

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ ИМЕНИ Я. Р. КОВАЛЕНКО»
(ФГБНУ ВИЭВ)

На правах рукописи

Пчельников Александр Владимирович

**Этиология, возрастная и сезонная динамика вирусных
респираторных болезней телят в племенных
хозяйствах**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
заведующий лабораторией
вирусологии ВИЭВ, заслуженный
деятель науки РФ, доктор
ветеринарных наук, профессор
Юров Константин Павлович

Москва 2017

Оглавление

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ.....	4
1. ВВЕДЕНИЕ.....	5
2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
2.1. Герпесвирусы.....	15
2.1.1. Общая характеристика	15
2.1.2. Инфекционный ринотрахеит/инфекционный пустулез ный вульвовагинит крупного рогатого скота	18
2.1.3. Эпизоотическая ситуация по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота в мире с 2012 по 2014 года.	28
2.1.4. Герпесвирус крупного рогатого скота 5 серотипа.....	33
2.1.5. Другие заболевания КРС, вызываемые герпесвирусами	35
2.1.6. Малоизученные герпесвирусы крупного рогатого скота.....	37
2.2. Флавивирусы	39
2.2.1. Общая характеристика	39
2.2.2. Вирусная диарея крупного рогатого скота.....	41
2.3. Парамиксовирусы (Paramyxoviridae)	48
2.3.1. Общая характеристика	48
2.3.2. Парагрипп 3 крупного рогатого скота	49
2.4. Коронавирусы (Coronaviridae)	51
2.4.1. Общая характеристика	51
2.4.2. Коронавирусная инфекция крупного рогатого скота.....	52
3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	54
3.1. Материалы	54
3.1.1. Культуры клеток	54
3.1.2. Референтные и лабораторные штаммы вирусов.....	54
3.1.3. Отбор проб.....	54
3.2. Методы исследования.....	54
3.2.1. Эпизоотологический анализ	54
3.2.2. Выделение и изучение возбудителей.....	55
3.2.3. Реакция нейтрализации	56
3.2.4. Иммуноферментный анализ.....	56
3.2.5. Реакция торможения гемагглютинации для обнаружения антител к вирусу ПГ-3 крупного рогатого скота.....	58
3.2.6. Определение титра антител к коронавирусу КРС	59
3.2.7. Полимеразная цепная реакция.....	59
3.3. Результаты собственных исследований.....	65
3.3.1. Мониторинг герпесвирусной инфекции 1 крупного рогатого в России и зарубежных странах.....	65

3.3.2. Результаты диагностических исследований на основе молекулярно-генетических методов (полимеразная цепная реакция).....	69
3.3.3. Сравнительное изучение полевых и лабораторных изолятов герпесвирусов крупного рогатого скота методом филогенетического анализа.	74
3.3.4. Клинико-эпизоотологические исследования в хозяйствах Московской области	78
3.3.5. Сезонная динамика вспышек респираторных заболеваний молодняка крупного рогатого скота в нескольких типичных хозяйствах Московской области	80
3.3.6. Иммунная реакция телят на вирус парагриппа-3.	81
3.3.7. Изучение этиологии массовых вспышек респираторных инфекции телят в хозяйствах Московской области по результатам молекулярно-генетических исследований	83
3.3.8. Обнаружение лимфотропного гамма-герпесвируса крупного рогатого скота.....	84
4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	86
5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	94
6. ВЫВОДЫ	95
7. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	97
8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	98

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

АТ – антитела;

ВД-БС – вирусная диарея – болезнь слизистых;

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;

ЗКЛ – злокачественная катаральная лихорадка;

ИРТ – инфекционный ринотрахеит;

ИРТ/ИПВ – инфекционный ринотрахеит – инфекционный
пустулезный вульвовагинит;

ИФА – иммуноферментный анализ;

кД – килодальтон;

КРС – крупный рогатый скот;

ЛГГК – лимфотропный гамма-герпесвирус крупного рогатого скота;

МФА – микрофлуоресцентный анализ;

ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией;

ПГ-3 – парагрипп крупного рогатого скота 3 типа;

ПЦР – полимеразная цепная реакция;

РН – реакция нейтрализации;

РНК – рибонуклеиновая кислота;

РСИ – Респираторно-синцитиальная инфекция;

ЦНС – центральная нервная система;

ЦПД – цитопатическое действие;

BoHV-1 – герпесвирус крупного рогатого скота 1 типа;

BoHV-5 – герпесвирус крупного рогатого скота 5 типа;

BVDV – вирус вирусной диареи – болезни слизистых;

Ig A – иммуноглобулины класса A;

in utero – (лат. – «в утробе») внутри матки;

OIE – Международное эпизоотическое бюро.

