

## АЛЕУТСКАЯ БОЛЕЗНЬ НОРОК: ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

А.А. СУХИНИН<sup>1</sup>, М.М. ГУМБЕРИДЗЕ<sup>1</sup> ✉, С.А. МАКАВЧИК<sup>1</sup>,  
Б.А. НИКОНОВ<sup>1</sup>, В.И. ГУСЕВ<sup>2</sup>, И.В. ЕВСЕГНЕЕВА<sup>2</sup>, Г.П. БЕККЕР<sup>2</sup>

Алеутская болезнь норок — одна из значимых проблем пушного звероводства, поскольку наносит колоссальные убытки отрасли вследствие массовой гибели животных из-за отсутствия эффективных средств лечения и профилактики. В настоящей работе впервые показана эффективность противовирусного средства на основе аллоферона Аллокин-альфа при Алеутской болезни норок, разработана действенная схема применения препарата, установлены различия клинических признаков, биохимического состава крови, морфологических изменений внутренних органов в сравнении у групп животных с использованием пептида и без него. Целью работы была оценка эффективности использования препарата Аллокина-альфа при Алеутской болезни норок, а также выявление возможности применения препарата в качестве средства иммунной коррекции, обеспечивающего поддержание состояния больных норок. Исследования проводили в период с мая по декабрь 2019 года в одном из звероводческих хозяйств Северо-Западного региона Российской Федерации на 30-суточных норках (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир. Было отобрано 60 норок (50 самок и 10 самцов). Эксперименты выполняли с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Всем особям вводили внутривентриально 2 см<sup>3</sup> культурального изолята Сапфир вируса Алеутской болезни норок. Затем животных разделили на две группы (контрольная и опытная) по 30 особей (25 самок и 5 самцов) каждая. Норкам опытной группы вводили препарат Аллокин-альфа в виде подкожных инъекций 2-кратно с интервалом 6 сут в дозе 0,5 мг/гол. Норкам контрольной группы подкожно вводили стерильный физиологический раствор (0,9 % NaCl) в том же дозировании. Состояние обеих групп норок оценивали по клиническим, лабораторным и хозяйственным показателям в течение 6 мес. Учитывали подвижность, координацию движений, аппетит, окраску слизистых оболочек, состояние шерсти, реакцию на внешние раздражители. Ежедневно проверяли сохранность животных в обеих группах, а также взвешивали всех норок в начале каждого месяца. Биохимические показатели крови определяли через 1, 3 и 6 мес. Проводили макроскопические, микроскопические и химические исследования фекалий через 3 сут после повторного введения препарата Аллокин-альфа. Морфологическое исследование органов осуществляли в конце эксперимента. Всех животных подвергали диагностическому убою, извлекали почки, селезенку, яичники у самок и семенники у самцов. Фиксированный материал высушивали и заливали в парафин. Срезы толщиной 5-7 мкм изготавливали на микротоме, приклеивали к стеклам и окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты просматривали под микроскопом (ЛОМО Микромед-5, ОАО «ЛОМО», Россия). Установлено, что норки в опытной группе имели крепкое и пропорциональное телосложение, животные были очень подвижны и живо реагировали на внешние раздражители, тогда как в контрольной группе наблюдали сниженную реакцию, вялость и сонливость. Помимо прочего, у норок в опытной группе нормализовались процессы пищеварения. Средняя масса самок, получавших Аллокин-альфа, была выше на 19,7 %, самцов — на 15,6 % в сравнении с контрольными животными. Сохранность поголовья в опытной группе составила 100 %, в контрольной — 80 %. В крови у контрольных особей отмечали высокое содержание мочевины (84,05±4,22 ммоль/л), креатинина (142,06±2,62 мкмоль/л) и активность трансаминаз (аланинаминотрансферазы, АЛТ — 273,60±5,84 и аспартатаминотрансферазы, АСАТ — 286,60±3,36 МЕ/л) в отличие от норок в опытной группе, где показатели мочевины (9,88±3,88 ммоль/л), креатинина (97,71±1,47 мкмоль/л), АЛТ (130,73±4,43 МЕ/л) и АСАТ (184,88±3,22 МЕ/л) были значительно ниже. Исследование продуктов пищеварения показало, что применение Аллокина-альфа вызвало снижение рН с 8,7±0,25 до 6,8±0,18. Мы не выявили клеток кишечного эпителия, пигментов крови, присутствия растворимого белка в фекалиях норок из опытной группы в отличие от контрольной, что указывает на общую нормализацию процесса пищеварения. Морфологическое исследование внутренних органов подтвердило наличие признаков, характерных для гломерулонефрита, и очагов лимфоплазмозитарной инфильтрации в почках, селезенке, печени, яичниках самок и семенниках самцов, однако характер этих изменений в опытной группе был гораздо менее выражен, чем в контрольной. Полученные данные свидетельствуют, что применение Аллокина-альфа по предложенной схеме положительно сказывается на симптоматике у больных Алеутской болезнью норок, ведет к уменьшению потерь, повышению прироста живой массы и значительному снижению убытков от болезни.

Ключевые слова: Алеутская болезнь норок, вирусный плазмозитоз, Аллокин-альфа, аллоферон, иммунокорректор.

Алеутская болезнь норок в настоящее время продолжает оставаться серьезной проблемой для промышленного звероводства (1, 2). Принимая форму эпизоотии, болезнь наносит значительный экономический ущерб отрасли за счет высокой смертности норок, ухудшения качества пушнины и падежа молодняка (3). Важный фактор в эпизоотологии этой вирусной патологии — отсутствие специфических средств лечения больных животных, в результате чего болезнь получила широкое распространение по всему миру (4, 5), в том числе в Российской Федерации (6). Так, в период с 1990 по 2000 года в нашей стране прекратили свое существование около 50 % зверосовхозов, часть из которых были ликвидированы в связи со 100 % поражением основного поголовья норок Алеутской болезнью (7). В настоящее время на территории России болезнь встречается во многих областях, поражая в некоторых звероводческих хозяйствах до 70 % поголовья (8).

Возбудитель болезни — вирус семейства *Parvoviridae* (9, 10) способен бессимптомно персистировать в организме животного, вызывая хроническое течение болезни, обусловленное антителозависимым усилением (11, 12). Объясняется это тем, что при фагоцитозе комплекса антиген-антитело не происходит деградации возбудителя. Фагирующая клетка мигрирует от входных ворот инфекции в печень, где разрушается. Неповрежденный вирус инфицирует гепатоциты и происходит генерализация инфекции. Кроме того, вирус подавляет активность дендритных клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов. В-лимфоциты, напротив, проявляют высокую активность и в процессе антигензависимой бласттрансформации развиваются до плазматических клеток, которые в избыточных количествах производят антитела (13). Проявляется это в виде гипергаммаглобулинемии, плазмацитоза и пожизненного присутствия вируса в составе инфекционных иммунных комплексов (14-16).

Болеют норки всех цветных вариантов в любом возрасте, но наиболее уязвимы алеутская голубая и сапфировая (17). Источником инфекции становятся переболевшие животные, выделяющие вирус с мочой, калом и слюной (18, 19). Заражение, как правило, происходит во время спаривания, реже аэрогенным или алиментарным путем. Вначале заболевание протекает бессимптомно. По мере накопления больных животных и развития патологических изменений, а также действия стрессорных факторов процесс приобретает характер эпизоотии. В этом случае может отмечаться значительный отход животных (70-80 % от заболевших).

