

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

На правах рукописи

Гумберидзе Максим Максимович

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА «АЛЛОКИН-АЛЬФА»
ПРИ АЛЕУТСКОЙ БОЛЕЗНИ НОРОК**

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
А.А. Сухинин

Санкт-Петербург, 2023 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	14
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1 Историческая справка о пушно-меховой отрасли в России и его современное состояние.....	14
1.2 История развития и распространения Алеутской болезни норок.....	16
1.3 Характеристика вируса Алеутской болезни норок.....	18
1.4 Эпизоотологические особенности Алеутской болезни норок.....	20
1.5 Клиническое проявление вирусного плазмозитоза у норок.....	22
1.6 Особенности патологических изменений при Алеутской болезни норок.....	24
1.7 Методы диагностики вирусного плазмозитоза.....	25
1.8 Иммунитет при Алеутской болезни норок.....	27
1.9 Современные методы борьбы и профилактики Алеутской болезни норок.....	30
1.10 Современное представление об иммуномодулирующих препаратах.....	34
1.11 Представление об аллофероне и его особенностях.....	39
1.12 Заключение по обзору литературы.....	42
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
2.1 Материалы и методы исследования.....	44
2.1.1 Экспериментальные животные.....	44
2.1.2 Характеристика препарата «Аллокин-альфа». Схема применения животным в эксперименте.....	46
2.2 Методы исследований.....	47
2.2.1 Методы серологического исследования. Постановка реакции иммуноэлектроосмосфореза.....	47
2.2.2 Методы молекулярно-генетического исследования.....	49
2.2.3 Методы гистологического исследования морфологии органов.....	51
2.2.4 Исследование биохимических показателей крови.....	52

2.2.5 Исследование клинического статуса норок	52
2.2.6 Зоотехнические методы исследования	53
2.2.7 Статистическая обработка данных.....	53
2.3 Характеристика условий проведения опыта	54
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	56
3.1 Изучение эпизоотологической ситуации в зверохозяйстве Северо- Западного региона Российской Федерации по Алеутской болезни норок	56
3.1.1 Признаки Алеутской болезни норок в звероводческом хозяйстве	58
3.1.2 Результаты диагностических исследований в звероводческом хозяйстве	58
3.2 Детекция генома Алеутской болезни норок молекулярно-генетическим методом	59
3.3 Гистологический анализ морфофункционального состояния внутренних органов животных в эксперименте.....	61
3.4 Биохимическое исследование крови	78
3.5 Клинический статус норок в эксперименте.....	83
3.6 Исследование зоотехнических показателей	87
3.6.1 Анализ сохранности норок.....	87
3.6.2 Динамика роста массы тела норок в эксперименте	87
3.6.3 Товарные свойства шкурок	89
4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	91
5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	104
ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	105
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	106
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	109
ПРИЛОЖЕНИЯ	139
Приложение 1	139
Приложение 2	141
Приложение 3	142

Приложение 4	143
Приложение 5	144
Приложение 6	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Отрасль пушного звероводства в России, как и во многих странах мира, является одной из наиболее рентабельных и перспективных, поскольку обеспечивает население натуральной продукцией в виде экологически чистых и теплых шкурок, а также формирует сырьевую базу меховой промышленности и мирового экспорта пушнины [1, 10, 15, 48, 91, 107]. В начале 2000–х годов объем производства шкурковой продукции в Российской Федерации стал стремительно сокращаться [49, 56, 62, 93]. Одним из главных факторов резкого падения отрасли являлось широкое распространение Алеутской болезни норок, вызванное интенсивным наращиванием темпов разведения норок по всему миру. Вирусный плазмодитоз, по числу случаев и опасности, превосходит множество других инфекционных болезней куньих, составляя большую часть в структуре инфекционной заболеваемости норок по причине отсутствия эффективных средств лечения и специфической профилактики [33, 74, 80, 105, 106].

В настоящее время, разработка и внедрение в широкую практику эффективных методов борьбы с Алеутской болезнью норок является одной из актуальных проблем и задач ветеринарной науки и звероводства, учитывая колоссальный экономический урон, наносимый болезнью. Основные потери складываются из-за разницы в цене от реализации шкурок клинически здоровых и больных животных, массовой гибелью основного поголовья, а также высокой смертности молодняка норок, что приводит к падению рентабельности производства. В результате, звероводческие хозяйства теряют способность конкурировать с зарубежными производителями пушнины. В период с 1990 по 2000 года, в России прекратили существование около 50% зверосовхозов, часть из которых были ликвидированы в связи со 100% поражением основного поголовья Алеутской болезнью. Количество норок при этом сократилась с 1,9 млн до 437 тыс. голов [12, 20, 18, 31, 79]. На данный момент, в нашей стране болезнь встречается в некоторых регионах, поражая в отдельных звероводческих

хозяйствах до 70% поголовья, которое на сегодняшний день насчитывает около 337 тыс. особей [12, 20, 18, 31, 79, 85, 94, 97, 116].

Учитывая вышеперечисленные факты, возникает острая необходимость поиска средств борьбы с вирусным плазмодитозом норок. Борьба с Алеутской болезнью становится возможной при использовании отечественных, качественных и инновационных препаратов – индукторов эндогенного интерферона. На сегодняшний день, одним из перспективных средств является индуктор интерферона «Аллокин-альфа» (РУ N002829/01-210610, разработчик — ООО «Аллоферон», Москва). Основным действующим веществом препарата является синтетический линейный олигополипептид аллоферон, состоящий из 13 L-аминокислот. По своей химической структуре, аллоферон полностью идентичен природному аллоферону, однако являясь синтетическим продуктом обладает рядом свойств: стабилен и однороден по составу, быстро и без остатка подвергается биодegradации, размер молекул аллоферона ниже порога иммуногенности, благодаря чему препарат не вызывает аллергических реакций. Препарат является индуктором эндогенного интерферона и активатором системы естественных киллеров — ключевых звеньев иммунной системы [98, 146, 147, 148, 149].

Успешные испытания препарата «Аллокин-альфа» в медицине послужили основанием для проведения исследования действия данного препарата на животных, в частности определение его эффективности при Алеутской болезни норок, которая в настоящее время специфически не профилактируется и лечению не поддается.

Степень разработанности темы исследования. Начиная со второй половины прошлого века, многими авторами были предложены способы иммунизации животных против вирусного плазмодитоза при помощи разнообразных вариаций вакцин, однако предложенные варианты обладали низкой эффективностью. Применение инактивированных формолвакцин приводило к усиленному плазмодитозу и повышению уровня гамма-глобулина. Использование ДНК-вакцин оказывало частичный эффект за счет

незначительного снижения уровня гамма-глобулина, что не предотвращало гибель норок. Применение вакцин на основе белковых субъединиц также приводило к выраженной гипергаммаглобулинемии и высокой смертности. Отечественные и зарубежные авторы предполагают, что наблюдаемый результат вызван антителозависимым усилением инфекции, являющимся ключевым механизмом патофизиологических изменений при Алеутской болезни норок [105, 106, 111].

За последние годы, многими авторами были предложены методы борьбы с Алеутской болезнью норок при помощи различных биологических активных веществ (БАВ). Применение БАВ в рационах больных вирусным плазмодитозом норок нашло положительный эффект, однако, по большей части он направлен на минимизацию последствий болезни, за счет улучшения общего клинического состояния больных животных, не обеспечивая снижение вирусной нагрузки [4, 6, 7, 19, 54, 55, 56, 65, 126].

На сегодняшний день, перспективным направлением в борьбе с Алеутской болезнью норок, рассматривается возможность применения интерферонов и их индукторов, обладающих противовирусным эффектом и влияющих на неспецифическую защиту организма и иммунитет в целом [19, 20, 71, 75, 99].

Цель исследования: Определить эффективность препарата «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни норок и разработать эффективную схему профилактических мероприятий при вирусном плазмодитозе молодняка норок с применением препарата «Аллокин-альфа».

Задачи исследования:

1. Провести анализ эпизоотологической ситуации по Алеутской болезни норок в звероводческом хозяйстве Северо-Западного региона Российской Федерации.

2. Провести ПЦР-анализ клинических образцов на наличие генома вируса Алеутской болезни у зараженных вирусом Алеутской болезни норок после применения препарата «Аллокин-альфа».

3. Оценить действие препарата «Аллокин-альфа» на степень морфофункциональных изменений органов и тканей больных вирусным плазмозитозом норок.

4. Проследить динамику биохимических показателей крови больных Алеутской болезнью норок на фоне применения препарата «Аллокин-альфа».

5. Оценить эффективность препарата «Аллокин-альфа» на клиническую симптоматику, сохранность животных и товарные показатели получаемых шкурок при Алеутской болезни норок.

6. Разработать схему профилактических мероприятий при вирусном плазмозитозе молодняка норок с применением препарата «Аллокин-альфа».

Научная новизна работы. Впервые показана эффективность противовирусного средства, индуктора эндогенного интерферона - «Аллокин-альфа» у норок при Алеутской болезни.

Впервые описана схема применения препарата для профилактики вирусного плазмозитоза у молодняка норок.

Установлено, что использование «Аллокин-альфа» у норок больных Алеутской болезнью приводит к значительному снижению проявления основных симптомов болезни.

Получены данные о достоверном сокращении уровня мочевины, креатинина и активности аминотрансфераз, а также о существенном снижении степени морфологических изменений внутренних органов у больных Алеутской болезнью норок при применении «Аллокин-альфа».

Молекулярно-генетическим методом исследования установлено отсутствие генома возбудителя вирусного плазмозитоза у части больных животных, после введения «Аллокин-альфа».

Определено уменьшение показателей смертности, увеличение массы тела и размеров получаемых шкурок у больных Алеутской болезнью норок при применении «Аллокин-альфа».

Научная новизна работы подтверждена патентом:

– патент на изобретение - RU2742160C1, Способ лечения Алеутской болезни норок, опубликован в Государственном реестре изобретений и полезных моделей РФ 02.02.2021г., Бюл. № 4 (приложение 1) (получен до вступления в силу приказа № 657 – об утверждении ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов алеутской болезни норок).

Теоретическая и практическая значимость. Потребность отрасли звероводства в поиске способов профилактики Алеутской болезни норок остается наиболее актуальной, поскольку болезнь наносит колоссальные экономические убытки, связанные с массовой гибелью животных и как следствием, низкой рентабельностью производства. Основной причиной является отсутствие на рынке лекарственных препаратов – эффективных средств профилактики вирусного плазмодитоза. Все большее количество отечественных звероводческих предприятий вынуждены закрываться, уменьшая сырьевую базу меховой промышленности и экспорта пушнины, что отрицательным образом отражается на экономическом развитии нашей страны.

Результаты проведенных научных исследований имеют высокую теоретическую значимость и практическую ценность, поскольку являются основой для патогенетически обоснованного подхода к дальнейшей разработке и совершенствованию мероприятий по профилактике вирусного плазмодитоза.

Диссертационное исследование расширяет теоретическое представление о влиянии индукторов эндогенного интерферона на организм норок больных вирусным плазмодитозом. Практическая значимость исследования заключается в разработке и внедрении в клиническую практику схемы проведения профилактических мероприятий при Алеутской болезни у молодняка норок, включающую применение индуктора эндогенного интерферона на основе аллоферона «Аллокин-альфа».

Теоретически обосновано и экспериментально подтверждено, что применение противовирусного средства «Аллокин-альфа» больным Алеутской болезнью норкам способствует улучшению их физиологического состояния, что положительно отражается на получаемой продукции, и обеспечивает повышение экономической эффективности хозяйств, пострадавших от вирусного плазмозитоза.

Опыт применения отечественного противовирусного препарата «Аллокин-альфа» в ветеринарной практике, может помочь в получении новых знаний по разработке наиболее эффективных способов борьбы с вирусными болезнями животных, в том числе и с вирусными болезнями способов лечения которых, до сих пор не найдено, а также поможет сократить зависимость отечественного звероводства от зарубежных препаратов.

Разработанный способ профилактики Алеутской болезни норок, а также результаты научных исследований используются практикующими ветеринарными врачами (приложение 2).

Исследование по оценке эффективности применения препарата «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни норок, были проведены согласно договора между ФГБОУ ВО СПбГАВМ и ООО «АЛВИЛС» (г. Москва).

Полученные результаты используются при разработке технологической документации на препарат «Аллокин-альфа» для ветеринарного применения (приложение 3, 4, 5), а также в учебном процессе ФГБОУ ВО СПбГУВМ (приложение 6).

Методология и методы исследования. Методологические подходы в решении задач основаны на патогенезе, эпизоотологии, биологических свойствах возбудителя вирусного плазмозитоза и особенностях проявления инфекционного процесса у зараженных норок. При выборе методов исследования, также учитывали условия содержания норок на звероводческих фермах, режим кормления, поения, пол и возраст животных.

При выполнении работы были использованы следующие методы исследований: вирусологический, серологический, молекулярно-генетический,

гистологический, биохимический, клинические, зоотехнические и статистические. Для проведения исследований применялись актуальные приборы отечественных и зарубежных производителей.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. ПЦР-анализ не выявляет наличие ДНК возбудителя у части зараженных вирусом Алеутской болезни норок в результате применения препарата «Аллокин-альфа».

2. Морфофункциональные изменения органов и тканей норок инфицированных вирусом Алеутской болезни, имеют низкую степень развития на фоне применения «Аллокин-альфа».

3. «Аллокин-альфа» оказывает положительное влияние на динамику биохимических показателей крови норок зараженных вирусом Алеутской болезни.

4. Применение «Аллокин-альфа» предупреждает развитие клинической картины Алеутской болезни норок, обеспечивает снижение смертности и повышение товарных показателей шкур, получаемых от зараженных вирусом Алеутской болезни норок.

5. Разработана эффективная схема профилактических мероприятий при вирусном плазмозитозе с применением препарата «Аллокин-альфа» норкам в возрасте 30 дней, подкожно, в дозе 0,5 мг на живое двукратно с интервалом 6 дней.

Степень достоверности и апробация результатов. Сформулированные научные положения, выводы диссертационной работы, а также практические рекомендации обоснованы и базируются на данных полученных в ходе проведенных собственных исследований с использованием современных методов анализа и актуальных приборов отечественного и зарубежного производства.

Полученные материалы были обработаны методами вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента с помощью компьютерных программ Statistika 10.0, (Stat.Soft, Inc., США) и Microsoft Office Excel 2016. Были определены средняя арифметическая величина и ошибка средней, а также

критерий достоверности Стьюдента. Разницу между данными контрольной и опытными группами считали достоверной при $p < 0,05$.

Результаты исследований доложены на следующих научных и научно-практических конференциях:

– «75-й юбилейная международная научная конференция молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной, объявленному в 2021 году президентом РФ Путиным В.В., году науки и технологий» (Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», 5-9 апреля 2021 г.);

– X юбилейная международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», 23-24 ноября 2021 г.);

– Международная научно-практическая конференция «Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства» посвященная 100-летию ВНИИОЗ и 150-летию со дня рождения основателя и первого директора института, профессора Бориса Михайловича Житкова (Киров, ФГБНУ «ВНИИОЗ», 23-26 мая 2022 г.);

– Международная научно-практическая конференция "Инновационные решения актуальных вопросов биобезопасности" (Казань, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2 декабря 2022 г.);

Реализованный личный вклад. Представленная диссертационная работа выполнена автором самостоятельно в период с 2018 по 2022 гг. Личный вклад соискателя состоит в разработке цели исследования и задач для ее достижения, в непосредственном участии и проведении клинических, зоотехнических, биохимических, гистологических, вирусологических и статистических методов исследования, а также обработке и интерпретации полученных данных, определении выводов и предложений для применения в практике. Автор принимал непосредственное участие в подготовке статей и патента на изобретение, а также принимал активное участие в международных конференциях.

В опубликованных в соавторстве статьях, диссертантом была выполнена большая часть работы выполнена, что подтверждается справками от соавторов. Доля участия соискателя составляет 90 %.

Публикации материалов исследований. По материалам диссертации опубликовано 8 статей, из них 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, одна из которых индексируется в международной базе данных Scopus и 4 публикаций в материалах научных и научно-практических конференций. Получен 1 патент.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 145 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, заключение, практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы, список использованной литературы, приложения.

Работа иллюстрирована 8 таблицами и 33 рисунками. Список литературы включает 214 источников, в том числе 84 источника зарубежных авторов.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Историческая справка о пушно-меховой отрасли в России и его современное состояние

Звероводство в Российской Федерации представляет собой, довольно перспективную и необычную отрасль животноводства, специализирующуюся на разведении в неволе с целью получения шкурок таких ценных пушных зверей как: голубой песец, норка, серебристо-черная лисица, соболь, шиншилла и др. [9, 25, 27, 48, 76, 91].

В нашей стране, история развития звероводства берет начало в XVII веке. В те времена меха имели особое значение и зачастую использовались вместо денег, выступая главным валютным фондом России [48, 90, 103, 117]. Однако, многие авторы указывают, что лишь в 20–30-х годах прошлого века активное разведение пушных зверей начинается с большим размахом. Именно по этой причине его называют сравнительно молодой отраслью [13, 22, 26, 48, 92, 107, 121]. В это время создаются первые специализированные зверохозяйства ориентированные на производство пушнины исключительно на экспорт: в Архангельской, Московской, Калининградской, Ленинградской областях, на Дальнем Востоке, Карелии, Татарстане. Такими темпами, уже к середине 60-х годов нашей стране удалось выйти в несомненные лидеры по объёмам производства пушнины [15, 50, 87, 92, 110]. В 70-х и 80-х годах 35% мировой шкурковой продукции из норки и песца уже приходилось на СССР. Кроме того, разведение соболя на экспорт составляло 100%, а лисицы 60% от рынка. На тот период в стране резко возросло число предприятий, занимавшихся звероводством, отрасль по праву была одной из самых рентабельных в агропромышленном комплексе, отмечает Н.А. Балакирев [15, 87]. Уже к 90-м годам прошлого века, производство клеточной пушнины в СССР составляло 18 млн. шкурок при мировом объеме производства около 40 млн. за год. Экспортируя до 40% произведенного количества пушнины, наша страна спокойно могла обеспечивать потребность внутреннего рынка [10,

15, 57, 58, 59, 87, 88, 92, 121]. Однако, Паркалов И.В. в своих исследованиях подчеркивает, что к 2005 г. производство шкурок норки в России по сравнению с 1990 г. сократилось более чем в 4 раза и составляло 2,9 млн. штук в год. То же коснулось шкурок песца и лисицы производство, которых снизилось на 30%. Именно в этот период прослеживается четкая корреляция сокращения между числом звероводческих ферм и количеством разводимых пушных зверей [87, 89]. На сегодняшний день, прекратили функционировать многие зверохозяйства, в том числе и фермы в регионах с издавна развитой отраслью пушного производства: в Ленинградской области, в Карелии, на Дальнем Востоке [15, 53]. По итогам последний лет, поголовье зверей в хозяйствах сократилось более чем в 4 раза, ко всему прочему, более половины генофонда ценных пушных зверей бесследно утрачено, что особенно неутешительно, касаясь норок цветных типов [11, 15, 104]. По данным Паркалова И.В.: «...к 2012 году ежегодный объем мирового производства шкурок норок увеличился в 1,7 раза и составляет более 50 млн шт., а 2014 мировое производство было доведено до 100 млн. шкурок. ...Голландия увеличила производство на 77%, Дания – почти на 30%. ...производство клеточной пушнины в Польше увеличилось более чем в 7 раз, в Китае – в 3,5 раза. ...в этот же период, отрасль пушного звероводства в Российской Федерации резко сократилось, производства шкурок норки снизилось на 40%, шкурок лисиц и песцов уменьшилось в 10 раз» [91]. К настоящему времени, как отмечают многие авторы, отечественная отрасль пушного звероводства продолжает сохранять тенденцию отставания от мировой [14, 15, 27, 89]. Балакирев Н.А. выделяет ряд обоснованных причин: прежде всего – неспособность отечественных звероводов сориентироваться в правильном подходе к рациональному кормлению пушных зверей при резко изменившейся структуре кормовых ресурсов, а также моральная и физическая изношенность оборудования, и напрямую связанные с этим большие финансовые затраты. Низкая производительность труда и нежелание внедрения научных разработок в практику звероводства [14]. Вдобавок ко всему, немалую долю проблем вносят различные болезни пушных зверей, особняком среди которых выделяется Алеутская болезнь норок, подрывающая итак

непростое экономическое положение норководческих ферм [78]. Михеев Ю.В. и Мартыненко М.В. сообщают, что за 10-ти летний период с 1990 по 2000 гг в России было ликвидировано около 50% звероводческих предприятий, в части из которых регистрировали полное поражение Алеутской болезнью норок основного поголовья ферм [74, 79]. На данный момент, на территории нашей страны болезнь встречается во многих областях, поражая в отдельных звероводческих хозяйствах до 70-85% поголовья [23, 31, 57, 74].

На сегодняшний день, в Российской Федерации разведением пушных зверей занимаются около 35 предприятий, часть из которых представляет собой небольшие частные фермы. При этом, отечественное звероводство обеспечивает население страны лишь на 20% от всей потребности и составляет 5% от мирового производства. Самым широкоразводимым и рентабельным в производстве зверем в российском звероводстве выступает норка, на долю которой приходится около 85% всей производимой шкурковой продукции, которые обеспечивают сырьевой базой меховую промышленность и мировой экспорт пушнины [106]. Однако, несмотря на ряд экономических и организационных трудностей, отрасль пушного звероводства в нашей стране сохраняет высокий потенциал и остается довольно перспективной [15].

1.2 История развития и распространения Алеутской болезни норок

Алеутская болезнь норок в настоящее время продолжает оставаться актуальной проблемой для отрасли промышленного звероводства [100, 18, 106]. Большинство авторов определяют вирусный плазмозитоз как вирусную аутоиммунную болезнь куньих, характеризующейся распространённой пролиферацией лимфоидных и особенно плазматических клеток, пожизненной вирусемией, гипергаммаглобулинемией, гломерулонефритом, васкулитом, гепатитом, резорбцией эмбрионов у самок, прогрессирующем истощением взрослых особей, а также развитием интерстициальной пневмонии у щенков до

14-дневного возраста [18, 23, 31, 32, 52, 53, 62, 74, 78, 80, 129]. Как ранее было описано, Алеутской болезни норок уделяют особое внимание, связанное с особенностями протекания болезни и колоссальными экономическими потерями. Многие исследователи отмечают, что поначалу, болезнь может протекать бессимптомно, однако по мере накопления больных животных и действия стрессорных факторов, процесс приобретает характер эпизоотии, по причине которой, наблюдается значительный отход животных (70—80% от заболевших) [19]. Как результат, многие авторы отмечают: «...болезнь наносит значительный экономический ущерб отрасли по всему миру складывающийся из высокой смертности поголовья норок, гибели щенков в первые дни жизни, ухудшения качества пушнины, снижения воспроизводительной способности и падежа молодняка, а так же больших затрат при проведении ограничительных и ветеринарно-санитарных мероприятий» [23, 53, 105, 122].

Первые вспышки Алеутской болезни норок были зарегистрированы в 40-х годах прошлого века на территории США, в штате Орегон. Первоначальное возникновение болезни было выявлено у цветных норок темно-серого (алеутского) окраса, благодаря чему болезнь и получила свое название. В 1956 г. американские исследователи D. Hartsaf и I. Narem впервые описывают новую болезнь, предполагая, что ее возникновение, так или иначе, связано с выведением новой породы. Распространение болезни среди норок алеутского окраса, только подтверждало данную теорию, в связи с чем, ученые долгое время считали, что болезнь носит моногенный характер, и является специфичной для носителей гена, определяющего алеутский окрас. Однако на сегодняшний день, известно, что Алеутская болезнь не является моногенной и поражает норок всех пород и окрасов. Бурное развитие отрасли по всему миру, интенсивное разведение норок и выведение новых пород способствовали широкому распространению болезни по всему миру. В нашей стране она впервые была зарегистрирована Панковым В.А. у норок в 1965 г. Описана болезнь была несколько позже в 1967 г. Бузиновым И.А. с соавт. [18, 31, 53, 80, 122].

К настоящему времени, вирусный плазмодитоз распространен во многих

странах, где активно занимаются пушным звероводством: США, Канада, Норвегия, Дания, Польша, и др. Отечественные исследователи также сообщают, что в России Алеутскую болезнь норок можно встретить в некоторых регионах, где в отдельных хозяйствах поражается до 70-85% поголовья [18, 23, 32, 53, 78, 122].

1.3 Характеристика вируса Алеутской болезни норок

Возбудителем вирусного плазмозитоза норок является просто организованный вирус из семейства Parvoviridae, рода Parvovirus, имеющий форму икосаэдра и размеры 18-26 нм, суперкапсидной оболочки не имеет. Геном возбудителя представлен одноцепочной линейной молекулой ДНК отрицательной полярности длиной 4800 п.н. [5, 18, 106,130]. Геллер, В. И. и другие исследователи подчеркивают: «...ДНК вируса кодирует пять белков, два из которых (VP1 и VP2) образуют капсид, а три неструктурных (NS1, NS2 и NS3) ответственны за репликацию вирусной ДНК в клетке хозяина» [18, 31, 52, 53, 74, 100, 129]. Ко всему прочему, возбудитель также характеризуется высоким генетическим разнообразием. Литвяков С.В. установил: «...в наиболее удаленных изолятов уровень нуклеотидных различий может достигать 5% в генах структурных белков и 19% неструктурных белков. ...ген VP1 имеет короткий участок, отличающийся особым разнообразием и по этой причине назван гипервариабельным» [71]. Как отмечает Дмитриева Н.А.: «...в некоторых случаях исследователям удавалось выявить несколько структурных типов вируса от одной инфицированной норки. ...если подобное разнообразие структуры вируса является результатом мутирования, то возможность создания вакцины весьма призрачна, а также сохраняется вероятность мутирования низковирулентных штаммов персистирующих в организме норок в более вирулентные» [33].

Многие исследователи обращают особое внимание на устойчивость вируса во внешней среде. Возбудитель не погибает под воздействием эфира, формальдегида и высоких и низких температур. Экспозиция в течение двух

недель при обработке 0,3% раствором формальдегида не инактивирует вирус. Возбудитель вирусного плазмоцитоза способен сохранять свои свойства при 80°C в течение 1 часа, а при 95°C — в течение 30 минут. Органические растворители, а также клеточные ферменты – протеаза и нуклеаза, также не оказывают никакого воздействия [31, 100]. Благодаря таким свойствам, вирус Алеутской болезни норки может спокойно распространяться по всей территории звероводческого хозяйства, оставаться на рабочем оборудовании, кормораздатчиках, предметах ухода и одежды персонала, в связи с чем, возникает высокая вероятность образования новых очагов инфекции [74, 79]. Однако, отмечается, что 0,5% растворы йода и щелочей, 2% растворы глутарового альдегида, а также ультрафиолетовые лучи способны губительно воздействовать на вирус [81].

Многие отечественные и зарубежные ученые сообщают, что в организме диких и пушных зверей, разводимых в хозяйстве, возбудитель может годами бессимптомно персистировать, распространяясь по всему организму. У таких животных вирус обнаруживается во многих внутренних органах, в том числе и мозге, в сыворотке крови, вызывая тем самым хроническое течение болезни, обусловленное антителозависимым усилением [18, 52, 80, 122, 129, 130]. Исследования ученых патогенеза болезни выявили интересный факт, что при фагоцитозе комплекса антиген-антитело деградации возбудителя не происходит. Фагирующая клетка от входных ворот инфекции мигрирует в печень, где разрушается. Неповрежденный вирус инфицирует гепатоциты. Таким образом, происходит генерализация инфекции. Кроме того, вирус вызывает подавление активности дендритных клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов. В-лимфоциты, напротив, проявляют высокую активность и в процессе антиген-зависимой бласттрансформации дифференцируют до плазматических клеток, которые в избыточных количествах производят антитела [106]. Проявляется это в виде гипергаммаглобулинемии, плазмацитоза и пожизненного присутствия вируса в составе инфекционных иммунных комплексов [79].

Значительное увеличение количества плазматических клеток в большинстве внутренних органов, и в первую очередь это почки, печень, селезенка и

лимфатические узлы, является одним из самых характерных гистологических признаков болезни. Кроме того, описывая изменения в почках, автор подчеркивает, что именно поражение этого органа играет ключевую роль в течение и исходе вирусного плазмозитоза. У больных животных на фоне тяжелой плазмноклеточной инфильтрацией тканей может наблюдаться прогрессирующий склерозирующий гломерулонефрит, а также повреждение сосудов в большинстве органов – артериит [106].

В условиях лаборатории исследование вируса Алеутской болезни также затруднено. Возможность культивировать возбудителя вирусного плазмозитоза имеется лишь на живых норках и на отдельных клеточных культурах. К таким относят клетки эмбриональной почки куриного эмбриона, клетки семенников норки и часто используемые клетки почки кошки. Однако, культивированный вирус утрачивает свою инфекционную активность уже с первых пассажей, при этом сохраняет возможность вызывать цитопатическое действие в культурах клеток [106].

1.4 Эпизоотологические особенности Алеутской болезни норки

К возбудителю вирусного плазмозитоза, как уже ранее было установлено, восприимчивы норки любого возраста, любых пород и окрасок, но чаще всего болезнь наблюдается у сапфировых и алеутских. Как отмечают отечественные и зарубежные исследователи: «...источником инфекции выступают больные и переболевшие норки, которые выделяют вирус в окружающую среду с калом, мочой, слюной, молоком и околоплодными жидкостями» заражение может происходить не только горизонтальным, но и вертикальным путем» [18, 19, 20, 23, 106]. Одни из самых частых вариантов заражения происходят при спаривании животных, а также внутриутробно от матери к плоду. Реже заражаются через укусы и поврежденные кожу и слизистые оболочки при совместном содержании зверей в клетках. Устойчивость возбудителя к внешним факторам окружающей среды обеспечивает заражение норки через алиментарный и аэрогенный пути.

Тем не менее, одной из основных причин поражения Алеутской болезнью благополучных хозяйств по-прежнему остается ввоз и перемещение инфицированных норок, которые не были выявлены при диагностике. Основными факторами передачи служат контаминированное оборудование, спецодежда, корма и т.д. Птицы, блохи, кровососущие насекомые и персонал могут служить механическими переносчиками. Источниками заражения также могут выступать почва и навоз, находящиеся под клетками [18, 31, 52, 122, 129]. Особенно, это опасно на неблагополучных фермах с нарушениями санитарно-зоогигиенических требований, где навозохранилище может располагаться с подветренной стороны [71, 106].

Нередко, различные дикие животные, в особенности из семейства куньих, являются скрытыми носителями возбудителя вирусного плазмозитоза, выступая дополнительным источником и фактором передачи болезни, в силу того, что вирус способен бессимптомно персистировать в их организме [130]. Зачастую, заражение диких животных происходит от убежавших с неблагополучных ферм норок. Бельтюкова З.Н., Скуматов Д.В., Домский И.А. отмечают, что подобные случаи могут приводить к элиминации не только восприимчивых животных, но и увеличение зверей, резистентных к какой-то форме конкретного изолята вируса. Авторы подчеркивают, что внесение вируса другого типа может послужить детерминантом, определяющим процесс снижения численности аборигенной норки. Кроме того, сохраняется опасность превращения за короткий период времени низковирулентных штаммов возбудителя, которые могут персистировать у диких популяций норок, в высоковирулентные [18].

По данным Михеевой Н.А. с соавт.: «...на территории России циркулирует 14 штаммов изолятов вируса Алеутской болезни норок. ...из них наиболее изучены Пушкинский-1, Дальневосточный, Сапфир, ПК, ADV-G, которые различаются по патогенности и вирулентности для норок. ...установлено общее происхождение штаммов П-1, ДВ, Сапфир, RUS-17 и возможное родство изолятов Belarus-02 со штаммом Utah-1» [80].

Для Алеутской болезни норок свойственны стационарность и очаговость.

Зачастую наблюдается хроническое, медленное течение, с развитием атипичной формы болезни, при которой, гибель животных может наступать от нескольких месяцев до нескольких лет. Инкубационный период, как правило, может длиться от недели до 5 месяцев. Многие авторы обращают внимание: «...по мере увеличения числа больных животных или действия стрессовых факторов болезнь способна принимать форму эпизоотии с отходом до 70-80% больного поголовья, что и приносит колоссальные убытки звероводам, а инкубационный период в подобных случаях возникновения острого течения может длиться от 10 до 30 дней» [18, 31, 33, 52, 53, 122, 129].

1.5 Клиническое проявление вирусного плазмозитоза у норок

Многие авторы выделяют бессимптомную и прогрессирующую формы Алеутской болезни. Прогрессирующая форма, характеризуется высоким уровнем специфических антител, который с течением времени заметно нарастает. Как правило, такая форма болезни развивается в случае горизонтального типа заражения животного, в результате чего будут проявляться типичные для Алеутской болезни норок симптомы. Кроме того, острая форма также характеризуется высокой летальностью, однако она может легко диагностироваться различными клиническими, биохимическими и серологическими методами диагностики [31, 71, 130].

Клиническое проявление Алеутской болезни, по сообщениям многих исследователей, проявляется в виде снижения общей активности животных, повышенной утомляемостью и угнетением, сонливостью, признаками дистрофии. Больной молодняк заметно отстает в росте и развитии. Может наблюдаться высокая температура тела, анемичность слизистых оболочек и повышенная жажда, вследствие затруднённого свертывания крови и множественных кровоизлияний [106]. Характерные клинические признаки могут проявляться у больных животных незадолго до гибели. Одними из явных являются появление язв небольшого размера на слизистой оболочке ротовой и носовой полостей, из

которых периодически наблюдаются кровотечения. Кроме того, отчетливо видны признаки нарастающей кахексии, анемии, лихорадка с повышением температуры, а также жажда у больных животных. Внешне животные теряют активность, имеют сонный вид и мало двигаются, аппетит снижается, а у отдельных особей вовсе пропадает, шерсть у таких норок становится тусклой и взъерошенной, а линька задерживается. Светлые участки кожи становятся желтого цвета, нарушаются процессы пищеварения, наблюдается диарея, фекалии приобретают дегтеобразную консистенцию. В некоторых случаях могут наблюдаться признаки поражения нервной системы, у больных животных может происходить нарушение координации движений, потеря равновесия, парезы и параличи конечностей [106]. С точки зрения хозяйственных показателей, многие авторы отмечают, что у самок зачастую случаются аборт, у некоторых плоды могут вовсе рассасываться, а также наблюдается пустование. У норок с бессимптомным течением, болезнь может никак не проявляться, однако показатели щенения резко снижаются [31].