1. ВВЕДЕНИЕ

1.1. Актуальность темы

Несмотря на усилия, которые были затрачены в разных странах мира на профилактику и борьбу с вирусными респираторными болезнями молодняка крупного рогатого скота, огромный объем знаний, накопленных по этому вопросу, разработанные методики диагностики и профилактики респираторных заболеваний, эта проблема и в настоящее время остается одной из наиболее актуальных для животноводства во многих странах мира.

Особая актуальность проблемы заключается в большом экономическом ущербе, который складывается из:

- недополучения приплода вследствие аборт и мертворождений (5-30%);
- рождения нежизнеспособных телят (около 10%);
- снижения удоя во время болезни (до 50-60%);
- гибели молодняка от серозной пневмонии (20%);
- недополучения привесов живой массы у молодняка (50-70%);
- увеличения на 30% коров с многократными неоплодотворенными осеменениями;
- снижения на 5-10% выхода телят на 100 коров;
- затрат на профилактику и лечение больных животных [44, 137].

Еще в 1973 Oxender, W.D. и др. установили, что пневмония различной этиологии является самой распространенной патологией молодняка крупного рогатого скота в США [146].

В 1976 году другой американский исследователь Jensen, R. установил, что 7% всех заболеваний молодняка крупного рогатого скота в возрасте до 1 года составляют респираторные заболевания [114].

Willadsen, C.M. и др. в 1977 г. констатировали, что наиболее подвержены респираторным заболеваниям вирусной этиологии телята от рождения до 6 месячного возраста. В этот период около 26% всего

поголовья телят подвержено респираторным заболеваниям, при этом летальность заболевания составляет 40%, а смертность – около 9%. По данным тех же исследований смертность от других заболеваний телят в этот же период составила 11%, а общая смертность телят в течение первых шести месяцев жизни – 20% [176].

Угроза острых вирусных болезней КРС для российского животноводства возникла в 60-е гг. прошлого века в связи с интенсивным завозом племенного скота из-за рубежа [64, 74]. Импортированные животные часто были источником вирусов – возбудителей ИРТ/ИПВ, ВД-БС, ПГ-3 КРС и других инфекций [52]. Распространение этих возбудителей в неиммунном поголовье местного скота послужило причиной массовых вспышек респираторных инфекций с острым течением и высокой смертностью [45].

Н.Н. Крюков и другие в 1968 г. установили участие герпесвирусов КРС в заболевании органов дыхания откормочного скота [31]. И.П. Зотов с соавт. в 1969 г. впервые в СССР описал вирус ИРТ в период массовой вспышки респираторного заболевания телят [23]. З.Ф. Зудилина с соавт. в 1970 г. сообщила о выделении вируса ПГ-3 крупного рогатого скота от больных бронхопневмонией телят [24].

Несмотря на постоянное обновление и расширение сведений о респираторных болезнях телят вирусной этиологии, эти инфекции по-прежнему составляют серьезную проблему для скотоводства всего мира.

Вследствие расширения торговых связей, изменения климата и других причин происходит распространение новых опасных инфекционных болезней животных и человека. Так в США на рубеже двух веков возникло ранее не наблюдавшееся на американском континенте заболевание – лихорадка Западного Нила. Серьезную проблему представляет зарегистрированная в Западной Европе в 2011 г. болезнь Шмаленберга и др. Наряду с этим появляются новые варианты возбудителей известных заболеваний: альфа- и гамма-герпесвирусов

инфекций, вирусной диареи – болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота, гриппа лошадей (H3N8) и др. Включение в активную циркуляцию штаммов возбудителей, отличающихся по структуре генома, иммуногенности, вирулентности, отрицательно влияет на результативность профилактических мероприятий.

Герпес-, корона- и пестивирусным инфекциям свойственно значительное разнообразие характера течения и клинического проявления [14].

Исследования советских ученых по разработке средств специфической профилактики вирусных респираторных болезней крупного рогатого скота были успешными, однако в последующие годы прогресс в их исследованиях снизился. Причиной этому послужило усложнение эпизоотической обстановки по этим заболеваниям [35].