Патологоанатомические признаки заболевания ярко выражены. Почки значительно увеличиваются в размере, приобретают светло-оранжевый цвет, с множественными белесоватыми участками, капсула легко отделяется, в паренхиме большое количество звездчатых кровоизлияний (20). Кровоизлияния также отмечаются в слизистой желудка и кишечника, печень приобретает красный цвет, отекает, увеличена, наблюдается спленомегалия. Гистологически во всех органах обнаруживается периартериит, а ткани органов инфильтрированы большим количеством плазмоцитов (21).

Учитывая вышеописанные особенности патогенеза, можно предположить, что для успешного лечения вирусного плазмоцитоза необходима коррекция иммунного статуса с целью повышения эффективности фагоцитоза, цитотоксичности Т-лимфоцитов и активности дендритных клеток.

В последние годы опубликовано много исследований о том, что олигопептиды насекомых и животных играют важную роль в регуляции врожденного иммунитета хозяина при инвазии патогенных микроорганизмов,

поскольку способствуют продукции цитокинов, которые стимулируют действие Т-цитотоксических клеток и NK-клеток, а также экспрессии в инфицированных клетках молекул главного комплекса гистосовместимости для презентации вирусных пептидов другим клеткам иммунной системы (22). Именно по этой причине одним из вариантов решения поставленной задачи может быть применение противовирусного средства Аллокин-альфа (РУ N002829/01-210610), которое представляет собой линейный олигопептид гистидил-глицил-валил-серил-глицил-гистидил-глицил-глутаминил-гистидил-глицил-валил-гистидил-глицин (аллоферон), первично выделенный профессором С.И. Чернышом из организма насекомых (23).

По своему действию аллоферон способен вызывать индукцию синтеза эндогенных интерферонов, преимущественно IFNG (interferon gamma), а также активацию цитотоксических Т-клеток CD3+HLA-DR+ даже на фоне снижения абсолютного числа CD3+CD8+ клеток, что важно для реализации противовирусного и противоопухолевого ответа (24, 25).

После введения аллоферона млекопитающим и человеку повышается синтез IFNG с ростом его концентрации в цервикальной слизи в 37 раз по сравнению с исходной и в 32 раза — по сравнению с группой контроля (26). IFNG активировал эффекторные функции нейтрофилов, макрофагов, цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров, поскольку у этих клеток есть рецепторы к указанному интерферону. У них усиливается цитотоксичность, микробоцидность, повышается продукция цитокинов, нитрооксидных радикалов, супероксидных радикалов, что приводит к гибели внутриклеточных паразитов, в том числе вирусов (27). Наряду с этим IFNG угнетает противовоспалительный IL4 и В-клеточный ответ, но усиливает продукцию провоспалительного IL2, который стимулирует пролиферацию Т-киллеров (28). IFNG увеличивает экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости как I, так и II классов на разных клетках, причем индуцирует экспрессию молекул даже на тех клетках, которые конститутивно их не экспрессируют. Это приводит к возрастанию эффективности презентации антигенов и распознавания антигенов Т-лимфоцитами и натуральными киллерами.

При использовании аллоферона концентрация IL1В повышалась в 24 раза по сравнению с исходной (26). Этот цитокин способен индуцировать NO-синтазы, тем самым повышая продукцию фагоцитами оксида азота (29), напрямую участвующего в процессах фагоцитоза, в частности деградации антигена. Также наблюдалось увеличение концентрации неспецифической эстеразы в 3,4 раза по сравнению с исходной и в 2,7 раза в сравнение с контролем (26). Рост активности макрофагов иллюстрирует и повышение концентрации миелопероксидазы. Неспецифическая эстераза служит цитоплазматическим ферментом дендритных клеток (30) и Т-киллеров, поэтому можно сделать вывод о пропорциональном повышении их активности.

В комплексном лечении тяжелых дисплазий эпителия шейки матки и рака шейки матки использование аллоферона приводит к значимому снижению иммуносупрессивных белков TGFB и FOXP3, которые блокируют активацию лимфоцитов и макрофагов, а также усиливают ангиогенез в опухоли (24). Следует подчеркнуть, что эти изменения развиваются в местах локализации инфекционного агента или опухолевой ткани, а не системно. Наиболее важный общеиммунный эффект от применения Аллокина-альфа — рост к 12-18-м сут от начала лечения содержания CD4 с 32,8 до 50,54 % и коррекция иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 с 1,16 до 2,00 (30).

Возможность применения Аллокина-альфа в качестве противовирусного средства изучали отечественные ученые при моделировании экспериментальной вирусной инфекции на примере вируса герпеса птицы, где препарат показал высокую эффективность в отношении возбудителя (32). Однако сведений о применении синтетических олигопептидов, в частности препарата Аллокин-альфа в качестве лечебного или профилактического противовирусного средства в пушном звероводстве, в том числе при Алеутской болезни норок, в литературе обнаружить не удалось.

В настоящей работе впервые показана эффективность противовирусного средства на основе аллоферона Аллокин-альфа при Алеутской болезни норок, разработана действенная схема применения препарата, при сравнении групп, получавших и не получавших пептид, установлены различия клинических признаков, биохимического состава крови, морфологических изменений внутренних органов животных.

Целью работы была оценка эффективности использования препарата Аллокина-альфа при Алеутской болезни норок, а также выявление возможности применения препарата в качестве средства иммунной коррекции, обеспечивающего поддержание состояния больных норок.

*Методика.* Исследования проводили в период с мая по декабрь 2019 года в одном из звероводческих хозяйств Северо-Западного региона Российской Федерации на норках (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир 30-суточного возраста с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (33). Для эксперимента отобрали 60 норок (50 самок и 10 самцов). Всем особям внутрибрюшинно вводили культуральный изолят Сапфир вируса Алеутской болезни норок в объеме 2 см<sup>3</sup>. Для подтверждения развития вирусного плазмодитоза животных проверяли на наличие специфических антител в реакции иммуноэлектроосмосфореза (РИЭОФ) по общепринятой методике с использованием сыворотки крови (34). Для реакции брали стеклянные пластины с 0,7 % агаровым гелем. Антигеном служила вирусосодержащая суспензия диагностикума (ТОО «ИМГЕН», Россия). Применяли барбитал-ацетатный буферный раствор (рН 8,6). Электрофорез проводили в течение 30 мин при напряжении 120 В, используя прибор для иммуноэлектрофореза ПЭФ-3 (ОАО «Медлабортехника», Россия). Результаты оценивали визуально по появлению полос преципитации.

В дополнение проводили диагностику при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) для исключения ложноположительных результатов. Для выделения ДНК из проб фекалий применяли коммерческий комплект реагентов АмплиПрайм ДНК-сорб-В (ООО «НекстБио», Россия) согласно инструкции производителя. ПЦР осуществляли с помощью коммерческого набора реагентов для амплификации (Тест-система АБН, ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Амплификацию проводили на амплификаторе Терцик (ООО «НПО ДНК Технология», Россия) в конечном объеме 25 мкл на реакцию с горячим стартом при 95 °С: 5 мин при 95 °С (начальная денатурация); 10 с при 95 °С (денатурация), 10 с при 63 °С (отжиг праймеров), 10 с при 72 °С (полимеризация) (42 цикла); 1 мин при 72 °С (заклучительная полимеризация). Продукты амплификации детектировали методом электрофореза в 2 % агарозном геле TopVision Agarose («Thermo Fisher Scientific», США) с добавлением GelRed («Biotium», США) в 1× ТАЕ буфере (ЗАО «Евроген», Россия) в течение 35 мин при напряжении 85 В. В качестве маркера молекулярных масс использовали DNA Ladder 100 п.н. («Thermo Fisher Scientific», США). Электрофореграммы визуализи-

ровались с использованием трансиллюминатора Cellmager с программным обеспечением Quantity One version 4.6.3 (Basic) («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Результаты проведенной ПЦР-диагностики выявили наличие вируса у зараженных животных.

