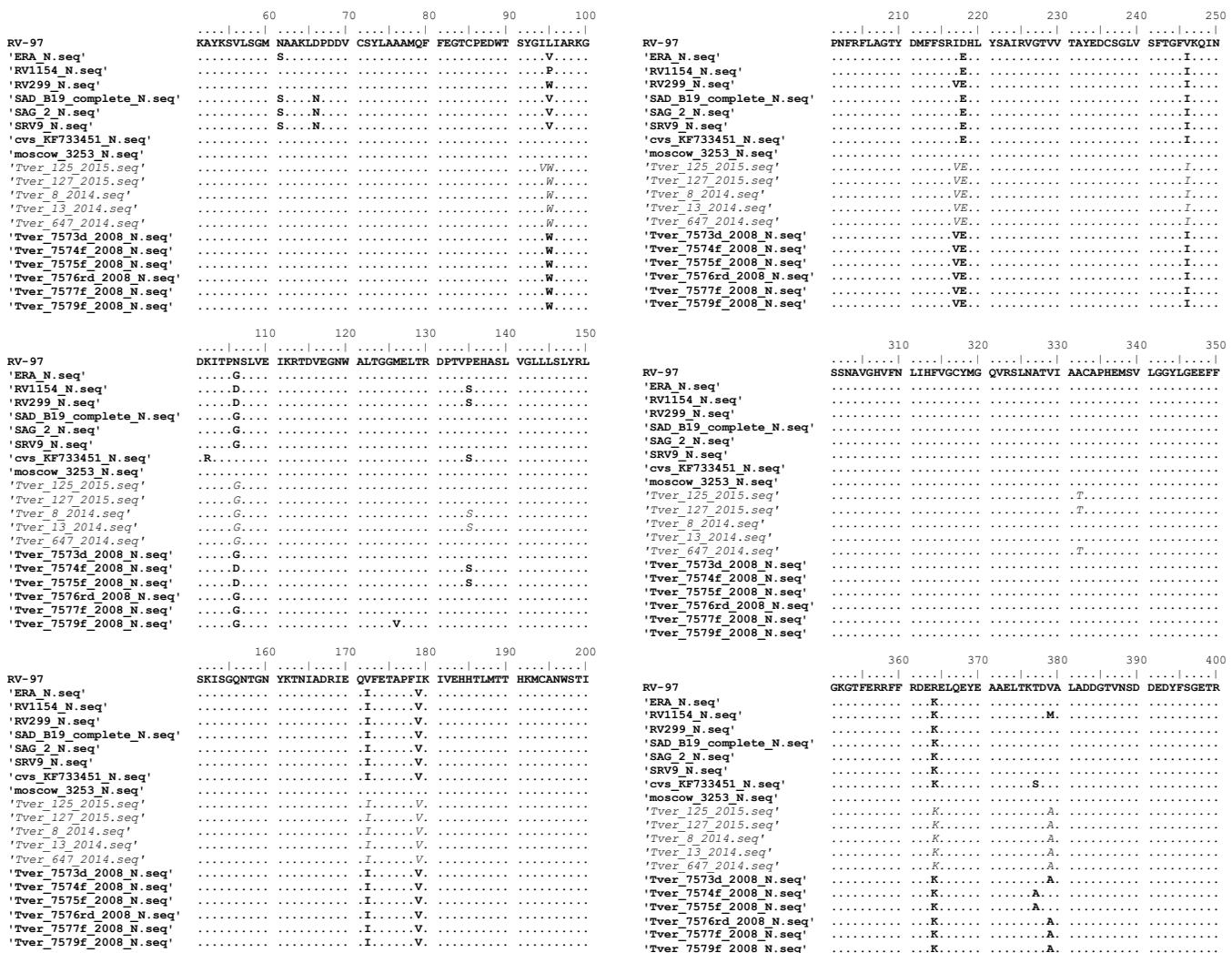


Рис. 6. Предсказанные последовательности аминокислот исследуемых изолятов в сравнении с некоторыми ранее охарактеризованными и референсными штаммами вируса бешенства.