Живые рекомбинантные вакцины с делецией гена, кодирующего гликопротеин Е герпесвируса крупного рогатого скота типа 1, которые успешно применяют для профилактики инфекционного ринотрахеита, возбудителем которого является герпесвирус крупного рогатого скота 1 типа, не эффективны против герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота типа 5. Хотя эти же вакцины используются поставщиками племенного скота для обязательной вакцинации при его импорте [73].

Таким образом, выявление эпизоотически актуальных вирусов – возбудителей респираторных заболеваний крупного рогатого скота, изучение особенностей течения и проявления болезни, вирулентных свойств возбудителей является основой для совершенствования средств и методов борьбы с этими заболеваниями.

1.2. Цели и задачи

Целью настоящей работы было изучение этиологии, особенностей возрастной и сезонной динамики респираторных заболеваний молодняка

крупного рогатого скота в племенных хозяйствах отдельных субъектов Российской Федерации.

Для достижения указанной цели были определены следующие задачи:

1. Провести анализ распространенности герпесвируса крупного рогатого скота 1 типа на территории Российской Федерации и в мире.

2. Провести вирусологические, серологические и молекулярно-генетические исследования в нескольких типичных животноводческих хозяйствах для выяснения этиологии массовых респираторных заболеваний телят.

3. Идентифицировать возбудителей вирусных респираторных заболеваний телят, обнаруженных в период энзоотических вспышек.

4. Изучить зависимость интенсивности эпизоотического процесса в неблагополучных по респираторным заболеваниям хозяйствах от возраста телят и сезона года.

5. Провести секвенирование генома и сравнительный филогенетический анализ выявленных возбудителей.

6. С учетом полученных результатов провести анализ рисков заноса вирусов – возбудителей респираторных болезней крупного рогатого скота при импорте племенных животных из зарубежных стран.

7. Разработать рекомендации по диагностике массовых респираторных инфекций телят на основе современных молекулярно-генетических методов.

1.3. Научная новизна

Проведен анализ рисков заноса вирусов – возбудителей респираторных болезней крупного рогатого скота при ввозе племенных животных из зарубежных стран (на примере герпесвируса крупного рогатого скота 1 типа). Степень риска оценена как значительная.

Показана зависимость интенсивности эпизоотического процесса в неблагополучных по респираторным заболеваниям хозяйствах от возраста телят и сезона года. Экспериментально доказано участие новых (для Российской Федерации) герпесвирусов в эпизоотическом процессе при массовых респираторных болезнях телят.

Установлено включение в циркуляцию на территории России герпесвируса крупного рогатого скота 5 типа, отличающегося по фрагменту гена гликопротеина В, что позволяет дифференцировать вирусы герпеса крупного рогатого скота 1 и 5 типов по их иммуногенности.

Установлено на молекулярном уровне различие полевых штаммов наиболее значимых герпесвирусов крупного рогатого скота, циркулирующих на территории России в период с 2012 по 2016 годы.

Идентифицирован лимфотропный гаммагерпесвирус крупного рогатого скота, показано его значение в этиологии респираторной патологии телят.

1.4. Теоретическая значимость работы

Определена роль некоторых новых (для Российской Федерации) герпесвирусов крупного рогатого скота в патогенезе массовых респираторных инфекций телят. Сравнительным филогенетическим анализом нескольких штаммов, герпесвируса крупного рогатого скота 1 типа, выделенных в разные годы, отмечена высокая консервативность участка генома, кодирующего гликопротеин В, в пределах генотипа.

Установлено включение в циркуляцию на территории России герпесвируса крупного рогатого скота 5 типа, отличающегося по фрагменту генома, кодирующего синтез гликопротеина В, что позволяет дифференцировать вирусы герпеса крупного рогатого скота 1 и 5 типов, создает теоретическую базу для интерпретации низкой эффективности вакцинопрофилактики герпесвирусной инфекции в ряде случаев.

В период острой вспышки респираторного заболевания телят идентифицирован лимфатропный гаммагерпесвирус крупного рогатого скота, получены экспериментальные данные, свидетельствующие о возможности участия указанного вируса в этиопатогенезе респираторных заболеваниях крупного рогатого скота.

1.5. Практическая значимость работы

Используя элементы ГИС-технологий, проведен анализ распространения герпесвируса крупного рогатого скота 1 типа на территории Российской Федерации и в мире.