Выбранных для исследования норок разделили на две группы (контрольную и опытную) по 30 особей (25 самок и 5 самцов) каждая. Всех животных содержали в отдельных клетках, в отдельно стоящих двухрядных шедах, оборудованных водопроводом и электрическим освещением. Для кормления использовали стандартные рационы, норки получали корм один раз в сутки.

Норкам опытной группы подкожно вводили препарат Аллокин-альфа (ЭПМБП ФГБУ «РКНПК» Минздрава России, г. Москва) 2-кратно с интервалом 6 сут в дозе 0,5 мг/гол. Для приготовления раствора содержимое ампулы препарата (1 мг аллоферона) разводили в 1 мл стерильного физиологического раствора (0,9 % NaCl). После разведения препарат инъецировали в кожную складку в области холки. Норкам контрольной группы подкожно вводили стерильный физиологический раствор (0,9 % NaCl) в том же режиме дозирования. Состояние обеих групп норок оценивали по клиническим, лабораторным и хозяйственным показателям в течение 6 мес.

Функциональное состояние животных оценивали клиническими методами. Учитывали подвижность, координацию движений, аппетит, окраску слизистых оболочек, состояние шерсти, реакцию на внешние раздражители, а также живую массу и сохранность. Слизистые оболочки обследовали 1 раз в неделю выборочно у 3-5 норок из каждой группы. Животных фиксировали общепринятыми методами при помощи ловушек и плотных перчаток, тесемками раскрывали ротовую полость и проводили осмотр. Также оценивали качество меха, обращали внимание на положение тела в пространстве и поведение, а после убоя определяли размер шкурок, используя показатели длины тела и обхвата груди. В обеих группах сохранность животных проверяли ежедневно, всех норок взвешивали в начале каждого месяца.

Биохимические показатели крови определяли через 1, 3 и 6 мес. Для отбора материала норок фиксировали в ловушки, выстригали шерсть на кончике хвоста, кожные покровы обрабатывали спиртовым раствором и ножницами отсекали 2-3 мм от кончика хвоста. Кровь по каплям собирали в пластиковые пробирки Improvacuter (Китай) с активатором свертывания крови, в качестве которого выступал кремнезем ( $\text{SiO}_2$ ), напыленный на внутренние стенки пробирки. Пробы доставляли в лабораторию, соблюдая температурный режим хранения (+4 °C). Биохимические исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Idexx Catalist One («IDEXX Drive», США). В сыворотке крови у норок контрольной и подопытной групп измеряли общий белок, альбумин, глобулин, мочевины, креатинин, аланинаминотрансферазу (АлАТ) и аспартатаминотрансферазу (АсАТ).

Макроскопические, микроскопические и химические исследования фекалий норок проводили по С.В. Письменной (35). Пробы фекалий отбирали через 3 сут после повторного введения препарата Аллокин-альфа. Свежевыделенные фекалии помещали в чистые одноразовые контейнеры и доставляли в лабораторию не позднее чем через 8 ч. Макроскопически определяли цвет, консистенцию, запах, наличие видимых примесей, а также реакцию среды (рН) при помощи лакмусовых индикаторных тест-полосок. Микроскопическое исследование фекалий проводили во влажных нативных и окрашенных препаратах с использованием раствора Люголя, Судана-III, 0,5 % раствора метиленового синего. Химические исследования включали

бензединовую и сулемовую пробы.

Морфологическое исследование органов норок осуществляли в конце эксперимента в период убоя основного поголовья. Всех животных подвергали диагностическому убою, отбирали почки, селезенку, яичники у самок и семенники у самцов. Отобранные органы помещали в стеклянную посуду и фиксировали в 10 % растворе буферного формалина. Объем фиксатора в 10-20 раз превышал объем пробы. Фиксированный материал высушивали и заливали в парафин. Срезы толщиной 5-7 мкм изготавливали на микротоме, приклеивали к стеклам и окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные препараты изучали под микроскопом (ЛОМО Микромед-5, ОАО «ЛОМО», Россия), микрофотографии делали с помощью камеры МС-3 (ООО «ЛОМО-МА», Россия), анализ изображений проводили в программе MCview (<https://www.lomo-microsystems.ru/doc/po-ru-ms.pdf>).

Результаты обрабатывали в программах Statistika 10.0 («StatSoft, Inc.», США) и Microsoft Excel 2016. Данные представлены в виде средних арифметических значений ( $M$ ) и стандартных ошибок среднего ( $\pm SEM$ ). Сравнение между группами проводили с использованием  $t$ -критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Слизистые оболочки ротовой полости подопытных норок имели бледно-розовую окраску. Цвет слизистых оставался без изменений в течение эксперимента. Все норки опытной группы были очень подвижны и живо реагировали на внешние раздражители (появление людей у клетки, окрик, стук, раздача корма) по сравнению с животными контрольной группы, где имели особей со сниженной реакцией. Телосложение норок из опытной группы было крепким и пропорциональным в отличие от животных из группы контроля. В целом особи из контрольной группы к окончанию исследования демонстрировали признаки недомогания — вялость и сонливость.

**1. Живая масса норок (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир, зараженных вирусом Алеутской болезни норок, при введении препарата Аллокин-альфа в виде подкожных инъекций ( $M \pm SEM$ , звероводческое хозяйство Северо-Западного региона, 2019 год)**

Живая масса, г	Возраст, сут	Контроль		Опыт	
		самки	самцы	самки	самцы
В начале эксперимента	30	192 $\pm$ 5,9 ( $n = 25$ )	207 $\pm$ 5,7 ( $n = 5$ )	190 $\pm$ 6,1* ( $n = 25$ )	209 $\pm$ 5,6* ( $n = 5$ )
6 мес с начала эксперимента	210	1320 $\pm$ 6,1 ( $n = 21$ )	2230 $\pm$ 5,6 ( $n = 3$ )	1580 $\pm$ 6,4* ( $n = 25$ )	2580 $\pm$ 6,2* ( $n = 5$ )

Пр и м е ч а н и е. Описание групп см. в разделе «Методика».

\* Различия с контрольной группой статистически значимы при  $p < 0,05$ .

Корм в обеих группах животные поедали полностью. Средняя масса самок, получавших препарат, составляла 1580 $\pm$ 6,4 г и была на 19,7 % выше ( $p < 0,05$ ), чем в контрольной группой. У самцов средняя масса в опытной группе составила 2580 $\pm$ 6,2 г, что было выше контроля на 15,6 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Сохранность животных в опытной группе к окончанию эксперимента составила 100 %, в контрольной — 80 %. Площадь шкурок, полученных в опытной группе от самок, в среднем равнялась 1120,1 $\pm$ 3,8 см<sup>2</sup>, от самцов — 1586,2 $\pm$ 4,1 см<sup>2</sup>, в контрольной группе — соответственно 1069,2 $\pm$ 4,4 и 1524,3 $\pm$ 4,1 см<sup>2</sup>. Прирост живой массы у норок, получавших аллоферон, приводил к увеличению размера полученных от них шкурок в среднем на 51 см<sup>2</sup> у самок и на 62 см<sup>2</sup> у самцов. В группе животных, которым вводили Аллокин-альфа, визуально регистрировали увеличение густоты меха. При

продувке волоса свободных участков кожи не обнаружили. Волоски были прочными и эластичными. Тактильно отмечали шелковистость меха. Окрас был равномерным и однотонным по всему телу с явно выраженным блеском.