Данные сопряжённого геоинформационного и филогенетического анализа позволили выявить признаки топо- и типологического единства эпизоотического процесса в реальных границах неблагополучного территориального кластера. На основании этого можно сделать предположение, что территориальный кластер в Тверской и сопредельных областях является самостоятельным природным очагом бешенства в соответствии с канонами учения о природной очаговости инфекций [12, 15].

Исходя из вышесказанного можно рекомендовать планирование и проведение всех противоэпизоотических мероприятий исключительно на основе межрегиональной координации с учётом структуры территориальных кластеров ареала болезни. Отсутствие чёткой координации в настоящий момент с большой вероятностью является одной из причин слабых успехов проводимой оральной иммунизации диких плотоядных.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность сотрудникам Всероссийского НИИ защиты животных М.И. Шульпину и С.А. Чупину.

**Финансирование.** Поддержка исследования осуществлялась с помощью государственного бюджета.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**ЛИТЕРАТУРА (п.п. 8, 9, 24, 25, 29, 34, 35 см. REFERENCES)**

1. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Березина Е.С. *Бешенство в Российской Федерации. Информационно-аналитический бюллетень*. Омск; 2013.
2. Гулюкин А.М. Значимость современных методов лабораторной диагностики и идентификации возбудителя бешенства для иммунологического мониторинга данного зооноза. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(3): 5-10.
3. Кучерук В.В., Росицкий Б.К. Природная очаговость инфекций – основные термины и понятия. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1984; 2: 7-16.
4. Макаров В.В., Гулюкин А.М., Гулюкин М.И. Бешенство: естественная история на рубеже столетий. М.: ЗооВетКнига; 2015.
5. Хисматуллина Н.А., Гулюкин А.М., Гулюкин М.И., Иванов А.В., Сабирова В.В., Южаков А.Г. и др. Два случая гидрофобии в Республике Татарстан: прижизненная и постморальная лабораторная диагностика. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(2):18-24.
6. Хисматуллина Н.А., Гулюкин А.М., Шуралев Э.А., Хаертынов К.С., Чернов А.Н., Филимонова М.Н. и др. Ускоренный метод диагностики бешенства в культуре клеток невринуы гассерова узла крысы (НГУК-1). *Гены и клетки*. 2014; 9(3): 276-80.