Бессимптомная форма зачастую развивается у молодняка, в результате заражения от больных матерей. У таких животных регистрируются колостральные специфические антитела в подсосный период, которые, в отличие от острой формы, имеют медленную тенденцию к нарастанию. Тем не менее, в период отъема животных их число резко снижается. Летальность, при этом, наблюдается невысокая, признаки болезни могут быть нетипичными или вовсе не проявляться. Отрицательной стороной бессимптомной формы болезни является сложность ее диагностирования клинической, биохимическими и серологическими методами диагностики [31, 71].

Щенки, рожденные от здоровых самок, в случае инфицирования вирусным плазмодитозом, как правило заражаются острой формой болезни, которая проявляется у щенков в виде респираторного синдрома и характеризуется развитием интерстициальной пневмонии [31, 122].

Зачастую, прогрессирующая форма болезни наблюдается в свежем очаге, а в стационарном - бессимптомная.

Ключевым элементом в течении и исходе вирусного плазмодитоза,

выступает поражение почек. Гибель животных, практически всегда, происходит в результате развития почечной недостаточности, в частности гломерулонефритов. Свой вклад вносят обильное количество кровоизлияний, вследствие которых происходят большие потери крови, а также развития вторичных инфекций. В некоторых случаях, гибель норок может происходить в осенне-зимний период, когда в поилках замерзает вода, а больные звери не могут утолить повышенную жажду [106].

Как правило, отход животных при бессимптомной форме не высокий, но тем не менее значительный, и не превышает 20%. Многие исследователи подчеркивают: «...в случае прогрессирующего течения – в первый год может наблюдаться падеж 50% всего поголовья, а на второй год - до 80%» [18, 31, 52, 106, 122, 129].

1.6 Особенности патологических изменений при Алеутской болезни норок

Многие авторы сообщают, что: «...патологические изменения подобно клиническим признакам зависят от формы течения болезни. ...более выраженные изменения наблюдаются при остром и подостром течении, а при латентном и хроническом могут быть минимальны» [25, 18, 19, 21, 106]. У павших зверей, как правило, прослеживаются признаки истощения. Слугин В.С. установил: «...в ротовой и носовой полостях наблюдаются множественные мелкие изъязвления с коричневым дном, а также обильные кровоизлияния. ...как уже было отмечено ранее, наиболее характерные изменения обнаруживаются в почках. ...при остром течении болезни, пораженный орган значительно увеличен в размере и имеет светло-оранжевую окраску. ...отчетливо видны точечные кровоизлияния и мелкие участки серо-белого и темно-коричневого цвета на поверхности коркового слоя, которые могут сливаться между собой, увеличиваясь в размерах. ...границы между корковым и мозговым слоями, как правило, сглажены, в ряде случаев наблюдаются симптомы нефрита и нефротического синдрома. ...при хроническом течении болезни почки сморщенные, уменьшены в объеме, имеют серо-желтую

окраску, а их капсула легко снимается. ...печень, чаще всего, увеличена в объеме, в среднем и имеет окрас мускатного ореха» [106]. Макроскопически, изменения могут быть непостоянными, напоминать вид слабой жировой дистрофии. Желчный пузырь обычно опустошен и имеет утолщенную и шероховатую стенку оливкового цвета. Селезенка в несколько раз увеличена в размере, и может иметь пятнистый или темно-вишневый окрас. Капсула напряжена, иногда атрофирована с заостренными краями. Лимфатические узлы увеличены в размере, сочные. В желудке, двенадцатиперстной и прямой кишках могут обнаруживаются сгустки крови [122]. Хитрова Д.А. сообщает, что при Алеутской болезни норок, также возможны отеки и набухание спинного мозга с отслоением мозговых оболочек [130].

Слугин В.С. также подчеркивает: «...среди гистологических изменений наиболее характерным является резкая пролиферация плазматических клеток, в первую очередь происходящая в лимфатических узлах, почках, селезенке, печени и костном мозге, а также вокруг кровеносных сосудов. ...у тяжелобольных норок в любом органе и ткани обнаруживаются периваскулярные плазмноклеточные инфильтраты» [106].

1.7 Методы диагностики вирусного плазмоцитоза

В настоящее время, многие исследователи подчеркивают, что «...диагноз на Алеутскую болезнь норок ставят с учетом эпизоотологических данных, клинической картины и результатов патологоанатомического и лабораторных методов исследования. ...в качестве лабораторной диагностики, наиболее распространены серологические методы, среди которых выделяют: реакция иммунофлуоресценции (РИФ), иммуноферментный анализ (ELISA), тимоловая проба, реакция иммуноэлектроосмофореза (РИЭОФ)» [19, 31, 106].

Стоит отметить, что на сегодняшний день, золотым стандартом в диагностике вирусного плазмоцитоза, остается реакция иммуноэлектроосмофореза, которая рекомендована в инструкции по

профилактике и ликвидации заболевания норок Алеутской болезнью, утвержденной Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 14 ноября 1985 года.

Ранее, для диагностики Алеутской болезни применяли неспецифический метод, основанный на свойстве растворов йода вызывать осаждение иммуноглобулинов при повышении их концентрации - йодно-агглютинационный тест (ЙАТ). Однако существенный недостаток данного метода заключается в его относительной точности, благодаря которой можно выявить только 60-80% больных животных. Кроме того, значимо отрицательная сторона данного метода заключается в том, что йодная проба не позволяет выявить больных зверей в течение первых 3—5 недель после заражения. Положительный результат ЙАТ может быть также и в случаях поражения печени, туберкулезе и некоторых других болезнях, однако в купе с патоморфологическим или серологическим диагнозом может указывать на Алеутскую болезнь [122].

Хитрова Д.А. в своих исследованиях отмечает, что в 1969 году В.С. Берестов предложил использовать для диагностики Алеутской болезни тимоловую пробу. Метод позволял выявить большее количество инфицированных норок, чем йодно-агглютинационный тест и давал возможность получать результаты гораздо быстрее [122].

В 1978 году главным ветеринарным врачом зверосовхоза «Пушкинский» Слугиным был предложен еще один метод для диагностики Алеутской болезни норок – РИЭОФ, которая до сих пор не утратила практической значимости [74, 106]. Отечественные авторы подчеркивают, что: «...на сегодняшний день, РИЭОФ является основным методом прижизненной диагностики Алеутской болезни норок и повсеместно применяется во многих звероводческих хозяйствах. ...причиной тому служит ее высокая специфичность, которая позволяет выявлять до 98% больных норок уже через 6-15 дней после заражения» [106, 111, 122]. Однако стоит отметить, что уровень специфических антител к возбудителю вирусного плазмодитоза может быть настолько низким на определенной стадии течения болезни, что результаты РИЭОФ будут ложноотрицательными. Частота

подобных результатов в недиагностируемую РИОЭФ стадию болезни в стационарных очагах может достигать до 20-25%. Дифференцируют Алеутскую болезнь от жировой дистрофии печени алиментарного происхождения и псевдомоноза [106, 111, 122].

В настоящее время, помимо РИЭОФ, применяемой во многих хозяйствах в качестве основного метода диагностики вирусного плазмозитоза, так же широко используют метод иммуноферментного анализа. ИФА был разработан на основе капсида AMDV VP2, экспрессируемого бакуловирусом, и этот тест имеет чувствительность и специфичность 99% и 97% соответственно по сравнению с РИЭОФ [109]. Однако этот процесс требует большого количества белка VP2, который получают путем размножения и очистки рекомбинантного бакуловируса. Исследования Fanshu Ma показали, что метод ИФА обладал лучшей чувствительностью по сравнению с РИЭОФ и может представлять из себя хорошую альтернативу для выявления антител против вируса Алеутской болезни при серологическом скрининге [109]. В свою очередь, исследования Михеева Ю.В. наглядно демонстрируют, что в случае хронической формы болезни преимущество остается на стороне РИЭОФ, которая способна выявить больше положительно реагирующих норок [78].

Молекулярно генетически методы диагностики так же широко применяются для выявления возбудителя вирусного плазмозитоза. Используя метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), можно достичь максимальный положительный эффект при индикации возбудителя на ранних стадиях, которые требуют применения высокочувствительных диагностических тестов, отмечает Мартыненко М.В. Так в своих исследованиях, автор пришла к выводу, что чувствительность ПЦР-системы была в 5,5 раза выше, по сравнению с РИЭОФ. Более того, метод ПЦР-диагностики имеет действительно высокую диагностическую значимость, поскольку позволяет обнаруживать вирусную ДНК в корме животных, моче и фекалиях, а соответственно, в загрязненных ими подстилке и почве [83].

1.8 Иммуитет при Алеутской болезни норок

Несомненно, можно согласиться с мнением многих авторов, что иммунитет при вирусном плазмодитозе мало изучен и связан с патогенезом болезни [123, 106]. Известно, что с момента внедрения возбудителя, происходит повышенная пролиферация плазматических клеток и системы лимфоцитов. Многие исследователи называют этот этап первичным или инфекционным циклом. При этом наблюдается резкая инфильтрация плазмацитами и лимфоцитами лимфатических узлов, селезенки, печени, почек и костного мозга. В свою очередь, плазматические клетки вырабатывают антитела, которые образуют с возбудителем иммунные комплексы антиген-антитело. Bloom M., Слугин В.С., Геллер В.И. отмечают: «...начавшийся процесс длится на протяжении всей жизни больной норки, в результате неспособности сформированных антител нейтрализовать внедрившегося возбудителя, что и обеспечивает явление персистенции вируса и как следствие, непрекращающийся процесс формирования инфекционных иммунных комплексов» [31, 106, 141]. Антитела, в свою очередь, увеличивают возможность вируса Алеутской болезни инфицировать макрофаги и избегать элиминации [31, 106]. Подобный процесс принято называть антителозависимое усиление инфекции [31,106].

Механизм, благодаря которому возбудитель вирусного плазмодитоза способен избегать нейтрализации антителами, до сих пор не ясен. Зарубежные исследователи сообщают, что при изучении структуры вируса при помощи рентгено-структурного анализ было обнаружено три дополнительных выпячивания, не характерных для парвовирусов. Bloom M. выдвинул предположение, что именно благодаря этим выступам может обеспечиваться маскировка индукции нейтрализующих антител [31].

С момента захватывания тканевыми макрофагами большого количества иммунных комплексов и последующего повреждения лизосом начинается вторичный или аутоиммунный цикл [106]. Отечественные и зарубежные исследователи подчеркивают: «...ферменты лизосом, способствуют денатурации

белков цитоплазмы клеток крови и тканевым макрофагам, вызывают их распад и высвобождение ДНК, которые становятся аутоантигенными, что стимулируют дальнейшую пролиферацию плазматических клеток» [25, 31, 106]. К аутоантигенам, соответственно вырабатываются гомологичные к ним аутоантитела.

Как уже было отмечено ранее, значительное количество инфекционных иммунных комплексов способствует развитию почечной недостаточности, проявляющейся прогрессирующим склерозирующим гломерулонефритом, что в свою очередь имеет важное значение в течении и исходе Алеутской болезни норки [31].

Подводя итог патогенеза, можно обобщить, что прогрессирующее течение болезни напрямую определено развитием первичного и вторичного циклов и обуславливают неизбежный летальный исход [31, 106]. Сущность всей патологии сводится к накоплению значительного количества инфекционных иммунных комплексов в различных органах и тканях, ввиду неспособности последних нейтрализовать внедрившийся в вирус. Последующий их фагоцитоз тканевыми макрофагами, а так же активация системы комплемента, привлекающая дополнительные фагоциты, может сопровождаться выделением лизосомальных ферментов, в результате чего может происходить повреждение окружающих тканей, которые нередко оказываются решающими в исходе болезни [72, 85, 106, 112].

В случае горизонтального заражения у взрослых норок, можно проследить развитие прогрессирующей формы болезни, характеризующуюся непропорционально сильным гуморальным ответом и недостаточной функцией Т-лимфоцитов, а также дефицита супрессорных клеток [123]. Геллер В.И., Семикрасова А.Н. и Петрова И.В. сообщают: «...аутоиммунные процессы, возникающие в результате действия вируса Алеутской болезни, также нарушают сперматогенез, эмбриогенез, вызывают эндокринные расстройства, за счет уменьшения выработки эстрогена, прогестерона и повышением уровня адренокортикотропного. ...у беременных самок, наблюдается разбалансирование

иммунной системы у плодов, которая подвергается действию аутоиммунных факторов и инфекционных агентов, что приводит к нарушению срока беременности и приобретению иммунотолерантности» [31].

Новорожденные щенки заражаются от инфицированных матерей, получая колостральные специфические антитела одновременно с возбудителем, в результате чего, у них, зачастую развивается инаппарантная форма болезни, трудно поддающейся диагностике, что связано с длительным инкубационным периодом, на который приходится время исследований [123,]. Хитрова Е.А. установила, что: «...при заражении новорожденных щенков, родившихся от здоровых матерей, наблюдают острую легочную форму болезни, которая напоминает острую респираторную вирусную инфекцию новорожденных» [124].

В результате угнетения иммунной системы, больные норки довольно часто становятся восприимчивыми к сальмонеллёзу, колибактериозу, стрептостафилококкозу и другим инфекциям [31, 106].

1.9 Существующие методы борьбы с Алеутской болезнью норок

К настоящему времени, эффективных специфических средств профилактики и лечения Алеутской болезни норок не разработано. Слугин В.С. подчеркивает, что на зверофермах, как правило, применяют симптоматическое лечение, направленное на сохранение продукции, применяя при этом: «...различные антибиотики, сульфаниламидные и гормональные препараты, белковые гидролизаты и растворы электролитов, проводят витаминотерапию цианокобаламином в сочетании с фолиевой кислотой, а так же в редких случаях применяют различного рода иммуносупрессоры. ...при этом, у переболевших норок иммунитет к вирусному плазмодитозу не формируется» [106].

Мартыненко М.В. и Слугин В.С. обращают внимание: «...меры общей профилактики направлены на уничтожение вируса во внешней среде, посредством ветеринарно-санитарных мероприятий, вплоть до полного уничтожения инфицированных норок и санации производственных зон или

неблагополучных бригад. ...помимо вышесказанного, систематически в течении года исследуют пробы крови с целью выявления и убоя зараженных норок, замены их здоровыми. ...как правило, серологическую диагностику болезни проводят в три этапа: перед комплектованием основного стада, за 15-25 дней до начала гона и летом самцов и самок, оставшихся без приплода. ...животных, давших положительную реакцию в РИЭОФ, изолируют и проводят симптоматическое лечение до созревания меха» [74, 106]. Отечественные авторы также указывают: «...при завозе в звероводческое хозяйство нового поголовья, в обязательном порядке, в качестве меры общей профилактики и контроля заболеваемости, при помощи РИЭОФ осуществляют скрининг антител у новых зверей и дальнейшей выбраковки больных из них. ...вновь ввозимое поголовье должно быть получено из только из благополучных хозяйств и при отрицательном результате РИЭОФ всех клинически здоровых зверей» [74, 106, 111]. Новых зверей необходимо содержать в профилактическом карантине 30 дней и только потом, при отсутствии признаков болезни и отрицательных результатах РИЭОФ можно переводить на ферму в состав основного поголовья. В случае обнаружения животных с положительными серологическими реакциями срок карантирования животных продлевают и проводят симптоматическое лечение. Для контроля эпизоотической обстановки в благополучных хозяйствах проводят исследование сыворотки крови подозрительных по заболеванию и павших норок, а также подлежащих продаже на племя. Однако, несмотря на прилагаемые усилия, вирусный плазмодитоз по-прежнему продолжает вызывать серьезные эпизоотии, что подтверждает ограниченные возможности РИЭОФ для ранней диагностики Алеутской болезни норок [74, 111]. Все дело в том, что данный метод основан на индикации противовирусных антител, которые, как отмечает Мартыненко, трудно обнаружить в течение 30 суток после инфицирования, а в опытах по экспериментальному заражению животных автор сообщает, что с помощью ПЦР вирус удастся выявить уже на 5-е сутки после заражения [74, 109]. РИЭОФ, может не показать наличие инфицированного животного, если антитела еще не достигли определяемого уровня, а в случае

использования имеющихся вакцин, поствакцинальные антитела и вовсе способны давать ложноположительный анализ [74, 109]. Кроме того, метод взятия проб крови достаточно трудоемкий и болезненный для зверей [106]. Именно по этим причинам, многие авторы отмечают, что для успешного предотвращения распространения вирусного плазмодитоза от вновь завезенного поголовья, необходимо диагностировать болезнь на раннем этапе развития, для чего можно также с успехом применять высокочувствительные диагностические тесты как полимеразная цепная реакция [106, 109].

В течение последних десятилетий, многие ученые делали попытки создания специфического метода профилактики Алеутской болезни норок, посредством вакцины. В большей части были использованы три основных метода, включающие синтез инактивированных, субъединичных белковых и ДНК-вакцин. Еще в 1964 году, Maksfell L. и Rassel I.D. получили формолвакцину, однако она создавала непрочный иммунитет [122, 123]. Говоря о применении инактивированных вакцин, Markarian N.M. также приводит в пример исследования по синтезу инактивированной вакцины, в результате которого удалось добиться лишь усиления эффекта болезни при заражении норки, привитой вакциной, созданной на основе обработанных формалином тканей инфицированными вирусом Алеутской болезни [192]. Кроме того, автор сообщает о наличии высокого уровня гамма-глобулинов у вакцинированных норок в эксперименте [106]. Описывая применение субъединичных вакцин, Markarian N.M. отмечает, что исследование Aasted B. и др. также демонстрировало усиление признаков вирусного плазмодитоза у норок привитыми вакциной на основе белков VP1/2, а также заметно высокими показателями смертности и гиперглобулинемии [192]. Использование субъединичной вакцины на основе рекомбинантного белка NS1 в дозе, в 10 раз превышающей дозу, использованную для инокулята VP1/2, напротив наблюдали более низкие уровни гамма-глобулинов и CD8-позитивных лимфоцитов [192]. Варианты применения ДНК-вакцин на основе плазмиды, кодирующей белок возбудителя NS1, Castelruiz и др. были получены наиболее оптимальные результаты по сравнению с предыдущими

вариантами [122, 123]. Аналогичным образом, о многообещающем результате сообщили Liu и др., которые разработали семь вакцин с плазмидным вектором, которые были основаны на геноме инфекционного штамма AMDV-DL125 [81, 122, 123]. Представленные варианты ДНК-вакцин, продемонстрировал частичную защиту и более высокую эффективность, основанную на снижении уровня циркулирующих гамма-глобулинов иммунных комплексов в сыворотке крови. Основанием для подобных результатов послужил ген VP2, который имел делеции в нуклеотидах, кодирующих остатки 428-446 и 487-501. Из всех попыток вакцинации против Алеутской болезни норки наиболее перспективными оказались вакцины на основе ДНК [81]. На сегодняшний день, наиболее эффективным способом профилактики Алеутской болезни норки по-прежнему остается соблюдение комплекса общих мероприятий, направленных на поддержание ветеринарно-санитарного благополучия фермы.

Затрагивая тему лечения болезни, можно отметить, что многие отечественные и зарубежные ученые предлагают использовать для борьбы с Алеутской болезнью норки различные биологические активные вещества, добавляя их в рационы больных зверей. При этом, многие авторы отмечают положительный эффект действия БАВ. Однако, по большей части, он проявляется лишь в смягчении течения Алеутской болезни норки, за счет улучшения общего клинического состояния больных животных, при этом, не обеспечивает снижение вирусной нагрузки [4, 6, 7, 19, 54, 55, 56, 65, 126].

С учетом вышеописанных особенностей патогенеза, можно предположить, что успешным решением в вопросе лечения вирусного плазмодитоза может быть коррекция иммунного статуса больных животных. Перспективным направлением в этой области, многие исследователи считают применение препаратов на основе интерферонов, обладающими противовирусной активностью. Опыт применения подобных препаратов показывает многообещающие результаты, поскольку обеспечивает не только улучшение общего физиологического состояния больных животных и уменьшение негативных последствий вирусного плазмодитоза, но также способствует снижению вирусной нагрузки [19, 20, 71, 99]. Однако стоит

отметить, что, в частности, в случае применения препаратов относящихся к группе естественных и рекомбинантных интерферонов может наблюдаться ряд недостатков. Прежде всего - сравнительно незначительное количество получаемого интерферона и дороговизна исходного сырья. Белоусова Е.Д. подчеркивает, что: «...экзогенные интерфероны, будучи сложными белковыми субстратами, способны провоцировать нежелательные реакции нервной и сердечно-сосудистой систем, желудочно-кишечного тракта, органов чувств и кроветворения. ...многократное введение больших доз экзогенного интерферона провоцирует усиление процессов его нейтрализации вследствие выработки в организме антиинтерфероновых антител» [17]. Отечественные исследователи обращают внимание, что возникает необходимость создания препаратов, ингибирующих эффекты интерферонов, а также в значительной мере ограничивает возможности интерферонотерапии [29, 36, 37, 38].

Так или иначе, в настоящий момент, единственной действенной мерой профилактики Алеутской болезни норки остается применение общих санитарных мер, вплоть до полного уничтожения поголовья, а эффективного способа борьбы с вирусным плазмодитозом, до сих пор не найдено [20, 18, 31, 33, 105, 122, 123].

Стоит отметить, что на сегодняшний день, в Российской Федерации, согласно приказу №657 от 24 сентября 2021 года об утверждении ветеринарных правил в отношении Алеутской болезни, всех больных восприимчивых животных с клиническими признаками Алеутской болезни норки изолируют и забивают бескровным методом, а восприимчивых животные, которые не имеют клинических признаков, но положительно реагируют в РИЭОФ изолируют до созревания волосяного покрова, а после забивают бескровным методом.

1.10 Современное представление об иммуномодулирующих препаратах

Сохранение постоянства внутренней среды организма, вне всякого сомнения, является главной функцией иммунной системы. Федоров Ю.Н. с соавт. обращает внимание, что она: «...осуществляется по средствам распознавания и

элиминации антигенов, которые несут признаки генетически чужеродной информации. ...воздействие таких веществ антигенной природы на организм здорового животного в купе с неблагоприятными факторами окружающей среды могут приводить к нарушению функционального состояния иммунной системы, что будет вызывать развитие иммунодефицитов» [116]. Отечественные и зарубежные исследователи подчеркивают, что: «...нарушенного состояния иммунной системы можно и даже необходимо корректировать. ...осуществлять подобное возможно с помощью иммуностимулирующих лекарственных средств, которые обладают селективным действием на иммунную систему организма» [66, 81, 114, 115]. Многие авторы выделяют три группы таких препаратов: «...иммуномодуляторы (восстанавливают нарушенные функции иммунной системы), иммуностимуляторы (преимущественно усиливают иммунитет) и иммунодепрессанты (подавляют иммунный ответ)» [66, 116].

Санин А.В. обращает особое внимание, среди подобных лекарственных средств основной интерес представляют иммуномодуляторы, поскольку они способны изменять иммунореактивность организма и повышать при этом его резистентность к инфекциям [102].

Романцов М.Г. описывает: «...иммуномодулирующие средства как препараты химической и биологической природы, которые способны оказывать угнетающее и стимулирующее действие на реакции иммунитета. ...препараты воздействуют на иммунокомпетентные клетки, процессы их синтеза, миграции, и взаимодействие с различного рода цитокинами» [99].

Фёдоров Ю.Н. сообщает о широком применении иммуномодуляторов в комплексной терапии болезней с признаками вторичной иммунологической недостаточности, вследствие их разнонаправленного воздействия на иммунную систему: «...возможность отдельных иммуномодуляторов избирательно влиять на различные звенья иммунной цепи, сохраняя при этом многогранный конечный эффект, в результате изменения функциональной активности у всей иммунной системы. ...основными клеточными мишенями для этих препаратов служат антиген-представляющие клетки, к которым относят макрофаги, дендритные

клетки. ...также распознающие клетки - Т-лимфоциты и эффекторные клетки - нейтрофильные фагоциты, макрофаги, моноциты, естественные киллеры, цитотоксические Т-лимфоциты» [116].

Федоров Ю.Н., Хаитов Р.М., Кузнецов В.П., Tizard I.R. и др. отмечают, что: «...в действии иммуномодуляторов важен принцип специфичности, в связи с чем, авторы классифицируют средства иммунной коррекции по химической структуре и биологическим свойствам. ...основные несколько групп из них: иммуноактивные компоненты поверхностных структур патогенов (микробные), тимические гормоны, костномозговые, а также цитокины, нуклеиновые кислоты, растительные и химически чистые» [3, 68, 115, 119, 120].

Некоторые исследователи отмечают: «...препараты, относящиеся к группе иммуноактивных компонентов поверхностных структур патогенов, редко используются в практике, поскольку они представляют собой липополисахариды бактериального происхождения и обладают высокой пирогенностью» [3, 68, 81, 114, 115, 116]. Средства тимического происхождения на основе тимических гормонов и их аналогов в основном воздействуют на Т-клеточное звено иммунного ответа и также не часто применяются [3, 45, 68, 115, 119]. Федоров Ю.Н. с соавт. указывает: «...препараты, составляющие группу миелопептидов, обладают способностью активизировать как гуморальное, так и клеточное звено иммунитета. ...в связи с чем, обладают иммунорегуляторной, дифференцировочной и нейротропной биологической активностью и широким спектром действия» [116]. Среди прочего многообразия иммуномодулирующих средств, отдельно выделяют препараты растительного происхождения, а также средств на основе нуклеиновых кислот и продуктов их ферментативной деградации, которые обладают иммуномодулирующими, противовирусными, антибактериальными и антиоксидантными свойствами [3, 66, 68, 70, 115, 119].

В отдельные группы многие авторы выделяют цитокины и их рекомбинантные источники, а также их индукторы. Группу цитокинов, в большинстве своем составляют препараты естественных интерферонов, основой которых является сложный комплекс эндогенных иммунорегуляторных молекул,

оказывающих специфическое влияние на макрофаги, лимфоциты и НКклетки [66, 71, 115]. Препараты естественных интерферонов в своем составе имеют субтипы INFA (interferon alpha), синтезируемые лейкоцитами крови клинически здоровых доноров, а препараты рекомбинантных интерферонов, как правило, содержат бактерии, в генетический аппарат которых встроены большинство в своем гены человеческого INFA, INFB (interferon beta) или INFG (interferon gamma), что и обуславливает синтез соответствующих рекомбинантных интерферонов в организме больного животного [89].

Индукторы интерферона и цитокинов, входящие в последнюю группу, отличаются возможностью стимулировать продукцию интерферона и как следствие этого обладают противовирусной активностью [81, 114, 115]. Кроме того, многие исследователи рекомендуют применять именно индукторы интерферона, а не его готовые препараты [102, 118]. Причиной тому, ученые выделяют способность индукторов интерферона к стимуляции синтеза эндогенного интерферона, что является более физиологично, поскольку индуцированные интерфероны в отличие от рекомбинантных, обладают специфической активностью, низкой токсичностью, отсутствием эмбриотоксичности, мутагенности и канцерогенности [17, 39, 40, 41, 99, 101, 105]. Белоусова Е.Д. также указывает: «...они неаллергенны и не стимулируют образование антител к введенному интерферону. ...их воздействие на организм пролонгированное и достаточно для оказания не только лечебного, но и профилактического эффекта. Для достижения подобного результата в случае экзогенных интерферонов, требуются многократные введения в значительных дозах или увеличение концентрации, что повышает расходы на лечение, особенно при длительном использовании. ...действуя через патогенраспознающие рецепторы и интерферонрегулирующие факторы, они активируют механизмы врождённого иммунитета через индукцию интерфероновых генов. ...далее включался синтез собственного эндогенного интерферона и других цитокинов, прежде всего, именно Th1 ряда, что приводит к формированию противовирусной резистентности и включению механизмов адаптивного иммунитета» [17].

Проведенные исследования Романцева М.Г. показали: «...активность индукторов интерферона различной природы, которая совпадала с ранее выявленной активностью экзогенных интерферонов. ...индукторы интерферона вызывают при введении в организм ряд неспецифических и специфических эффектов. ...неспецифические эффекты проявляются в ингибции роста клеток, модуляцией их дифференцировки и синтезом мембранных рецепторов, специфические связаны с действием на различные звенья системы иммунитета. ...при этом общее действие индукторов интерферона на организм подобно действию физиологического интерферона и выражается оно в активации макрофагов, цитотоксических Т-клеток, В-клеток, естественных киллеров и т.д. ...специфическое действие индукторов осуществляется в комплексе с цитокинами, гормонами, нейромедиаторами и обеспечивает организм теми же иммуномодулирующими свойствами, что и собственный интерферон. ...на основе механизмов врожденного и адаптивного иммунитета, проявляется повышенная стимуляция и дифференцировка клеток костного мозга» [99]. Многие исследователи подчеркивают, что в организме на длительный период времени формируется стойкая неспецифическая резистентности после введения подобных препаратов, продолжающаяся неделями [36, 81, 99, 114]. Ершов Ф.И. отмечает, что синтезированный интерферон занимает ключевое место в: «...формировании двух основных уровней защиты при вирусном инфицировании. Первый уровень обеспечивается интерферонами I типа, а второй — интерфероном II типа и NK-клетки. ...при легком течении заболевания первого уровня защиты достаточно для подавления инфекционного процесса, однако при тяжелых формах инфекций в защиту включается второй уровень, включающий NK-клетки» [36, 41]. Естественные киллеры представляют собой быстродействующий механизм иммунитета способный в кратчайшие сроки распознать и уничтожить пораженные вирусами клетки. Они способны синтезировать противовоспалительные цитокины, запускающие каскад реакций, в результате которого прерывается цикл репродукции вируса в инфицированной клетке [81, 102, 114].

Лечение тех или иных инфекций посредством модуляции иммунного ответа, может представлять действенную терапевтическую стратегию, обладающую рядом преимуществ. В случае использования иммуномодулирующих средств для лечения микробных инфекции, не будет происходить непосредственного воздействия на патоген, в результате чего, у инфекционного агента не будет развиваться множественная лекарственная устойчивость. Кроме того, иммуномодуляция может послужить эффективным решением в борьбе с болезнями, где антибактериальные препараты оказываются недостаточно эффективными. Иммуномодулирующие препараты, обладая потенциально широким спектром активности, при появлении угрозы возникновения инфекции, в том числе и массовых поражений, могут использоваться в качестве неотложного, быстрореагирующего неспецифического средства [51, 81, 114, 115].

Федоров Ю.Н. определяет несомненным плюсом иммуномодуляторов их возможность использования совместно с: «...комплексной терапией одновременно с применением антибиотиков, противовирусных, противогрибковых или противопротозойных средств» [116]. Автор также отмечает, что: «...комбинированное применение иммуномодуляторов с традиционной терапией тех или иных болезней оказывается наиболее эффективным, чем использование препаратов по отдельности» [116].

1.11 Представление об аллофероне и его особенностях

Среди большого множества противовирусных средств, многие авторы отмечают положительный эффект при использовании препаратов на основе аллоферона [8, 35, 42, 98, 113].

Аллофероны представляют собой группу природных противовирусных и противоопухолевых пептидов. Впервые аллофероны были выделены из гемолимфы личинок мухи *Calliphora vicina*. Эти личинки обладали свойством накапливать в гемолимфе чрезвычайно большое количество ранее неизвестных

защитных молекул, связанных с иммунным ответом этих насекомых. В процессе исследований было также установлено, что гемолимфа личинок обладает еще одним уникальным свойством, которое проявляется в виде цитотоксической активности, наподобие с активностью естественных киллиров у млекопитающих [98]. В результате изучения данного свойства были выделены два похожих друг на друга пептида: аллоферон 1 и аллоферон 2. Пептиды имели одинаковую структуру, за исключением 1 аминокислотного остатка и состояли из 12 и 13 аминокислот (HGVSGHGHQHG VNHG и GVSGHGHQHG VNHG соответственно) [98, 146, 147, 148, 149].

Многие исследователи отмечают, что при введении в пиколярных концентрациях, пептид демонстрировал очевидную способность стимулировать естественную цитотоксичность *in vitro* в одних и тех же моделях мышей и человека, а также проявлял противовирусную и противоопухолевую активность на моделях мышей *in vivo* [146, 147, 148, 149]. Аналогичный эффект был зарегистрирован, когда в качестве эффекторных клеток использовали очищенные естественные киллеры человека. Кроме того, в ходе клинических испытаний была подтверждена корреляция цитотоксической активности естественных клеток-киллеров, с терапевтической эффективностью аллоферона у пациентов с рецидивирующим генитальным герпесом. Пептид также демонстрировал другие виды биологической активности, такие как стимуляция синтеза интерферона *in vivo* у мышей и людей, подавление пролиферации вируса простого герпеса *in vitro*, деблокирование NF-κB-опосредованного сигнального пути и модификацию провоспалительной продукции цитокинов [98, 146, 147, 148, 149]. Отечественные авторы описывают аллоферон как препарат «запрещающий выключение цитокинов», способный вызывать активацию системы естественных киллеров локально, в присутствии антигена. Пептид также способствует активации системы Т-цитотоксических клеток и восстановлению функциональной активности Т-клеточного иммунитета, благодаря чему происходит стимуляция и дальнейшее распознавание и лизис дефектных клеток цитотоксическими лимфоцитами. Кроме того, аллоферон способствует экспрессии в инфицированных клетках молекул

главного комплекса гистосовместимости с целью презентации вирусных пептидов другим клеткам иммунной системы [98, 146, 147, 148, 149].

Меншенина А.П. и Черныш С.И. с соавторами в своих работах подчеркивают, что аллоферон, помимо индукции синтеза эндогенных интерферонов вызывает активацию цитотоксических Т-клеток CD3+HLA-DR+ даже на фоне снижения абсолютного числа CD3+CD8+ клеток, что важно для реализации противовирусного и противоопухолевого ответа [98, 146, 147, 148, 149, 193].

Многие авторы отмечают, что после введения аллоферона, наблюдается повышение синтеза IFNG, активирующего эффекторные функции нейтрофилов, макрофагов, цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров, так как у этих клеток есть рецепторы к данному интерферону. У них усиливается цитотоксичность, микробицидность, продуцирование цитокинов, нитрооксидных радикалов, супероксидных радикалов, что приводит к гибели внутриклеточных паразитов и вирусов [64]. Наряду с этим, IFNG угнетает противовоспалительный IL4 (interleukin 4) и В-клеточный ответ, но усиливает продукцию провоспалительного IL2 (interleukin 2), который стимулирует пролиферацию Т-киллеров [146, 147, 148, 149, 193]. IFNG увеличивает экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости как первого, так и второго классов на разных клетках, причем IFNG индуцирует экспрессию данных молекул даже на тех клетках, которые конститутивно их не экспрессируют. Это приводит к возрастанию эффективности презентации антигенов и способности распознавания антигенов Т-лимфоцитами и натуральными киллерами, а также наблюдается повышение эффективности фагоцитоза [70, 146, 147, 148, 149, 193] рост активности макрофагов, дендритных клеток [92] и Т-киллеров, а также значительное снижение иммуносупрессивных белков TGFB и FOXP3, которые блокируют активацию лимфоцитов и макрофагов.