В результате биохимических исследований крови были выявлены характерные для Алеутской болезни изменения. У норок контрольной группы содержание глобулинов, мочевины и креатинина оказалось значительно выше, чем у зверьков, получавших Аллокин-альфа (табл. 2). В опытной группе эти изменения тоже происходили, но их выраженность была существенно меньше.

**2. Биохимические показатели крови норок (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир, зараженных вирусом Алеутской болезни норок, через 6 мес после введения препарата Аллокин-альфа в виде подкожных инъекций ( $M \pm SEM$ , звероводческое хозяйство Северо-Западного региона, 2019 год)**

Показатель	Норма	Контроль ( $n = 24$ )	Опыт ( $n = 30$ )
Общий белок, г/л	72,8	97,50 $\pm$ 1,53	88,30 $\pm$ 1,49*
Альбумин, г/л	36,9	33,00 $\pm$ 0,82	31,60 $\pm$ 1,16
Глобулины, г/л	31,0	65,00 $\pm$ 0,94	55,43 $\pm$ 0,87*
Мочевина, ммоль/л	3,52	84,05 $\pm$ 4,22	9,88 $\pm$ 3,88*
Креатинин, мкмоль/л	50,9	142,06 $\pm$ 2,62	97,71 $\pm$ 1,47*
Аланинаминотрансфераза, МЕ/л	80,1	273,60 $\pm$ 5,84	130,73 $\pm$ 4,43*
Аспаратаминотрансфераза, МЕ/л	125,6	286,60 $\pm$ 3,36	184,88 $\pm$ 3,22*

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика». Нормативные показатели приведены согласно данным О.Ю. Беспятых и соавт. (37), Ц.Ж. Батоева и соавт. (38), Н.В. Мантатова и соавт. (39).

\* Различия с контрольной группой статистически значимы при  $p < 0,05$ .

Исследование продуктов пищеварения показало, что применение Аллокина-альфа вызвало снижение рН с  $8,7 \pm 0,25$  до практически нейтрального значения (рН  $6,8 \pm 0,18$ ). Кроме того, в фекалиях норок из опытной группы мы не обнаружили клеток кишечного эпителия, пигментов крови, присутствия растворимого белка, тогда как в контроле это выявляли, что указывает на нормализацию общего процесса пищеварения при инъекции препарата. Консистенция, цвет, запах, наличие нейтрального жира, гноя, растительных клеток, детрита были одинаковыми в обеих группах (табл. 3).

**3. Копрограмма норок (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир, зараженных вирусом Алеутской болезни норок, при введении препарата Аллокин-альфа в виде подкожных инъекций ( $M \pm SEM$ , звероводческое хозяйство Северо-Западного региона, 2019 год)**

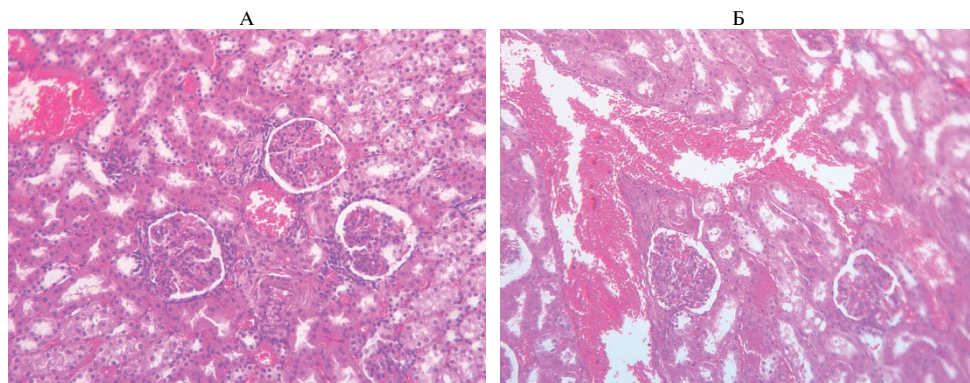
Показатель	Контроль ( $n = 30$ )	Опыт ( $n = 30$ )
Консистенция	Плотная	Плотная
Цвет	Темно-зеленый с коричневатым оттенком	Темно-зеленый с коричневатым оттенком
Запах	Специфический	Специфический
рН	8,7 $\pm$ 0,25	6,8 $\pm$ 0,18*
Нейтральный жир	+	+
Жирные кислоты	-	-
Мыла	-	-
Крахмал	Незначительное количество	Очень незначительное количество
Билирубин	Сомнительно	Отсутствует
Кровь	-	-
Остатки непереваренного корма	Присутствует	Присутствует
Растительные клетки	+	+
Детрит	+	+
Гной	+	+
Клетки кишечного эпителия	+	-
Пигменты крови	+	-
Растворимый белок	+	-

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика».

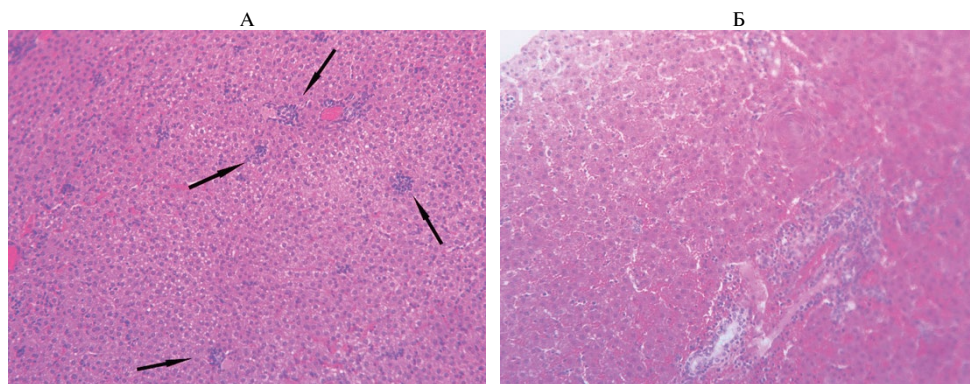
\* Различия с контрольной группой статистически значимы при  $p < 0,05$ .

При изучении морфологии органов в почках животных контрольной группы были обнаружены признаки пролиферации мезангиальных клеток

и увеличение толщины мезангиального матрикса почечных телец, сужение просвета капилляров, отечность клубочков, а также лимфоплазматическая инфильтрация, характерные для интерстициального нефрита, гломерулонефрита (рис. 1, А). В мозговом веществе встречались очаговые, местами сливающиеся кровоизлияния. Также наблюдались микроскопические участки кальциноза. В опытной группе в почках были обнаружены схожие признаки, однако увеличение мезангиального матрикса и облитерация просветов капилляров были в 2,5-3 раза меньше, наблюдалось полнокровие кровеносных сосудов, при этом очаги кровоизлияний отсутствовали, а лимфоплазматическая инфильтрация оказалась в 2 раза менее выражена (см. рис. 1, Б).