Проведен анализ рисков заноса вирусов – возбудителей респираторных болезней крупного рогатого скота при ввозе племенных животных из зарубежных стран. Степень риска оценена как значительная.

Подготовлены «Рекомендации по дифференциальной диагностике возбудителей массовых респираторных заболеваний телят», которые могут быть использованы при разработке комплексных мероприятий по обеспечению готовности противодействия в случаях угрозы распространения злокачественной формы инфекции.

1.6. Апробация работы

Основные положения диссертационной работы были доложены на II Международной научно-практической конференции «Тенденции и инновации современной науки» (Краснодар, 2012 г.), V Международной научно-практической конференции «Тенденции и инновации современной науки» (Краснодар, 2013 г.), 8-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2014» (Москва, 2014 г.), межлабораторной методической комиссии ФГБНУ ВИЭВ ФАНО России в 2017 году.

1.7. Публикации научных исследований

По материалам диссертации опубликовано 5 научных работ, в том числе 2 работы в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией.

1.8. Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 118 страницах компьютерного текста и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, их обсуждение, заключение, выводы и практические предложения; иллюстрирована 25 рисунками и 4 таблицами. Список использованной литературы включает 182 источника, в том числе 108 источников иностранных авторов.

Исследования по диссертации были выполнены в период с 2012 по 2016 гг. в лаборатории вирусологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко» Федерального агентства научных организаций Российской Федерации (ФГБНУ ВИЭВ ФАНО России).

1.9. Основные положения, выносимые на защиту

1. Анализ рисков заноса вирусов – возбудителей респираторных болезней крупного рогатого скота при ввозе племенных животных из зарубежных стран. Степень риска оценена как значительная.

2. Результаты изучения этиологии нетипичных массовых респираторных болезней телят в хозяйствах Московской и Псковской областей.

3. Результаты исследований по выяснению этиологии массовых заболеваний телят и данные, полученные при филогенетическом анализе новых изолятов вирусов герпеса крупного рогатого скота 1 и 5 типов.

4. Данные исследования сезонной и возрастной динамики болезней крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах.

5. Результаты молекулярно-генетического исследования вспышки респираторного заболевания телят, типизации лимфотропного гаммагерпесвируса крупного рогатого скота и доказательства его роли в этиологии респираторной инфекции. Методами ПЦР, ОТ-ПЦР проведена дифференциальная диагностика от других вирусных инфекций – исключены в качестве возможных этиологических агентов герпесвирусы 1, 2, 3, 4 и 5 типов, а также возбудители вирусной диареи-болезни слизистых, парагриппа 3, респираторно-синцитиальной, адено- и короновиральной инфекций.

1.10. Личный вклад соискателя

Соискатель принимал непосредственное участие в разработке и выполнении научных экспериментов, получении исходных данных, обработке и интерпретации экспериментальных данных, статистической и отчетной информации, критическом анализе литературы, разработке практических рекомендаций, участие в подготовке публикаций по выполненной работе.

Отдельные этапы работы выполнены совместно с сотрудниками лаборатории вирусологии ФГБНУ ВИЭВ ФАНО России С.В. Алексеенковой и К.А. Диас Хименес и заведующим лаборатории эпизоотологии ФГБНУ ВИЭВ ФАНО России А.А. Шабейкиным.

2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Одной из актуальнейших и важнейших проблем в современном молочном животноводстве, которые встают перед ветеринарными специалистами на сегодняшний день, являются респираторные болезни крупного рогатого скота вирусной этиологии, такие как: инфекционный ринотрахеит, парагрипп-3, вирусная диарея, респираторно-синцитиальная инфекция, наносящие хозяйствам значительный экономический ущерб. По широте распространения, смертности, вынужденному убою, недополучению привесов заболевания органов дыхания у телят превалируют над всеми остальными болезнями [71].

Респираторные болезни телят представляют собой группу этиологически разнородных заболеваний, часто обусловленных широким спектром различных факторов: инфекционных, генетических и санитарно-гигиенических.

Патология органов дыхания молодняка КРС остается основной причиной экономических потерь животноводства, которые складываются из негативного действия на развитие телят, их гибели, и вследствие этого – недополучения продукции от больных и переболевших животных. В отдельных хозяйствах гибель телят в совокупности с вынужденным убоем достигает 40-55%, а окупаемость корма у больных и переболевших животных снижается в 2-3 раза [44].