К настоящему времени, аллоферон искусственно синтезируется, что обеспечивает ему низкую токсичность за счет высокого процента действующего вещества (95%, причем большая часть примесей представлена структурными

аналогами аллоферона, которые обладают сходными с ним биологическими и фармакологическими свойствами). Синтетический линейный олигополипептид стабилен и однороден по составу. Аминокислотная цепь аллоферона быстро и без остатка подвергается биодegradации, а образующиеся при этом свободные аминокислоты включаются в обычные пути метаболизма. Размеры молекулы аллоферона в 5-10 раз ниже порога иммуногенности, что делает крайне маловероятным развитие аллергических и других нежелательных иммунологических реакций [8, 146, 147, 148, 149, 193].

Подводя итог, можно заключить, что на сегодняшний день, аллоферон является перспективным веществом, способным оказывать иммуномодулирующий, противовирусный и противоопухолевый эффект. Реакции иммунной коррекции, оказываемые препаратом, могут быть ключом к решению многих иммунодефицитных состояний при различных болезнях, в том числе и вирусного генеза, способов лечения и профилактики которых, до сих пор не найдено.

1.12 Заключение по обзору литературы

Вопрос профилактики Алеутской болезни норки не теряет своей актуальности уже на протяжении последних нескольких десятилетий. Широкое распространение вирусного плазмодитоза по всему миру, связанное с отсутствием способов лечения и профилактики, выдвигает на первый план необходимость поиска и разработки эффективных методов борьбы с ним [18, 31, 33, 105, 106]. Причиной тому является колоссальный ущерб, который наносит болезнь отрасли звероводства. Фермы занимающиеся выращиванием пушнины, в массовых количествах теряют поголовье за счет падежа основного стада и в особенности молодняка, что грозит дальнейшими длительными экономическими проблемами. Количество и качество получаемых шкурок также сокращаются, а расходы на мероприятия по ликвидации последствий болезни становятся только

больше [106]. Основная проблема Алеутской болезни кроется в ее патогенезе и иммунодефицитном состоянии, в результате которого, многолетние попытки создать вакцину в качестве меры специфической профилактики оказались провальными. К настоящему времени эффективных средств неспецифической профилактики и лечения данной болезни по-прежнему не найдено [20, 18, 31, 79, 85, 97, 116]. Учитывая патогенез вирусного плазмодитоза и изменения в организме зараженных норок, вызываемые возбудителем, можно предположить, что для успешного решения проблемы борьбы с Алеутской болезнью норок, необходима коррекция иммунного статуса больных животных.

Одним из возможных вариантов решения поставленной проблемы может быть применение препаратов интерферона и в частности индукторов эндогенного интерферона на основе синтетического олигопептида – аллоферона, положительно зарекомендовавшем себя в человеческой медицине в борьбе с вирусными и онкологическими болезнями [146, 147, 148, 149, 193].

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ) Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

В работе использовали общепринятые в научных исследованиях вирусологический, молекулярно-генетический, серологический, гистологический, биохимический, общеклинический, зоотехнический и статистический методы исследований.

Научно-хозяйственные эксперименты, а также отбор проб патологического материала для диагностических и мониторинговых исследований по теме диссертации были проведены на базе звероводческого хозяйства в условиях Северо-Западного региона Российской Федерации. Лабораторно-диагностические исследования проведены на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии, а также клинико-биохимической лаборатории ФГБОУ ВО СПбГУВМ (Санкт-Петербург). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

2.1 Материалы исследования

2.1.1 Экспериментальные животные

В течение 2018-2019 года нами была проведена серия опытов с применением препарата «Аллокин-альфа» молодняку норок, спонтанно зараженных вирусом Алеутской болезни норок. Экспериментальные исследования проводили с соблюдением требований «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях», принятой в Страсбурге в 1987 году [34]. Всего в работе было использовано 240 голов норок (160 самок и 80 самцов) с суточного до 210-дневного возраста.

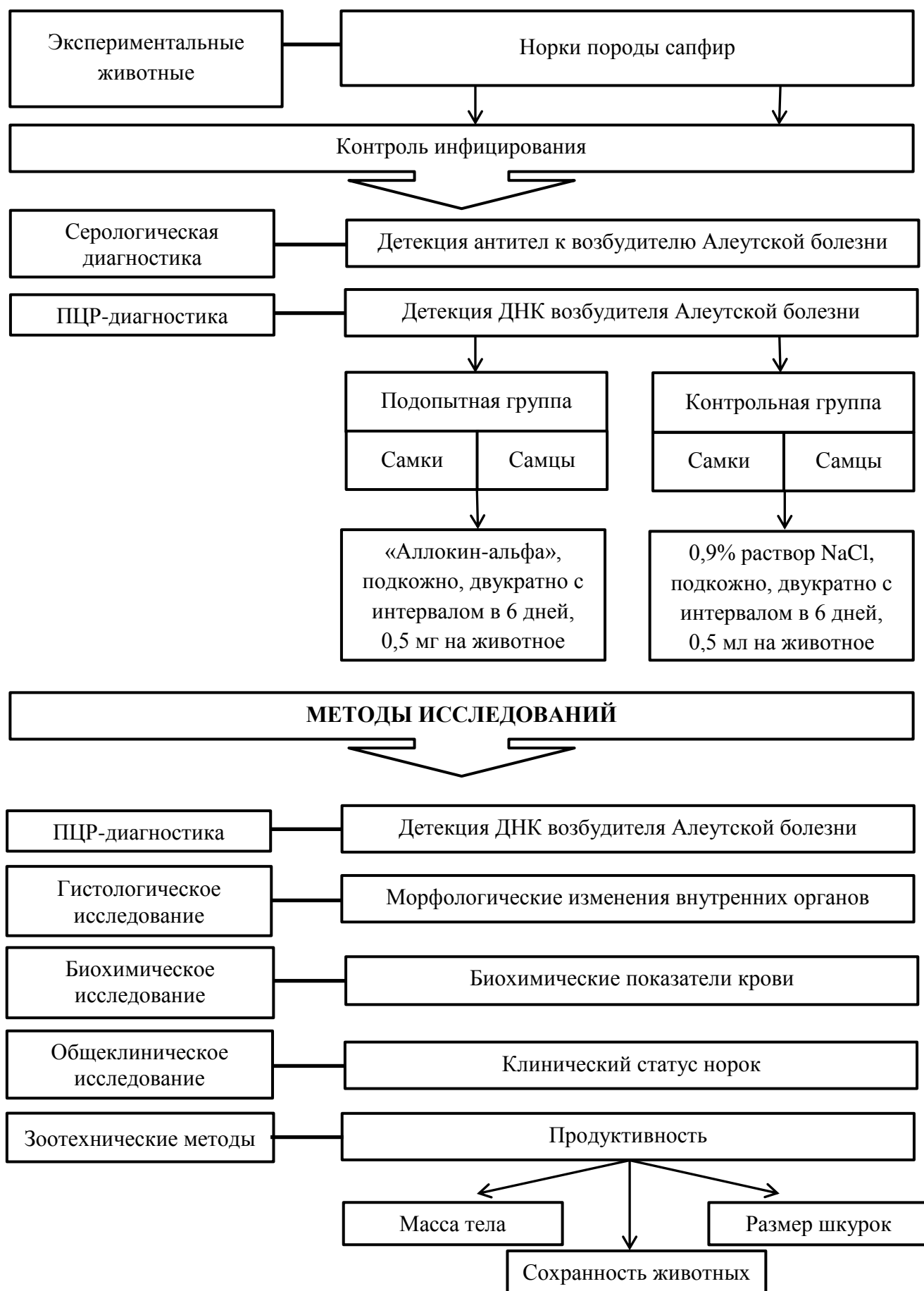


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Животные были разделены на 2 группы: контрольная и подопытная. С целью получения достоверных результатов всех зверей отбирали по методу групп аналогов. Подопытная и контрольная группы норок имели одинаковые возраст, иммунный статус, условия содержания, кормления и ветеринарного обслуживания и соответствовали зооветеринарным требованиям. За каждой группой был закреплен отдельный обслуживающий персонал. Норок подопытной и контрольной группы изолировали в отдельно стоящие шеды. Шеды оборудованы автопоилками, электрическим освещением и клетками для животных, между которыми располагается продольный проход из бетона. Защищены от осадков двухскатной крышей.

2.1.2 Характеристика препарата «Аллокин-альфа». Схема применения животным в эксперименте

Противовирусный препарат «Аллокин-альфа» представляет собой белый, лиофильно высушенный порошок без запаха, хорошо растворимый в воде и в изотоническом растворе NaCl 0.9% для инъекций. Активное действующее вещество (субстанция, синтетический линейный олигополипептид – аллоферон) имеет молекулярный вес 1265 Дальтон. Препарат выпускается в стерильных стеклянных ампулах или флаконах. Доза в ампуле или флаконе — 0,1, 1,0 или 10 мг аллоферона. Препарат сохраняет свои свойства при температуре 2-8°C в течение 2х лет.

При разработке схемы профилактических мероприятий при вирусном плазмоцитозе норок с применением препарата «Аллокин-альфа», мы отталкивались от патогенеза, эпизоотологии и биологических свойств возбудителя. Учитывали положительные результаты применения аллоферона отечественных авторов, а также от рекомендаций производителя [35, 42, 113].

С целью определения эффективности «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни норок, препарат применяли животным подопытной группы в возрасте 30 дней в виде подкожных инъекций двукратно с интервалом в 6 дней в дозе 0,5 мг

на животное. Для приготовления раствора ампулу препарата «Аллокин-альфа», содержащую 1 мг аллоферона, разводили в 1 мл стерильного физиологического раствора (0,9% NaCl). Для удобства введения, животных фиксировали в ловушки при помощи плотных перчаток. После разведения, препарат инъецировали в кожную складку в области холки, в объеме 0,5 мл на животное, что соответствует дозировке 0,5 мг на животное. Через 6 дней инъекцию повторили в том же порядке.

Норкам контрольной группы, в возрасте 30 дней, подкожно вводили стерильный физиологический раствор (NaCl 0,9%) в том же режиме дозирования. Инъекцию осуществляли в кожную складку в области холки, в дозе 0,5мл на животное. Спустя 6 дней процедуру повторяли.

2.2 Методы исследований

2.2.1 Методы серологического исследования. Постановка реакции иммуноэлектроосмофореза

Постановку РИЭОФ проводили с использованием прибора "ПЭФ-3" (ОАО «Медлабортехника», Россия) для электрофореза, иономера И-160МИ (ООО "Измерительная техника", Россия), лабораторной центрифуги OHAUS FC5515R («OHAUS Corporation», США), микропипеток BIOBASE MicroPette («BIOBASE», Германия), агара для электрофореза, заливочного столика, пробойника диаметром 2,5 мм, стеклянных пластинок 8x15 см, стеклянных капилляров, фильтровальной бумаги и дистиллированной воды. Для реакции применяли стеклянные пластины с 0,7% агаровым гелем. В роли антигена служила вирус-содержащая суспензия диагностикума (ТОО «ИМГЕН», Россия), контроль проводился при помощи положительной контрольной сыворотки (ТОО «ИМГЕН», Россия). В качестве буферного раствора применялся барбитал-ацетатный буфер (рН 8,6).

Для приготовления буферного раствора, 4,3г барбитала, 0,95г каустической соды и 3,24г ацетата натрия растворяли в 300 мл дистиллированной воды,

подогретой на водяной бане до 40-50°C, при перемешивании. К раствору добавляли 30 мл 0,1 М раствора HCl, доводили объем дистиллированной водой до 1 л и измеряли pH.

Для приготовления 0,7% агарового геля, в готовый буферный раствор для электрофореза вносили агарозу из расчета 0,7г агарозы / 100 мл буфера, интенсивно перемешивая до полной прозрачности при нагревании на водяной бане. Заливку стекол гелем агарозы проводили при помощи заливочного столика. Стекла размером 8x15 см заливали 24 мл геля агарозы при температуре 50-55°C и оставляли на 5-10 минут для застывания до равномерного помутнения геля по всей поверхности стекол. После застывания геля, при помощи пробойника проделывали отверстия, формируя лунки при помощи заранее размеченной миллиметровой бумаги, помещенной под стеклянную пластинку. Расстояние между центрами лунок – 6 мм. Всего было пробито 11 горизонтальных рядов по 6 лунок в каждом.

Объектом исследования выступала кровь из периферических сосудов пальца животных, которую по каплям собирали в стеклянные капилляры и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 минут. Полученную сыворотку крови вносили в лунки четного вертикального ряда первых 10 горизонтальных рядов при помощи микропипетки по 8-10 мкл. Для контроля реакции, в четные лунки 11-го ряда вносили контрольную положительную сыворотку. В оставшиеся нечетные колонки вносили антиген в объеме 8-10 мкл и помещали пластину с нанесенным материалом в камеру для электрофореза, предварительно заполненную буферным раствором. К противоположным краям пластины присоединяли по 4 фитиля из фильтровальной бумаги и закрывали камеру. Электрофорез проводили в течение 30 мин при напряжении 120 В. Оценку результатов проводили визуально по появлению полос преципитации. При сомнительном результате проводили повторную диагностику.

2.2.2 Методы молекулярно-генетического исследования

Молекулярно-генетическое исследование методом ПЦР-диагностики проводили для исключения ложноотрицательных результатов РИЭОФ, а также перед забоем животных, с целью определения наличия генома возбудителя Алеутской болезни у норок в конце эксперимента.

Постановку полимеразной цепной реакции проводили в боксе абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) («БАВ-ПЦР «Ламинар-С.», ЗАО «Ламинарные системы», Россия), шкаф ламинарный с вертикальным потоком воздуха II класса защиты (Bellco Glass, Канада), с использованием штативов для пробирок объемом 0,2 мл (Axygen, Inc., США), автоматических дозаторов переменного объема (ООО «Биохит», Россия), вортекс («ТЭТА-2», «Биоком», Россия). Объектом исследований служили пробы фекалий массой по 1-3 г от животных в эксперименте. Отбор, хранение и транспортировку осуществляли в стерильных контейнерах при температурном режиме 2-5°C. Для выделения ДНК из проб фекалий применяли коммерческий комплект реагентов АмплиПрайм ДНК-сорб-В (ООО «НекстБио», Россия) согласно инструкции производителя. Из отобранного материала готовили 10% суспензию на стерильном физиологическом растворе (NaCl 0,9%). Полученную суспензию центрифугировали при 10-12 тыс об/мин в течение 2 мин. Экстракцию ДНК проводили из 100 мкл надосадочной жидкости.

ПЦР проводили 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) согласно протоколу амплификации, представленному в таблице 1, с горячим стартом при 95 °С в конечном объеме реакционной смеси 25 мкл, содержащей 10 мкл ДНК-пробы.

Детекцию продуктов амплификации осуществляли методом электрофореза в 2% агарозном геле «TopVision Agarose» (Thermo Fisher Scientific, США) с добавлением «GelRed» (Biotium, США). Для приготовления 2% агарозного геля в

термостойкую 250 см³ стеклянную колбу вносили 5 г порошка агарозы и добавляли 250 мл 1X трис-ацетатный буфер TAE (ЗАО «Евроген», Россия). Содержимое тщательно перемешивали и помещали в микроволновую печь («Media», Китай). Плавление агарозы проводили в течении 1,5 минут при мощности 800 Вт до полного ее растворения. Расплавленный гель заливали в форму для горизонтального электрофореза, устанавливали гребенки, не касаясь дна, и оставляли застывать при комнатной температуре. Гель заливали толщиной 0,6 см. После полного застывания извлекали гребенку и вносили продукты амплификации по 10-15 мкл в лунки геля, используя новый наконечник с фильтром для каждой последующей пробы. В качестве маркера использовали DNA Ladder 100 bp (Thermo Fisher Scientific, США). Перед проведением электрофореза, раствор буфера заливали в камеру в объеме, покрывающем гель на 5 мм сверху. Камеру подключали к источнику электрического тока и проводили электрофорез при напряжении 85В в течение 35 минут. Электрофореграммы визуализировались с использованием трансиллюминатора Cellmager с программным обеспечением Quantity One – 4.6.3. (Basic) («Bio-Rad», Франция).

Таблица 1 – Протокол амплификации

Цикл	Температура, °C	Время, сек	Число циклов
0	95 ⁰ C	пауза	
1	95 ⁰ C	300	1
2	95 ⁰ C	10	42
	63 ⁰ C	10	
	72 ⁰ C	10	
3	72 ⁰ C	60	1
4	10 ⁰ C	хранение	

2.2.3 Методы гистологического исследования морфологии органов

Гистологические исследования внутренних органов норок проводили через 6 месяцев после применения препарата «Аллокин-альфа», в период забоя основного поголовья. Животных всех экспериментальных групп подвергали диагностическому убою методом эвтаназии диоксидом углерода с помощью установки АЕ0904-С2 (ООО «НПК Открытая Наука», Россия), с соблюдением принципов биоэтики. После убоя отбирали печень, почки, селезенку, яичники у самок и семенники у самцов. Материал для гистологического исследования отбирали следующим образом: фрагменты селезенки печени и почек размером 10,0 мм × 10,0 мм × 3,0-4,0 мм, были отобраны скальпельным лезвием с захватом капсулы и всех слоев органов. Яичники и семенники отбирали полностью. Все отобранные органы подписывали, помещали в гистологические кассеты и погружали в стандартизированный фабричный забуференный 10,0% формалин на 2–4 суток для фиксации. Объем фиксатора превышал в 10-20 раз объем пробы. После фиксации, образцы органов промывали проточной водой в течение 1-2-х часов. Фиксированный материал высушивали и заливали в парафин. Для обезвоживания препараты проводили по батарее спиртов восходящей концентрации. Заливку материала осуществляли по стандартному протоколу, адаптированному к исследуемому материалу с использованием изопрепа (на основе изопропилового спирта) и парафиновой среды HISTOMIX (ООО «Алкор Био» Россия). Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм на микротоме РОТМИК-2М (ЗАО «ОРИОН МЕДИК», Россия), приклеивали к стеклам и окрашивали гематоксилин-эозином. Окраску производили гематоксилином Карацци в течение 30 секунд. Дифференцировали водопроводной водой (10 минут) и докрашивали 1% спиртовым эозином (45 секунд), далее обезвоживали и просветляли в ксилоле и 96,0% этаноле, после чего заключали под монтирующую среду.

Анализ полученных препаратов проводили при помощи светооптического микроскопа Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия) при 10-, 40-, 100-кратном

увеличении. Микрофотографии делали с помощью камеры МС-3 № ХС 1272 (ООО «ЛОМО-МА», Россия); фото и анализ изображений сделаны в программе МСview.

2.2.4 Исследование биохимических показателей крови

Контроль за биохимическим составом крови больных вирусным плазмоцитозом норок в контрольной группе и группе, получавшей препарат «Аллокин-альфа» проводили в динамике через 1, 3 и 6 месяцев после начала эксперимента. Отбор материала осуществляли в утренние часы, до приема корма животными. 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 (SiO_2), напылённый на внутренние стенки пробирки. Пробы доставляли в лабораторию с учетом температурного режима хранения проб ($+4^\circ\text{C}$). Биохимические исследования проводили на базе клиничко-биохимической лаборатории ФГБОУ ВО СПбГУВМ на автоматическом биохимическом анализаторе Clima MC-15 (RAL, Испания) с автоматической системой расчета. В крови у норок контрольной и подопытной групп измеряли общий белок, альбумин, глобулин, мочевины, креатинин, аланинаминотрансферазу (АЛТ) и аспартатаминотрансферазу (АСТ).

В дополнение к лабораторной диагностике проводили оценку состояния обеих групп норок по клиническим и хозяйственным показателям.

2.2.5 Исследование клинического статуса норок

Общесфункциональное состояние животных оценивали клиническими методами исследования. Учитывали подвижность, координацию движений, обращали внимание на положение тела в пространстве, поведение зверей,

аппетит, а также реакцию на внешние раздражители, оценивали состояние и качество шерсти. Исследование слизистых оболочек в динамике эксперимента проводили при дневном свете 1 раз в неделю выборочно по 3 - 5 норок из каждой группы. Зверей фиксировали общепринятыми методами, при помощи ловушек и плотных перчаток, тесемками раскрывали ротовую полость и проводили осмотр. Дополнительные методы исследований не использовали с целью минимизации стрессорных факторов, что могло бы неблагоприятно сказаться на общем клиническом состоянии животных.

2.2.6 Зоотехнические методы исследования

В обеих группах животных определяли изменение массы тела методом взвешивания в начале каждого месяца в течение эксперимента при помощи электронных весов OHAUS V71P15T («OHAUS Corporation», США).

В обеих группах исследуемых норок вели учет сохранности животных, а также определяли размеры шкурок после убоя с использованием измерительной ленты. Площадь шкурок определяли с помощью показателей длины от междуглазья до корня хвоста и удвоенной ширины шкурки.

2.2.7 Статистическая обработка данных

Обработку полученных данных производили с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты обрабатывали с использованием компьютерной программы Statistika 10.0, (Stat.Soft, Inc., США) и Microsoft Office Excel 2016 [59, 60]. Данные представлены в виде $M \pm SEM$, где M — среднее арифметическое, $\pm SEM$ — стандартная ошибка среднего.

2.3 Характеристика условий проведения опыта

Экспериментально-практическая часть диссертационных исследований, включающая подбор норок, отбор проб патологического материала для диагностических и мониторинговых исследований, а также научно-хозяйственные эксперименты, были проведены на базе звероводческого хозяйства в условиях Северо-Западного региона Российской Федерации.

Во время проведения экспериментов температурный режим атмосферного воздуха изменялся в соответствии с сезонами года и был типичным для региона. Показатель относительной влажности колебался в пределах 65-95%. Содержание подопытных норок в шедах, в клетках обеспечивало их нормативными зоогигиеническими условиями.

Рационы кормления подопытных и контрольных норок были одинаковыми и соответствовали стандартным общепринятым. Всех зверей экспериментальных групп кормили по общехозяйственному рациону, представленному в таблице 2.

Таблица 2 – Среднемесячный рацион норок по месяцам эксперимента, г

Наименование	Месяц							
	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь	Декабрь
Салака	4,1	2,3	4,8	2,9	3,5	2,7	0,0	0,0
Хамса	5,1	1,7	4,7	3,4	1,9	2,9	1,7	4,7
Отходы трески	14,3	10,8	2,8	0,9	1,5	0,5	1,2	1,2
Отходы сельди	4,4	1,7	2,7	2,1	4,6	6,8	12,9	11,7
Отходы судака	8,3	6,2	2,3	3,3	2,1	4,3	4,1	3,6
Отходы путассу	15,0	15,0	10,3	13,0	12,4	7,5	8,6	13,3
Кровь	8,3	6,3	5,8	6,6	5,4	6,3	6,4	8,5
Обрезки свиные	6,3	7,4	2,9	6,0	5,7	5,4	4,4	3,7
Субпродукты говяжьи	2,8	3,9	2,4	3,0	2,1	3,1	3,4	2,7
Субпродукты куриные	1,7	4,3	6,7	7,7	10,9	11,5	9,2	8,9
Остатки кормов	0,8	3,1	3,5	2,5	1,1	0,0	0,0	0,0
Мясокостная мука	0,8	1,3	1,1	1,2	0,8	1,2	1,6	1,2
Кукурузный глютен	0,0	0,5	0,8	0,9	1,0	0,8	0,7	1,1
Пшеница	5,3	5,5	4,8	4,6	4,9	5,9	6,3	6,8
Молочные отходы	3,3	1,8	0,1	0,0	0,4	0,2	0,8	0,0
Соевый шрот	0,0	0,0	0,3	0,5	0,7	0,5	0,7	0,0
Жир-сырец	0,0	0,0	5,7	2,6	1,6	1,1	0,8	1,4
Дрожжи кормовые	0,0	0,1	0,6	0,5	0,6	0,5	0,8	1,1
Масло растительное	0,0	0,0	0,0	0,1	0,5	0,5	0,4	0,2
Вода	9,5	10,4	11,3	10,3	14,7	10,7	10,2	9,3
Итого	90	82,3	73,6	72,1	76,4	72,4	74,2	79,4

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Широкому распространению Алеутской болезни норок способствуют высокая устойчивость возбудителя во внешней среде, использование племенного материала без учета эпизоотической ситуации в хозяйстве, а также ошибки в соблюдении технологии выращивания и ветеринарно-санитарного обслуживания. Кроме того, вирусный плазмодитоз зачастую протекает в хроническом виде, а инфекционный процесс, вызванный болезнью, часто осложняется вторичными инфекциями и может тяжело диагностироваться общепринятыми методами. В результате чего, возбудитель Алеутской болезни норок способен циркулировать в звероводческом хозяйстве годами, передаваясь от бессимптомно-больных матерей молодняку, обеспечивая снижение рентабельности мехового производства и нарушение эпизоотического благополучия регионов. Одними из основных критерий эффективности препарата «Аллокин-альфа» можно назвать динамику лабораторных исследований и степень развития клинических симптомов болезни, в связи с чем мы провели ряд исследований на молодняке норок инфицированным вирусом Алеутской болезни, направленных на изучение эффективности препарата «Аллокин-альфа» и установили возможность применения индукторов интерферона при вирусном плазмодитозе.

3.1 Изучение эпизоотической ситуации в звероводческом хозяйстве Северо-Западного региона Российской Федерации по Алеутской болезни норок

Предприятие, на базе которого проводилась экспериментальная часть исследований, представляет собой большую огороженную территорию, внутри которой располагаются производственные блоки шед, имеется административно-хозяйственный блок, кормоцех и холодильник с новым современным оборудованием, строения для хранения кормов, продукции и агрегатов, а также гараж. Дополнительно предусматриваются отдельные для

каждой бригады помещения для отдыха и комнаты для переодевания персонала.

Звероводческое хозяйство работает по принципу предприятия закрытого типа и занимается выращиванием норки окрасов – серо-голубой, сапфир, жемчуг, махогон, черный и белый. Поголовье основного стада, на момент исследования, составляло около 12 тыс. голов. Норок содержат в клетках, располагающихся под двускатной крышей и представляющий собой шеды. Между клеток проходит рабочий проход. Клетки представлены на рисунке 2. Кормление зверей осуществляется, согласно стандартным рационам, вручную, один раз в сутки.



Рисунок 2 –Клетки для норок

В течение производственного цикла животных вакцинируют против чумы, вирусного энтерита, ботулизма и псевдомоноза норок. Кроме того, два раза в год, в январе и августе проводят исследование крови норок на наличие антител к возбудителю Алеутской болезни в реакции иммуноэлектроосмоскопии.

Впервые клинические и патологоанатомические признаки вирусного плазмодитоза в хозяйстве были отмечены в 2018 году у норок, завезенных из Дании с целью комплектования стада.

3.1.1 Признаки Алеутской болезни норок в звероводческом хозяйстве

Клиническая картина болезни была представлена нетипичными признаками. Наблюдали уменьшение активности у животных, снижение потребления корма, живой массы и расстройство процессов пищеварения. У некоторых особей отмечали анемию видимых слизистых оболочек и повышенную жажду, шерсть у таких норок была тусклой и взъерошенной. У многих самок фиксировали аборт и пустование, при этом заметили тенденцию к увеличению падежа среди основного поголовья. При патологоанатомическом вскрытии выявляли наличие язв небольшого размера на слизистой оболочке ротовой и носовой полостей у некоторых животных, почки были сморщены, уменьшены в объеме, серо-желтого цвета, с легко отделяемой капсулой. Печень была увеличена в объеме и имела окрас мускатного ореха.

3.1.2 Результаты диагностических исследований в звероводческом хозяйстве

Для подтверждения причины появления признаков вирусного плазмодитоза в хозяйстве были проведены серологические и молекулярно-генетические исследования. Серологические исследования проводили в РИЭОФ согласно общепринятой методике.

Серологические исследования проводили при помощи реакция иммуноэлектроосмосфореза. На сегодняшний день, РИЭОФ в Российской Федерации является основным методом диагностики Алеутской болезни норок. Ее сущность сводится к индикации антител к возбудителю вирусного плазмодитоза. РИЭОФ отличается высокой специфичностью и применяется при возникновении подозрений на вирусный плазмодитоз, как способ диагностики болезни у поголовья в плане лечебно-профилактических мероприятий, а также при завозе новых норок на звероферму. Стоит отметить,

что в ранние сроки диагностирования после инфицирования чувствительность реакции может быть достаточно низкой. По этой причине, для исключения ложноотрицательных результатов РИЭОФ, контроль реакции проводился с помощью ПЦР-диагностики.

В результате проведенной РИЭОФ установлено 56% положительных и 44% отрицательных пробы. Сомнительные результаты РИЭОФ, полученные в ходе диагностики были подвергнуты повторному исследованию с новой пробой сыворотки. Повторно подтвержденные сомнительные пробы были определены как положительная реакция. ПЦР-исследование показало наличие у всех отобранных экспериментальных животных положительную и ни одну отрицательную реакции.

3.2 Детекция генома возбудителя Алеутской болезни норок молекулярно-генетическим методом

Полимеразная цепная реакция – один из наиболее часто применяемых методов диагностики инфекционных болезней, поскольку обладает высокой чувствительностью и специфичностью (до 99%). Основное преимущество метода в диагностике вирусных болезней заключается в прямом определении наличия возбудителя, а также высокая скорость получения результатов, что способствует ранней диагностике болезней. Объектом исследования для ПЦР могут служить пробы как клинического, так и патологического материалов, а также проб с объектов внешней среды, что в значительной мере расширяет возможности диагностики.

На завершающей стадии опыта, через 6 месяцев после применения «Аллокин-альфа» инфицированным животным, проводили молекулярно-генетический анализ методом ПЦР-диагностики с электрофоретической детекцией, для выявления генома возбудителя Алеутской болезни в фекалиях у норок контрольной и подопытной групп, с целью определения эффективности

действия противовирусного препарата «Аллокин-альфа» *in vivo*. Результаты ПЦР исследования представлены на рисунках 3 - 4.

В результате проведенных исследований методом полимеразной цепной реакции, во всех исследуемых образцах норок контрольной группы были зарегистрированы амплифицируемые фрагменты длиной 176 п.н., что свидетельствует о наличии у этих животных копий ДНК возбудителя вирусного плазмоцитоза. Образование данных фрагментов было строго специфично. Результаты ПЦР-диагностики контрольной группы норок представлены на рисунке 3.

В подопытной группе животных, у 40% особей, получавших препарат «Аллокин-альфа», ДНК возбудителя вирусного плазмоцитоза выявлено не было. Результаты ПЦР-диагностики подопытной группы норок представлены на рисунке 4.

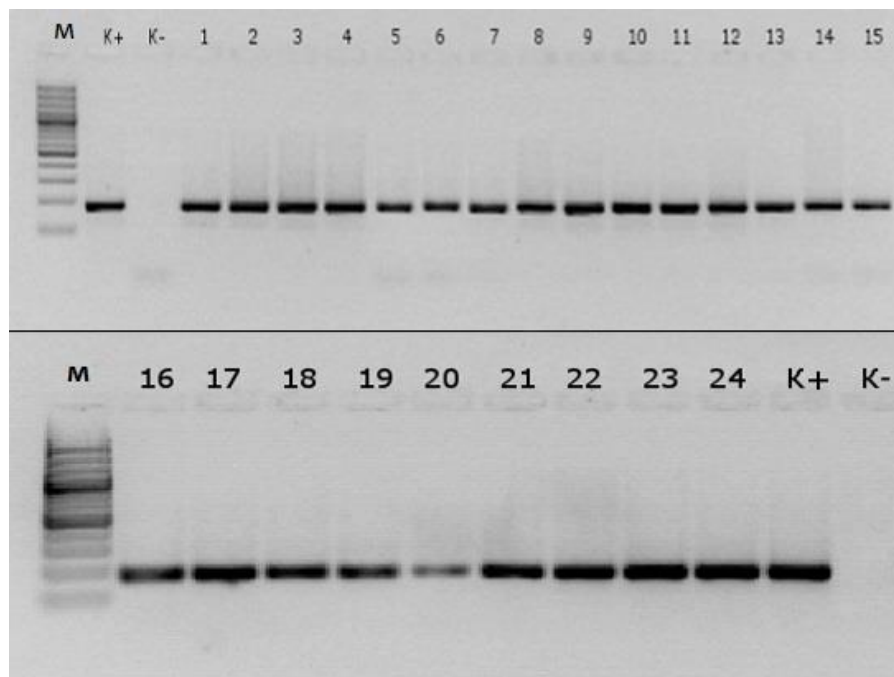


Рисунок 3 – Электрофореграмма продуктов амплификации норок контрольной группы (обозначения: 1-8 – самцы норок, 9-24 – самки норок, K+ – контроль положительный, K- – контроль отрицательный, M – маркер молекулярной массы).