7. Шабейкин А.А., Гулюкин А.М., Цареградский П.Ю., Паршикова А.В., Южаков А.Г., Зайкова О.Н. Анализ текущей эпизоотической ситуации по бешенству на территории Российской Федерации. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2015; (4): 5-7.
10. Esri: Программное обеспечение для ГИС-картографии, платформа для позиционирования и аналитики пространственных данных. Available at: <http://www.esri.com>
11. Ботвинкин А.Д., Кузьмин И.В., Хисматуллина Н.А. Итоги изучения антигенного разнообразия вируса бешенства на территории бывшего СССР. *Ветеринарная патология*. 2004; (3): 117-27.
12. Ведерников В.А., Шабейкин А.А., Харкевич А.А., Гулюкин А.М. Обзор эпизоотической ситуации бешенства в РФ в 2000 и прогноз на 2001 год. *Ветеринарная патология*. 2002; (1): 52-8.
13. Ведерников В.А., Гулюкин А.М., Седов В.А., Землянова В.Е., Пыталев П.Н., Коломыцев С.А. Особенности современного этапа эволюции эпизоотического процесса бешенства. В кн.: *Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными и экзотическими болезнями животных. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ВНИИВиМ*. Покров; 1998: 153-6.
14. Девяткин А.А., Лукашев А.Н., Полещук Е.М., Ткачев С.Е., Дедков В.Г., Сидоров Г.Н. и др. Молекулярная эпидемиология вируса бешенства на территории Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 16(1): 39-42.
15. Зайкова О.Н., Гребенникова Т.В., Елаков А.Л., Кочергин-Никитский К.С., Алипер Т.И., Чучалин С.Ф. и др. Молекулярно-генетическая характеристика геномов полевых изолятов вируса бешенства, циркулирующих на территории Кировской области. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61(4): 186-92.
16. Иванов А.В., Хисматуллина Н.А., Гулюкин А.М. Эпизоотологический и иммунологический надзор за бешенством. *Ветеринарный врач*. 2010; (4): 3-6.
17. Макаров В.В., Сухарев О.И., Гулюкин А.М., Боев Б.В. Бешенство в Восточной Европе: актуальный вектор развития эпизоотического процесса. *Вестник Россельхозакадемии*. 2008; (4): 58-60.
18. Макаров В.В., Сухарев О.И., Гулюкин А.М., Соколов М.Н., Литвинов О.Б. Бешенство енотовидных собак: статистический анализ заболеваемости. *Ветеринария*. 2009; (6): 20-5.
19. Хисматуллина Н.А., Гулюкин А.М., Кулакова С.Р., Амирова И.В. Совершенствование мер борьбы с бешенством в Смоленской области. *Ветеринария*. 2011; (4): 24-7.
20. Чупин С.А., Чернышова Е.В., Метлин А.Е. Генетическая характеристика полевых изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Российской Федерации в период 2008–2011 гг. *Вопросы вирусологии*. 2013; 58(4): 44-9.
21. Шабейкин А.А., Гулюкин А.М., Паршикова А.В. Анализ закономерностей эпизоотического процесса бешенства на территории европейской части Российской Федерации. *Ветеринария и кормление*. 2015; (1): 29-34.
22. Шабейкин А.А., Зайкова О.Н., Гулюкин А.М. Обзор эпизоотической ситуации по бешенству в Российской Федерации за период с 1991 по 2015 годы. *Ветеринария Кубани*. 2016; (4): 4-6.
23. Nerwijn R.V., Шабейкин А.А., Гулюкин А.М., Хисматуллина В.А., Цареградский П.Ю., Паршикова А.В. Обзор эпизоотической ситуации бешенства, сложившейся в Российской Федерации в 2014 году. *Ветеринария и кормление*. 2015; (2): 19-23.
26. Зайкова О.Н., Гребенникова Т.В., Гулюкин А.М., Шабейкин А.А., Полякова И.В., Метлин А.Е. Молекулярно-генетическая характеристика полевых изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Владимирской, Московской, Тверской, Нижегородской и Рязанской областей. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62(3): 101-8.
27. Шабейкин А.А., Зайкова О.Н., Паршикова А.В., Южаков А.Г. Использование ГИС-технологий при оценке рисков в эпизоотологическом исследовании. В кн.: *«Научные перспективы XXI века. Достижения и перспективы нового столетия». Сборник трудов X Международной практической конференции*. Новосибирск; 2015: 50-4.
28. Шабейкин А.А., Гулюкин А.М., Хисматуллина Н.А. Опыт использования ГИС-технологий при оценке рисков в эпизоотологическом исследовании. В кн.: *Труды V Международного ветеринарного конгресса*. М.; 2015: 250-2.
30. Иванов А.В., Хисматуллина Н.А., Петрова Т.П., Гулюкин А.М., Шабейкин А.А., Каримов М.М. и др. Эпизоотическая ситуация и борьба с бешенством в Калининградской области. *Ветеринария*. 2015; (4): 9-13.
31. Макаров В.В., Сухарев О.И., Гулюкин А.М., Литвинов А.Б. Тенденции распространения бешенства в Восточной Европе. *Ветеринария*. 2008; (8): 20-2.
32. Хисматуллина Н.А., Петрова Т.П., Гулюкин А.М., Сабирова В.В., Гафарова А.З., Насыров Ш.М. и др. Контроль эффективности вакцинопрофилактики бешенства дикой фауны на территории Калининградской области РФ. *Ветеринарный врач*. 2012; (6): 8-11.
33. Гулюкин А.М., Шабейкин А.А., Белименко В.В. Эпизоотологические геоинформационные системы. Возможности и перспективы. *Ветеринария*. 2016; (7): 21-4.