Респираторные болезни молодняка крупного рогатого скота наносят огромный экономический ущерб промышленному скотоводству. Возбудители этих болезней способны вызывать поражение респираторного тракта и лимфоидной системы восприимчивых животных самостоятельно (в моноварианте), а также в различных ассоциациях между собой [137].

Возбудители этих болезней могут вызывать большое разнообразие клинических проявлений у крупного рогатого скота, зависящих от взаимоотношений в системе вирус-организм восприимчивого животного,

а также условий внешней среды: острые, подострые, субклинические, рецидивирующие инфекции респираторного тракта, глаз, иммунной системы, а также латентные формы [59].

К настоящему времени респираторные заболевания молодняка КРС широко распространены как в России, так и за рубежом [71].

По данным «Федерального центра охраны здоровья животных» в 2015 г. при исследовании проб сыворотки крови телят в неблагополучных хозяйствах в 543 пробах из 631 исследованных (86%) выявлены антитела к возбудителю инфекционного ринотрахеита, в 196 случаях из 333 (58,8%) обнаружены антитела к возбудителю вирусной диареи, в 480 из 519 (92,4%) – к вирусу парагриппа-3, в 180 из 228 (78,9%) – к вирусу респираторно-синцитиальной инфекции. В 141 из 316 (44,6%) выявлены антитела к ротавирусу КРС, в 226 из 306 (73,8%) – к коронавирусу КРС [51].

Массовые респираторные заболевания телят могут протекать как смешанные вирусные и вирусно-бактериальные инфекции, отличающиеся особенно злокачественным течением, которое трудно диагностировать, так как вторичная бактериальная инфекция «маскирует» первичное вирусное заболевание [8, 32, 45].

Латентная форма инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота приводят к формированию вторичных иммунодефицитов. Возбудители могут реактивироваться из латентного состояния и выделяться во внешнюю среду [67].

При этом в организме животного развиваются клинические признаки респираторных заболеваний, которые проявляются угнетением (теленки опускают уши, находятся поодаль от основной группы животных), снижением аппетита, в некоторых случаях повышается температура тела, теленок быстро теряет массу и продуктивность. Обычно на 3-5 день отмечают кашель, одышку, истечения из носа и глаз, может развиваться

диарея. Такие животные после выздоровления отстают в росте и развитии и, зачастую, остаются скрытыми носителями возбудителя инфекции [71].

2.1. Герпесвирусы

2.1.1. Общая характеристика

Герпесвирусная (от греч. herpes, herpetos – ползучий) – самая распространенная инфекция среди людей и животных. В семейство включены вирусы, поражающие центральную нервную систему, глаза, слизистые оболочки и кожные покровы.

Из патогенных для животных вирусов в состав семейства Herpesviridae входят вирусы болезни Ауески, ринотрахеита крупного рогатого скота, ринопневмонии лошадей, герпеса лошадей (LK N2), злокачественной катаральной горячки КРС, язвенного маммиллита, ринотрахеита кошек, герпеса собак, болезни Марека, инфекционного ларинготрахеита птиц, чумы уток, герпеса птиц и др. [117].

Уникальность герпесвирусов в том, что они могут оставаться в латентном состоянии в организме хозяина, вследствие того, что геном герпесвируса может встраиваться в геном клетки хозяина и длительное время персистировать. При разнообразных стрессах герпесвирусы могут реактивироваться с последующей экскрецией вируса во внешнюю среду [42, 46].

Еще в 2001 г. считалось, что в семействе Herpesviridae насчитывается около 80 представителей. [117].

По данным А.В. Мищенко с соавт. (2015 г.) описано более 100 герпесвирусов [42].

По данным Международного комитета по таксономии вирусов (2015 г.) все представители семейства Herpesviridae по биологическим свойствам разделены на 3 подсемейства: Alphaherpesvirinae, Bethaherpesvirinae, Gammaherpesvirinae. Отдельно выделен род Unassigned, в который определен герпесвирус игуан, не отнесенный ни к одному из

указанных трех подсемейств. Вирусы, выделенные от хозяина одного вида, обозначают названием хозяина, а типовую принадлежность – арабскими цифрами [170].

Подсемейство *Alphaherpesvirinae* включает группу вирусов простого герпеса и состоит из шести родов:

1. Род *Iltovirus*. В состав рода входят: герпесвирус кур 1 (прототипный вирус) и попугаев.