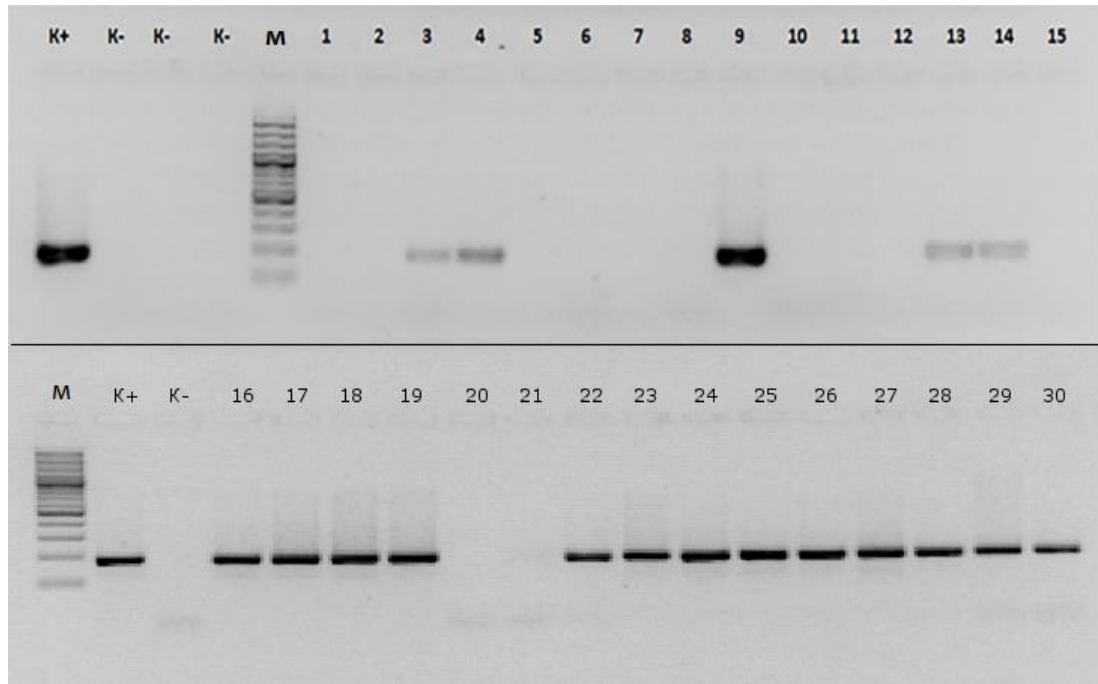


Рисунок 4 – Электрофореграмма продуктов амплификации норок подопытной группы (обозначения: 1-10, 21-30 – самки норок, 11-20 – самцы норок, K+ – контроль положительный, K- – контроль отрицательный, M – маркер молекулярной массы).

Таким образом, в результате применения препарата «Аллокин-альфа» инфицированным вирусом Алеутской болезни норкам в возрасте 30 дней в виде подкожных инъекций в дозировке 0,5 мг на животное, двукратно с интервалом 6 дней, у части животных, генетического материала вируса Алеутской болезни норок обнаружено не было.

3.3 Гистологический анализ морфофункционального состояния внутренних органов животных в эксперименте

Возбудитель Алеутской болезни в организме инфицированной норки провоцирует изменения морфологии внутренних органов и тканей, которые зачастую носят необратимый характер. Особое значение принимает развитие почечной недостаточности на фоне прогрессирующего гломерулонефрита, а

также поражение печени, которые играют решающую роль в исходе болезни.

С целью изучения морфофункционального состояния внутренних органов у всех животных в конце каждого опыта было проведено гистологическое исследование. Для проведения гистологического исследования у животных всех экспериментальных групп отбирали печень, почки, селезенку, яичники у самок и семенники у самцов после эвтаназии с соблюдением принципов биоэтики. При взятии патологического материала, у особей контрольной группы почки были сморщены, уменьшены в объеме, серо-желтого цвета, с легко отделяемой капсулой, печень была увеличена в объеме и имела окрас мускатного ореха. У норок из подопытной группы, подобные изменения не наблюдались или были слабо-выражены.

При анализе гистологических срезов почек норок контрольной группы, представленных на рисунках 5-8, были выявлены поражения в мезангии почечных клубочков. Наблюдались диффузная пролиферация мезангиальных клеток, увеличение толщины мезангиального матрикса почечных телец, сужение просвета капилляров, отечность клубочков, а также лимфоплазмочитарная инфильтрация, являющимися характерными признаками развития интерстициального нефрита. В мозговом веществе встречались очаговые, местами сливающиеся кровоизлияния, а также наблюдались микроскопические участки кальциноза, представленные на рисунке 9. Таким образом, на гистологических срезах животных контрольной группы наблюдаются признаки поздних стадий развития мезангиально-пролиферативного гломерулонефрита.

На рисунках 10, 11 и 12 представлены результаты изучения гистологических срезов почек норок подопытной группы. В них были обнаружены схожие признаки, выраженные от слабой до средней степени. Наблюдались численное увеличение мезангиальных клеток и незначительное расширение внеклеточного матрикса в мезангии клубочков, облитерация просветов капилляров имела низкую степень развития, а лимфоплазматическая

инфильтрация была выражена значительно слабее. При этом наблюдалось полнокровие кровеносных сосудов, что может являться регенеративным признаком восстановления поврежденного органа. Таким образом, на гистологических препаратах животных подопытной группы, получавших препарат «Аллокин-альфа», признаки развития почечной недостаточности выражены значительно слабее.

Гистологическое исследование срезов печени животных контрольной группы показало наличие большого количества увеличенных в объеме гепатоцитов, с просветленной цитоплазмой в результате расширения круглыми или овальными оптически пустыми вакуолями, что говорит о развитии тотальной гидропической дистрофии, представленной на рисунке 13. В некоторых участках были выявлены очаги гидропической дистрофии переходящие в баллонную, что при дальнейшем развитии может привести к фокальному колликвационному некрозу. Возникновение подобных дистрофических изменений в печени контрольных норок может быть связано с репродукцией вируса в гепатоцитах, что приводит к извращению их белково-синтетической функции. Также выявлены очаговые кровоизлияния, пролиферация клеток эпителия желчевыводящих протоков, перидуктальная лимфоцитарная инфильтрация – признаки развития холангита, представленные на рисунках 14 и 15. Очаги лимфоцитарной инфильтрации выявлены не только в самих желчевыводящих протоках, но и в строме печени, изображенных на рисунках 16 и 17.

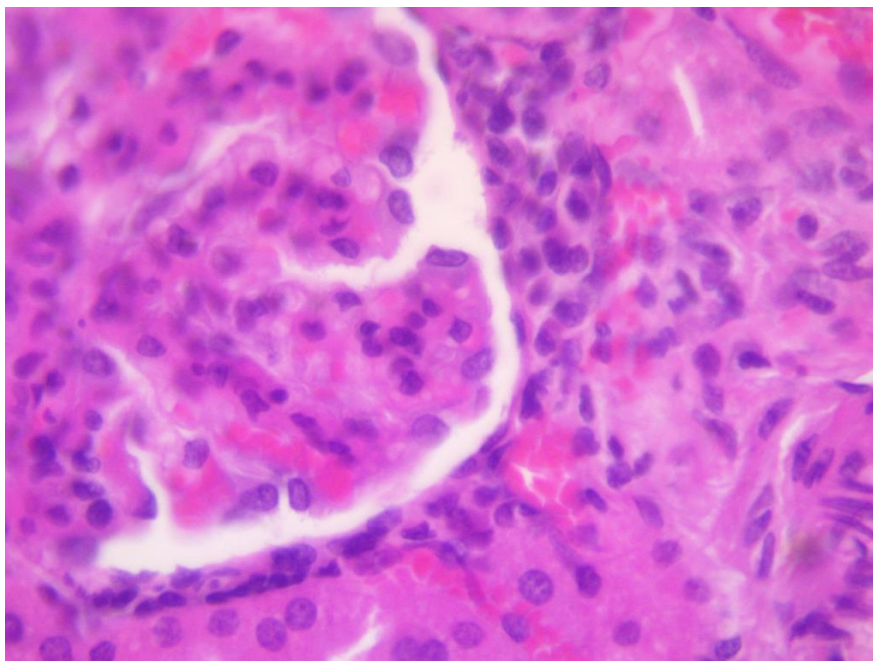


Рисунок 5 – Увеличение мезангиального матрикса почечных клубочков. Капиллярные петли плохо различимы у норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 40$).

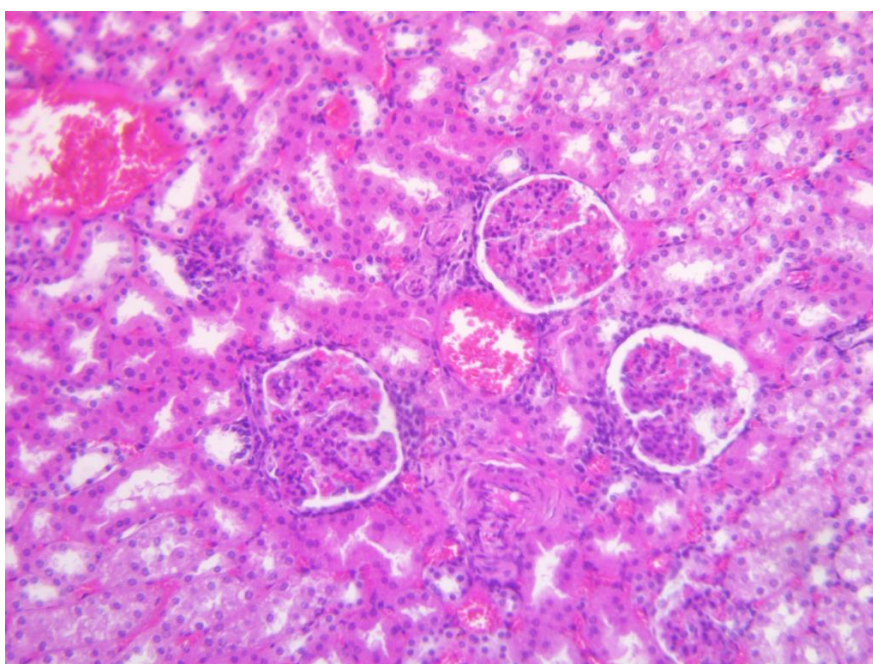


Рисунок 6 – Увеличение мезангиального матрикса почечных клубочков. Капиллярные петли плохо различимы у норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

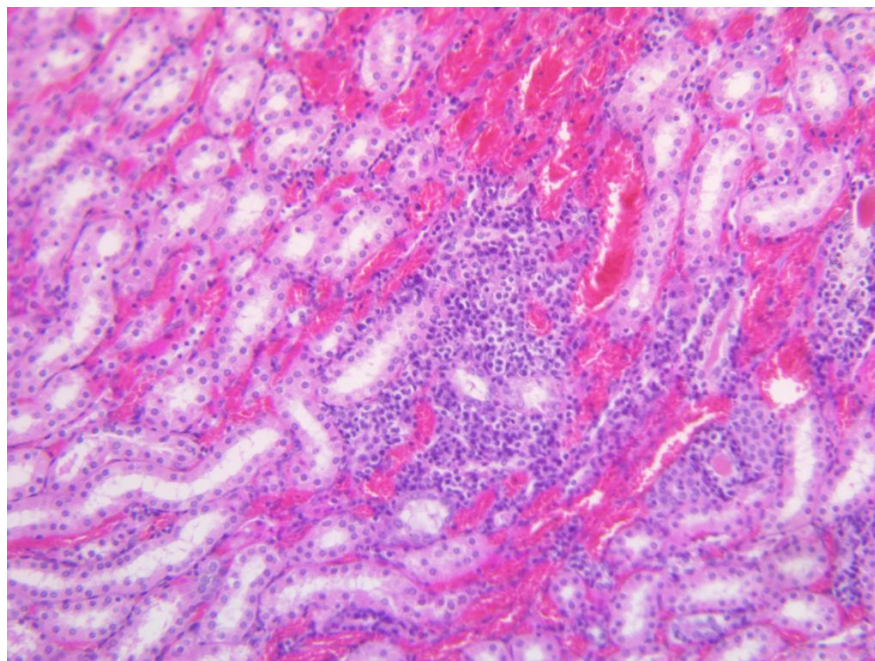


Рисунок 7 – Лимфо-плазмацитарная инфильтрация в почках норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

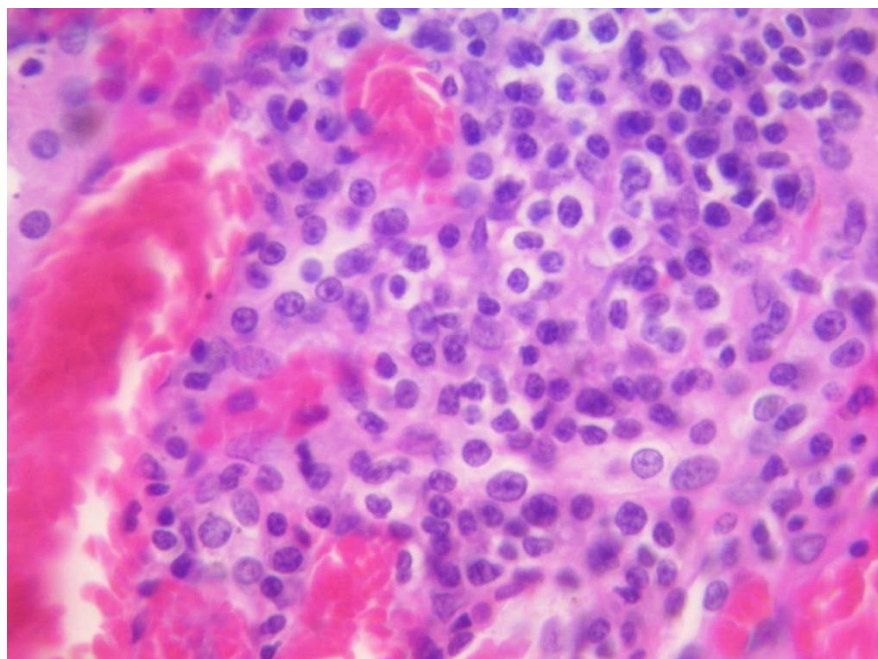


Рисунок 8 – Лимфо-плазмацитарная инфильтрация в почках норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 40$).

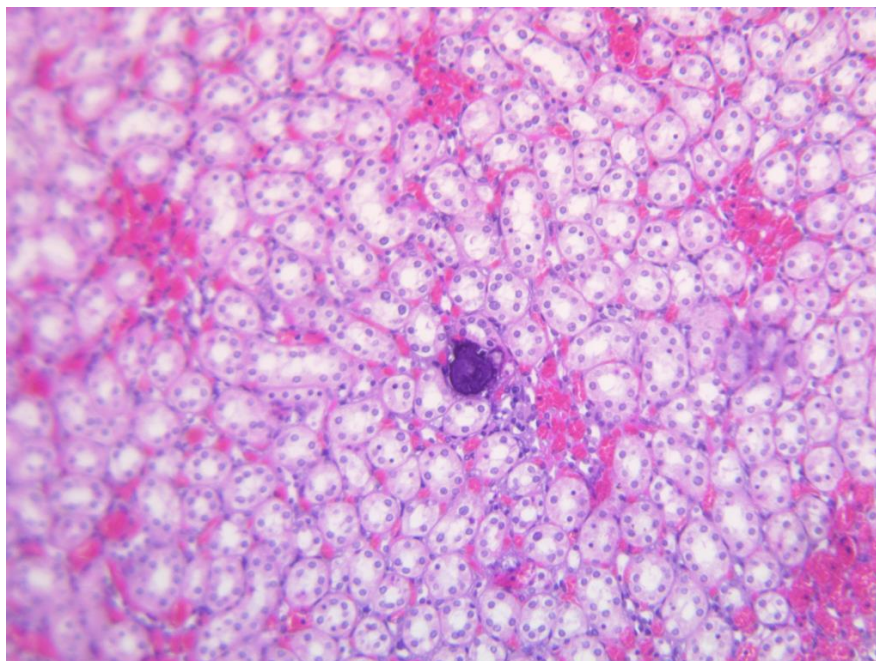


Рисунок 9 – Кровоизлияния и участок кальциноза в почках норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

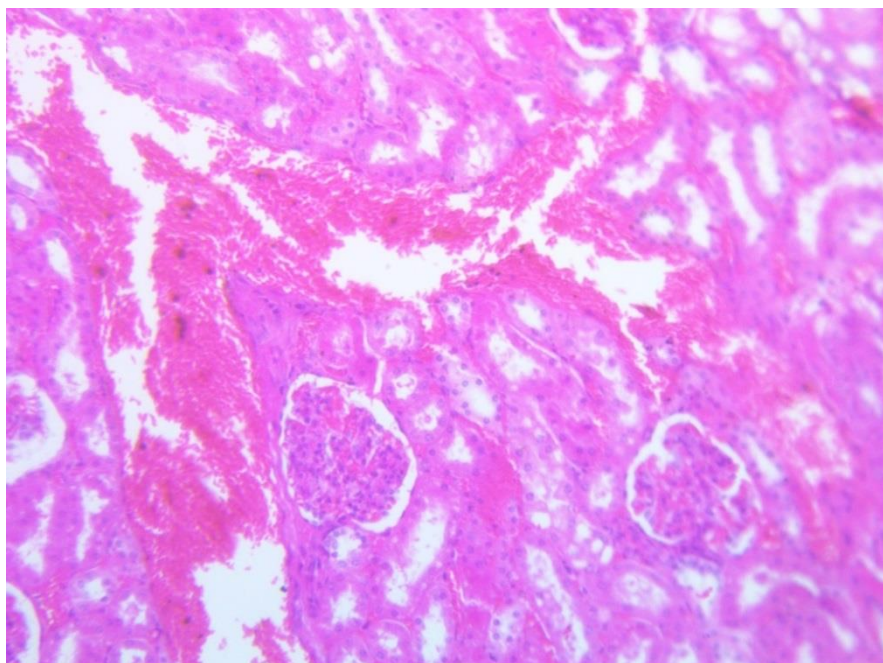


Рисунок 10 – Увеличение мезангиального матрикса. Степень облитерации капилляров почечных телец и лимфоцитарно-плазмоцитарная инфильтрация в почках норок подопытной группы менее выражены по сравнению с контролем (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

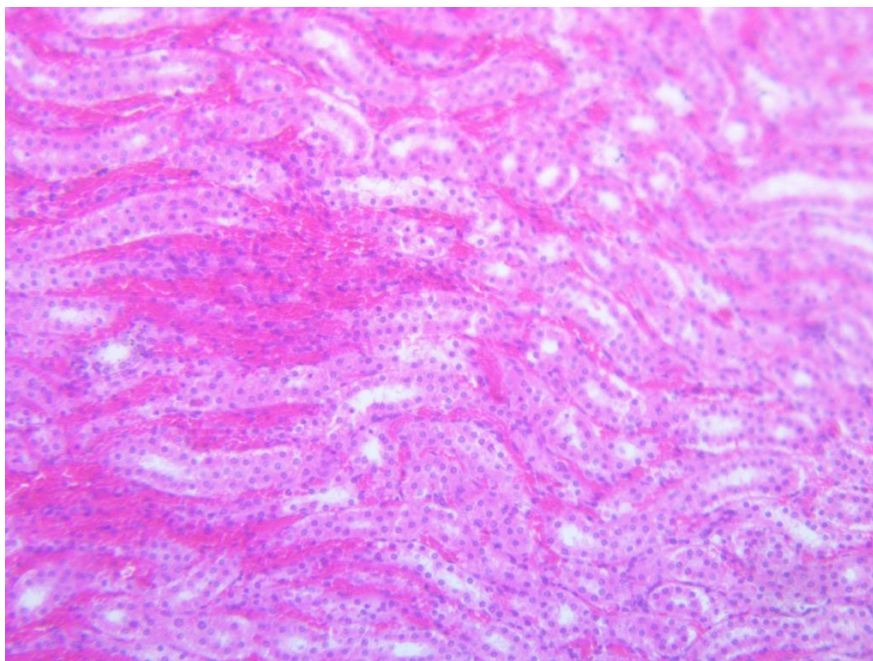


Рисунок 11 – Полнокровные кровеносных сосудов в почках норок подопытной группы. Лимфо-плазматическая инфильтрация менее выражена (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

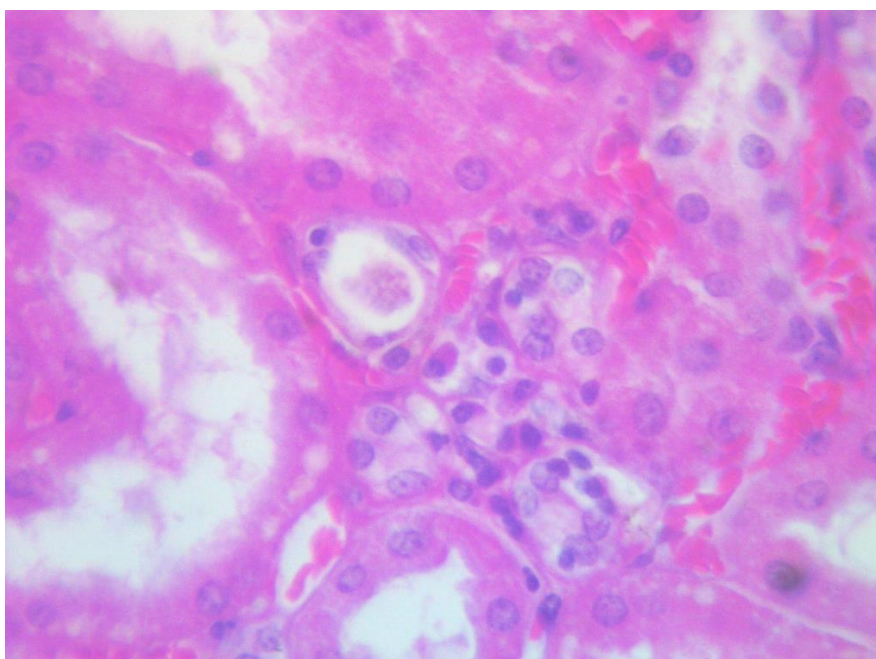


Рисунок 12 – Лимфо-плазмацитарная инфильтрация меньшей степени в почках норок подопытной группы по сравнению с контролем (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 40$).

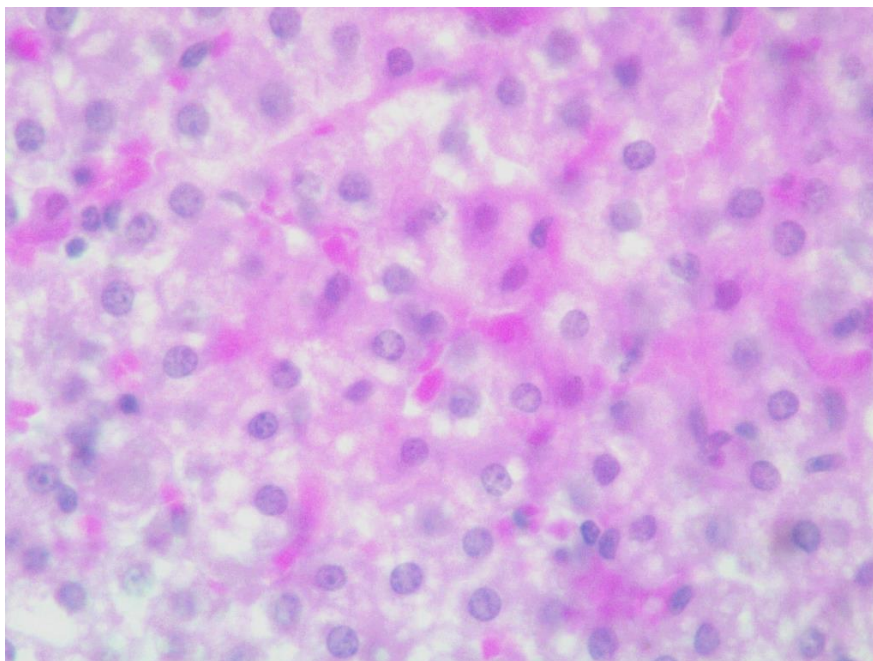


Рисунок 13 – Гидропическая дистрофия гепатоцитов у норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 40$).

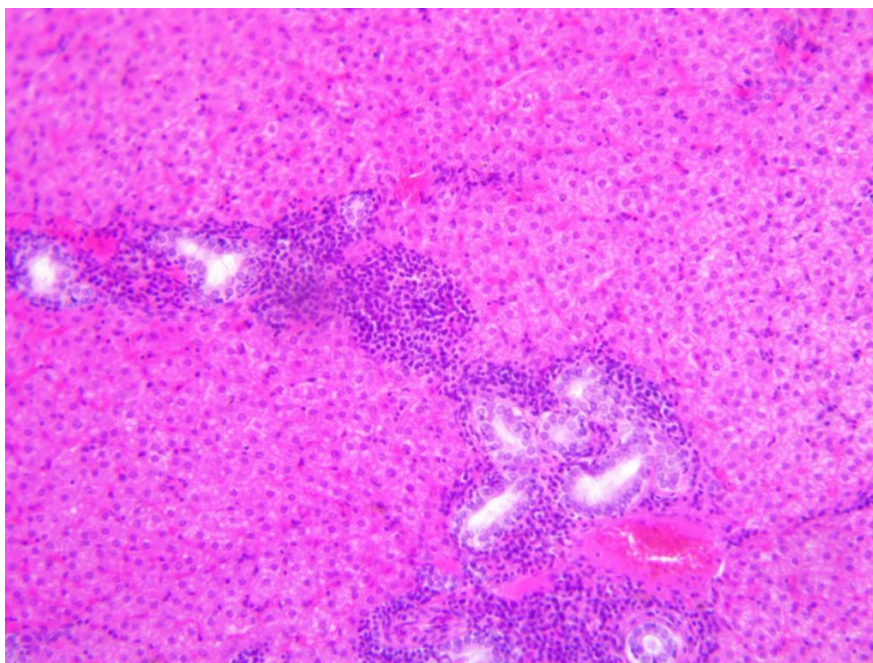


Рисунок 14 – Развитие холангита у норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

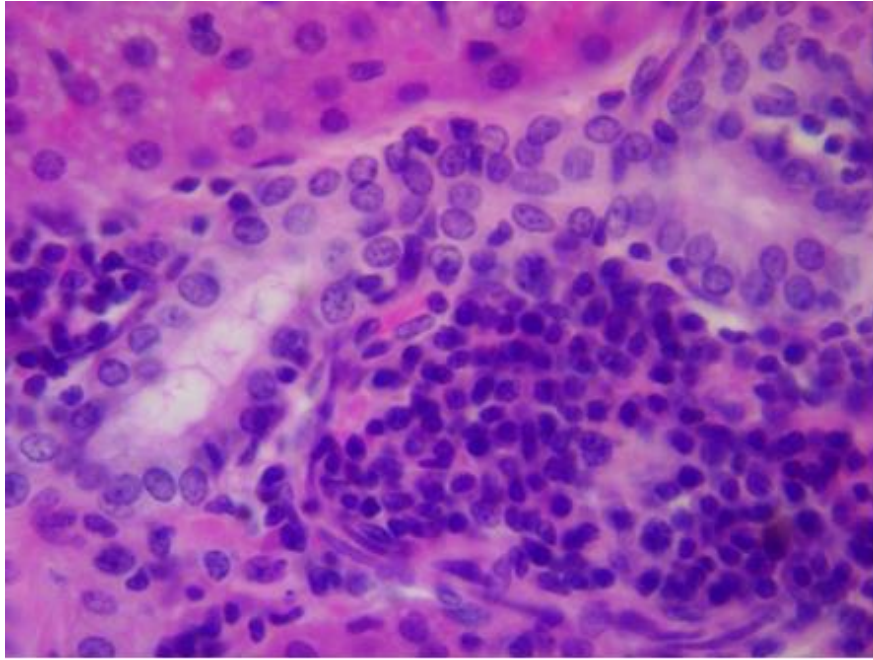


Рисунок 15 – Развитие холангита у норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 40$).

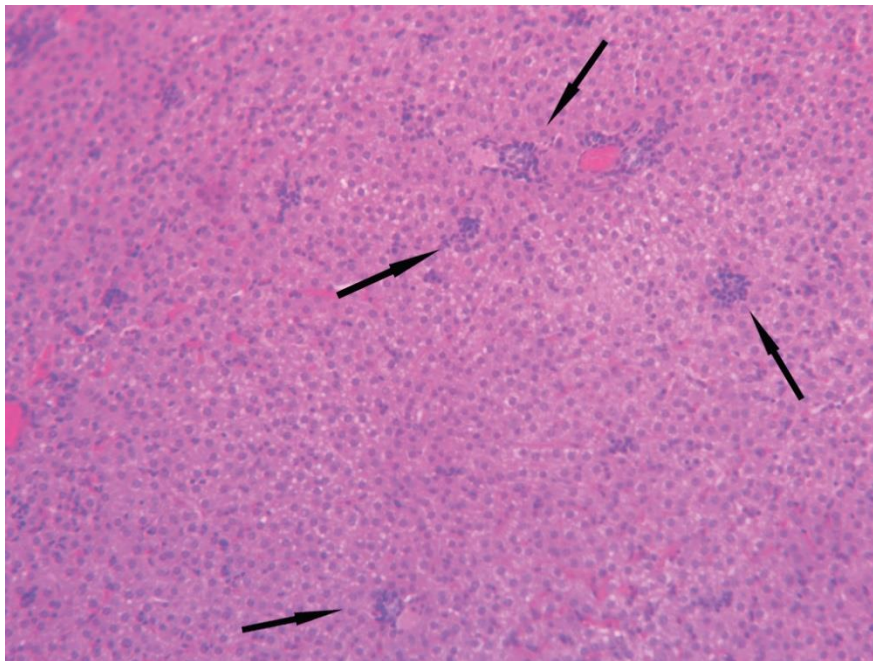


Рисунок 16 – Очаги лимфоцитарно плазматической инфильтрации в печени норок контрольной группы (отмечены стрелками) (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

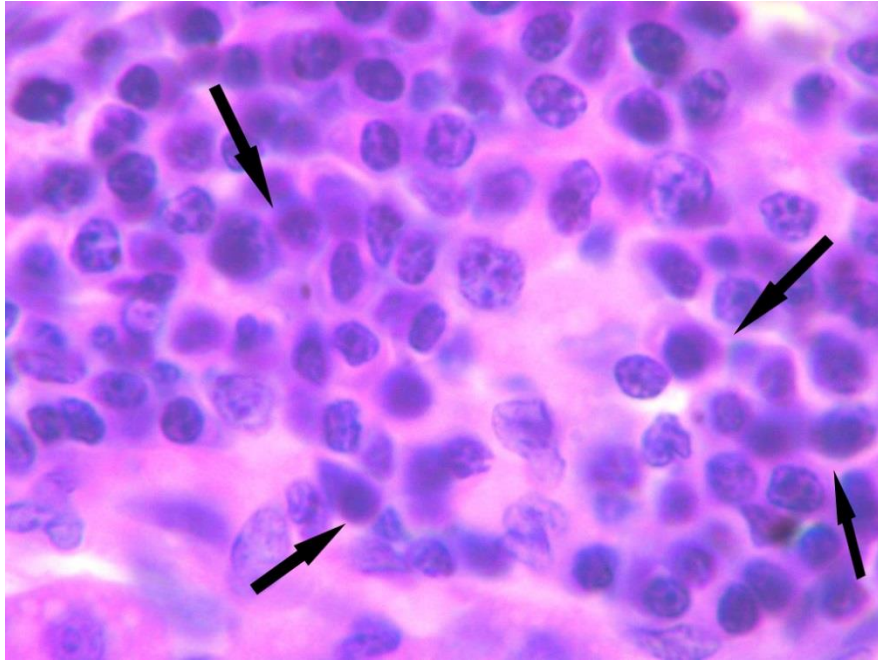


Рисунок 17 – Плазмоциты в печени норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 100$).

В подопытной группе животных дистрофические изменения печени были выражены слабее. Лимфоплазматическая инфильтрация, пролиферация клеток эпителия желчевыводящих протоков и признаки развития холангита проявлялись в значительно меньшей степени, а локальные очаги лимфоцитарной инфильтрации отсутствовали, что представлено на рисунках 18, 19 и 20.

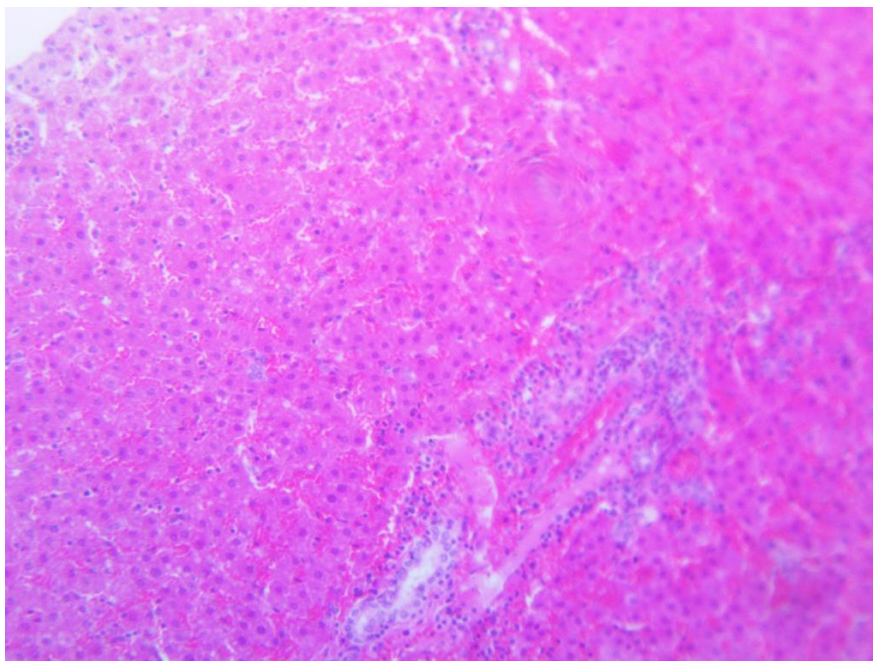


Рисунок 18 – Лимфоцитарно плазматическая инфильтрация печени норок подопытной группы. Локальные очаги отсутствуют (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

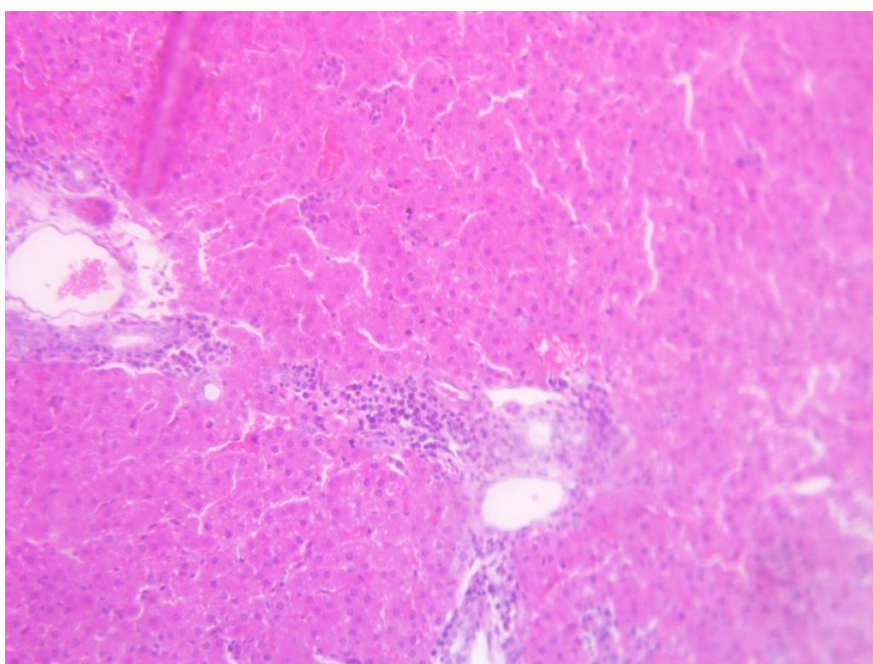


Рисунок 19 – Развитие холангита в меньшей степени у норок подопытной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

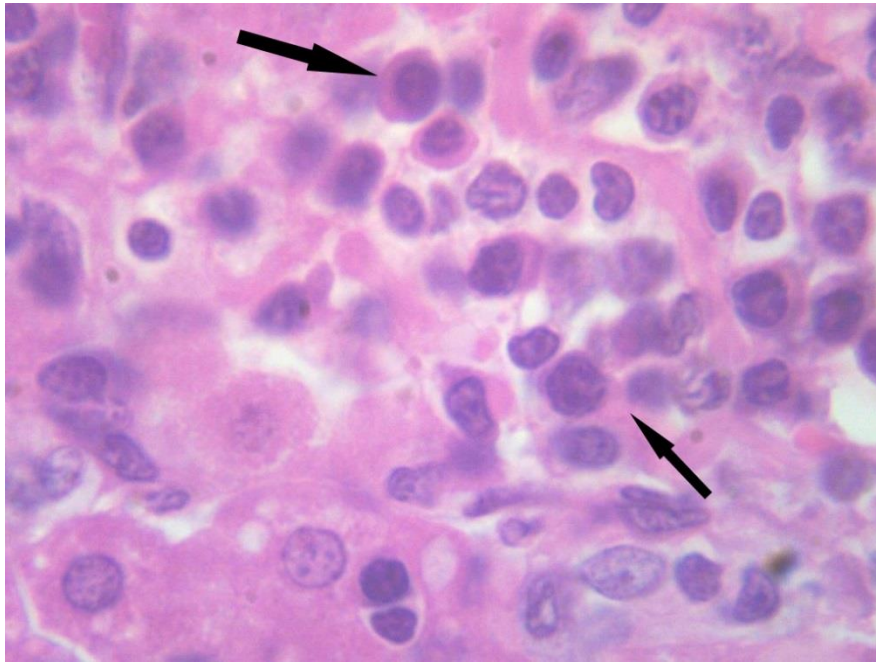


Рисунок 20 – Плазмоциты в печени норок подопытной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 100$).