## REFERENCES

1. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Berezina E.S. Rabies in the Russian Federation. *Informatsionno-analiticheskiy byulleten'*. Omsk; 2013. (in Russian)
2. Gulyukin A.M. The importance of modern methods of laboratory diagnosis and identification of a rabies pathogen for immunological monitoring of this zoonosis. *Voprosy virusologii*. 2014; 59(3): 5-10. (in Russian)
3. Kucheruk V.V., Rositskiy B.K. Natural focality of infections - the main terms and concepts. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 1984; 2: 7-16. (in Russian)
4. Makarov V.V., Gulyukin A.M., Gulyukin M.I. Rabies: A Natural History at the Turn of the Century [Beshenstvo: estestvennaya istoriya na rubezhe stoletiy]. Moscow: ZooVetKniga; 2015. (in Russian)
5. Khismatullina N.A., Gulyukin A.M., Gulyukin M.I., Ivanov A.V., Sabirova V.V., Yuzhakov A.G., et al. Two cases of hydrophobia in the Republic of Tatarstan: intravital and postmortem laboratory diagnostics. *Voprosy virusologii*. 2015; 60(2): 18-24. (in Russian)
6. Khismatullina N.A., Gulyukin A.M., Shuralev E.A., Khaertynov K.S., Chernov A.N., Filimonova M.N., et al. Accelerated method of diagnosing rabies in the culture of neuroinoma cells of the Gasser node of the rat (NGUK-1). *Geny i kletki*. 2014; 9(3): 276-80. (in Russian)
7. Shabaykin A.A., Gulyukin A.M., Tsaregradskiy P.Yu., Parshikova A.V., Yuzhakov A.G., Zaykova O.N. Analysis of the current epizootic situation of rabies in the territory of the Russian Federation. *Russian Veterinary Journal. Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Sel'skokhozyaystvennye zhivotnye*. 2015; (4): 5-7. (in Russian)
8. Vedernikov V.A., Sedov V.A., Pitalev P.N., Semljanova V.E., Gulyukin A.M. Rabies in individual countries (Russia, European part only). *Rabies Bulletin Europe*. 1998; 22(4): 9-10.
9. Vedernikov V.A., Sedov V.A., Baldina I.V., Gulyukin A.M., Troizkaya E.G., Cherkassky B.L., et al. Summary of Rabies in the Russian Federation. Particularities of the Present Situation. *Rabies Bulletin Europe*. 1999; 23(4): 13-5.
10. Esri: GIS Mapping Software, Spatial Data Analytics & Location Platform. Available at: <http://www.esri.com>
11. Botvinkin A.D., Kuz'min I.V., Khismatullina N.A. Results of the study of the antigenic diversity of the rabies virus in the territory of the former USSR. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; (3): 117-27. (in Russian)
12. Vedernikov V.A., Shabaykin A.A., Kharkevich A.A., Gulyukin A.M. Overview of the epizootic situation of rabies in Russia in 2000 and the forecast for 2001. *Veterinarnaya patologiya*. 2002; (1): 52-8. (in Russian)
13. Vedernikov V.A., Gulyukin A.M., Sedov V.A., Zemlyanova V.E., Pytalev P.N., Kolomytsev S.A. Features of the modern stage of the evolution of the epizootic process of rabies. In: *Diagnosis, Prevention and Control Measures for Especially Dangerous and Exotic Animal Diseases. Materials of the International Scientific and Practical Conference, Dedicated to the 40th Anniversary of VNIIViM [Diagnostika, profilaktika i mery bor'by s osobo opasnymi i ekzoticheskimi boleznyami zhivotnykh. Materialy Mezhduнародной nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 40-letiyu VNIIViM]*. Pokrov; 1998: 153-6. (in Russian)
14. Devyatkin A.A., Lukashev A.N., Poleshchuk E.M., Tkachev S.E., Dedkov V.G., Sidorov G.N., et al. Molecular epidemiology of the rabies virus in the territory of the Russian Federation. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2017; 16(1): 39-42. (in Russian)
15. Zaykova O.N., Grebennikova T.V., Elakov A.L., Kochergin-Nikitskiy K.S., Aliper T.I., Chuchalin S.F., et al. Molecular genetic characteristics of genomes of field isolates of the rabies virus circulating in the Kirov region. *Voprosy virusologii*. 2016; 61(4): 186-92. (in Russian)
16. Ivanov A.V., Khismatullina N.A., Gulyukin A.M. Epizootological and immunological surveillance of rabies. *Veterinarnyy vrach*. 2010; (4): 3-6. (in Russian)
17. Makarov V.V., Sukharev O.I., Gulyukin A.M., Boev B.V. Rabies in Eastern Europe: an actual vector of the development of the epizootic process. *Vestnik Rossel'khozakademii*. 2008; (4): 58-60. (in Russian)
18. Makarov V.V., Sukharev O.I., Gulyukin A.M., Sokolov M.N., Litvinov O.B. Rabies of raccoon dogs: statistical analysis of morbidity. *Veterinariya*. 2009; (6): 20-5. (in Russian)