**Рис. 1.** Гистологические срезы почек норок (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир, зараженных вирусом Алеутской болезни норок, в контроле (А) и при введении препарата Аллокин-альфа в виде подкожных инъекций (Б): А — увеличение мезангиального матрикса почечных клубочков, капиллярные петли плохо различимы, Б — увеличение мезангиального матрикса и меньшая степень облитерации капилляров почечных телец, менее выраженная лимфо-плазматическая инфильтрация по сравнению с контролем (окрашивание гематоксилином и эозином, микроскоп ЛОМО Микромед-5, ОАО «ЛОМО», Россия, увеличение  $\times 10$ ). Описание групп см. в разделе «Методика».



**Рис. 2.** Гистологические срезы печени норок (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир, зараженных вирусом Алеутской болезни норок, в контроле (А) и при введении препарата Аллокин-альфа в виде подкожных инъекций (Б): А — очаги лимфоцитарно плазматической инфильтрации (указаны стрелками), Б — лимфоцитарно плазматическая инфильтрация, локальные очаги отсутствуют (окрашивание гематоксилином и эозином, микроскоп ЛОМО Микромед-5, ОАО «ЛОМО», Россия, увеличение  $\times 10$ ). Описание групп см. в разделе «Методика».

В печени контрольных животных была обнаружена тотальная гидрорическая дистрофия гепатоцитов. Выявлены очаги лимфоплазматической инфильтрации стромы печени и желчевыводящих протоков (рис. 2, А). У норок из опытной группы лимфоплазматическая инфильтрация



стромы печени была на 40-50 % меньше, а локальные очаги отсутствовали (см. рис. 2, Б).

В селезенке норок контрольной группы мы выявили гиперплазию (рис. 3). Вокруг кровеносных сосудов наблюдались очаговые скопления большого количества плазматических клеток. Подобные изменения в опытной группе были в 1,5 раза менее выражены.

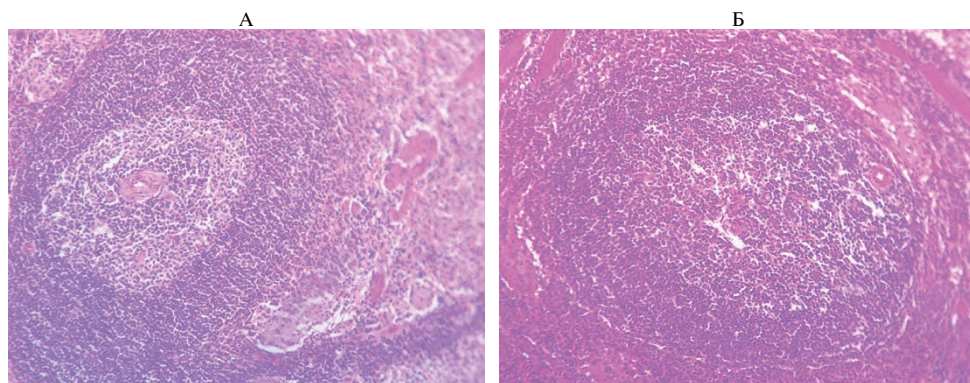


Рис. 3. Гиперплазия фолликула селезенки норок (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир, зараженных вирусом Алеутской болезни норок, в контроле (А) и при введении препарата Аллокин-альфа в виде подкожных инъекций (Б) (окрашивание гематоксилином и эозином, микроскоп ЛОМО Микромед-5, ОАО «ЛОМО», Россия, увеличение  $\times 10$ ). Описание групп см. в разделе «Методика».

В яичниках у контрольных самок обнаружили большое количество атретических тел (погибших ооцитов), примордиальные, первичные, вторичные и третичные фолликулы. В опытной группе у самок возрастало число примордиальных фолликулов при снижении числа атретических. Лимфоцитарно-плазматическая инфильтрация была выражена в 2,5-3 раза слабее (рис. 4). У самцов в извитых канальцах семенников также присутствовали очаги лимфоплазматической инфильтрации, однако эти изменения носили в 2 раза менее выраженный характер у особей из опытной группы (рис. 5).

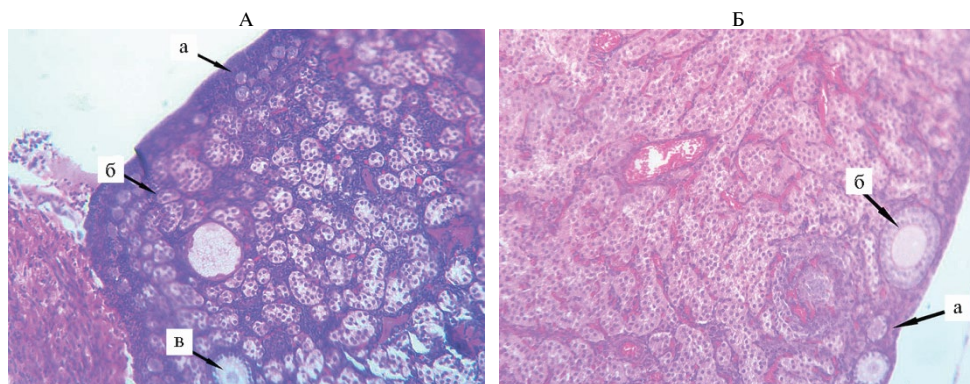
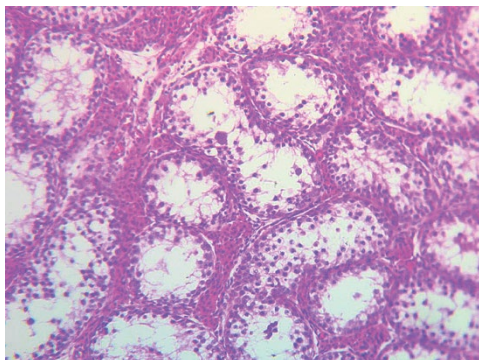


Рис. 4. Лимфоцитарно плазматическая инфильтрация яичников самок норок (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир, зараженных вирусом Алеутской болезни норок, в контроле (А) и при введении препарата Аллокин-альфа в виде подкожных инъекций (Б): а — примордиальные, б — первичные, в — вторичные фолликулы (окрашивание гематоксилином и эозином, микроскоп ЛОМО Микромед-5, ОАО «ЛОМО», Россия, увеличение  $\times 10$ ). Описание групп см. в разделе «Методика».

Единого подхода в лечении и профилактике Алеутской болезни норок до сих пор не найдено (4, 5). Известно, что вирусный плазмозитоз мо-

жет проявляться тяжелой клинической картиной, характеризующейся анемией, кахексией, ухудшением качества меха, развитием почечной недостаточности и высокой смертностью, что приводит к колоссальным убыткам в этой отрасли звероводства (12, 36). Применение препарата Аллокина-альфа в нашем исследовании предотвратило развитие подобных признаков у норок в опытной группе в отличие от группы контроля. Препарат не только облегчил течение болезни и смягчил ее негативные последствия, но и способствовал восстановлению функций организма, о чем свидетельствовали повышенная активность и хорошее качество меха у опытных животных. Кроме того, нормализовались процессы пищеварения, показатели живой массы самок возросли на 19,7 %, самцов — на 15,6 %, телосложение норок, получавших препарат, оставалось более крепким и пропорциональным. Помимо этого, использование Аллокина-альфа позволило обеспечить 100 % сохранности животных в опытной группе против 80 % в контрольной.