В селезенке животных контрольной группы микроскопически наблюдали гиперплазию лимфатических фолликулов, представленную на рисунке 21. Они были увеличены в размерах и имели четкие, хорошо выраженные центры. По периферии фолликулов и вокруг кровеносных сосудов наблюдались очаговые скопления большого количества плазматических клеток.

В гистологических срезах селезенки подопытных животных также наблюдали гиперплазию фолликулов, однако степень лимфоцитарно-плазматической инфильтрации была менее выражена, что представлено на рисунке 22.

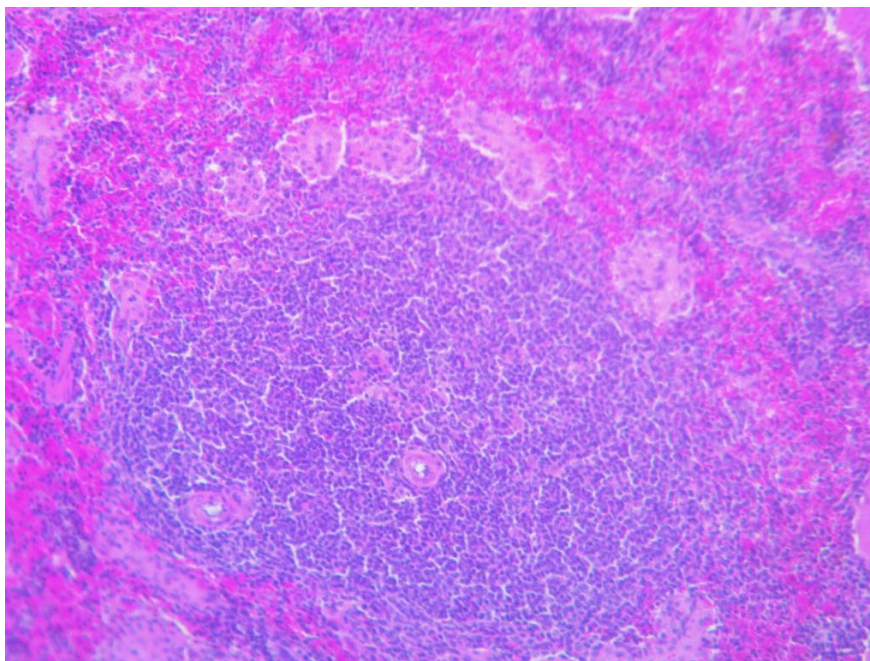


Рисунок 21 – Гиперплазия фолликула селезенки норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

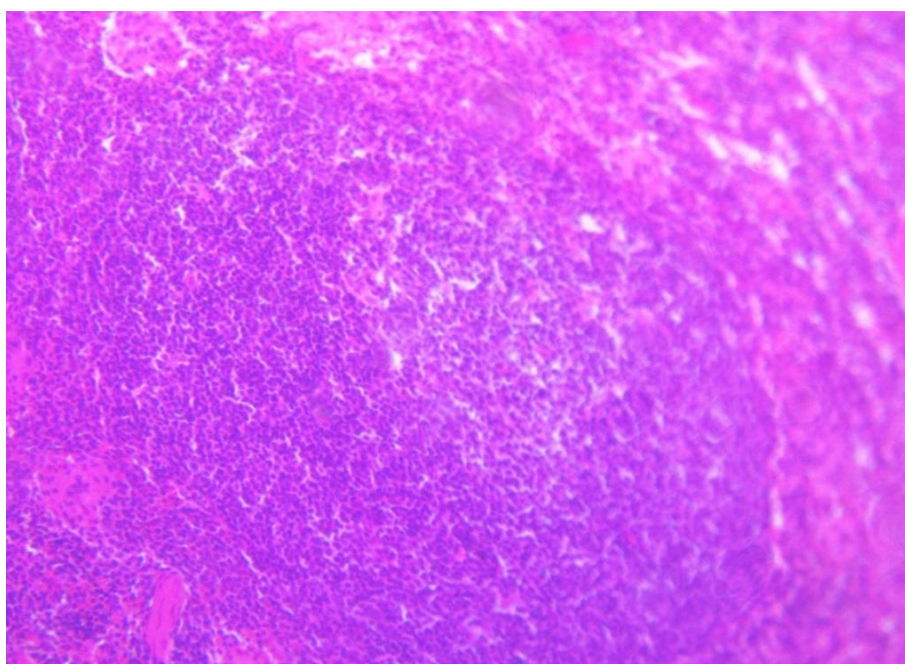


Рисунок 22 – Гиперплазия фолликула селезенки норок подопытной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

В контрольной группе в яичниках у самок обнаруживали лимфоплазматическую инфильтрацию, выявляли большое количество

артретических тел, а также примордиальные, первичные и вторичные фолликулы, представленные на рисунке 23. У одной самки была выявлена киста яичника, изображенная на рисунке 24.

В подопытной группе отмечали возрастающее число примордиальных фолликулов при снижении атретических. Лимфоплазматическая инфильтрация была выражена значительно слабее, что представлено на рисунке 25.

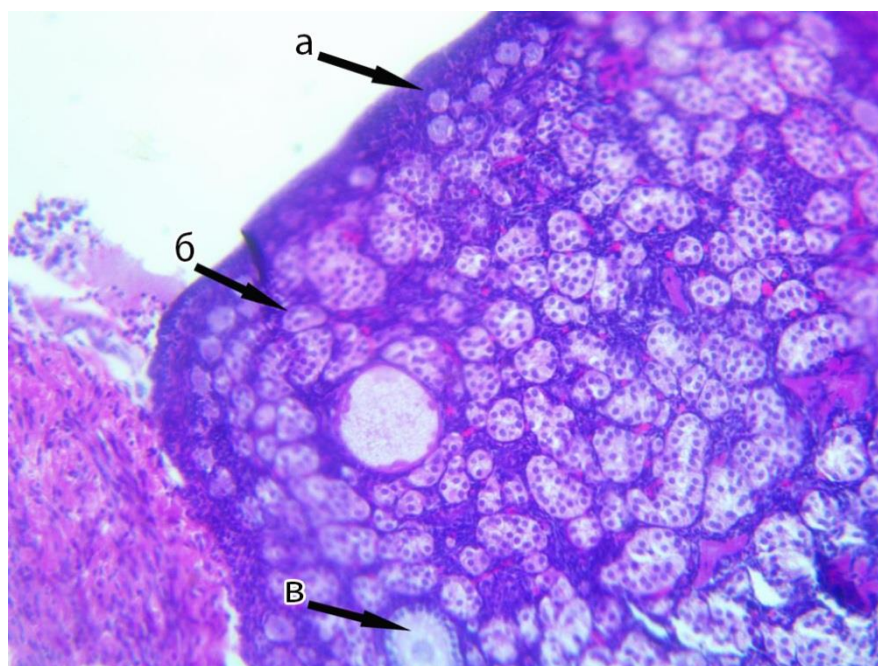


Рисунок 23 – Лимфоцитарно плазматическая инфильтрация яичников самок контрольной группы. Примордиальные (а), первичные (б) и вторичные (в) фолликулы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

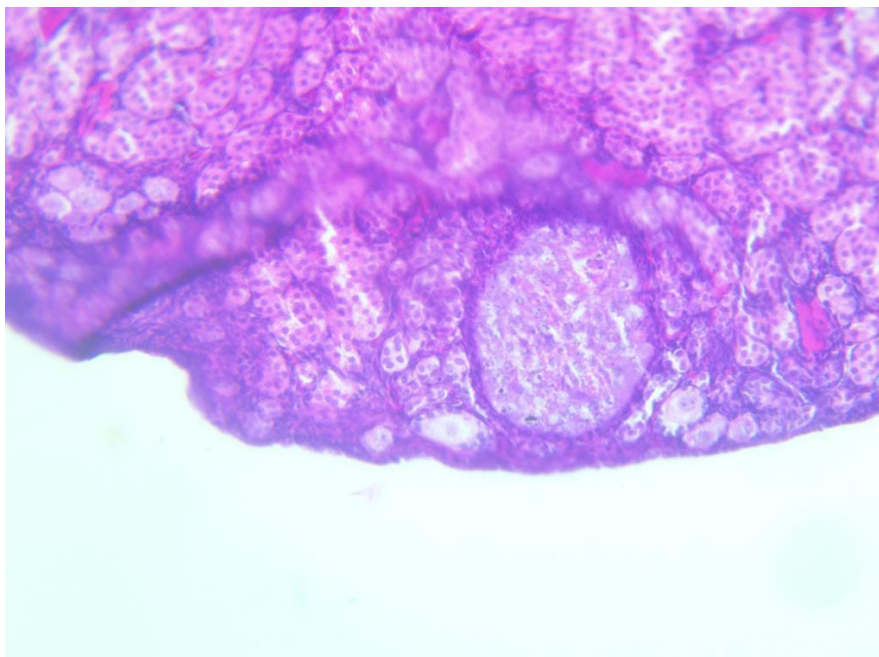


Рисунок 24 – Киста яичника у самки контрольной группы. (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

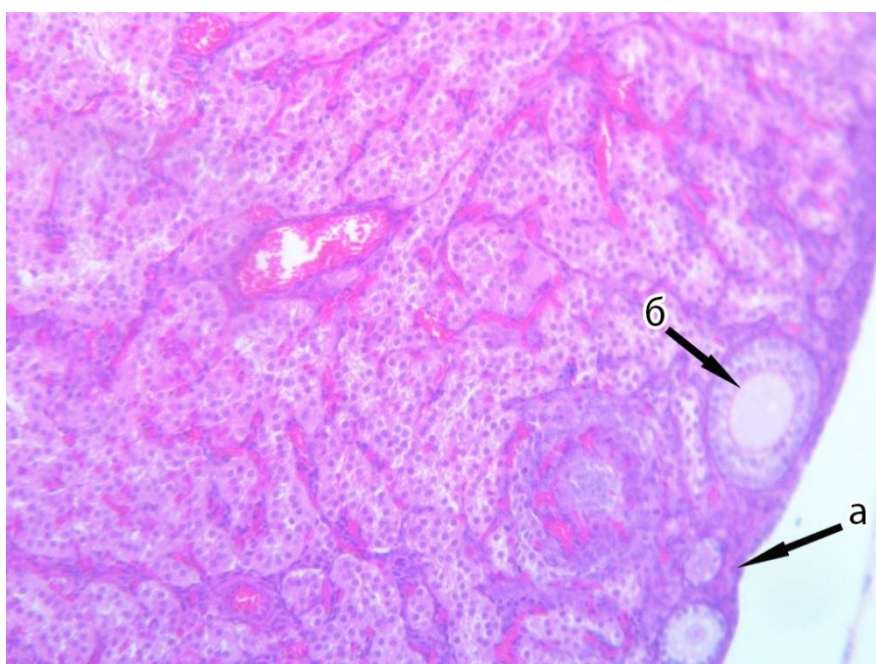


Рисунок 25 – Лимфоцитарно плазматическая инфильтрация яичников самок подопытной группы. Примордиальные (а) и первичные (б) фолликулы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

В контрольной группе животных, у самцов в извитых канальцах семенников выявляли сперматогенный эпителий с признаками апоптоза и дегенерации. В придатке и извитых канальцах семенников присутствовали микроскопические очаги лимфоплазматической инфильтрации, представленные на рисунке 26.

У самцов из подопытной группы степень лимфоплазматической инфильтрации и число ее очагов было в несколько раз ниже, что представлено на рисунке 27, 28.

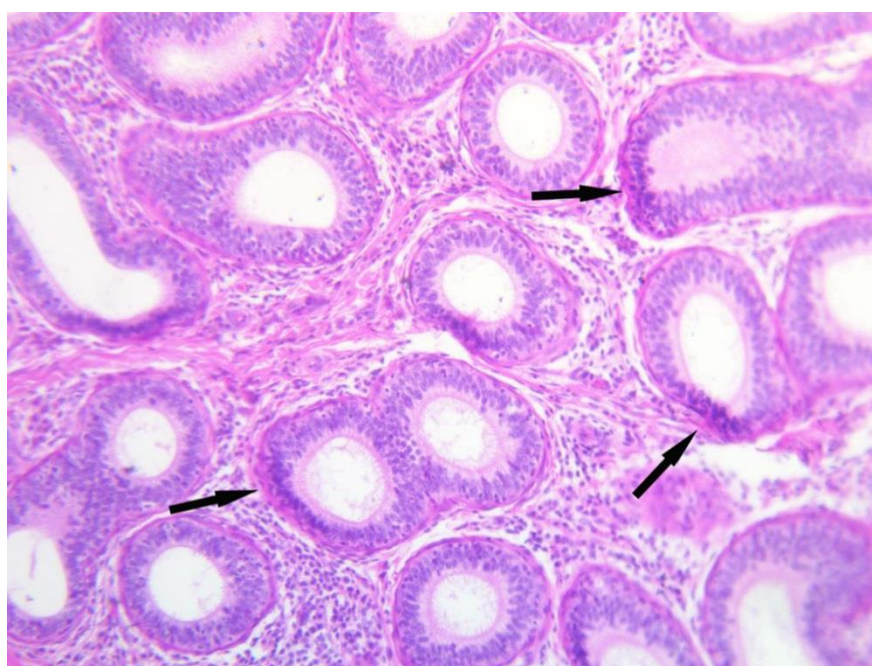


Рисунок 26 – Придаток семенника у самцов норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

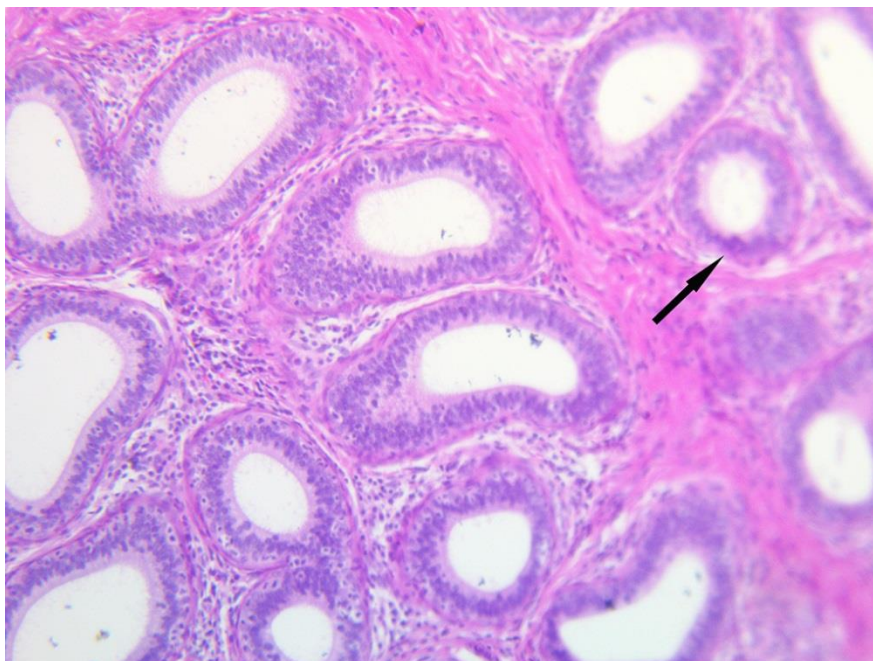


Рисунок 27 – Придаток семенника у самцов норок подопытной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

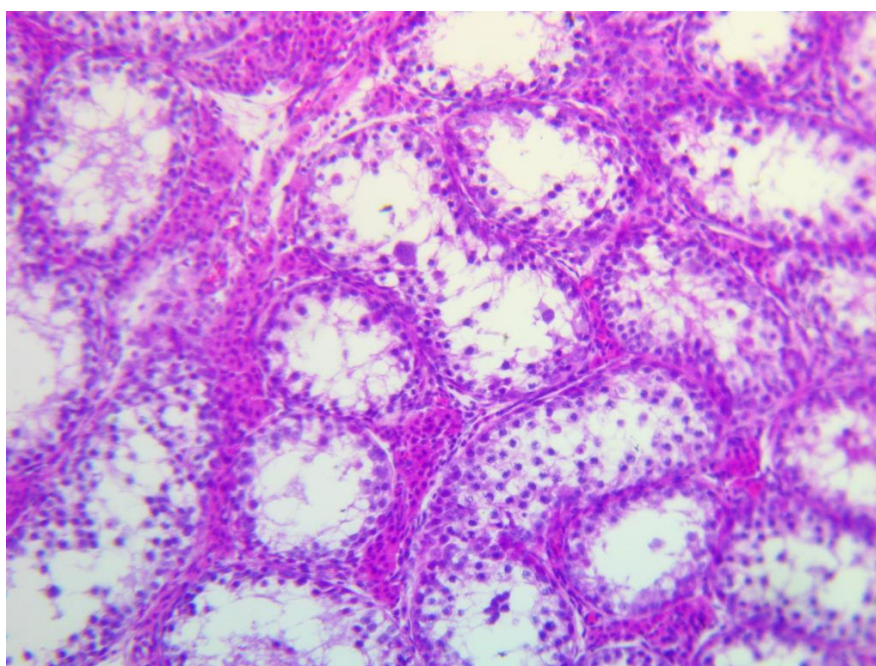


Рисунок 28 – Извитые каналцы семенника у самцов норок из подопытной группы (окрашивание гематоксилином и эозином Микмед-5 (ОАО «ЛОМО», Россия), увеличение $\times 10$).

В результате проведенных исследований морфофункционального состояния тканей и органов норок инфицированных возбудителем Алеутской

болезни, можно сделать вывод, что изменения у животных всех групп характерны для вирусного плазмодитоза норок. Однако стоит отметить, что у особей из подопытной группы, получавших препарат «Аллокин-альфа», присутствовали признаки свидетельствующие об интенсивной регенерации и восстановлению функций повреждённых органов (полнокровие кровеносных сосудов, отсутствие очагов кровоизлияний, низкая степень апоптоза ооцитов, невысокая интенсивность плазмодитарной инфильтрации), что свидетельствует об уменьшении интенсивности изменений морфофункционального состояния тканей и органов у норок инфицированных возбудителем вирусного плазмодитоза, которым применяли препарат «Аллокин-альфа».

3.4 Биохимическое исследование крови

Показатели биохимического состава крови через 1 месяц после применения «Аллокин-альфа» представлены в таблице 3.

Из результатов представленных в таблице 3 видно, что различие по содержанию общего белка у норок контрольной и подопытной групп незначительно и составляет $88,63 \pm 2,82$ г/л и $84,76 \pm 2,27$ г/л соответственно (при $p < 0,05$). Стоит отметить перераспределение белка в испытуемых группах. Так, в контрольной группе около 64% от общего количества плазмы крови составляют глобулиновые фракции ($56,12 \pm 2,31$ г/л), остальные 36% приходятся на альбумин ($32,51 \pm 2,45$ г/л). Напротив, в группе животных получавших препарат «Аллокин-альфа», альбумин ($40,71 \pm 2,78$ г/л) и глобулины ($44,05 \pm 2,62$ г/л) составляют примерно по 50% от общего белка (при $p < 0,05$).

У контрольных животных наблюдали повышение уровня мочевины в 1,8 раза ($12,95 \pm 1,21$ ммоль/л и $7,28 \pm 1,12$ ммоль/л соответственно), и креатинина почти на 12% ($85,63 \pm 2,42$ мкмоль/л и $75,57 \pm 2,34$ мкмоль/л соответственно) в сравнении с подопытными норками (при $p < 0,05$).

У обследуемых животных наблюдали значительные колебания АЛТ и АСТ уже через месяц после начала эксперимента. Количество АЛТ у норок в контрольной группе было выше, чем у подопытных особей в 1,6 раз ($188,80 \pm 2,87$ МЕ/л и $116,34 \pm 2,47$ МЕ/л соответственно), а уровень АСТ в 1,2 раза меньше в группе норок, получавших «Аллокин-альфа» ($211,42 \pm 3,39$ МЕ/л и $172,63 \pm 3,12$ МЕ/л соответственно при $p < 0,05$).

Таблица 3 – Биохимические показатели крови норок через 1 месяц после применения препарата «Аллокин-альфа»

Показатель, ед. измерения	Группа №1 контроль (n=30 голов)	Группа №2 «Аллокин- альфа» (n=30 голов)
	M±SEM	M±SEM
Общий белок, г/л	$88,63 \pm 2,82$	$84,76 \pm 2,27$
Альбумин, г/л	$32,51 \pm 2,45$	$40,71 \pm 2,78^*$
Глобулины, г/л	$56,12 \pm 2,31$	$44,05 \pm 2,62^*$
Мочевина, ммоль/л	$12,95 \pm 1,21$	$7,28 \pm 1,12^*$
Креатинин, мкмоль/л	$85,63 \pm 2,42$	$75,57 \pm 2,34^*$
АЛТ, МЕ/л	$188,80 \pm 2,87$	$116,34 \pm 2,47^*$
АСТ, МЕ/л	$211,42 \pm 3,39$	$172,63 \pm 3,12^*$
Примечание.*Различия в сравнении с контрольной группой статистически значимы при $p < 0,05$.		

Изменение биохимических показателей крови норок через 3 месяца после приема «Аллокин-альфа» представлены в таблице 4. Исходя из представленных результатов, можно отследить картину биохимических изменений на 3-й месяц прогрессирования болезни. Биохимические показатели крови животных в контрольной группе стали носить еще более свойственный для Алеутской болезни характер. Увеличился показатель общего белка с $88,63 \pm 2,82$ г/л до $96,81 \pm 2,77$ г/л (при $p < 0,05$). Также произошло дальнейшее перераспределение белков. Количество глобулиновых фракций возросло еще на 14% ($65,29 \pm 1,78$

г/л), и составляло уже 67% от значения общего белка, при том что уровень альбумина оставался практически неизменным (при $p < 0,05$). Значительно увеличилось количество метаболитов азотистого обмена (мочевины и креатинина) в контрольной группе животных. Значение мочевины за 2 месяца увеличилось до $14,44 \pm 3,81$ ммоль/л, а уровень креатинина возрос до $115,40 \pm 2,87$ мкмоль/л. Заметно увеличился уровень активности аминотрансфераз. Значение АЛТ в контрольной группе увеличилось на 29,5%, а АСТ – на 28,2%, что составляет $244,61 \pm 3,17$ МЕ/л и $271,24 \pm 3,35$ МЕ/л соответственно (при $p < 0,05$).

Таблица 4 – Биохимические показатели крови норок через 3 месяца после применения препарата «Аллокин-альфа»

Показатель, ед. измерения	Группа №1 контроль (n=29 голов)	Группа №2 «Аллокин-альфа» (n=30 голов)
	M±SEM	M±SEM
Общий белок, г/л	$96,81 \pm 2,77$	$80,81 \pm 2,03^*$
Альбумин, г/л	$31,52 \pm 3,74$	$45,73 \pm 2,11^*$
Глобулины, г/л	$65,29 \pm 1,78$	$35,08 \pm 2,77^*$
Мочевина, ммоль/л	$14,44 \pm 3,81$	$6,87 \pm 1,87^*$
Креатинин, мкмоль/л	$115,40 \pm 2,87$	$67,25 \pm 1,41^*$
АЛТ, МЕ/л	$244,61 \pm 3,17$	$108,63 \pm 2,31^*$
АСТ, МЕ/л	$271,24 \pm 3,35$	$164,45 \pm 2,32^*$
Примечание.*Различия в сравнении с контрольной группой статистически значимы при $p < 0,05$.		

В подопытной группе зверей биохимические показатели имели несколько отличный характер. Наблюдалось уменьшение уровня практически всех показателей. Незначительно опустилось значение общего белка на 4,6%, которое составляло $80,81 \pm 2,03$ г/л, за счет снижения глобулиновых фракций

плазмы крови. Уровень глобулинов составлял $35,08 \pm 2,77$ г/л, что ниже на 20% по сравнению с результатами, полученными через 1 месяц после начала эксперимента. Количество альбумина возросло до $45,73 \pm 2,11$ г/л (при $p < 0,05$). Показатель мочевины уменьшился до $6,87 \pm 1,87$ ммоль/л, а креатинина – до $67,25 \pm 1,41$ мкмоль/л. Снижение показателей наблюдалось и в значениях активности аминотрансфераз. Уровень АЛТ опустился до $108,63 \pm 2,31$ МЕ/л, АСТ – до $164,45 \pm 2,32$ МЕ/л (при $p < 0,05$).

Изучение биохимические показатели крови норок в конце эксперимента, проводили через 6 месяцев после применения препарата «Аллокин-альфа». Результаты проведенного биохимического исследования представлены в таблице 5. Для наглядности изменений были приведены показатели клинически здоровых норок в возрасте 7-8 месяцев [16, 23, 73].

Из данных, представленных в таблице видно, что у норок в эксперименте прослеживается биохимическая картина изменений характерных для Алеутской болезни.

Таблица 5 – Биохимические показатели крови норок через 6 месяцев после применения препарата «Аллокин-альфа»

Показатель, ед. измерения	Показатели клинически здоровых норок**	Группа №1 контроль (n=24 головы)	Группа №2 «Аллокин-альфа» (n=30 голов)
		М±SEM	М±SEM
Общий белок, г/л	72,8	$97,50 \pm 1,53$	$88,30 \pm 1,49^*$
Альбумин, г/л	36,9	$32,50 \pm 0,82$	$31,60 \pm 1,16$
Глобулины, г/л	31,0	$65,00 \pm 0,94$	$55,43 \pm 0,87^*$
Мочевина, ммоль/л	3,52	$18,64 \pm 4,22$	$9,08 \pm 3,88^*$
Креатинин, мкмоль/л	50,9	$142,06 \pm 2,62$	$97,71 \pm 1,47^*$
АЛТ, МЕ/л	80,1	$273,60 \pm 5,84$	$130,73 \pm 4,43^*$
АСТ, МЕ/л	125,6	$286,60 \pm 3,36$	$184,88 \pm 3,22^*$

Примечание. *Различия в сравнении с контрольной группой статистически значимы при $p < 0,05$, **Нормативные показатели приведены согласно данным О.Ю. Беспятых и соавт.(2011), Ц.Ж. Батоева и соавт.(2013), Н.В. Мантатова и соавт.(2019) для норок 7-8 месячного возраста.

У контрольной группы животных в 7-и месячном возрасте показатели биохимического состава крови значимо отличались от значений клинически здоровых зверей этого возраста. Также значительно увеличились показатели мочевины, креатинина, АЛТ и АСТ, по сравнению с исследованием, проведенным через 3 месяца после применения препарата «Аллокин-альфа».

У контрольной группы животных уровень общего белка составляет $97,50 \pm 1,53$ г/л, что превышает нормативный показатель на 11,3%. При этом, наблюдается незначительное снижение альбуминовой фракции белка до $32,50 \pm 0,82$ г/л и повышение уровня глобулинов в 1,8 раза до $65,00 \pm 0,94$ г/л, в сравнении с нормативным значением. Показатель общего белка у подопытных животных составлял $88,30 \pm 1,49$ г/л, что было незначительно выше показателя клинически здоровых норок, но при этом в несколько раз ниже показателя контрольных животных – на 9,4%. Альбуминовая фракция белка крови подопытных особей была примерно равна контрольной и составляла $31,60 \pm 1,16$ г/л. Повышение уровня глобулинов в подопытной группе наблюдалось в 1,7 раз до $55,43 \pm 0,87$ г/л (при $p < 0,05$).

Отдельно стоит отметить показатели конечных продуктов обмена веществ. Значение мочевины у животных контрольной группы составляло $18,64 \pm 4,22$ ммоль/л. У норок, получавших «Аллокин-альфа» показатель мочевины был равен $9,08 \pm 3,88$ ммоль/л, что в 2 раза ниже, чем в группе контроля, хотя и превышал нормативное значение в 2,8 раза (при $p < 0,05$). Креатинин через 6 месяцев прогрессирования болезни у контрольных особей оставался на уровне $142,06 \pm 2,62$ мкмоль/л и был выше в 2 раза, чем у клинически здоровых норок. У подопытных норок показатель креатинина был равен $97,71 \pm 1,47$ мкмоль/л и был ниже в 1,5 раза, чем в контрольной группе животных (при $p < 0,05$). Уровень АЛТ у контрольных зверей составлял $273,60 \pm 5,84$ МЕ/л, что было выше нормативного значения в 2,6 раз. У норок, получавших «Аллокин-альфа» показатель АЛТ составлял $130,73 \pm 4,43$ МЕ/л, был выше нормативного значения в 1,2 раза, однако при этом оставался в 2 раза

ниже показателя в контрольной группе (при $p < 0,05$). Уровень АСТ в контроле был выше нормативного показателя в 1,6 раз и составлял $286,60 \pm 3,36$ МЕ/л. У подопытных норок значение АСТ составляло $184,88 \pm 3,22$ МЕ/л, что незначительно превышало данный параметр у клинически здоровых животных, оставаясь при этом в 1,6 раза ниже, чем в группе контроля.

Таким образом, в результате проведенного исследования биохимических показателей крови норок инфицированных возбудителем вирусного плазмоцитоза у животных всех экспериментальных групп были установлены характерные изменения биохимического состава крови соответствующие Алеутской болезни норок. У зверей наблюдали увеличение показателей общего белка, метаболитов азотистого обмена и активности трансаминаз. Однако стоит отметить, что у особей из подопытной группы, получавших препарат «Аллокин-альфа», значение мочевины было ниже в 2 раза, уровень креатинина был ниже в 1,5 раза, активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы у подопытных особей оставались в 2 и в 1,6 раз ниже соответственно, чем у контрольных норок. Полученные данные свидетельствует о низкой степени развития почечной недостаточности, в частности гломерулонефрита, а также низком уровне развития деструктивных процессов в печени у норок получавших «Аллокин-альфа», в сравнении с контрольными животными, что также коррелирует с данными гистологического исследования. Кроме того, в результате биохимических исследований крови выявлено, что применение «Аллокин-альфа» не оказывало негативного влияния на организм больных зверей.

3.5 Клинический статус норок в эксперименте

В процессе эксперимента, в начале каждого месяца нами проводилось клиническое обследование животных всех экспериментальных групп.

При клиническом осмотре особей контрольной группы было отмечено первоначальное проявление признаков Алеутской болезни норок в 40-45-дневном возрасте. Больные животные были малоподвижны, имели сонливый вид, корм поедали полностью, но не так активно, как норки из подопытной группы. Реакция на такие внешние раздражители как появление людей у клетки, окрик, стук, раздача кормосмеси были снижены. В целом, к окончанию исследования, животные из контрольной группы демонстрировали признаки недомогания – вялость, сонливость, пониженную реакцию. У отдельных особей наблюдали нарушение координации движений. Визуально отмечали разницу в размерах в сравнении с подопытной группой зверей. Шерсть у животных из группы контроля была взъерошенной, волосяной покров был тусклым и ломким. Слизистая оболочка ротовой полости оставалась без изменений на протяжении всего исследования, была блестящая и имела бледно-розовую окраску. Норки контрольной группы в возрасте 6 месяцев представлены на рисунках 29, 30.



Рисунок 29 – Норки контрольной группы в возрасте 6 месяцев, плохо поедают корм



Рисунок 30 – Норка контрольной группы в возрасте 6 месяцев, сниженная реакция на появление людей у клетки

Подопытные норки характеризовались повышенной подвижностью, их движения были энергичными и непринужденными. У них регистрировали хорошую пищевую возбудимость – корм поедали активно и полностью. Особей, имеющих признаки недомогания, не наблюдалось. Слизистые оболочки ротовой полости также имели блестящую поверхность и бледно-розовую окраску до конца эксперимента. Телосложение зверей из подопытной группы было крепким и пропорциональным, судороги отсутствовали, статолокомоторный акт не нарушен. При определении тонуса мышц выявляли легкую упругость и незначительное сопротивление при пассивных движениях. Норки, получавшие «Аллоикн-альфа», визуально отличались и были крупнее особей из контрольной группы. Все животные подопытной группы адекватно и энергично реагировали на такие же внешние раздражители (появление людей у клетки, стук, окрик), особенно активно проявляли свое поведение при раздаче корма. Отдельно отмечали повышенную активность и интерес самцов к самкам в конце эксперимента. Наблюдали увеличение густоты меха, при продувке волоса свободных участков кожи не обнаруживали. Волоски были прочными и эластичными. При поглаживании отмечали наличие блеска верхнего яруса волосяного покрова. Окрас был равномерным и однотонным по всему телу. Признаков нарушения функций сердечно-сосудистой, дыхательной и

пищеварительной систем у животных отмечено не было. Норки подопытной группы в возрасте 6 месяцев представлены на рисунках 31, 32.