19. Khismatullina N.A., Gulyukin A.M., Kulakova S.R., Amirova I.V. Improvement of measures to combat rabies in the Smolensk region. *Veterinariya*. 2011; (4): 24-7. (in Russian)
20. Chupin S.A., Chernyshova E.V., Metlin A.E. Genetic characteristics of field isolates of the rabies virus, detected on the territory of the Russian Federation in the period 2008-2011. *Voprosy virusologii*. 2013; 58(4): 44-9. (in Russian)
21. Shabeykin A.A., Gulyukin A.M., Parshikova A.V. Analysis of patterns of epizootic rabies in the European part of the Russian Federation. *Veterinariya i kormlenie*. 2015; (1): 29-34. (in Russian)
22. Shabeykin A.A., Zaykova O.N., Gulyukin A.M. Overview of the epizootic situation of rabies in the Russian Federation for the period from 1991 to 2015. *Veterinariya Kubani*. 2016; (4): 4-6. (in Russian)
23. Herwijnen R.V., Shabeykin A.A., Gulyukin A.M., Khismatullina V.A., Tsaregradskiy P.Yu., Parshikova A.V. Overview of the epizootic situation of rabies that has developed in the Russian Federation in 2014. *Veterinariya i kormlenie*. 2015; (2): 19-23. (in Russian)
24. Shabeykin A.A., Gulyukin A.M. Overview of the epizootic situation on rabies for 2015 in the Russian Federation. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2016; 56(8): 57-66.
25. Svotina, M.A., Absatirov G.G., Shalmenov M.Sh., Sidorchuk A.A., Gulyukin A.M. Epizootiological characteristics of animal rabies in the West Kazakhstan region. *Biology and Medicine*. 2015; 7(5): 152.
26. Zaykova O.N., Grebennikova T.V., Gulyukin A.M., Shabeykin A.A., Polyakova I.V., Metlin A.E. Molecular-genetic characteristics of field isolates of the rabies virus, found in the Vladimir, Moscow, Tver, Nizhny Novgorod and Ryazan regions. *Voprosy virusologii*. 2017; 62(3): 101-8. (in Russian)
27. Shabeykin A.A., Zaykova O.N., Parshikova A.V., Yuzhakov A.G. Ispol'zovanie GIS-tehnologii pri otsenke riskov v epizootologicheskom issledovanii. In: «Scientific Perspectives of the XXI Century. Achievements and Prospects of the New Century». *Proceedings of the X International Practical Conference [«Nauchnye perspektivy XXI veka. Dostizheniya i perspektivy novogo stoletiya»]*. Sbornik trudov X Mezhdunarodnoy prakticheskoy konferentsii]. Novosibirsk; 2015: 50-4. (in Russian)
28. Shabeykin A.A., Gulyukin A.M., Khismatullina N.A. Experience in the use of GIS technologies in risk assessment in an epizootic study. In: *Proceedings of the V International Veterinary Congress [Trudy V Mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa]*. Moscow; 2015: 250-2. (in Russian)
29. Gulyukin A.M., Smolyaninov Y.I., Shabeykin A.A. The economic damage caused by Rabies of agricultural animals in Russia. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2016; 56(8): 34-8.
30. Ivanov A.V., Khismatullina N.A., Petrova T.P., Gulyukin A.M., Shabeykin A.A., Karimov M.M., et al. The epizootic situation and the fight against rabies in the Kaliningrad region. *Veterinariya*. 2015; (4): 9-13. (in Russian)
31. Makarov, V.V., Sukharev O.I., Gulyukin A.M., Litvinov A.B. Trends in the spread of rabies in Eastern Europe. *Veterinariya*. 2008; (8): 20-2. (in Russian)
32. Khismatullina N.A., Petrova T.P., Gulyukin A.M., Sabirova V.V., Gafarova A.Z., Nasyrov Sh.M., et al. Control of the effectiveness of vaccine prophylaxis for rabies in wild fauna in the Kaliningrad region of the Russian Federation. *Veterinarnyy vrach*. 2012; (6): 8-11. (in Russian)
33. Gulyukin A.M., Shabeykin A.A., Belimenko V.V. Epizootological geoinformation systems. Opportunities and prospects. *Veterinariya*. 2016; (7): 21-4. (in Russian)
34. Belimenko V.V., Gulyukin A.M. Prospects for the use of Geographic Information Systems for risk-based monitoring of natural focal diseases of animals and humans. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2016; 56(8): 22-5.
35. Belimenko V.V., Gulyukin A.M., Novosad E.V., Shabeikin A.A. Prospects of application of geoinformational systems for veterinary geology. In: *Conference Materials of 7th International Conference on Medical Geology — Medgeo*. Moscow; 2017: 61-2.