**Рис. 5.** Извитые каналцы семенника у самцов норок (*Neovison vison* Schreber, 1777) породы сапфир, зараженных вирусом Алеутской болезни норок, при введении препарата Аллокина-альфа в виде подкожных инъекций (окрашивание гематоксилином и эозином, микроскоп ЛОМО Микромед-5, ОАО «ЛОМО», Россия, увеличение  $\times 10$ ). Описание групп см. в разделе «Методика».

Многие авторы различают две стадии в патогенезе Алеутской болезни норок — инфекционную и аутоиммунную. Инфекционная стадия характеризуется стимуляцией пролиферации плазматических клеток, которые проникают в селезенку, печень, почки и другие органы (18, 36), а аутоиммунную фазу связывают с развитием гипергаммаглобулинемии (21). Полученные нами результаты биохимического исследования крови согласуются с данными авторов, утверждающих, что на аутоиммунной стадии показатель общего белка в крови у больных животных повышается (36).

Так, содержание общего белка в крови у норок из контрольной группы увеличилось за счет резкого повышения количества глобулинов.

Это дает возможность предположить, что в крови присутствовало значительное количество белковых соединений — антигенов, формирующих иммунные комплексы, которые в дальнейшем фиксируются в клубочках почек, вызывая развитие гломерулонефрита, что также подтверждают работы А. Prieto с соавт. (2), А.Н. Farid с соавт. (10), О.Ю. Беспятовых с соавт. (37). В свою очередь, развитие почечной недостаточности ведет к повышению содержания конечных продуктов обмена веществ (мочевина и креатинин), что мы наблюдали у особей в контрольной группе. Установленные при морфологическом исследовании признаки, характерные для гломерулонефрита и интерстициального нефрита, — пролиферация мезангиальных клеток, увеличение толщины мезангиального матрикса, сужение просвета капилляров, отечность клубочков, а также наличие кровоизлияний в общем итоге вызвали значительное снижение качества фильтрационной способности почек, которое в сочетании с высокобелковым рационом норок приводило к повышенному содержанию мочевины у животных в контрольной группе и могло свидетельствовать о переходе дисфункции почек в хроническую форму. Н.В. Мантатова с соавт. (39) также связывают высокое содержание мочевины у норок ( $50,0 \pm 0,58$  ммоль/л при  $p \leq 0,05$ ) с патологиями почек и

высокобелковой диетой.

Увеличенное количество АсАТ и АлАТ указывало на то, что при фагоцитировании иммунных комплексов ретикуло-эндотелиальной системой вирус высвобождался в ядрах макрофагов печени и вызывал разрушение гепатоцитов. В опытной группе, напротив, показатели по мочеvine, креатинину и активности трансаминаз были гораздо ниже, что косвенно свидетельствует о меньших масштабах деструктивных изменений в почках и печени. Полученные нами результаты морфологических исследований внутренних органов в контрольной группе сходятся с данными других авторов, утверждающих, что для развернутой картины Алеутской болезни норок характерны лимфоплазмочитарная инфильтрация внутренних органов, признаки, характерные для гистологической картины гломерулонефрита, спленомегалия, а также гидрорическая дистрофия гепатоцитов печени (17, 20). Следует отметить, что в опытной группе интенсивность подобных изменений была в среднем в 2,5-3 раза менее выражена, отмечались признаки, сопутствующие интенсивной регенерации и восстановлению функций поврежденных органов (полнокровие кровеносных сосудов, отсутствие очагов кровоизлияний, низкая степень апоптоза ооцитов, невысокая интенсивность плазмочитарной инфильтрации), что свидетельствует об улучшении общего физиологического состояния больных животных, пролеченных Аллокином-альфа.

Таким образом, 2-кратные подкожные инъекции препарата Аллокина-альфа с интервалом 6 сут в дозе 0,5 мг/гол норкам породы сапфир 30-суточного возраста положительно сказались на симптоматике больных Алеутской болезнью животных, их продуктивных показателях и качестве заготавливаемой продукции. У особей в опытной группе заметно улучшилось клиническое состояние, увеличилась активность и реакция на внешние раздражители. Снижение рН фекалий с  $8,7 \pm 0,25$  до  $6,8 \pm 0,18$  указывает на восстановление процессов пищеварения у больных зверей. Норки, получавшие препарат, показывали заметный прирост в живой массе: этот показатель был в среднем на 19,7 % выше у самок и на 15,6 % у самцов. Полученные от опытных животных шкурки имели бóльшие размеры: в среднем на  $51 \text{ см}^2$  у самок и на  $62 \text{ см}^2$  у самцов. Подкожные инъекции Аллокин-альфа способствовали существенному улучшению биохимических показателей крови. В опытной группе у животных содержание мочеvine было в 8,5 раза меньше, чем в контроле, что свидетельствует о снижении интенсивности развития почечной недостаточности. Достоверное уменьшение количества аланинаминотрансферазы в 2 раза и аспартатаминотрансферазы в 1,5 раза указывает на низкую степень деструктивно-воспалительных процессов в печени у животных из опытной группы. Морфологические изменения внутренних органов у норок, получавших препарат, были в 2,5-3 раза менее выражены, при этом наблюдались признаки восстановления поврежденных органов. Положительное влияние противовирусного средства Аллокин-альфа на биохимический механизм развития болезни, а также невысокая степень гистологических изменений способствовали сохранению 100 % особей в опытной группе и увеличению количества получаемой от них продукции, что существенно снижает экономический ущерб. Аллокин-альфа может быть рекомендован для применения в звероводческих хозяйствах в качестве иммунокорректора при вирусном плазмочитозе норок, обеспечивающего улучшение общего физиологического состояния больных животных

и созревания меха в целях минимизации потерь от Алеутской болезни норки, а также может быть рассмотрен в качестве средства неспецифической профилактики и лечения, однако для уточнения этой возможности необходимо проведение дополнительных экспериментов.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 196084 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5, e-mail: maxim.gti@yandex.ru ✉, sukhininalexandr@mail.ru, groza81@mail.ru;  
<sup>2</sup>ООО «Аллоферон», 115162 Россия, г. Москва, ул. Шухова, 14, помещение 7, e-mail: skilledgoose@gmail.com

Поступила в редакцию  
31 января 2022 года

*Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2022, V. 57, № 2, pp. 384-397

## ALEUTIAN MINK DISEASE: THE EFFECTIVENESS OF IMMUNOCORRECTIVE THERAPY

A.A. Sukhinin<sup>1</sup>, M.M. Gumberidze<sup>1</sup> ✉, S.A. Makavchik<sup>1</sup>, B.A. Nikonov<sup>2</sup>, V.I. Gusev<sup>2</sup>,  
I.V. Evsegneeva<sup>2</sup>, G.P. Becker<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine, 5, ul. Chernigovskaya, St. Petersburg, 196084 Russia, e-mail sukhininalexandr@mail.ru, maxim.gti@yandex.ru (✉ corresponding author), groza81@mail.ru;

<sup>2</sup>ООО «Аллоферон» (Limited Liability Company), 14, ul. Shukhova, room 7, Moscow, 115162 Russia, e-mail skilledgoose@gmail.com

ORCID:

Sukhinin A.A. orcid.org/0000-0002-1245-3440

Evsegneeva I.V. orcid.org/0000-0001-5435-8938

Gumberidze M.M. orcid.org/0000-0003-0513-4430

Nikonov B.A. orcid.org/0000-0002-1388-6854

Makavchik S.A. orcid.org/0000-0001-5435-8321

Becker G.P. orcid.org/0000-0001-6302-450X

Gusev V.I. orcid.org/0000-0001-5551-1287

The authors declare no conflict of interests

Received January 31, 2022

doi: 10.15389/agrobiology.2022.2.384eng

### Abstract

Aleutian mink disease is one of the main problems of fur farming, since it causes colossal losses to the industry due to the mass death of animals and due to the lack of effective means of treatment and prevention. In the presented work the results of using an antiviral agent based on alloferon Allokina-alpha in Aleutian mink disease are reported for the first time, an effective scheme of drug use has been developed, differences in clinical signs, blood biochemical parameters, morphological changes in internal organs have been established for animals with and without the peptide. The objective of our work was to evaluate the effectiveness of the use of the drug Allokina-alpha in Aleutian mink disease and to investigate the effects of the drug as a means of immune correction, ensuring the maintenance of the body condition of sick minks. The experiments were performed in compliance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experiments or for other scientific purposes. The research was conducted from May to December 2019 in one of the fur farms of the Northwestern region of the Russian Federation on the mink (*Neovison vison* Schreber, 1777) of the sapphire breed of 30-day age. The control and experimental groups included 5 males and 25 female mink each. All individuals in the experiment were intraperitoneally injected with Aleutian Mink disease virus (Sapphire isolate) at a dose of 2 cm<sup>3</sup>. The experimental minks were twice injected subcutaneously with the drug Allokina-alpha (0.5 mg per animal) with a 6-day interval. The control animals were injected subcutaneously with sterile saline solution (0.9 % NaCl) in the same dosage regimen. Clinical, laboratory and economic indicators were assessed in both groups over 6 months of the experiment. Minks' mobility, coordination, appetite, color of the mucous membrane, fur condition and response to external stimuli were recorded. Animal mortality in both groups was checked daily, and all minks were weighed at the beginning of each month. Biochemical blood parameters were determined after 1, 3 and 6 months. Macroscopic, microscopic and chemical studies of feces were performed 3 days after repeated use of the drug Allokina-alpha. At the end of the experiment, animals were subjected to diagnostic slaughter, the kidneys, spleen, ovaries of females and testes of males were collected. The biomaterial was fixed, dried, and poured into paraffin. Sections (5-7 microns thick) were stained with hematoxylin and eosin and examined under a microscope (LOMO Micromed-5, JSC LOMO, Russia). Our research data show that in the test group the minks were strong and had a proportional physique, the animals were very mobile and responded vividly to external stimuli compared to the control group, in which individuals exhibited reduced reactions, lethargy and drowsiness. The experimental minks had their digestion normalized. After receiving Allokina-alpha, the

average bodyweight was 19.7 % higher in females and 15.6 % higher in males compared to control. The mortality in the test group was 0 % vs. 20 % in the control. The control animals had a high level of urea ( $84.05 \pm 4.22$  mmol/l), creatinine ( $142.06 \pm 2.62$  mmol/l), and transaminase activity ( $73.60 \pm 5.84$  IU/l for ALT and  $286.60 \pm 3.36$  IU/l for AST). In contrast, in the experimental minks, the indicators were significantly lower, the  $9.88 \pm 3.88$  mmol/l for urea,  $97.71 \pm 1.47$  mmol/l for creatinine,  $130.73 \pm 4.43$  IU/l for ALT and  $184.88 \pm 3.22$  IU/l for AST. The use of Allokin-alpha caused a decrease in pH from  $8.7 \pm 0.25$  to  $6.8 \pm 0.18$  in feces. Intestinal epithelial cells, blood pigments, and soluble protein were not found in the feces of the experimental minks, but they appeared in the control minks, which indicated the normalization of digestion. Internal organs' morphology showed the signs of glomerulonephritis and foci of lymphoplasmacytic infiltration of kidneys, spleen, liver and ovaries of female and testes of males. Nevertheless, these changes were much less pronounced in the test group than in the control group. Our findings indicate that the use of Allokin-alpha according to the developed scheme has a positive effect on the Aleutian mink disease symptoms, leads to a decrease in animals death, an increase in bodyweight gain and significantly reduces economic losses.

Keywords: Aleutian mink disease, viral plasmocytosis, Allokin-alpha, alloferon, immunocorrector.

## REFERENCES

1. Tong M., Sun N., Cao Z., Cheng Y., Zhang M., Cheng S., Yi L. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus from fecal swab of mink in northeast China. *BMC Microbiol.*, 2020, 20: 234 (doi: 10.1186/s12866-020-01910-8).
2. Prieto A., Fernández-Antonio R., López-Lorenzo G., Díaz-Cao J.M., López-Novo C., Remesar S., Panadero R., Díaz P., Morrono P., Díez-Baños P., Fernández G. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus causing outbreaks in mink farms from Southwestern Europe: a retrospective study from 2012 to 2019. *J. Vet. Sci.*, 2020, 21(4): e65 (doi: 10.4142/jvs.2020.21.e65).
3. Slugin B.C. *Krolikovodstvo i zverovodstvo*, 2005, 1: 24-28 (in Russ.).
4. Persson S., Jensen T.H., Blomström A.L., Appelberg M.T., Magnusson U. Aleutian mink disease virus in free-ranging mink from Sweden. *PLoS One*, 2015, 10(3): 0122194 (doi: 10.1371/journal.pone.0122194).
5. Farid A.H. Aleutian mink disease virus in furbearing mammals in Nova Scotia, Canada. *Acta Vet. Scand.*, 2013, 55: 10 (doi: 10.1186/1751-0147-55-10).
6. Bessarabov B.F., Vashutin A.A., Voronin E.S. *Infektsionnye bolezni zhivotnykh /Pod redaktsiei A.A. Sidorchuk [Infectious animal diseases. A.A. Sidorchuk (ed.)]. Moscow, 2007 (in Russ.)*.
7. Mikheev Yu.V. *Sovershenstvovanie laboratornoi diagnostiki aleutskoi bolezni norok. Avtoreferat kandidatskoi dissertatsii [Improvement of laboratory diagnostics of Aleutian mink disease. PhD Thesis]. Moscow, 2003 (in Russ.)*.
8. Geller V.I., Semikrasova A.N., Petrova I.V. *Krolikovodstvo i zverovodstvo*, 2015, 6: 27-28 (in Russ.).
9. Knuutila A., Uzcátegui N., Kankkonen J., Vapalahti O., Kinnunen P. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus in Finland. *Veterinary Microbiology*, 2009, 133 (3): 229-238 (doi: 10.1016/j.vetmic.2008.07.003).
10. Farid A.H., Smith N.J. Dietary supplementation of *Ascophylum nodosum* improved kidney function of mink challenged with Aleutian mink disease virus. *BMC Vet. Res.*, 2020, 16: 465 (doi: 10.1186/s12917-020-02685-w).
11. Karimi K., Farid A.H., Myles S., Miar Y. Detection of selection signatures for response to Aleutian mink disease virus infection in American mink. *Sci. Rep.*, 2021, 11: 2944 (doi: 10.1038/s41598-021-82522-8).
12. Kashtanov S.N., Salnikova L.E. Aleutian mink disease: epidemiological and genetic aspects. *Biol. Bull. Rev.*, 2018, 8(2): 104-113 (doi: 10.1134/S2079086418020056).
13. Reichert M., Kostro K. Effect of persistent infection of mink with Aleutian mink disease virus on reproductive failure. *Journal of Veterinary Research*, 2014, 58(3): 369-373 (doi: 10.2478/bvip-2014-0057).
14. Castelruiz Y., Blixenkrone-Møller M., Aasted B. DNA vaccination with the Aleutian mink disease virus ND1 gene confer partial protection against disease. *Vaccine*, 2005, 23 (10): 1225-1231 (doi: 10.1016/j.vaccine.2004.09.003).
15. Liu D., Li J., Shi K., Zeng F., Zong Y., Leng X., Lu H., Du R. Construction and immunogenicity analysis of whole-gene mutation DNA vaccine of Aleutian mink virus isolated virulent strain. *Viral Immunology*, 2017, 31(1): 69-77 (doi: 10.1089/vim.2017.0044).
16. Cotmore S.F., Agbandje-McKenna M., Chiorini J.A., Mukha D.V., Pintel D.J., Qiu J., Soderlund-Venermo M., Tattersall P., Tijssen P., Gatherer D., Davison A.J. The family *Parvoviridae*. *Arch. Virol.*, 2014, 159(5): 1239-1247 (doi: 10.1007/s00705-013-1914-1).