Рисунок 31 – Норки подопытной группы в возрасте 6 месяцев, проявляют активность при появлении людей у клетки



Рисунок 32 – Норка подопытной группы в возрасте 6 месяцев, проявляет активность при появлении людей у клетки

Проведенное исследование клинического состояния, норок инфицированных возбудителем Алеутской болезни показало, что у всех особей подопытной группы, в результате применения препарата «Аллокин-альфа» в дозировке 0,5 мг на животное двукратно с интервалом 6 дней, отмечалась положительная динамика клинического статуса в сравнении с контрольной группой животных.

3.6 Исследование зоотехнических показателей

3.6.1 Анализ сохранности норок

Учет сохранности животных проводили в течение всего исследования во всех экспериментальных группах. В контрольной группе норок наблюдали повышенную смертность особей в сравнении с подопытной. Из данных таблицы 6 видно, что за весь период эксперимента отход щенков в контрольной группе составил 20%. В группе норок, получавших «Аллокин-альфа», на протяжении всего исследования, не было зафиксировано ни одного случая падежа, что говорит о 100% сохранности в подопытной группе животных. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что в подопытной группе животных выявлена 100 % сохранность особей, тогда как в группе контроля сохранность составила 80%.

Таблица 6 – Сохранность норок в эксперименте

Показатель	Контрольная группа	Группа с применением «Аллокин-альфа»
Всего самок (n, голов)	20	20
Пало самок (n, голов)	4	-
Всего самцов (n, голов)	10	10
Пало самцов (n, голов)	2	-
Общее по группе (пало/всего голов)	6/30	0/30

3.6.2 Динамика массы тела норок в эксперименте

Динамика изменений массы тела у норок в процессе роста и развития, является основополагающим критерием для получения высоких показателей качества и количества производимой продукции. В ходе оценки зоотехнических

показателей продуктивности животных в опыте, визуально отмечали разницу в размере между особями контрольной и подопытной групп. Во всех экспериментальных группах норки оценку динамики роста массы тела проводили методом контрольного взвешивания животных каждый месяц на протяжении всего эксперимента. Результаты взвешивания представлены в таблице 7 и на рисунке 33.

Проведенный анализ динамики роста массы тела животных показал, что в начале опыта, достоверных отличий этого показателя среди всех экспериментальных групп не наблюдалось, все особи имели примерно одинаковую массу – $191 \pm 5,6$ г.

Однако, инфицированные вирусом Алеутской болезни норки, получавшие препарат «Аллокин-альфа», уже со второго месяца эксперимента стали демонстрировать значительную разницу в приросте массы тела. У подопытных самок средняя масса в конце эксперимента составляла $1675,1 \pm 6,1$ г, что на 15,1% выше чем у самок в контрольной группе, где данный показатель составлял $1422,2 \pm 11,9$ г.

Таблица 7 – Возрастная динамика массы тела норок в эксперименте

Возраст, дни	Контрольная группа				Подопытная группа			
	Самки		Самцы		Самки		Самцы	
	п, ГОЛОВ	Средняя масса, г (M±SEM)	п, ГОЛОВ	Средняя масса, г (M±SEM)	п, ГОЛОВ	Средняя масса, г (M±SEM)	п, ГОЛОВ	Средняя масса, г (M±SEM)
30	20	$192 \pm 5,9$	10	$207 \pm 5,7$	20	$190 \pm 6,1$	10	$209 \pm 5,6$
60	20	$385,4 \pm 6,5$	10	$638,6 \pm 5,9$	20	$482,2 \pm 5,9^*$	10	$677,9 \pm 5,8^*$
90	20	$721,3 \pm 5,7$	10	$1136,7 \pm 6,4$	20	$832,7 \pm 6,2^*$	10	$1308,1 \pm 6,3^*$
120	19	$994,6 \pm 8,9$	10	$1415,6 \pm 5,8$	20	$1117,5 \pm 5,7^*$	10	$1723,9 \pm 5,6^*$
150	18	$1287,5 \pm 7,4$	9	$2030 \pm 5,8$	20	$1425,2 \pm 5,6^*$	10	$2280 \pm 6,2^*$
180	16	$1320,6 \pm 11,4$	8	$2250 \pm 7,2$	20	$1580 \pm 6,4^*$	10	$2570 \pm 5,9^*$
210	16	$1422,2 \pm 11,9$	8	$2345,2 \pm 6,6$	20	$1675,1 \pm 6,1^*$	10	$2680,2 \pm 5,3$

Примечание. *Различия в сравнении с контрольной группой статистически значимы при $p < 0,05$.

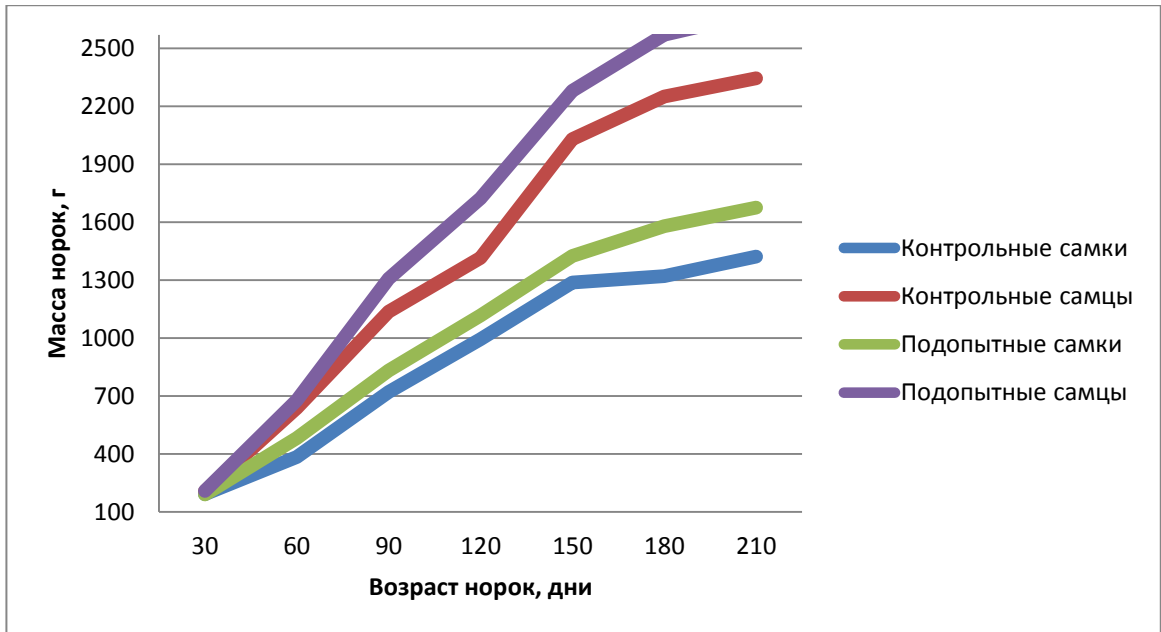


Рисунок 33 – Возрастная динамика массы тела норок в эксперименте

У подопытных самцов средняя масса составляла $2682,2 \pm 5,9$ г в сравнение с $2345,2 \pm 7,2$ г у самцов из контрольной группы, что на было 12,5% выше (при $p < 0,05$). Анализ полученных результатов исследования показал, что применение инфицированным возбудителем вирусного плазмозитоза норкам препарата «Аллокин-альфа» способствовало снижению вирусной активности у подопытных особей, что обеспечило восстановление обменных процессов и привело к ускорению их темпов роста. В свою очередь, повышение массы тела способствует увеличению размеров шкурки, а значит и ее стоимости.

3.6.3 Товарные свойства шкурок

Оценку товарных свойств полученных от норок в эксперименте шкурок, проводили путем определения площади шкурок после убоя с помощью показателей длины шкурки от междуглазья до корня хвоста и удвоенной ширины шкурки. Результаты размерных характеристик шкурок представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Размерные показатели шкурок норок сравниваемых групп

Показатель	Контрольная группа		Подопытная группа	
	Самки (n=16)	Самцы (n=8)	Самки (n=20)	Самцы (n=10)
Длина от междуглазья до корня хвоста, см M±SEM	43,2±0,08	48,8±0,12	45,1±0,09*	53,2±0,14*
Средняя площадь шкурок, см ² M±SEM	920,8±4,4	1131,1±4,1	1041,7±4,4*	1247,8±4,1*
Примечание. *Различия в сравнении с контрольной группой статистически значимы при p<0,05				

Площадь полученных шкурок в звероводстве играют важную роль в оценке качества пушнины, в конечном результате – на цену реализации меха [30]. Как видно из данных, представленных в таблице 8, самки и самцы получавшие «Аллокин-альфа», превосходили по данному показателю самцов из контрольной группы на 9,4% и самок на 12,2% соответственно (при p<0,05).

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что применение «Аллокин-альфа» больным вирусным плазмозитозом норкам, поспособствовало увеличению размера полученных от них шкурок в среднем на 1,21 дм² от самок и 1,16 дм² от самцов, что ведет к увеличению их стоимости и повышению рентабельности производства.

4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проводимые с середины прошлого века исследования отечественных и зарубежных ученых определили опасность и ущерб, которые несет Алеутская болезнь норок, а также показали экстренную необходимость поисков средств борьбы с данной болезнью. Попытки создать вакцину, как способ специфической профилактики, оказались безуспешны, а эффективный метод лечения к настоящему времени разработать не удалось. [10, 15, 20, 18, 31, 33, 48, 91, 105, 107]. В последние годы, многочисленные изыскания отечественных и зарубежных исследователей в вопросе лечения вирусных болезней, в том числе и при терапии вирусного плазмодитоза, препаратами естественных и рекомбинантных интерферонов, доказали практическую эффективность их применения [19, 20, 74, 113]. Современный рынок лекарственных препаратов предлагает большое разнообразие противовирусных средств на основе естественных и рекомбинантных интерферонов, однако перспективными из них считаются индукторы эндогенного интерферона, выгодно отличающиеся по механизму действия.

Стоит отметить, что за последние десятилетия в промышленных звероводческих хозяйствах Российской Федерации возросло количество случаев проявления Алеутской болезни. Одной из основных причин активности вирусного плазмодитоза на территории нашей страны является широкий спрос отечественных звероводов на племенных животных из зарубежья, что обеспечивает основной и стабильный путь проникновения возбудителя на российские зверофермы.

Серия экспериментов, проведенных в нашей работе, представила возможность эффективного применения индуктора эндогенного интерферона отечественной разработки «Аллокин-альфа» для профилактики Алеутской болезни норок. Современные методы и принципы исследования позволили определить действие препарата на наличие генома возбудителя вирусного плазмодитоза, изменения морфофункционального состояния органов и

биохимического состава крови, а также картину проявления клинических симптомов у инфицированных вирусом Алеутской болезни норок.

На начальном этапе исследования, наличие возбудителя у норок в звероводческом хозяйстве определяли с помощью РИЭОФ и ПЦР-диагностики, в результате проведения которых, были получены отличающиеся результаты. В результате проведенной РИЭОФ установлено 56% положительных и 44% отрицательных пробы. ПЦР-диагностикой удалось выявить наличие генома возбудителя вирусного плазмодитоза у всех животных в опыте. Полученную разницу между результатами можно объяснить тем, что ПЦР-диагностика обладает высокой чувствительностью и специфичностью, что дает возможность обнаруживать геном вируса при его незначительном количестве. В свою очередь, РИЭОФ основана на серологической реакции между специфическими антителами сыворотки крови исследуемых животных и антигеном, в роли которого выступала вирус-содержащая суспензия диагностикума. Однако, наличие отрицательных результатов говорит об отсутствии в крови зараженных животных противовирусных антител, которые, вероятно, не успели сформироваться к моменту диагностики после инфицирования, в результате чего не определяются в РИЭОФ.

По данным Мартыненко М.В. (2004) при изучении возможности использования полимеразной цепной реакции с целью детекции вируса Алеутской болезни норок, антитела у больных животных, при помощи РИЭОФ трудно обнаружить в течение 30 суток после инфицирования, ввиду того что, их значение еще не достигло определяемого уровня. В опытах по экспериментальному заражению животных, автор сообщает, что с помощью ПЦР-диагностики вирус удается выявить уже на 5-е сутки после заражения [74].

В результате молекулярно-генетических исследований через 6 месяцев после начала опыта удалось установить наличие ДНК вируса Алеутской болезни у всех норок контрольной группы. В подопытной группе животных, у

40% особей, получавших препарат «Аллокин-альфа», ДНК возбудителя вирусного плазмозитоза выявлено не было. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что препарат «Аллокин-альфа», являясь индуктором интерферона, оказывает стимулирующее действие на синтез интерферонов и активации эффекторных функции нейтрофилов, макрофагов, цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров, а также повышает эффективность фагоцитоза. Таким образом, проявляется противовирусный эффект, в результате которого наблюдается значительно снижение вирусной нагрузки в организме инфицированных зверей, вследствие чего, проведенная ПЦР-диагностика не выявила геном возбудителя [69, 93].

Отечественная группа ученых во главе с Дидковским Н.А. (2019), в пилотном исследовании эффектов аллоферона в терапии метаболического синдрома, пришла к подобным результатам. В ходе исследования, авторы проводили оценку репликацию вируса герпеса методом количественной ПЦР. При анализе эффекта монотерапии средством «Аллокин-альфа» и комплексной терапии цитокинами и пирогеном было установлено, что через 3-8 месяцев у 50% пациентов вирусная нагрузка снизилась, а вирусная ДНК у них была ниже порога обнаружения, в результате чего геном вируса герпеса в слюне больше не определялся [151].

Ракитянская И.А. и соавт. (2019), при изучении возможности применения препарата «Аллокин-альфа» в качестве меры лечения хронической вирус Эпштейн-Барр инфекции, также сообщает о похожих результатах. Автор отмечает снижение динамики выявления количества копий ДНК вируса Эпштейна–Барр, при подкожном введении больным пациентам по 1,0 мг «Аллокин-альфа» через день, в течение 9 дней. Уже через 1 месяц после окончания противовирусной терапии препаратом аллоферна, отрицательные результаты ПЦР были выявлены у 59,67% больных [98].

Проведенные гистологические исследования показали, что у инфицированных вирусом Алеутской болезни норок контрольной группы

имеет место выраженная лимфоплазмочитарная инфильтрация большинства органов и тканей. В почках наблюдались признаки поздних стадий развития мезангиально-пролиферативного гломерулонефрита, а в печени наблюдалась тотальная гидropическая дистрофия гепатоцитов и выраженная инфильтрация плазматическими клетками. Формирование подобных морфофункциональных изменений свойственно для развернутой картины Алеутской болезни, что подтверждается работами ряда авторов [2, 31, 32, 106].

У подопытных животных, при проведении гистологических исследований морфофункционального состояния органов и тканей, отмечали низкую степень развития лимфоплазматической инфильтрации и признаков развития гломерулонефрита. Особое внимание обращали на полнокровие кровеносных сосудов, которые могут считаться регенеративным признаком восстановления поврежденных почек. В целом, у норок инфицированных вирусом Алеутской болезни, после применения «Аллокин-альфа», признаки развития почечной недостаточности были выражены значительно слабее.

Стоит отметить, что многие отечественные и зарубежные авторы подчеркивают, что морфологические изменения почек играют важное значение в исходе Алеутской болезни норок, поскольку возникшая вследствие развития гломерулонефрита почечная недостаточность, зачастую приводит к гибели животных [2, 31, 32, 106]. Stevenson, M. в своей работе обращает внимание на то, что в результате откладывания иммунных комплексов в периваскулярном и клубочковом пространствах, происходит активное развитие мембранопротролиферативного гломерулонефрита, а также сегментарного или окружного артериита с мононуклеарной инфильтрацией, фибриноидным некрозом и отложениями, что в последствии приводит к гибели животного [208].

В печени у подопытных норок, лимфоплазматическая инфильтрация стромы, дистрофические изменения, пролиферация клеток эпителия желчевыводящих протоков были выражены намного слабее, локальные очаги

лимфоцитарно-плазматической инфильтрации вовсе отсутствовали. В селезенке, яичниках и семенниках лимфоцитарно-плазматическая инфильтрация также была менее выражена. В яичниках отмечали преобладание числа примордиальных фолликулов при снижении атретических, а в семенниках наблюдалось снижение количества очагов плазматической инфильтрации.

В целом, следует отметить, что в подопытной группе интенсивность морфофункциональных изменений соответствовала от слабой до средней степени, в то время как в контрольной группе отмечались тяжелые поражения. У подопытных животных фиксировали невысокую интенсивность плазмоцитарной инфильтрации, полнокровие кровеносных сосудов, отсутствие очагов кровоизлияний, а также низкую степень апоптоза ооцитов яичников у самок, что может являться сопутствующими признаками интенсивной регенерации и восстановления функций повреждённых органов. В свою очередь, улучшение гистологической картины у животных, получавших «Аллокин-альфа», положительно отразилось на общем физиологическом и клиническом состоянии и привело к снижению смертности больных особей, что коррелирует с данными биохимического, клинического исследований, а также изучения сохранности животных. Проявления подобного эффекта, вероятно связано с уменьшением вирусной нагрузки на организм больных норок.

К похожему результату пришли и отечественные ученые Зароченцева Н.В., Меньшикова Н.С., Аршакян А.К., и др. (2013, 2014). В работах, посвященных изучению возможности применения препарата «Аллокин-альфа» в комплексной терапии хронического эндометрита обусловленного наличием ассоциаций облигатно-анаэробных микроорганизмов и вирусов, авторы проводили гистологические исследования биоптатов эндометрия после лечения препаратом «Аллокин-альфа». Гистологическое исследование показало более значительное улучшение морфологической картины: уменьшение отека стромы на 92%, явлений «лимфоидных фолликулов» на 84%,

фиброза стромы на 50%, склероза спиральных артерий на 30%, числа плазматических клеток на 80%. Авторы отмечают, что положительный эффект был достигнут благодаря снижению вирусной нагрузки после терапии с применением противовирусного препарата «Аллокин-альфа» в сочетании с общепринятыми методами лечения [43,44].

Отечественные исследователи Тыньо Я.Я., с соавт. (2017), изучали возможность применения препарата «Аллокин-альфа» в качестве противовирусного средства при моделировании экспериментальной вирусной инфекции на примере вируса герпеса птицы, где препарат показал высокую эффективность в отношении возбудителя. Авторы подчеркивают, препарат «Аллокин-альфа» проявил эффективность в качестве противовирусного средства при введении на ранних сроках инфицирования [113].

Определение биохимических показателей крови – это достаточно универсальный метод лабораторной диагностики, который может помочь определить эффективность работы внутренних систем организма [67, 77, 108]. Попадая в организм восприимчивого животного, возбудитель Алеутской болезни провоцирует изменение биохимического состава крови, которые свидетельствуют о поражении систем органов, что может отрицательно сказаться на состоянии зараженных норок и исходе болезни [2]. Проведенное исследование биохимических показателей крови у инфицированных вирусом Алеутской болезни норок показало наличие специфических для Алеутской болезни изменений у всех групп животных. У всех особей в эксперименте отмечали увеличение уровня общего белка, в частности глобулинов, возрастание уровня метаболитов азотистого обмена, повышение активности трансаминаз. Подобные изменения можно назвать характерными для вирусного плазмоцитоза норок, что подтверждается работами отечественных и зарубежных авторов, изучавших биохимические показатели крови как у норок больных Алеутской болезнью, так и у клинически здоровых [16, 35, 42, 101, 113]. Однако стоит отметить разницу полученных показателей между группой

контрольной животных и норок, получавших «Аллокин-альфа». Среди исследуемых биохимических показателей крови, статистически значимые различия между контрольной и подопытной группами выделяли разницу в уровнях общего белка, глобулинов, мочевины, креатинина, АСТ и АЛТ. Вероятно, разница в показателях вызвана более высокой активностью вирусной инфекции в организме особей контрольной группы. Перераспределение белков у животных контрольной группы говорит о наличии в крови большего количества иммуноглобулинов, чем у подопытных животных, образующих инфекционные иммунные комплексы, которые оседают на базальной мембране почечных клубочков, нарушают их циркуляцию и становятся причиной развития гломерулонефритов. Кроме того, высокая активность АЛТ и АСТ, вероятно может указывать на деструктивные процессы в печени, которые происходят в результате фагоцитирования иммунных комплексов ретикуло-эндотелиальной системой, вследствие чего, вирус высвобождается в ядрах макрофагов печени и вызывает разрушение гепатоцитов. Отличие метаболитов азотистого обмена (мочевина и креатинин), может говорить о нарастающих признаках почечной недостаточности, что в свою очередь, связано с увеличенным количеством глобулинов. Разница между показателями экспериментальных групп животных, вероятно обусловлена прогрессирующим развитием Алеутской болезни у норок контрольной группы. Общая тенденция к снижению практически всех биохимических показателей крови в группе норок, получавших препарат «Аллокин-альфа», может быть показателем снижения вирусной активности.

Многие авторы подчеркивают, что вирусный плазмоцитоз характеризуется не только пролиферацией плазматических клеток в разных органах, но и развитием гипергаммаглобулинемией. Батоев Ц.Ж. и др. (2013), Санжиева С.Е. и др. (2011), Слугин В.С. (2004), Беспярых О.Ю. и др. (2011), Яппаров, И. А. (2019), Zalewski A. et al. (2020), Rostrosa P. et al. (2019), Huang Q. et al. (2014), отмечают, что неадекватно интенсивный синтез антител приводит

к образованию иммунных комплексов, которые откладываются в клубочках почек, вызывая гломерулонефрит, что зачастую играет решающую роль в исходе болезни [16, 24, 101, 127, 128]. К похожему выводу приходят зарубежные группы исследователей во главе с Prieto A. (2020), и с Farid A.H. (2020). При изучении биохимических показатели крови норок, ученые отмечают, что резкое увеличение количества общего белка в крови больных Алеутской болезнью животных, происходит за счет перераспределения соотношений белковых фракций: резкого повышения уровня глобулинов при снижении альбуминов. При этом повышенный уровень белка в крови подтверждает наличие в ней большого количества антител, неспособных нейтрализовать внедрившийся вирус, в результате чего образуются инфекционные иммунные комплексы [152, 153, 154, 155, 156, 157, 200].

Активно развивающаяся почечная недостаточность у контрольных животных, очевидно, приводила к значительному снижению качества фильтрационной способности почек, которое в сочетании с высокобелковым рационом норок, вызвала значительное повышение уровня метаболитов азотистого обмена, особенно мочевины. Так, у подопытных норок, получавших «Аллокин-альфа», уровень мочевины был ниже в 2 раза, а показатель креатинина – ниже в 1,5 раза, что говорит о слабой степени развития почечной недостаточности, в отличие от группы контроля.

Вероятно, высокий уровень мочевины у особей контрольной группы связан с развитием острой формы почечной недостаточности, что согласуется с данными отечественных авторов [21, 23, 24, 35]. Мантатова Н.В. и Кладова Д.В. (2019) в своих исследованиях, подобный высокий уровень мочевины у норок ($50,0 \pm 0,58$ ммоль/л при $p \leq 0,05$), также связывают с патологиями почек и высокобелковой диетой [73].

Изучение показателей активности трансаминаз, выявило снижение уровня АЛТ и АСТ у зараженных вирусом Алеутской болезни норок после применения «Аллокин-альфа» в 2 и 1,6 раз соответственно, в сравнении с

контрольными особями, не получавшими препарат. Повышенная активность АЛТ и АСТ в группе контроля может указывать на возможные деструктивно-воспалительные процессы в печени, которые могут быть вызваны влиянием высвобождения вируса из ядер тканевых макрофагов, при их фагоцитировании. Снижение уровня аминотрансфераз в подопытной группе, вероятно вызвано уменьшением вирусной нагрузки, что подтверждается с данными отечественных ученых [21, 23, 24, 85]. Чешик С.Г. и др. (2003), при определении клинической эффективности и безопасности инъекционной формы препарата аллоферона у больных острым гепатитом В, отмечают: «...темпы снижения уровней АЛТ и АСТ, были выше у больных, получавших аллоферон. ...при анализе основных симптомов болезни, у пациентов, получавших аллоферон, наблюдалась чёткая тенденция к более быстрому исчезновению симптомов интоксикации, существенно сокращалась продолжительность температурной реакции и желтушного периода» [125]. Полученные авторами результаты согласуются с данными нашего клинического исследования.

В целом, изучение биохимических показателей крови больных Алеутской болезнью норки показало, что применение препарата «Аллокин-альфа» зараженным животным, согласно предложенной схеме, способствует снижению глобулиновой фракции белка, в результате чего наблюдается меньшая степень развития почечной недостаточности, о чем говорят показатели мочевины и креатинина. Отдельно стоит выделить уровень мочевины у подопытных норок, который оставался многократно меньше, чем у контрольных животных. Кроме того, наблюдалось значительное снижение активности трансаминаз, что свидетельствует о меньших масштабах поражения печени. Важно отметить, что полученные результаты коррелируют с данными гистологического, клинического исследования и изучения сохранности животных.

Исследование клинической эффективности препарата «Аллокин-альфа» показало, что после его применения зараженным вирусом Алеутской болезнью норкам, развитие характерных признаков вирусного плазмодитоза у животных

не наблюдалось. Норки подопытной группы отличались повышенной активностью, подвижностью и аппетитом. Они имели крепкое и пропорциональное телосложение, а слизистые оболочки ротовой полости сохраняли блестящую поверхность и бледно-розовую окраску до конца эксперимента. Верхний ярус их волосяного покрова был блестящий, а волоски оставались прочными и эластичными. Отдельно отмечали увеличение густоты меха. В контрольной группе животных, напротив, наблюдались малоподвижные особи с признаками вялости, сонливости, сниженной реакцией и нарушением координации движений. Шерсть их была взъерошенной, тусклой, а волоски ломкими. Таким образом, «Аллокин-альфа» не только облегчил течение болезни и смягчил ее негативные последствия, но и поспособствовал восстановлению функций организма, о чем говорит повышенная активность и хорошее состояние меха у подопытных животных.

За весь период исследований, в контрольной группе животных наблюдали отход 20% животных, в то время как в подопытной группе, применение препарата «Аллокин-альфа» позволило обеспечить 100% сохранность особей, что положительно отражается на количестве получаемой продукции.

Отмечено, что у подопытных животных нормализовались процессы пищеварения, о чем свидетельствуют показатели массы тела, которые у самок возросли на 15,1%, а у самцов – на 12,5%.

В свою очередь, данные показатели имеют прямую корреляцию с размерами получаемых шкурок [30, 72]. В результате проведенного эксперимента удалось выяснить, что применение препарата «Аллокин-альфа» больным Алеутской болезнью норкам положительно влияет не только на их массу тела, но и на размер шкурок. Наблюдалось значительное увеличение размера полученных от норок шкурок в среднем в среднем на 1,21 дм² от самок и 1,16 дм² от самцов, что ведет к увеличению их стоимости и повышению рентабельности производства.

Улучшение клинического состояния, процессов пищеварения, увеличение

массы тела животных и как следствие размеров получаемых шкурок от норок подопытной группы, по всей видимости, может быть связано со снижением вирусной нагрузки и уменьшением количества копий ДНК вируса возбудителя.

К подобному выводу, также приходит Ракитянская И.А. и соавт. (2019), при изучении возможности применения препарата «Аллокин-альфа» в качестве меры лечения хронической вирус Эпштейн-Барр инфекции. Автор отмечает: «...при проведении корреляционного анализа было выявлено достоверное влияние исходного количества копий ДНК вируса Эпштейн-Барр на выраженность клинических жалоб у больных» [98]. Так, у пациентов, которым подкожно вводили по 1,0 мг аллоферна через день, в течении 9 дней, как указывает автор: «...отмечалось достоверное уменьшение таких клинических жалоб, как субфебрильная температура тела, боли в горле, слабость, озноб, потливость, стекание слизи по задней стенке глотки, стоматит, боли в суставах, раздражительность и плаксивость, а также высыпания на кожных покровах» [98]. Терапия препаратом «Аллокин-альфа» оказала выраженный противовирусный эффект на количество копий ДНК вируса Эпштейн-Барр в слюне у больных [98].

Подобные результаты были получены отечественными учеными Ершовым Ф.И. и соавт. (2003, 2007) при исследовании протекания рецидивов хронического генитального герпеса при терапии противовирусным препаратом «Аллокин-альфа». Суть исследования заключалась в определении действия аллоферона при подкожном введении на течение и изменение длительности и тяжести рецидивов генитального герпеса, а также определение различных показателей иммунного статуса. По результатам эксперимента было выявлено статистически достоверное сокращение продолжительности текущих рецидивов, и последующих, а также снижением тяжести симптомов интоксикации и уменьшением выраженности местных проявлений. Ершов Ф.И. указывает, что у 44 больных (73,3%) из 60 результат был оценен как «хороший», что по словам авторов означает значительное улучшение

клинических симптомов заболевания [35, 42].

В результате исследований, проведенных Ибишевым Х.С. и соавт. (2021) по определению эффективности аллоферона в комплексной терапии хронического рецидивирующего папилломавирусного цистита, авторы сообщают, что уже через 1 месяц от начала терапии имело место достоверное снижение болевой симптоматики и симптомов нижних мочевых путей [47].

При изучении влияния препарата «Аллокин-альфа» на течение персистирующей папилломавирусной инфекции, Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е. (2013) отмечали достоверное снижение уровня кольпоскопического индекса у 92,5% пациентов на 3-м месяце наблюдения [46].

В исследованиях по изучению влияния синтетических олигопептидов на адаптационные способности и выносливость организма Бузлама В.С., Трутаев И.В., Шабунин С.В. (2008) пришли к похожему заключению. Авторы проводили опыты с использованием синтетических аналогов природных олигопептидов, обладающими иммуностимулирующими свойствами, и определяли их влияние на организм мышей подвергнутым стрессу посредством иммобилизации, в том числе изучали изменение живой массы животных в эксперименте. В результате проведенного исследования было установлено, что синтетические олигопептиды не только способствуют улучшению адаптационных способностей и повышению выносливости организма животного, но и обеспечивают предупреждение потери массы тела [28].

Таким образом, подкожные инъекции препарата «Аллокин-альфа» с интервалом 6 дней в дозе 0,5 мг на животное больным Алеутской болезнью норкам в молодом возрасте способствует снижению уровня генетического материала возбудителя, значительному уменьшению степени морфоструктурных изменений органов и тканей, сдвигом биохимической картины крови в сторону клинически здоровых животных и улучшению клинического состояния зверей. Кроме того, использование «Аллокин-альфа» позволило снизить до минимума смертность животных, а также положительно

воздействовало на продуктивные показатели и качество заготавливаемой продукции.

Рекомендуемый нами препарат «Аллокин-альфа» доказал высокую эффективность применения при Алеутской болезни и может быть использован в комплексном подходе к профилактике вирусного плазмодитоза норок. Полученные нами новые данные легли в основу изменений в комплекс профилактических мероприятий в звероводческом хозяйстве Ленинградской области.

Таким образом, выполненные исследования послужили основанием для формулирования следующих 7 пунктов заключения.

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Отечественный индуктор интерферона «Аллокин-альфа» эффективен для профилактики Алеутской болезни норок.

2. В результате проведенного мониторинга, на территории звероводческого хозяйства в Северо-Западном регионе Российской Федерации установлена циркуляция возбудителя Алеутской болезни норок.

3. ПЦР-диагностика с электрофоретической детекцией не выявила ДНК возбудителя вирусного плазмозитоза у 40% подопытных норок через 6 месяцев после применения препарата «Аллокин-альфа».

4. Применение препарата «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни, позволило снизить интенсивность морфофункциональных изменений органов больных норок. Наблюдались невысокая степень плазмозитарной инфильтрации, полнокровие кровеносных сосудов, отсутствие очагов кровоизлияний, низкая степень апоптоза ооцитов, в то время как в контрольной группе отмечались тяжелые поражения.

5. На фоне применения препарата «Аллокин-альфа» больным Алеутской болезнью норкам, достоверно в несколько раз уменьшаются значения метаболитов азотистого обмена (мочевина и креатинин) и активности трансаминаз, что может указывать на меньшие масштабы деструктивных изменений в почках и печени, играющих решающую роль в исходе болезни.

6. Препарат «Аллокин-альфа» показал высокую клиническую эффективность при Алеутской болезни норок, что позволило предупредить развитие клинической картины, снизить до минимума смертность животных, а также обеспечило положительное воздействие на размеры получаемых шкурок, что способствует повышению стоимости заготавливаемой продукции.

7. Разработанная схема профилактических мероприятий при вирусном плазмозитозе с применением препарата «Аллокин-альфа» норкам в возрасте 30 дней, подкожно, в дозе 0,5 мг на животное двукратно с интервалом 6 дней доказала свою эффективность.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

В диссертационной работе представлены положения и результаты, характеризующие теоретические и практические подходы к профилактике Алеутской болезни норок, которые следует использовать на звероводческих предприятиях ветеринарным специалистам, в учебном процессе студентов, аспирантов, научных работников, а также на курсах повышения квалификации и переподготовки кадрового состава работников зоотехнического и ветеринарного профиля.

Предложенная схема применения, ранее не используемого в звероводстве индуктора интерферона «Аллокин-альфа», характеризуется наиболее высоким уровнем эффективности из существующих методов борьбы с Алеутской болезнью, обеспечивает регрессирование темпов развития вирусного плазмцитоза и снижение его негативного воздействия на качество и количество получаемой продукции, повышая рентабельность производства.

Рекомендуемый отечественный индуктор эндогенного интерферона «Аллокин-альфа», а также разработанная и испытанная схема применения препарата, защищенная патентом (приложение 1), доказали свою эффективность и могут быть использованы в практической работе ветеринарных специалистов в рамках плана диагностических исследований, ветеринарно-профилактических и противоэпизоотических мероприятий в звероводческих хозяйствах всех форм собственности на территории субъектов Российской Федерации. Препарат рекомендуется применять молодняку норок 30-дневного возраста в дозе 0,5 мг на животное двукратно с интервалом 6 дней.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные данные позволяют высоко оценить эффективность применения препарата «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни норок. Полученные в диссертационной работе результаты исследований дают возможность проведения производственных испытаний препарата «Аллокин-альфа» в отношении различных болезней вирусной этиологии животных, в том числе болезней, методов борьбы с которыми, до сих пор не разработано. Поэтому разработку данных тем мы считаем перспективной.