Поступила 10.12.17

Принята в печать 12.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 615.31:547.918].03:616.921.5+616.98:578.828.6]=092:612.017.1.064

**Криворутченко Ю.Л.<sup>1</sup>, Носик Д.Н.<sup>2</sup>, Малыгина В.Ю.<sup>1</sup>, Лобач О.А.<sup>2</sup>, Андроновская И.Б.<sup>1</sup>, Курсанова М.А.<sup>1</sup>, Гришковиц В.И.<sup>1</sup>**

## ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТРИТЕРПЕНОВОГО САПОНИНА ТАУРОЗИДА Sx1 И ЕГО ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ВИЧ-1 И ГРИППОЗНУЮ ИНФЕКЦИЮ У МЫШЕЙ

<sup>1</sup> Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» Минобрнауки России, 295051, г. Симферополь, Крым;

<sup>2</sup> Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Тритерпеновый сапонин таурозид Sx1, полученный из листьев плюща крымского *Hedera taurica* Carr. (семейство Araliaceae), был исследован в плане его цитотоксической активности в отношении линий лимфобластоидных клеток MT-4, Jurkat-tat, U937 и моноцитов периферической крови человека. Также была проведена оценка способности сапонина влиять на репликацию ВИЧ-1 *in vitro*. Кроме того, была изучена способность таурозид Sx1 увеличивать выживаемость мышей, зараженных вирусом гриппа A/WSN/1/33(H1N1), и усиливать иммунный ответ животных, иммунизированных коммерческой гриппозной вакциной Гриппол®. Показано, что таурозид Sx1 наполовину подавляет жизнедеятельность клеток линии MT-4 в концентрации 25 мкг/мл, ИК<sub>50</sub> 33,3 микроМоль/л (50% ингибирующая концентрация, метилтетразолиевый тест). В концентрации 5 мкг/мл он не проявлял токсических свойств по отношению ко всем исследованным линиям клеток и умеренно ингибировал продукцию р24 ВИЧ в клетках линии Jurkat-tat. В меньших концентрациях таурозид Sx1 также не стимулировал продукцию р24 ВИЧ. Было установлено, что пероральное введение 200 мкг таурозид Sx1 мышам, инфицированным вирусом гриппа, вызывает 1,5-кратное увеличение их выживаемости по сравнению с выживаемостью зараженных мышей в контроле. Пероральное введение сапонина усиливало иммунопотенцирующее действие субъединичной гриппозной вакцины, вводимой внутримышечно. Продукция антител была значительно выше у животных, получавших таурозид Sx1 перорально после первичной или повторной иммунизации. У вакцинированных

**Для корреспонденции:** Лобач Ольга Александровна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусов иммунодефицита Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», 123098, г. Москва. E-mail: victoriola@yandex.ru