17. Farid A.H., Ferns L.E. Reduced severity of histopathological lesions in mink selected for tolerance to Aleutian mink disease virus infection. *Research in Veterinary Science*, 2017, 111: 127-134 (doi: 10.1016/j.rvsc.2017.02.009).
18. Zalewski A., Virtanen J., Brzeziński M., Kołodziej-Sobocińska M., Jankow W., Sironen T. Aleutian mink disease: spatio-temporal variation of prevalence and influence on the feral American mink. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(4): 2556-2570 (doi: 10.1111/tbed.13928).
19. Hussain I., Price G.W., Farid A.H. Inactivation of Aleutian mink disease virus through high temperature exposure in vitro and under field-based composting conditions. *Veterinary Microbiology*, 2014, 173(1-2): 50-58 (doi: 10.1016/j.vetmic.2014.07.014).
20. Jensen T.H., Chriél M., Hansen M.S. Progression of experimental chronic Aleutian mink disease virus infection. *Acta Vet. Scand.*, 2016, 58: 35 (doi: 10.1186/s13028-016-0214-7).
21. Huang Q., Luo Y., Cheng F., Best S.M., Bloom M.E., Qiu J. Molecular characterization of the small nonstructural proteins of parvovirus Aleutian mink disease virus (AMDV) during infection. *Virology*, 2014, 452-453: 23-31 (doi: 10.1016/j.virol.2014.01.005).
22. Rakityanskaya I.A., Ryabova T.S., Todzhibayev U.A., Kalashnikova A.A. *Voprosy virusologii*, 2019, 64(3): 118-124 (doi: 10.18821/0507-4088-2019-64-3-118-124) (in Russ.).
23. Chernysh S., Kim S.I., Bekker G., Pleskach V.A., Filatova N.A., Anikin V.B., Platonov V.G., Bulet P. Antiviral and antitumor peptides from insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99(20): 12628-12632 (doi: 10.1073/pnas.192301899).
24. Menshenina A.P., Kit O.I., Moiseenko T.I., Frantsiyants E.M., Zlatnik E.Y., Verenikina E.V., Ushakova N.D., Goroshinskaya I.G., Shikhlyarova A.I. Combination treatment with plasmapheresis and non-specific immunotherapy for locally advanced cervical cancer. *Journal of Critical Reviews*, 2020, 7(12): 2235-2241.
25. Chernysh S.I., Gordja N.A. The immune system of maggots of the blow fly (*Calliphora vicina*) as a source of medicinal drugs. *J. Evol. Biochem. Phys.*, 2011, 47: 524-533 (doi: 10.1134/S0022093011060032).
26. Kutsenko I.I., Borovikov I.O., Dekhtyarenko Yu.V., Bulgakova V.P. *Vestnik Rossiiskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina*, 2012, 5: 334-341 (in Russ.).
27. Konovalova N.V., Khramenko N.I., Velichko L.N., Yurchenko L.A. *Tochka zreniya. Vostok — Zapad*, 2018, 4: 26-29 (doi: 10.25276/2410-1257-2018-4-26-29) (in Russ.).
28. Alspach E., Lussier D.M., Schreiber R.D. Interferon  $\gamma$  and its important roles in promoting and inhibiting spontaneous and therapeutic cancer immunity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2019, 11(3): a028480 (doi: 10.1101/cshperspect.a028480).
29. Burke S.J., Updegraff B.L., Bellich R.M., Goff M.R., Lu D., Minkin S.C. Jr., Karlstad M.D., Collier J.J. Regulation of iNOS gene transcription by IL-1 $\beta$  and IFN- $\gamma$  requires a coactivator exchange mechanism. *Molecular Endocrinology*, 2013, 27(10): 1krut724-1742 (doi: 10.1210/me.2013-1159).
30. Petrov R.V., Ataulakhanov R.I. *Kletochnye membrany i immunitet. Biokhimiya membran. Kniga 9 /Pod redaktsiei A.A. Boldyreva [Cell membranes and immunity. Biochemistry of cell membranes. Book 9 /A.A. Boldyrev (ed.)]. Moscow, 1991 (in Russ.)*.
31. Konovalova N.V., Khramenko N.I., Velichko L.N. *Tochka zreniya. Vostok — Zapad*, 2017, 3: 57-60 (in Russ.).
32. Tyn'ova Ya.Ya., Yarygina E.I., Ustinova V.A., Vidrashko M.T., Morozova G.V., Bakaeva E.V. *Rossiiskaya sel'skokhozyaistvennaya nauka*, 2017, 6: 48-51 (in Russ.).
33. *Evropeiskaya konventsiya o zashchite pozvonochnykh zhivotnykh, ispol'zuemykh dlya eksperimentov ili v inykh nauchnykh tselyakh (ETS № 123) (Strasbourg 18.03.1986)*. Available: [http://www.conventions.ru/view\\_base.php?id=19432](http://www.conventions.ru/view_base.php?id=19432) [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental or other scientific purposes (ETS No. 123) (Strasbourg 03.18.1986)]. No date (in Russ.).
34. Sukhinin A.A. *Laboratornaya diagnostika virusnykh boleznei [Laboratory diagnosis of viral diseases]*. St. Petersburg, 2019 (in Russ.).
35. Pis'mennaya S.V. *Issledovanie soderzhimogo kischechnika [Examination of the contents of the intestine]*. Arkhangel'sk, 2013 (in Russ.).
36. Rostrosa P., Sanin A., Narovlyanskiy A., Pronin A., Kozhevnikova T. Increasing the natural resistance and survival of minks in case of unfavorable course of Aleutian disease. *Russian Veterinary Journal*, 2019, (6): 14-19 (doi: 10.32416/2500-4379-2019-6-14-19).
37. Bespyatykh O.Yu., Berezina Yu.A., Bel'tyukova Z.N., Okulova I.I., Domskaa I.A., Zhuravlev D.M. *Veterinarnaya patologiya*, 2011, 3(37): 75-78 (in Russ.).
38. Batoev Ts.Zh., Sanzhieva S.E., Berdnikov P.P., Mantatova N.V. *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya, geografiya*, 2013, 4: 179-184 (in Russ.).
39. Mantatova N.V., Kladova D.V. *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2019, 11(181): 133-138 (in Russ.).