Предложенные в диссертации теоретические и практические подходы к борьбе с вирусным плазмодитозом при помощи индукторов эндогенного интерферона следует внедрять в ветеринарную практику повсеместно, что позволит открыть перспективу дальнейшего расширения линейки противовирусных средств и способов лечения болезней животных вирусной этиологии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
БАВ	– биологически активные вещества
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИФА	– иммуноферментный анализ
ЙАТ	– йодно-агглютинационный тест
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РИФ	– реакция иммунофлуоресценции
РИЭОФ	– реакция иммуноэлектроосмосфореза
ФГБОУ ВО СПбГУВМ	– Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
AMDV	– Aleutian mink disease virus (вирус Алеутской болезни норки)
CD3+CD8+	Т-цитотоксические лимфоциты
CD3+HLA-DR+	– зрелые активированные Т-лимфоциты
CD8	– гликопротеин, обнаруживаемый на поверхности тимоцитов и Т-лимфоцитов, участвующий в распознавании антигенных пептидов в контексте с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса I
ELISA	– Enzyme-linked immunosorbent assay

	(иммуноферментный анализ на основе иммуносорбентов)
FOXP3	– forkhead box P3 (транскрипционный фактор развития и функционирования особого класса лимфоцитов – T-регуляторных клеток)
IL2	– interleukin 2
IL4	– interleukin 4
INFA	– interferon alpha (интерферон альфа)
INFB	– interferon beta (интерферон бета)
INFG	– interferon gamma (интерферон гамма)
NF-κB	– nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (универсальный фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла)
NK-клетки	– natural killer cells (естественные киллеры, натуральные киллеры)
NS1, NS2, NS3	– неструктурные белок вируса Алеутской болезни норки
TGFB	– transforming growth factor beta (трансформирующий фактор роста бета)
VP1, VP 2	– капсидные белки вируса Алеутской болезни норки

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов, М. Д. Норководство / М. Д. Абрамов. – Москва : Колос, 2001. – 202 с.
2. Алеутская болезнь норок: эффективность иммунокорригирующей терапии / А. Сухинин, М. Гумберидзе, С. Макавчик [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2022. – Т. 57. – № 2. С. 384-397. – DOI: 10.15389/agrobiology.2022.2.384rus.
3. Алленов, С.Н., Иммуноterapia : руководство для врачей, 2е издание / С. Н. Алленов, Ю. Г. Аляев, И. И. Балаболкин [и др.] ; под ред. Р.М. Хаитова, Р.И. Атауллаханова, А.Е. Шульженко. – Москва : ООО Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа", 2020. – 70 с.
4. Аминин, Д. Л. Молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия кукумариозида А2-2 и созданного на его основе лекарственного средства кумазид : специальность 03.01.04 "Биохимия" : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Аминин Дмитрий Львович. – Владивосток, 2017. – 48 с.
5. Антипова, А. Ю. Вирусы семейства Parvoviridae: молекулярно-генетические аспекты репродукции и медицинская значимость / А. Ю. Антипова, И. Н. Лаврентьева // Инфекция и иммунитет. – 2017. – Т. 7. – № 1. – С. 7-20. – DOI 10.15789/2220-7619-2017-1-7-20.
6. Атарова, Ю. В. Сравнительная характеристика морфогенеза и морфологии черепа норки американской (*Neovison vison*) разных окрасочных генотипов в норме и при воздействии препарата Биостил : специальность 06.02.01 «Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Атарова Юлия Вадимовна ; Омский государственный аграрный университет. – Омск, 2019. – 20 с.

7. Багдонас, И. И. Применение Аркусита в рационах молодняка норок / И. И. Багдонас, Н. А. Балакирев // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 12(110). – С. 065-067.

8. Байкова, М. Л. Особенности методического подхода к определению специфической активности интерферона альфа типа / М. Л. Байкова, И. М. Щербаченко, Л. А. Гайдерова [и др.] // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 68-73. – DOI 10.30895/2221-996X-2020-20-1-68-73.

9. Балакирев Н. А. Кормление пушных зверей / Н. А. Балакирев, Д. Н. Перельдик. – Москва : КолосС, 2010. –191с. – ISBN 978-5-9532-0791-1.

10. Балакирев, Н. А. Задачи отрасли клеточного пушного звероводства России по выходу из кризиса / Н. А. Балакирев // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2011. – № 2(29). – С. 18-19.

11. Балакирев, Н. А. Мировое состояние клеточного пушного звероводства / Н. А. Балакирев // Актуальные вопросы биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии, товароведения и переработки сырья животного и растительного происхождения : Материалы национальной научно-практической конференции "Актуальные вопросы биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии, товароведения и переработки сырья животного и растительного происхождения" / Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина. – Москва, 2021. – С. 136-138.

12. Балакирев, Н. А. Современное состояние клеточного пушного звероводства / Н.А. Балакирев, И.В. Паркалов, И.А. Плотников // Материалы международной научно-практической конференции «Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства» посвященной 100-летию института и 150-летию со дня рождения основателя и первого директора института, профессора Бориса Михайловича Житкова / Всероссийский научно-

исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства им. проф. Б.М. Житкова РАСХН. – Киров. – 2022. – С. 20–24.

13. Балакирев, Н. А. Состояние и перспективы клеточного пушного звероводства России / Н. А. Балакирев // Кролиководство и звероводство. – 2011. – № 3. – С. 5-8.

14. Балакирев, Н. А. Перспективы развития звероводства России в условиях ВТО / Н.А. Балакирев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2013. – №2(214). – С. 68-72.

15. Балакирев, Н. А. Состояние и перспективы развития клеточного пушного звероводства / Н. А. Балакирев, В. Н. Масалов, Е. А. Михеева // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2009. – № 4(19). – С. 34-35.

16. Батоев, Ц. Ж. Экологическое значение сезонной изменчивости биохимических показателей крови американских норок и серебристо-черных лисиц / Ц. Ж. Батоев, С. Е. Санжиева, П. П. Бердников, Н. В. Мантатова // Вестник Бурятского государственного университета. Биология, география. – 2013. – № 4. – С. 179-184.

17. Белоусова, Е. Д. Причины гипердиагностики эпилепсии у детей / Е. Д. Белоусова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2019. – Т. 64. – № 3. – С. 97-102.

18. Бельтюкова, З. Н. Алеутская болезнь норок – один из факторов влияющих на численность поголовья норки в природных условиях / Бельтюкова З. Н., Скуматов Д. В., Домский И. А. // Материалы XXIX международного конгресса биологов-охотоведов Ч. 2. / Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства им. Б.М. Житкова РАСХН. – Киров. – 2009. – С. 33–34.

19. Бельтюкова, З. Н. Иммуный статус пушных зверей и его коррекция / З. Н. Бельтюкова, И. И. Окулова, Ю. А. Березина, М. А. Кошурникова // Международный вестник ветеринарии. – 2018. – № 4. – С. 110.

20. Бельтюкова, З. Н. Применение иммуномодуляторов при Алеутской болезни норок / З. Н. Бельтюкова, И. И. Окулова // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства : материалы международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова. – Киров : Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства им. Б.М. Житкова РАСХН, 2017. – С. 274-275.

21. Березина, Ю. А. Биохимическая картина сыворотки крови молодняка норки / Ю. А. Березина, О. Ю. Беспярых, А. Е. Кокорина // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2011. – № 2(21). – С. 39-42.

22. Береснева, А. С. Сохранность и рост щенков норок ЗАО "зверохозяйство "Гурьевское" в молочный период / А. С. Береснева, И. В. Шалаева // Вестник молодежной науки. – 2019. – № 1(18). – С. 14.

23. Беспярых, О. Ю. Биохимические показатели крови норки, зараженной вирусом Алеутской болезни / О. Ю. Беспярых, Ю. А. Березина, З. Н. Бельтюкова [и др.] // Ветеринарная патология. – 2011. – № 3(37). – С. 75-78.

24. Беспярых, О. Ю. Влияние янтарной кислоты на показатели крови норок, больных Алеутской болезнью / О. Ю. Беспярых // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2012. – № 7. – С. 5-8.

25. Бондаренко, С. П. Содержание норок. Биологические особенности. Рационы. Кормление. Уход. Профилактика болезней / С. П. Бондаренко. – Москва : АСТ; Донецк: «Сталкер», 2005. – 141 с. – ISBN 5-17-027261-8 (ООО «Издательство АСТ»), ISBN 966-696-645-X («Сталкер»).

26. Бондаренко, С. П. Содержание хищных пушных зверей / С. П. Бондаренко. – Москва : Сталкер, 2005. – 161 с. – ISBN 966-696-646-8.

27. Братских, В.Г. Пушное звероводство : Методические указания к лабораторно-практическим занятиям для студентов факультета технологии сельскохозяйственного производства / В.Г.Братских, С.В.Семенченко, В.Н.Нефедова. – п. Персиановский : ФГБОУ ВО «Донской государственной аграрный университет», 2004. – 36 с.

28. Бузлама, В. С. Влияние синтетических олигопептидов на адаптационные способности и выносливость организма / В. С. Бузлама, И. В. Трутаев, С. В. Шабунин // Ветеринарная патология. – 2008. – № 1 (24). – С. 27-35.

29. Вахитов, Х. М. Индукторы интерферона в профилактике и лечении респираторных инфекций у детей / Х. М. Вахитов, О. И. Пикуза, Л. Ф. Вахитова [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2019. – Т. 64. – № 3. – С. 103-108. – DOI 10.21508/1027-4065-2019-64-3-103-108.

30. Владимирова, Н. Ю. Некоторые показатели продуктивности норок разных пород при обработке меларомом / Н. Ю. Владимирова, Н. И. Владимиров // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 9(119). – С. 86-89.

31. Геллер, В. И. Алеутская болезнь норок (современный взгляд на проблему) / В. И. Геллер, А. Н. Семикрасова, И. В. Петрова // Кролиководство и звероводство. – 2015. – № 6. – С. 27-28.

32. Гречкина В. В. Морфологические и биохимические показатели крови телят казахской белоголовой породы при дополнительном введении в рацион растительных жиров / В. В. Гречкина, Е. В. Шейда, С. В. Лебедев [и др.] // Животноводство и кормопроизводство. – 2019. – Т. 102. – № 4. – С. 150-162. – DOI 10.33284/2658-3135-102-4-150.

33. Дмитриева, Н. А. Компьютерное моделирование эпизоотического процесса алеутской болезни норок / Н. А. Дмитриева, В. И. Варбанский, В. А. Дмитриев [и др.] // Омский научный вестник. – 2006. – № 7(43). – С. 172-174.

34. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. – Страсбург, 18 марта – 1987.

35. Ершов, Ф. И. Влияние терапии Аллокином-Альфа на течение рецидивов хронического генитального герпеса / Ф. И. Ершов, А. А. Кубанова, Б. В. Пинегин, А. Е. Шульженко [и др.] // MATERIA MEDICA. – 2003. – Т. 4. – №40. – С. 103-111.

36. Ершов, Ф. И. Интерфероны и индукторы интерферонов. Иммуноterapia. 2-е издание, переработанное и дополненное: руководство для врачей / Ф. И. Ершов, А. Н. Наровлянский ; под редакцией Р. М. Хаитова, Р. И. Атауллаханова, А. Е. Шульженко. – М.: Гэотар-Медиа, 2018. – 147 с.

37. Ершов, Ф. И. Интерфероны и их индукторы: (от молекул до лекарств) : монография / Ф. И. Ершов, О. И. Киселев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 356 с. – ISBN 5-9704-0060-2.

38. Ершов, Ф. И. Использование индукторов интерферона при вирусных инфекциях / Ф. И. Ершов, А. Н. Наровлянский // Вопросы вирусологии. – 2015. – Т. 60. – №2. – С. 5-10.

39. Ершов, Ф. И. Лекарственные средства, применяемые при вирусных заболеваниях: руководство для врачей / Ф. И. Ершов, М. Г. Романцов // М.:ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 363 с.

40. Ершов, Ф. И. Ранние цитокиновые реакции при вирусных инфекциях / Ф. И. Ершов, А. Н. Наровлянский, М. В. Мезенцева // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3. – № 1. – С. 1-6.

41. Ершов, Ф. И. Теоретические и прикладные аспекты системы интерферонов: к 60-летию открытия интерферонов / Ф. И. Ершов, А. Н. Наровлянский // Вопросы вирусологии. – 2018. – Т. 63. – № 1. – С. 10-18. – DOI 10.18821/0507-4088-2018-63-1-10-18.

42. Ершов, Ф. И. Эффективность аллокина-альфа в терапии генитального герпеса / Ф. И. Ершов, В. А. Исаков, Г. П. Беккер [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2007. – № 2. – С. 25-29.

43. Зароченцева, Н. В. Возможности применения препарата Аллокин-альфа у больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями I-II степени / Н. В. Зароченцева, Н. С. Меньшикова, Л. К. Джиджихия, Е. А. Метелёва [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – Т. 13. – № 5. – С. 95-98.

44. Зароченцева, Н. В. Применение препарата Аллокина-альфа в комплексной терапии пациенток с хроническим эндометритом и привычным невынашиванием беременности / Н. В. Зароченцева, А. К. Аршакян, Ю. П. Титченко, Н. С. Меньшикова [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2014. – Т. 14. – №4. – С. 74-80.

45. Земсков, В. М. Современная концепция и общие закономерности иммуномодулирующей терапии / В. М. Земсков, А. М. Земсков // Успехи современной биологии. – 2014. – Т. 134. – № 1. – С. 26-34.

46. Зуйкова, И. Н. Персистирующая папилломавирусная инфекция: цитокиновый дисбаланс и подходы к терапии / И. Н. Зуйкова, А. Е. Шульженко // Эффективная фармакотерапия. – 2013. – № 18. – С. 54-61.

47. Ибишев, Х. С. Эффективность Аллоферона в комплексной терапии хронического рецидивирующего папилломавирусного цистита / Х.С. Ибишев, Д.В. Крахоткин, В.К. Мамедов, А.И. Паленый // Урология. – 2021. – №4. – С. 35-40.– DOI_10.18565/urology.2021.4.35-40.

48. Ивонина, О. Ю. История развития клеточного пушного звероводства в Иркутской области / О. Ю. Ивонина // Достижения и перспективы развития ветеринарной медицины : Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 20-летию создания кафедры специальных ветеринарных дисциплин Иркутского ГАУ / Иркутский государственный

аграрный университет им. А.А. Ежевского. – пос. Молодёжный, 2020. – С. 42-52.

49. Ильина, Т. Н. Влияние генотипа на антиоксидантную систему американских норок и лисиц / Т. Н. Ильина, И. В. Баишникова, В. А. Илюха // Беляевские чтения : Тезисы докладов Международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева. – Федеральный исследовательский центр, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. – Новосибирск, 2017. – С. 65.

50. Капитанова, Т. М. Малое звероводческое хозяйство в современных условиях / Т. М. Капитанова, А. Н. Кустикова // Опыт внедрения устойчивого лесопользования и лесопользования в практику : Материалы международной научно-практической конференции / Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого. – Великий Новгород. – 2013. – С. 140-146.

51. Караулов, А. В. Иммуномодуляторы: от прошлого к будущему / А. В. Караулов // Эффективная фармакотерапия. – 2013. – № 27. – С. 4-5.

52. Кашковская, Л. М. Болезни рыб, птиц, пчел, пушных зверей, экзотических, зоопарковых и диких животных : методические указания по выполнению лабораторных работ / Л.М. Кашковская // Саратов. – 2016. – 100 с.

53. Каштанов, С. Н. Алеутская болезнь норки: эпидемиологические и генетические аспекты / С. Н. Каштанов, Л. Е. Сальникова // Успехи современной биологии. – 2017. – Т. 137. – № 5. – С. 468-478. – DOI 10.7868/S0042132417050040.

54. Кижина, А.Г. Влияние мелакрила на состав лейкоцитарной формулы пушных зверей / А.Г. Кижина , Л.Б. Узенбаева , С. Лапински [и др.] // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства : Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию ВНИИОЗ им. Б. М. Житкова / Всероссийский научно-

исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства им. Б.М. Житкова РАСХН. – Киров. – 2012. – С. 535-536. – ISBN 978-5-902567-06-6.

55. Киселев, В. Л. Использование адаптогенов с целью повышения продуктивности пушных зверей и сельскохозяйственной птицы, содержащихся в клетках : специальность 06.02.04 «Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Киселев Владимир Леонидович ; Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина. – Москва, 2004. – 48 с.

56. Киселева, Н. В. Изменчивость рациона американской норки *Neovison vison* на водоемах Ильменского заповедника / Н. В. Киселева // Экология. – 2014. – № 4. – С. 317. – DOI 10.7868/S0367059714040064.

57. Киселева, Н. В. Состояние европейской норки в России и пути сохранения вида / Н. В. Киселева // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. – 2017. – Т. 122. – № 4. – С. 3-7.

58. Киселева, Н. В. Трофические и пространственные взаимоотношения лесной куницы (*Martes Martes*) и американской норки (*Neovison vison*) на горных реках Южного Урала / Н. В. Киселева // Зоологический журнал. – 2011. – Т. 90. – № 12. – С. 1502.

59. Киселева, Н.В. Американская и европейская норки: конкуренция и механизмы влияния / Н.В. Киселева // Актуальные проблемы современной науки : Материалы телеконференции приуроченной к 150-летию со дня рождения Профессора Императорского Томского Университета Крюгера Фридриха Карловича а также к 110-летию со дня рождения профессора Томского медицинского института Хлопкова Алексея Михайловича / Ильменский государственный заповедник УрО РАН. – Миасс, 2012. – С. 8-10.

60. Коваленок, Ю. К. Применение статистики в диссертациях по ветеринарии / Ю. К. Коваленок, А. П. Курдеко, Л. Ю. Карпенко // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 2. – С. 56-60.

61. Коваленок, Ю. К. Статистика как необходимое условие доказательной ветеринарии / Ю. К. Коваленок, А. П. Курдеко // Наше сельское хозяйство. – 2016. – № 20. – С. 4-8.

62. Колесник, Е. С. Ранняя диагностика *carnivore amdoparvovirus* без экстракции ДНК диагностика Алеутской болезни норок / Е. С. Колесник, Г. Ю. Косовский, В. И. Глазко // Кролиководство и звероводство. – 2020. – № 6. – С. 63-68. – DOI 10.24411/0023-4885-2020-00037.

63. Коновалов, А. М. Применение L-карнитина в рационе молодняка норок / А. М. Коновалов, Г. В. Коновалова // Проблемы зоологии, экологии и охраны природы : материалы научной заочной конференции, посвященной памяти профессора Марии Ивановны Непоклоновой, и 90-летию со дня ее рождения. – Москва: Сельскохозяйственные технологии, 2016. – С. 165-176.

64. Коновалова, Н. В. Роль уровня интерферонов α и γ в крови больных увеитами вирусной этиологии под влиянием лечения препаратом Аллокин-альфа / Н. В. Коновалова, Н. И. Храменко, Л. Н. Величко, Л. А. Юрченко // Точка зрения. Восток – Запад. – 2018. – №4. – С. 26-29. – DOI 10.25276/2410-1257-2018-4-26-29.

65. Коррекция иммунного статуса пушных зверей с помощью биологически активных препаратов / З. Н. Бельтюкова, И. И. Окулова, Ю. А. Березина, М. А. Кошурникова // Вестник КрасГАУ. – 2018. – № 5(140). – С. 92-96.

66. Коцюмбас, И. Я. Методы контроля биологической активности современных ветеринарных иммуномодуляторов / И. Я. Коцюмбас, Н. И. Жила, Н. В. Шкодяк, О. М. Пятничко // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2014. – Т. 16. – № 2-2(59). – С. 165-174.

67. Крамарева, И. А. Метаболический профиль крови свиноматок разного физиологического состояния при применении некоторых БАВ / И. А. Крамарева, И. В. Крамарев, В. В. Семенютин // Научные ведомости

Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. – 2017. – № 25(274). – С. 91-98.

68. Кузнецов, В. П. Иммунокорригирующая терапия — препараты и перспективы / В. П. Кузнецов [и др.] // *Russian J. of Immunology*. – 2000. – Vol. 5. – No 2. – P. 165-176.

69. Куценко, И. И. Комплексная терапия рецидивирующего генитального герпеса у женщин / И. И. Куценко, И. О. Боровиков, Ю. В. Дехтяренко [и др.] // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. – 2012. – № 5. – С. 334-341.

70. Лазарева, Д. Н. Иммуномодуляторы : монография / Д. Н. Лазарева. – Уфа : Башкирский государственный медицинский университет, 2012. – 259 с.

71. Литвяков, С. В. Зоогигиеническая оценка использования витурида-В при Алеутской болезни норок : специальность 16.00.06 «Ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза» : диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Литвяков Сергей Васильевич ; Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины. – Санкт-Петербург, 2002. – 102 с.

72. Любимова, М. Ю. Шкурковая продукция молодняка самцов норок при использовании препарата "Витазар" / М. Ю. Любимова, Н. А. Балакирев, С. В. Позябин // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. – 2021. – № 2. – С. 123-129. – DOI 10.26897/0021-342X-2021-2-123-129.

73. Мантатова, Н. В. Сравнительная характеристика биохимических показателей крови пушных зверей при патологии "сечение" волосяного покрова / Н. В. Мантатова, Д. В. Кладова // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. – 2019. – № 11(181). – С. 133-138.

74. Мартыненко, М. В. Использование полимеразной цепной реакции для детекции вируса Алеутской болезни норок / М. В. Мартыненко // *Сельскохозяйственная биология*. – 2004. – Т. 39. – № 6. – С. 119-122.

75. Машкова, С. А. Терапевтическая эффективность нового индуктора интерферона кагоцела и циклоферона при неосложнённом гриппе и остром тонзиллите, протекающем на фоне острых респираторных вирусных заболеваний : специальность 14.00.10 «инфекционные болезни» : автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата медицинских наук / Машкова Светлана Александровна ; ГУ НИИ вирусологии имени Д.И. Ивановского РАМН. – Москва, 2004. – 32 с.

76. Микрюкова, О. С. Звероводство : Учебно-методическое пособие / О. С. Микрюкова. – Пермь : ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д. Н. Прянишникова». –2018. – 200 с.

77. Минченко, В. Н. Морфология и химический состав бедренной кости цыплят-бройлеров в постинкубационный период и при введении в рацион БАВ / В. Н. Минченко, П. П. Донских, А. Е. Штомпель [и др.] // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 5(69). – С. 24-32.

78. Михеев, Ю. В. Обзор сравнительных испытаний тест-систем РИЭОФ и ИФА при диагностике Алеутской болезни норок / Ю. В. Михеев, А. Н. Семикрасова // Кролиководство и звероводство. – 2014. – № 3. – С. 24-28.

79. Михеев, Ю. В. Совершенствование лабораторной диагностики алеутской болезни норок : специальность 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с митотоксикологией и иммунология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Михеев Юрий Васильевич ; Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина. – Москва, 2003. – 124 с.

80. Михеева-Святская, Н. А. Характеристика штаммов и изолятов вируса алеутской болезни норок, циркулирующих на территории России / Н. А. Михеева-Святская, В. М. Макова, С. П. Яцентюк [и др.] // Кролиководство и звероводство. – 2013. – № 1. – С. 28-32.

81. Нашкевич, Н. Н. Идентификация и количественное определение рекомбинантного белка свиного лейкоцитарного интерферона иммуноферментными методами / Н.Н. Нашкевич, М.И. Потапович, С.А. Ульяновченко, Н. Г. Заяц [и др.] // Труды Белорусского государственного университета: научный журнал. – 2009. – Т. 4. – №1. – С. 131-137.

82. Новиков, Д. К. Применение интерферонов и их индукторов при ОРВИ / Д. К. Новиков, В. И. Новикова // Медицинские новости. – 2017. – № 9. – С. 18-21.

83. Обухов, И. Л. Диагностика и молекулярно-генетическое типирование возбудителя алеутской болезни норок / И. Л. Обухов, Ю. Ю. Тялина, В. М. Макова [и др.] // Ветеринария. – 2003. – № 10. – С. 22.

84. Окулова, И. И. Биохимические показатели крови у норок под действием биопрепаратов / И. И. Окулова, О. Ю. Беспярых, И. А. Домский [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 239. – № 3. – С. 185-188. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-239-3-185-189.

85. Осипова, Н. Н. Американская норка в Якутии / Н. Н. Осипова, Р. В. Егасов, А. А. Устинов // МНСК-2019: биология : материалы 57-й Международной научной студенческой конференции. – Новосибирск: Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 2019. – С. 27.

86. Оценка морфологических изменений внутренних органов при терапии Алеутской болезни норок аллофероном / А. Сухинин, М. Гумберидзе, Б. Никонов, [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 41-45. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.41.

87. Паркалов, И. В. К вопросу о промышленной доместикации пушных зверей в России / И. В. Паркалов // Информационный вестник ВОГиС. – 2010. – Т. 14. – № 3. – С. 389-397.

88. Паркалов, И. В. Перспективы и пути развития клеточного звероводства России / И. В. Паркалов, Н. А. Балакирев // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 9. – С. 17-18.

89. Паркалов, И. В. Пушные звери в среде естественного обитания и перспектива клеточного звероводства в современных условиях : специальность 06.02.01 «Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Паркалов Иван Владимирович ; Санкт-Петербургский государственный аграрный университет. – Санкт-Петербург, 2007. – 23 с.

90. Паркалов, И. В. Совершенствование системы клеточного содержания в пушном звероводстве / И. В. Паркалов, Л. П. Шульга // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2018. – С. 102-106.

91. Паркалов, И. В. Современное состояние российского клеточного пушного звероводства, перспективы его развития и научного обеспечения, в том числе в Северо-Западном регионе страны / И. В. Паркалов // Кролиководство и звероводство. – 2012. – № 3. – С. 8-10.

92. Паркалов, И.В. Звероводство России на пути выхода из кризиса / И.В.Паркалов // Вестник Петровской академии. – 2011. – №1(18). – С. 76-80.

93. Петров, Р. В. Клеточные мембраны и иммунитет. Биохимия мембран. Книга 9 / Р. В. Петров, Р. И. Атауллаханов ; под ред. А. А. Болдырев. – Москва, 1991. – 143 с.

94. Пиминов, В. Н. Мониторинг состояния ресурсов охотничьих животных, их численности и добычи по регионам России в 2011-2012 гг. / В. Н. Пиминов, В. И. Машкин, Б. Е. Зарубин, И. С. Козловский [и др.]. – Киров : ГНУ ВНИИОЗ им. проф. Б.М. Житкова Россельхозакадемии, 2012. – 104 с.

95. Письменная, С. В. Исследование содержимого кишечника: учебно-методическое пособие / С. В. Письменная. – Архангельск : ГАОУ СПО АО «АМК», 2013. – 61 с.

96. Пономаренко, Д. Г. Влияние иммуномодуляторов на морфофункциональные показатели органов иммунной системы норок при Алеутской болезни : специальность 16.00.02 «Патология, онкология и морфология животных» автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Пономаренко Дмитрий Григорьевич ; Ставропольский государственный аграрный университет. – Ставрополь, 2007. – 23 с.

97. Пушкарев, М. Г. Оценка продуктивных качеств и эффективности выращивания норок / М. Г. Пушкарев // Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии. – 2019. – № 3(59). – С. 19-23.

98. Ракитянская, И. А. Аллокин-альфа – новые подходы к лечению хронической вирус Эпштейн-барр инфекции / И. А. Ракитянская, Т. С. Рябова, У. А. Тоджибаев, А. А. Калашникова // Problems of Virology (Russian journal). – 2019. – Т. 64. – №3. – DOI 10.18821/0507-4088-2019-64-3-118-124.

99. Романцов, М. Г. Иммуномодуляторы с противовирусной активностью: опыт применения метилглюкамина акридоацетата в педиатрической практике / М. Г. Романцов, О. Г. Шульдякова, А. Л. Коваленко // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 1. – С. 29-33.

100. Садовникова, Е. Ф. Сравнительная эффективность различных методов диагностики Алеутской болезни норок / Е. Ф. Садовникова, О. В. Васютович // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2013. – Т. 49. – № 2-1. – С. 137-140.

101. Санжиева, С. Е. Использование биохимических методов в изучении физиологического состояния пушных зверей в сравнительном аспекте / С.Е. Санжиева, Ц.Ж. Батоев, И.А. Котурай // Вестник бурятского государственного университета. – 2011. – №4. – С. 183-187.

102. Санин, А. В. Применение иммуномодуляторов при вирусных заболеваниях мелких домашних животных / А. В. Санин, А. Н. Наровлянский, А. В. Пронин // Ветеринария и кормление. – 2017. – № 3. – С. 95-97.

103. Сергеев, Е. Г. Влияние антропогенного фактора на поведенческие реакции молодняка соболей фермерских популяций / Е. Г. Сергеев, С. В. Бекетов // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2018. – № 3. – С. 87-95. – DOI 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2018.3.87-95.

104. Сергеев, Е. Г. Изменение численности поголовья самок основного стада по видам и породам пушных зверей в хозяйствах Российской Федерации в 2011 году / Е. Г. Сергеев // Кролиководство и звероводство. – 2013. – № 2. – С. 13-14.

105. Слугин, В. С. Современные ветеринарные проблемы в звероводстве / В. С. Слугин // Кролиководство и звероводство. – 2005. – № 1. – С. 24-28.

106. Слугин, В. С. Болезни плотоядных пушных зверей и их этиологическая связь с патологией других животных и человека / В.С. Слугин. - Киров : КОГУП «Кировская областная типография», 2004. - 592 с.

107. Смоленцева, Е. В. Современное состояние и особенности отрасли пушного звероводства в Российской Федерации / Е. В. Смоленцева // Проблемы современной науки и образования. – 2015. – № 5(35). – С. 54-55.

108. Сухинин, А. А. Биохимическая картина крови больных алеутской болезнью норок под действием аллоферона / А. А. Сухинин, М. М. Гумберидзе // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – №4. – С. 42-47. – DOI 10.52419/ISSN2072-2419.2022.4.42.

109. Сухинин, А. А. Диагностика Алеутской болезни норок с использованием молекулярно-генетического метода / А. А. Сухинин, М. М. Гумберидзе, Е. И. Приходько, О. С.Сулян [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 1. – С. 32 – 36. – DOI10.52419/issn2072-2419.2022.1.32.

110. Сухинин, А. А. Оценка морфологических изменений внутренних органов при терапии Алеутской болезни норок аллофероном / А. А. Сухинин, М. М. Гумберидзе, Б. А. Никонов, В. И. Гусев, И. В. Евсегнеева, Г. П. Беккер // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 41-45. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.41.

111. Таранин, А. В. Диагностика алеутской болезни норок / А.В. Таранин // Кролиководство и звероводство. - 2011. - № 3. - С. 12.

112. Тинаев, Н. И. Разведение пушных зверей / Н. И. Тинаев. – Москва : Астрель, 2005. – 288 с. – ISBN 5-271-09190-2.

113. Трапезов, О. В. Регуляторные эффекты генов поведения и управление окрасочным формообразованием у американских норок (*Mustela vison* Schreber, 1777) / О. В. Трапезов // Информационный вестник ВОГиС. – 2008. – Т. 12. – № 1-2. – С. 63-83.

114. Тыньо, Я. Я. Противовирусная активность препарата Аллокин-альфа против вируса герпеса птицы / Я. Я. Тыньо, Е. И. Ярыгина, В. А. Устинова [и др.] // Российская сельскохозяйственная наука. – 2017. – № 6. – С. 48-51.

115. Устинникова, О. Б. Обзор методических подходов к оценке качества лекарственных средств на основе рекомбинантных интерферонов / О. Б. Устинникова, Л. А. Гайдерова, М. Л. Байкова [и др.] // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2017. – Т. 17. – № 3(63). – С. 152-157.

116. Федоров, Ю. Н. Стратегия и принципы иммунокоррекции и иммуномодулирующей терапии / Ю. Н. Федоров, В. И. Клюкина, М. Н. Романенко [и др.] // Вестник Новгородского государственного университета. – 2015. – № 3-1(86). – С. 84-87.

117. Федорова, О. И. Преобразование морфологических признаков норок американских (*Neovison Vison* Schreber, 1777), хорьков (*Mustela Putorius* L, 1758) и сурков степных (*Marmota Bobak* Mull, 1776) в процессе domestikации и селекции / О. И. Федорова, Е. М. Колдаева // Кролиководство и звероводство. – 2018. – №3. –С.19-26.

118. Филатова, И. В. История развития пушно-мехового рынка в России / И. В. Филатова // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. – 2016. – № 1-4. – С. 197-201.

119. Фурман, И. М. Применение препаратов на основе растительных полипренолов при различных формах кошачьего инфекционного перитонита / И. М. Фурман, И. К. Васильев, А. Н. Наровлянский [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2010. – № 3. – С. 42-44.

120. Хаитов, Р. М. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2003. – Т. 24. – № 3. – С. 196-203.

121. Хаитов, Р. М. Современные представления об иммуномодуляторах / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Врач. – 2003. – №11. – С. 41-45.

122. Харламов, К. В. Стратегия развития клеточного пушного звероводства / К. В. Харламов // Достижения науки и техники АПК. – 2008. – № 10. – С. 43-45.

123. Хитрова, Д. А. Физиологические аспекты естественной резистентности и иммунной реактивности здоровых норок и спонтанно инфицированных вирусом Алеутской болезни : специальность 03.00.13 – «Физиология» ; 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с митотоксикологией и иммунология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Хитрова Дарья Александровна ; Омский государственный аграрный университет. – Омск, 2003. – 135 с.

124. Хитрова, Е. А. Влияние биологически активных веществ на иммунный статус норок при Алеутской болезни и иммунодефицитных состояниях : специальность 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с митотоксикологией и иммунология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук /

Хитрова Екатерина Александровна ; Алтайский государственный аграрный университет. – Новосибирск, 2009. – 153 с.

125. Чешик, С. Г. Клинико-лабораторная оценка терапевтической эффективности и безопасности иммуномодулирующего препарата Аллоферон при остром гепатите В / С. Г. Чешик, Т. В. Шкурко, А. В. Козлова, Д. С. Чешик [и др.] // Сборник тезисов VI Российского Съезда врачей-инфекционистов. – Москва, 2003. – 24 с.

126. Юдин, В. С. Биологические особенности норок / В. С. Юдин // Известия Международной академии аграрного образования. – 2018. – № 42-2. – С. 149-152.

127. Яковлева, Е. Г. Янтарная кислота - природный адаптоген и иммуностимулятор / Е. Г. Яковлева, Р. В. Анисько, Г. И. Горшков // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 7. – С. 164-167.

128. Яппаров, И. А. Живая масса и состав крови молодняка норок в зависимости от формы и дозы применения кормовой добавки "Селевер" : специальность 06.02.03 «Ветеринарная фармакология с токсикологией» : диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / И. А. Яппаров, Ю. В. Ларина, В. О. Ежков [и др.] // Ветеринарный врач. – 2019. – № 6. – С. 73-77. – DOI 10.33632/1998-698X.2019-6-73-77.

129. Яппаров, И. А. Разработка и изучение фармакологических, токсикологических и физиологических свойств селеноорганических кормовых добавок и влияние их на организм животных / Яппаров Ильдар Ахтамович ; «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – Казань, 2014. – 352 с.

130. Ятусевич А. И. Заразные болезни пушных зверей : монография / А. И. Ятусевич, В. С. Прудников, Н. Ф. Карасев [и др.]. – Витебск : Витебская государственная академия ветеринарной медицины, 2008. – 110 с.

131. Aasted, B. Antibodies to Aleutian mink disease parvovirus in free-ranging

European mink (*Mustela lutreola*) and other small carnivores from southwestern France Christine Fournier-Chambrillon / B. Aasted, A. Perrot, D. Pontier, F. Sauvage [et al.] // *Journal of Wildlife Diseases*. – 2004. – Vol. 40. – No 3. – P. 394–402. – DOI 10.7589/0090-3558-40.3.394.

132. Alspach, E. Interferon γ and Its Important Roles in Promoting and Inhibiting Spontaneous and Therapeutic Cancer Immunity / E. Alspach, D. M. Lussier, R. D. Schreiber // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. – 2019. – Vol. 11. – No 3. – P. a028480. – DOI 10.1101/cshperspect.a028480.

133. Aminin D. L. Immunomodulatory properties of cucumariosides from the edible far-eastern holothurian *Cucumaria japonica* / D. L. Aminin, I. G. Agafonova, E. V. Berdyshev, E. G. Isachenko [et al.] // *Journal of Medicinal Food*. – 2001. – Vol. 4. – No 3. – P. 127-135. – DOI 10.1089/109662001753165701.

134. Andersson, A. M. Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays for serodiagnosis of Aleutian mink disease virus infection in mink / A. M. Andersson, P. Wallgren // *Acta veterinaria Scandinavica*. – 2013. – Vol. 55. – No 1. – P. 86. – DOI 10.1186/1751-0147-55-86.

135. Anistoroaei, R. A frameshift mutation in the *LYST* gene is responsible for the Aleutian color and the associated Chédiak-Higashi syndrome in American mink / R. Anistoroaei, A. K. Krogh, K. Christensen // *Animal genetics*. – 2013. – Vol. 44. – No 2. – P. 178–183. – DOI 10.1111/j.1365-2052.2012.02391x.

136. Bae, S. The effect of alloferon on the enhancement of NK cell cytotoxicity against cancer via the up-regulation of perforin/granzyme B secretion / S. Bae, K. Oh, H. Kim, Y. Kim [et al.] // *Immunobiology*. – 2013. – Vol. 218. – No 8. – P. 1026–1033. – DOI 10.1016/j.imbio.2012.12.002.

137. Bartee, E. Quantitative membrane proteomics reveals new cellular targets of viral immune modulators / E. Bartee, A. McCormack, K. Fruh // *PLoS Pathogens*. – 2006. – Vol. 2. – No 10. – P. 107. – DOI 10.1371/journal.ppat.0020107.

138. Basu, N. Mink as a sentinel species in environmental health / N. Basu , A. M. Scheuhammer, S. J. Bursian [et al.] // Environmental research. – 2007. – Vol. 103. – No 1. – P. 130–144. – DOI 10.1016/j.envres.2006.04.005.

139. Best, S. M. Pathogenesis of Aleutian mink disease parvovirus and similarities to b19 infection / S. M. Best, M. E. Bloom // Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health. – 2005. – Vol. 52. – No 7-8. – P. 331–334. – DOI 10.1111/j.1439-0450.2005.00864.x.

140. Best, S. M. Aleutian mink disease parvovirus : The parvoviruses / S. M. Best, M. E. Bloom. — London, UK : Hodder Arnold, 2006. – P. 457-471.

141. Bloom, M. E. Identification of aleutian mink disease parvovirus capsid sequences mediating antibody-dependent enhancement of infection, virus neutralization, and immune complex formation / M. E. Bloom, S. M. Best, S. F. Hayes, R. D. Wells [et al.] // Journal of virology. – 2001. – Vol. 75. – No22. – P. 11116–11127. – DOI 10.1128/JVI.75.22.11116-11127.2001.

142. Burke, S. J. Regulation of iNOS gene transcription by IL-1 β and IFN- γ requires a coactivator exchange mechanism / S. J. Burke, B. L. Updegraff, R. M. Bellich, M. R. Goff [et al.] // Molecular Endocrinology. – 2013. – Vol. 27. – No 10. – P. 1724-42. – DOI 10.1210/me.2013-1159.

143. Castelruiz, Y. DNA vaccination with the Aleutian mink disease virus ND1 gene confer partial protection against disease / Y. Castelruiz, M. Blixenkrone-Møller, B. Aasted [et al.] // Vaccine. – 2005. – Vol. 23. – No 10. – P. 1225- 1231. – DOI 10.1016/j.vaccine.2004.09.003.

144. Castelruiz, Y. DNA vaccination with the Aleutian mink disease virus NS1 gene confers partial protection against disease / Y. Castelruiz, M. Blixenkrone-Møller, B. Aasted // Vaccine. – 2005. – Vol. 23. No 10. – P. 1225–1231. – DOI 10.1016/j.vaccine.2004.09.003.

145. Castelruiz, Y. DNA vaccination with the Aleutian mink disease virus NS1 gene confers partial protection against disease / Y. Castelruiz, M. Blixenkrone-Møller, B. Aasted // Vaccine. – 2005. – Vol. 23. – No 10. – P. 1225–1231. – DOI

10.1016/j.vaccine.2004.09.003.

146. Chernysh, S. Anti-tumor activity of immunomodulatory peptide alloferon-1 in mouse tumor transplantation model / S. Chernysh, K. Irina, A. Irina // *International immunopharmacology*. – 2012. – Vol. 12. – No 1. – P. 312–314. – DOI 10.1016/j.intimp.2011.10.016.

147. Chernysh, S. I. Antiviral and antitumor peptides from insects / S. I. Chernysh, S. I. Kim, G. Bekker, V. A. Pleskach [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2002. – Vol. 99. – No 20. – P. 12628-32.

148. Chernysh, S. I. The immune system of maggots of the blow fly (*Calliphora vicina*) as a source of medicinal drugs / S. I. Chernysh, N. A. Gordja // *J Evol Biochem Phys*. – 2011. – No 47. – P. 524–533. – DOI 10.1134/S0022093011060032.

149. Chernysh, S. Insect Antimicrobial Peptide Complexes Prevent Resistance Development in Bacteria / S. Chernysh, N. Gordya, T. Suborova // *PloS one*. – 2015. – Vol. 10. – No 7. – P. e0130788. – DOI 10.1371/journal.pone.0130788.

150. Cotmore, S. F. The family Parvoviridae / S. F. Cotmore, M. Agbandje-McKenna, J. A. Chiorini [et al.] // *Arch Virol*. – 2014. – Vol. 159. – No 5. – P. 1239-1247. – DOI 10.1007/s00705-013-1914-1.

151. Didkovsky, N. A. The effects of Alloferon (Allokin) in the therapy of metabolic syndrome (a pilot study) / N. A. Didkovsky, I. K. Malashenkova, J. V. Abakumova [et al.] // *Medical Academic Journal*. – 2019. – Vol. 19. – No 5. – P. 212-215. – DOI 10.17816/MAJ191S1212-215.

152. Farid, A. H. Aleutian mink disease virus in furbearing mammals in Nova Scotia, Canada / A. H. Farid // *Acta veterinaria Scandinavica*. – 2013. – Vol. 55. – No 1. – P. 10. – DOI 10.1186/1751-0147-55-10.

153. Farid, A. H. Detection of Aleutian mink disease virus DNA and antiviral antibodies in American mink (*Neovison vison*) 10 days postinoculation / A.H. Farid, I. Hussain, I. Arju // *J. Vet Diagn. Invest*. – 2015. – Vol. 27. – No. 3. – P. 287-94. – DOI 10.1177/1040638715580982.

154. Farid, A. H. Dietary supplementation of *Ascophylum nodosum* improved kidney function of mink challenged with Aleutian mink disease virus / A. H. Farid, N. J. Smith // *BMC Vet Res.* 2020. – Vol. 16. – No 1. – P. 465. – DOI 10.1186/s12917-020-02685-w.

155. Farid, A. H. Dietary supplementation of *Ascophylum nodosum* improved kidney function of mink challenged with Aleutian mink disease virus / A. H. Farid, N. J. Smith // *BMC Vet Res.* – 2020. – No 16. – P. 465. – DOI 10.1186/s12917-020-02685-w. (чтонибудь из повторов вставь)

156. Farid, A. H. Effects of dietary kelp (*Ascophylum nodosum*) supplementation on survival rate and reproductive performance of mink challenged with Aleutian mink disease virus / A. H. Farid, N. J. Smith, M. B. White // *Canadian Journal of Animal Science.* – 2020. – Vol. 100. – No 3. – P. 547-556.

157. Farid, A. H., Reduced severity of histopathological lesions in mink selected for tolerance to Aleutian mink disease virus infection / A. H. Farid, L. E. Ferns // *Research in Veterinary Science.* – 2017. – No 111. – P. 127-134. – DOI 10.1016/j.rvsc.2017.02.009.

158. Franzo, G. Impact of viral features, host jumps and phylogeography on the rapid evolution of Aleutian mink disease virus (AMDV) / G. Franzo, M. Legnardi, L. Grassi, G. Dotto [et al.] // *Scientific reports.* – 2011. – Vol. 11. – No 1. – P. 16464. – DOI 10.1038/s41598-021-96025-z.

159. Gong, Q. L. Mink Aleutian disease seroprevalence in China during 1981–2017: A systematic review and meta-analysis / Q. L. Gong, D. Li, N. Diao [et al.] // *Microbial Pathogenesis.* – 2020. – Vol. 139. – P. 103908. – DOI 10.1016/j.micpath.2019.103908.

160. Gordya, N. Natural antimicrobial peptide complexes in the fighting of antibiotic resistant biofilms: *Calliphora vicina* medicinal maggots / N. Gordya, A. Yakovlev, A. Kruglikova, D. Tulin [et al.] // *PloS one.* – 2017. – Vol. 12. – No 3. – P. e0173559. – DOI 10.1371/journal.pone.0173559.

161. Harrington, L. A. Raising awareness of the plight of the critically endangered European mink in Spain is not miscommunication: A response to Melero / L. A. Harrington, M. Põdra, A. Gómez [et al.] // *Biodiversity and Conservation*. – 2018. – Vol. 27. – No 1. – P. 269-271. – DOI 10.1007/s10531-017-1419-4.

162. Hoelzer, K. Origin and Evolution of Viruses || *Evolution and Variation of the Parvoviruses* / K. Hoelzer, C. R. Parrish. – Elsevier Ltd, 2008. – P. 393–416. – DOI 10.1016/b978-0-12-374153-0.00017-5.

163. Huang, Q. Molecular characterization of the small nonstructural proteins of parvovirus Aleutian mink disease virus (AMDV) during infection / Q. Huang, Y. Luo, F. Cheng [et al.] // *Virology*. – 2014. – No 453. – P. 23-31. – DOI 10.1016/j.virol.2014.01.005.

164. Hussain, I. Inactivation of Aleutian mink disease virus through high temperature exposure in vitro and under field-based composting conditions / I. Hussain, G. W. Price, A. H. Farid // *Veterinary Microbiology*. – 2014. – Vol. 173. – No 1-2. – P. 50-58. – DOI 10.1016/j.vetmic.2014.07.014.

165. Ilyukha, V. A. Using of products of mussel mariculture processing (*Mytilus acid hydrolyzate*) under minks aleutian disease / V. A. Ilyukha, N. N. Tyutyunnik, L. B. Uzenbayeva, S. N. Sergina [et al.] // *Current problems of physiology and biochemistry of aquatic organisms. Volume II. Arctic and Sub-Arctic biological resources – potential for biotechnology : collected scientific papers of the first International seminar and PhD workshop*. – Petrozavodsk: Karelian Research Centre RAS, 2010. – P. 26-30.

166. Jakubczak, A. Comparative molecular analysis of strains of the Aleutian Disease Virus isolated from farmed and wild mink / A. Jakubczak, M. Kowalczyk, K. Kostro, G. Jezewska-Witkowska // *Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM*. – 2017. – Vol. 24. No 3. – P 366–371. – DOI 10.26444/aaem/75688.

167. Jensen, T. H. High prevalence of Aleutian mink disease virus in free-ranging mink on a remote Danish island / T. H. Jensen, L. S. Christensen, M. Chriél,

J. Harslund [et al.] // *Journal of wildlife diseases*. – 2012. – Vol. 48. – No 2. – P. 497–502. – DOI 10.7589/0090-3558-48.2.497.

168. Jensen, T. H. Progression of experimental chronic Aleutian mink disease virus infection / T. H. Jensen, M. Chriél, M. S. Hansen // *Acta Vet Scand*. – 2016. – Vol. 58. – No 1. – P. 35. – DOI 10.1186/s13028-016-0214-7.

169. Jepsen, J. R. Aleutian mink disease virus and humans / J. R. Jepsen, F. d'Amore, U. Baandrup, M. Clausen [et al.] // *Emerging infectious diseases*. – 2009. – Vol. 15. – No 12. – P. 2040-2042. – DOI 10.3201/eid1512.090514.

170. Karimi, K. Detection of selection signatures for response to Aleutian mink disease virus infection in American mink / K. Karimi, A. H. Farid, S. Myles [et al.] // *Sci Rep*. – 2021. – Vol. 11. – No 1. – P. 2944. – DOI 10.1038/s41598-021-82522-8.

171. Kashtanov, S. N. Aleutian Mink Disease: Epidemiological and Genetic Aspects / S. N. Kashtanov, L. E. Salnikova // *Biol Bull Rev*. – 2018. – Vol. 8. – No 2. – P. 104-113. – DOI 10.1134/S2079086418020056.

172. Kiik, K. The causes of the low breeding success of European mink (*Mustela lutreola*) in captivity / K. Kiik, T. Maran, A. Nagl [et al.] // *Zoo biology*. – 2013. – Vol. 32. – No 4. – P.387–393. – DOI 10.1002/zoo.21062.

173. Knuuttila, A. Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant VP2 capsids for the detection of antibodies to Aleutian mink disease virus / A. Knuuttila, P. Aronen, A. Saarinen [et al.] // *Clinical and vaccine immunology*. – 2009. – Vol. 16. – No 9. – P. 1360–1365. – DOI 10.1128/CVI.00148-09.

174. Knuuttila, A. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus in Finland / A. Knuuttila, N. Uzcategui, J. Kankkonen [et al.] // *Veterinary Microbiology*. – 2009. – Vol. 133. – No 3. – P. 229–238. – DOI 10.1016/j.vetmic.2008.07.003.

175. Kowalczyk, M. Breeding parameters on a mink farm infected with Aleutian mink disease virus following the use of methisoprinol / M. Kowalczyk, B.

Gąsiorek, K. Kostro [et al.] // Arch Virol. – 2019. – Vol. 164. – No 11. – P. 2691-2698. – DOI 10.1007/s00705-019-04375-x.

176. Kuczer, M. New alloferon analogues: synthesis and antiviral properties / M. Kuczer, A. Majewska, R. Zahorska [et al.] // Chemical biology & drug design. – 2013. – Vol. 81. – No 2. – P. 302–309. – DOI 10.1111/cbdd.12020.

177. Kuczer, M. Further studies on the antiviral activity of alloferon and its analogues / M. Kuczer, A. Midak-Siewirska, R. Zahorska, M. Luczak [et al.] // Journal of peptide science : an official publication of the European Peptide Society. – 2011. – Vol. 17. – No 11. – P. 715–719. – DOI 10.1002/psc.1388.

178. Kuczer, M. Novel analogs of alloferon: Synthesis, conformational studies, pro-apoptotic and antiviral activity / M. Kuczer, E. Czarniewska, A. Majewska, M. Różanowska [et al.] // Bioorganic chemistry. – 2016. – No 66. – P. 12–20. – DOI 10.1016/j.bioorg.2016.03.002.

179. LaDouceur, E. E. Aleutian disease: an emerging disease in free-ranging striped skunks (*mephitis mephitis*) from California / E. E. LaDouceur, M. Anderson, B. W. Ritchie, P. Ciembor [et al.] // Veterinary pathology. – 2015. – Vol. 52. – No 6. – P. 1250–1253. – DOI 10.1177/0300985814560234.

180. Lasota, B. Blood biochemical parameters in male american mink (*neovison vison*) before and during the breeding season / B. Lasota, A. Masłowska, L. Felska-Błaszczak, B. Seremak [et al.] // Pakistan Veterinary Journal. – 2014. – Vol. 34. – No 2. – P. 197-200.

181. Lee, N. Inhibition of lytic reactivation of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus by alloferon / N. Lee, S. Bae, H. Kim, J. M. Kong [et al.] // Antiviral therapy. – 2011. – Vol. 16. – No 1. – P. 17–26. – DOI 10.3851/IMP1709.

182. Leimann, A. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus (AMDV) in Estonia, and a global phylogeny of AMDV / A. Leimann, A. Knuuttila, T. Maran, O. Vapalahti [et al.] // Virus research. – 2015. – No 199. – P. 56–61. – DOI 10.1016/j.virusres.2015.01.011.

183. Li, L. Novel amdovirus in gray foxes / L. Li, P. A. Pesavento, L. Woods,

D. L. Clifford [et al.] // *Emerging infectious diseases*. – 2011. – Vol. 17. – No 10. – P. 1876–1878. – DOI 10.3201/eid1710.110233.

184. Lia, L. Development of an EvaGreen-based real-time PCR assay for detection of Aleutian mink disease virus / L. Lia, Z. Hub, J. Sun [et al] // *Journal of Virological Methods*. – 2020. – No 275. – P. 113751. – DOI 10.1016/j.jviromet.2019.113751.

185. Liu, D. Construction and immunogenicity analysis of whole-gene mutation DNA vaccine of Aleutian mink virus isolated virulent strain / D. Liu, J. Li, K. Shi [et al.] // *Viral Immunology*. – 2017. – Vol. 31. – No 1. – P. 69-77. – DOI 10.1089/vim.2017.0044.

186. Liu, D. Construction and immunogenicity analysis of whole-gene mutation dna vaccine of aleutian mink virus isolated virulent strain / D. Liu, J. Li, K. Shi, F. Zeng [et al.] // *Viral immunology*. – 2018. – Vol. 31. – No 1. – P. 69–77. – DOI 10.1089/vim.2017.0044.

187. Liu, D. Construction and immunogenicity analysis of whole-gene mutation dna vaccine of aleutian mink virus isolated virulent strain / D. Liu, J. Li, K. Shi, F. Zeng [et al.] // *Viral Immunol*. – 2018. – No 31. – P. 69–77. – DOI 10.1089/vim.2017.0044.

188. Lu, T. Aptamer-targeting of Aleutian mink disease virus (AMDV) can be an effective strategy to inhibit virus replication / T. Lu, H. Zhang, J. Zhou [et al.] // *Sci Rep*. – 2021. – No 11. – P. 4649. – DOI 10.1038/s41598-021-84223-8.

189. Lu, T. Development of an antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of Aleutian mink disease virus // T. Lu, Y. Wang, Y. Wu [et al] // *Arch Virol*. – 2021. – Vol. 166. – No 1. – P. 83-90. – DOI 10.1007/s00705-020-04850-w.

190. Ma, F. Development of a Peptide ELISA for the Diagnosis of Aleutian Mink Disease / F. Ma, L. Zhang, Y. Wang // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11. – No 11. – P. e0165793. – DOI 10.1371/journal.pone.0165793.

191. Ma, F. Development of a Peptide ELISA for the Diagnosis of Aleutian

Mink Disease / F. Ma, L. Zhang, Y. Wang, R. Lu [et al.] // PloS one. – 2016. – Vol. 11. – No 11. – P. e0165793. – DOI 10.1371/journal.pone.0165793.

192. Markarian, N. M. AMDV Vaccine: Challenges and Perspectives / N. M. Markarian, L. Abrahamyan // Viruses. – 2021. – Vol. 13. – No 9. – P. 1833. – DOI 10.3390/v13091833.

193. Menshenina, A. P. Combination treatment with plasmapheresis and non-specific immunotherapy for locally advanced cervical cancer / A. P. Menshenina, O. I. Kit, T. I. Moiseenko, E. M. Frantsiyants [et al.] // Journal of Critical Reviews. – 2020. – Vol. 7. – No 12. – P. 2235-2241. – DOI 10.31838/jcr.07.12.329.

194. Mordstein, M. Interferon-contributes to innate immunity of mice against influenza a virus but not against hepatotropic viruses / M. Mordstein, G. Kochs, L. Dumoutier, J-C. Renauld [et al.] // PLoS pathogens. – 2008. – Vol. 4. – No 9. – P. e1000151. – DOI 10.1371/journal.ppat.1000151.

195. Nowakowicz-Dębek, B. Chosen blood biochemical parameters in free-living wild and farmed minks, foxes and raccoon dogs / B. Nowakowicz-Dębek, A. Zoń, A. Jakubczak, W. Wnuk // Veterinarija ir Zootechnika. – 2015. – Vol. 70. – No 92. – P. 48-52.

196. Panicz, R. Assessment of Aleutian mink disease virus (AMDV) prevalence in feral American mink in Iceland. Case study of a pending epizootiological concern in Europe / R. Panicz, P. Eljasik, J. Skorupski, P. Śmietana [et al.] // PeerJ. – No 9. – P. e12060. – DOI 10.7717/peerj.12060.

197. Parrish, C. R. Encyclopedia of Virology (Third Edition) : Parvoviruses of Vertebrates / C. R. Parrish. – Academic Press, 2008. – P. 85–90. – DOI 10.1016/b978-012374410-4.00711-1.

198. Persson, S. Aleutian Mink Disease Virus in Free-Ranging Mink from Sweden / S. Persson, T.H. Jensen, A.L. Blomström [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10. – No 3. – P. e0122194. – DOI 10.1371/journal.pone.0122194.

199. Prieto, A. Application of real-time PCR to detect Aleutian Mink Disease Virus on environmental farm sources // A. Prieto, J. M. Díaz-Cao, R. Fernández-

Antonio [et al] // *Veterinary Microbiology*. – 2014. – Vol. 173. – P. 355-359. – DOI 10.1016/j.vetmic.2014.07.024.

200. Prieto, A. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus causing outbreaks in mink farms from Southwestern Europe: a retrospective study from 2012 to 2019. / A. Prieto, R. Fernández-Antonio, G. López-Lorenzo [et al.] // *J Vet Sci.*, 2020, – Vol. 21. – No 4. – P. e65. – DOI 10.4142/jvs.2020.21.e65.

201. Reichert, M. Effect of Persistent Infection of Mink with Aleutian Mink Disease Virus on Reproductive Failure / M. Reichert, K. Kostro // *Journal of Veterinary Research*. – 2014. – Vol. 58. – No 3. – P. 369-373. – DOI 10.2478/bvip-2014-0057.

202. Reichert, M. NS1 gene based molecular characteristics of Aleutian mink disease virus circulating in Poland / M. Reichert, K. Kostro // *Bull Vet Inst Pulawy*. – 2014. – No 58. – P. 187-191. – DOI 10.2478/bvip-2014-0028.

203. Rostrosa, P. Increasing the natural resistance and survival of minks in case of unfavorable course of Aleutian disease / P. Rostrosa, A. Sanin, A. Narovlyanskiy [et al.] // *Российский ветеринарный журнал*. – 2019. – No 6. – P. 14-19. – DOI 10.32416/2500-4379-2019-2019-6-14-19.

204. Ryt-Hansen, P. Outbreak tracking of Aleutian mink disease virus (AMDV) using partial NS1 gene sequencing / P. Ryt-Hansen, C. Hjulsgaard, E. Hagberg, [et al.] // *Virol J*. – 2017. – No 14. – P. 119. – DOI 10.1186/s12985-017-0786-5.

205. Ryu, M. J. Activation of NF- κ B by alloferon through down-regulation of antioxidant proteins and I κ B α / M. J. Ryu, V. Anikin, S. H. Hong [et al.] // *Mol Cell Biochem*. – 2008. – No 313. – P. 91–102. – DOI 10.1007/s11010-008-9746-0.

206. Skorupski, J. Fifty Years of Research on European Mink *Mustela lutreola* L., 1761 Genetics: Where Are We Now in Studies on One of the Most Endangered Mammals? / Skorupski J. // *Genes (Basel)*. – 2020. – Vol.11. – No-11. – P. 1332. – DOI 10.3390/genes11111332.

207. Slocinska, M. Insects antiviral and anticancer peptides: new leads for the

future? / M. Slocinska, P. Marciniak, G. Rosinski // Protein and peptide letters. – 2008. – Vol. 15. – No 6. – P. 578–585. – DOI 10.2174/092986608784966912.

208. Stevenson, M. Aleutian mink disease parvovirus: implications for companion ferrets / M. Stevenson, L. Gates, M. E. Bloom, J. Murray // Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian -North American Edition. – 2005. – Vol. 23. – No 2. – P. 178-185.

209. Tizard, I. R. Veterinary Immunology / I. R. Tizard. – Elsevier, 2013. – P. – 467-476. – ISBN: 9780323523493.

210. Tong, M. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus from fecal swab of mink in northeast China / M. Tong, N. Sun, Z. Cao [et al.] // BMC microbiology, 2020. – Vol. 20. – No 1. – P. 1-7.

211. Valdovska, A. Histopathologic and immunohistochemical lesions in liver of mink infected with Aleutian disease virus / A. Valdovska, M. Pilmane // Polish journal of veterinary sciences. – 2011. – Vol. 14. – No 1. – P. 69–76. – DOI 10.2478/v10181-011-0010-2.

212. Virtanen, J. Development and validation of nucleic acid tests to diagnose Aleutian mink disease virus / J. Virtanen, K. Aaltonen, O. Vapalahti [et al.] // Journal of Virological Methods. – 2019. – No 279. – P. 113776. – DOI 10.1016/j.jviromet.2019.113776.

213. Walker, P. J. Changes to virus taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2019) / P. J. Walker, S. G. Siddell, E. J. Lefkowitz [et al.] // Archives of virology. – 2019. Vol. 164. – No 9. – P. 2417–2429. – DOI 10.1007/s00705-019-04306-w.

214. Zalewski, A. Aleutian mink disease: Spatio-temporal variation of prevalence and influence on the feral American mink / A. Zalewski, J. Virtanen, M. Brzeziński [et al.] // Transboundary and Emerging Diseases. – 2020. – Vol. 68. – No 4. – P. 2556-2570. – DOI 10.1111/tbed.13928.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 742 160**⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК
A61K 35/64 (2015.01)
A61K 38/04 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 35/64 (2020.08); A61K 38/04 (2020.08); A61P 31/12 (2020.08); A61P 37/02 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2020119743, 13.09.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 13.09.2020

Дата регистрации:
 02.02.2021

Приоритет(ы):
 (22) Дата подачи заявки: 13.09.2020

(45) Опубликовано: 02.02.2021 Бюл. № 4

Адрес для переписки:
 127566, Москва, Высоковольтный пр-д, 1, корп.
 3, кв. 192, Мохов Евгений Валерьевич

(72) Автор(ы):

Сухинин Александр Александрович (RU),
 Гумбридзе Максим Максимович (RU),
 Никонов Борис Алексеевич (RU),
 Гусев Владимир Иванович (UA),
 Евсегнеева Ирина Владимировна (RU),
 Беккер Герман Петрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью
 «Аллоферон» (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: RU 2018122761 A, 25.12.2019. RU
 2172322 C1, 20.08.2001. RU 2036654 C1,
 09.06.1995. CN 105920531 A, 07.09.2016.
 ПОНОМАРЕНКО Д.Г. "Влияние
 иммуномодуляторов на
 морфофункциональные показатели органов
 иммунной системы норок при алеутской
 болезни". Автореферат дисс. к.б.н., 2007,
 найдено 14.12.2020 из (см. прод.)

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ АЛЕУТСКОЙ БОЛЕЗНИ НОРОК

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к ветеринарии и иммунологии и касается лечения алеутской болезни норок. Для этого животным подкожно вводят олигопептид аллоферон в дозе 0,5 мг на одну инъекцию двукратно с интервалом

6 дней. Способ обеспечивает эффективное лечение заболевания и снижение падежа норок за счет противовирусных и иммуномодулирующих свойств аллоферона. 2 з.п. ф-лы, 8 ил., 2 табл.

(56) (продолжение):

Интернет:<http://medical-diss.com/veterinariya/vliyanie-immunomodulyatorov-na-morfofunktsionalnye-pokazateli-organov-immunnoy-sistemy-norok-pri-aleutskoy-bolezni>. SOREN ALEXANDERSEN et al. "Pathogenesis of Aleutian Mink Disease Parvovirus Infection: Effects of Suppression of Antibody Response on Viral mRNA Levels and on Development of Acute Disease" *Jornal of Virology*, Feb. 1994, p. 738-749.

RU 2 742 160 C 1

RU 2 742 160 C 1

СПРАВКА

об использовании результатов диссертационной работы
аспиранта Гумберидзе М.М. при разработке профилактических мероприятий

Результаты научных исследований аспиранта кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» Гумберидзе Максима Максимовича на тему «Эффективность препарата «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни норок», были использованы при разработке профилактических мероприятий в звероводческом хозяйстве Ленинградской области.

Результаты экспериментов показали, что 2-х кратное введение аллокина-альфа по 0.5 мл подкожно через 6 дней в возрасте 30 дней безопасно для здоровья животных. Норки подопытной были очень подвижные в течение всего эксперимента по сравнению с норками контрольной группы. Они живо реагировали на внешние раздражители (появление людей у клетки, окрик, стук, раздача корма). Тонус мышц у зверей был нормальным, судороги отсутствовали. Корм норки поедали полностью.

Сохранность в подопытной группе составила 100 %.

Средний вес в группе самок получавших препарат был на 15.1% выше по сравнению с контрольной группой. У самцов средний вес в подопытной группе составил 2 570 г, по сравнению с 2 250 г в контрольной группе, что на 12.5% выше. На основе клинических наблюдений можно отметить, что введение норкам препарата Аллокин-альфа оказывало положительное влияние на их организм.

Биохимическое исследование крови выявило резко повышенный уровень мочевины, признак нарастающей почечной недостаточности у животных контрольной группы, и отсутствующий у подопытных норок. Кроме того, повышенная активность трансаминаз в группе контроля ясно указывает на деструктивно-воспалительные процессы в печени. У экспериментальных животных эти признаки отсутствуют.

Применение препарата позитивно влияет на физиологическое состояние зверей, оказывает благоприятное влияние на морфологические и биохимические показатели крови.

Начальник ГБУ ЛО
«Ленинградский областной эпизоотический
(противоэпизоотический) отряд»



Е.Э. Шутов

АЛЛОФЕРОН общество с ограниченной ответственностью

Юридический адрес: Москва, 115162, ул. Шухова, д.14
тел. 8 (495) 510-07-36, факс 8 (499) 764-74-69 e-mail: alloferon@mail.ru,

По месту требования

**Справка
о внедрении результатов исследований**

Общество с ограниченной ответственностью «Аллоферон» подтверждает, что результаты научно-исследовательской работы соискателя кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ Гумберидзе Максима Максимовича по теме: «Эффективность препарата «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни норок» используются при разработке инструкции на данный лекарственный препарат для ветеринарного применения.

Генеральный директор
ООО «Аллоферон»



Г.П. Беккер

Общество с ограниченной ответственностью**«Бирюза»**

Адрес: 390047, Россия, Рязанская обл., Рязань г., Восточный промузел р-н, дом № 18, ком. 22
тел.: (967) 021-30-26

Банковские реквизиты: Отделение №8606 сбербанка России г. Рязань. Р/с 40702810153000002097.
БИК 046126614. ОГРН 1056202047065. ИНН 6229052948. КПП 623001001. ОКПО 44896322
Эл. адрес: ooo.biryuza@mail.ru

По месту требования

**Справка
о внедрении результатов исследований**

Общество с ограниченной ответственностью «Бирюза» подтверждает, что результаты научно-исследовательской работы соискателя кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ Гумберидзе Максима Максимовича по теме: «Эффективность препарата «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни норок» используются при разработке инструкции на данный лекарственный препарат для ветеринарного применения.

Директор



Яхьяева С.Д.

ООО «КАДУЦЕЙ»

Юр./факт. адрес: 119017, г. Москва, Пер. Малый Толмачёвский, д.8/11, стр. 1, этаж антресоль, помещ./ком. 1/5
ИНН 6234184266; КПП 770601001; Рязанское отделение N8606 ПАО Сбербанк, БИК 046126614; р/с 40702810353000009081;
к/с 30101810500000000614; тел: (926) 017-70-81, e-mail: ooo.kaducei@yandex.ru

По месту требования


**Справка
о внедрении результатов исследований**

Общество с ограниченной ответственностью «Кадуцей» подтверждает, что результаты научно-исследовательской работы соискателя кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ Гумберидзе Максима Максимовича по теме: «Эффективность препарата «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни норки» используются при разработке инструкции на данный лекарственный препарат для ветеринарного применения.

С уважением,
Генеральный директор



Макашов А.В.

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО СПбГУВМ
доктор ветеринарных наук, профессор,
член-корреспондент РАН

К.В. Племяшев
«22» февраля 2023 г.

СПРАВКА

о внедрении в учебный процесс результатов
диссертационной работы Гумберидзе М.М.

Результаты научных исследований аспиранта кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ Гумберидзе Максима Максимовича на тему: «Эффективность препарата «Аллокин-альфа» при Алеутской болезни норок» актуальны и используются в учебном процессе для проведения лекционных и лабораторно-практических занятий со студентами факультета ветеринарной медицины очной, заочной и вечерних формах обучения в курсе ветеринарной иммунологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»