2 Род *Mardivirus*. В состав рода входят: герпесвирус кур 2 (прототипный вирус), 3, индеек, голубей и лебедей.

3. Род *Scutavirus*. В состав рода входит единственный герпесвирус зеленых черепах 5 типа.

4. Род *Simplexvirus*. В состав рода входят: герпесвирусы человека 1 (вирус пригерпеса 1 – прототипный вирус) и 2 (вирус простого герпеса 2), герпесвирус КРС 2 (вирус маммиллита КРС).

5. Род *Unassigned*. В состав рода входит единственный герпесвирус зеленых черепах 6 типа.

6. Род *Varicellovirus*. В состав рода входят: герпесвирусы человека 3 (вирусы ветряной оспы, опоясывающего лишая – прототипный вирус), свиней 1 (вирус псевдобешенства – болезни Ауески), КРС 1 (вирус инфекционного ринотрахеита), КРС 5, лошадей 1 (вирус аборта лошадей), 3 (вирус половой экзантемы) и 4 (вирус ринопневмонии), кошек 1, собак 1.

Подсемейство *Bethaherpesvirinae* включает группу цитомегаловирусов и состоит из пяти родов:

1. Род *Cytomegalovirus*. В состав рода входят: герпесвирус человека 5 (цитомегаловирус человека), герпесвирус мартышковых и др.

2. Род *Muromegalovirus*. В состав рода входят герпесвирусы мышей 1 (цитомегаловирус мышей), 2 (цитомегаловирус крыс) и 8.

3. Род *Proboscivirus*. В состав рода входит единственный герпесвирус слонов 1 типа.

4. Род *Roseolovirus*. В состав рода входят: герпесвирусы человека 7 (прототипный вирус), 6А и 6В.

5. Род *Unassigned*. В состав рода входят: герпесвирус свиней 2, морских свинок 1 (цитомегаловирус) и тупаеобразных.

Подсемейство *Gammaherpesvirinae* группа лимфопролиферативных вирусов. Спектр естественных хозяев узкий и не изменяется при экспериментальном заражении. Все вирусы подсемейства размножаются в лимфобластоидных клетках и некоторые из них вызывают литическую инфекцию. Подсемейство состоит из пяти родов:

1. Род *Lymphocryptovirus*. В состав рода входят: лимфотропный герпесвирус человека 4 (прототипный вирус), макак 4 и др.

2. Род *Macavirus*. В состав рода входят: герпесвирусы антилоп 1 (прототипный вирус), антилоп 2, коров 6, овец 2, свиней 3, 4 и 5 и др.

3. Род *Percavirus*. В состав рода входят: герпесвирусы лошадей 2 (прототипный вирус), 5 и герпесвирус куньих 1.

4. Род *Rhadinovirus*. В состав рода входят: герпесвирус бельчих обезьян (прототипный вирус), коров 4, хомяков 2, человека 8, макак 5 и др.

5. Род *Unassigned*. В состав рода входят: герпесвирус лошадей 7, тюленей 2 и сагуин 1.

Многие герпесвирусы животных изучены недостаточно и пока не классифицированы по подсемействам и родам [117].

В настоящее время известно 5 типов герпесвируса КРС:

- герпесвирус-1 – возбудитель ИРТ;
- герпесвирус-2 – возбудитель герпетического маммиллита, генерализованного поражения кожи, стоматита;
- герпесвирус коровьих антилоп типа 1 – возбудитель злокачественной катаральной лихорадки;
- герпесвирус-4 – обнаруживается у здоровых животных, а также у особей с субфебрильной температурой и гнойным дерматитом, при

послеродовом мастите и респираторной инфекции (группа Movar, референтные штаммы Movar 33/63 и DN599);

– герпесвирус-5 – выделен от особей, страдающих лимфосаркомой (синцитийобразующий вирус штамм Пенсильвания 47) [113, 121, 157].

2.1.2. Инфекционный ринотрахеит/инфекционный пустулезный вульвовагинит крупного рогатого скота

Инфекционный ринотрахеит/инфекционный пустулезный вульвовагинит крупного рогатого скота (ИРТ/ИПВ КРС) (пузырьковая сыпь, инфекционный некротический ринит, «красный нос») – острое контагиозное вирусное заболевание, характеризующееся поражением органов дыхания, лихорадкой, конъюнктивитами, а также поражением органов репродуктивной системы: пустулезным вульвовагинитом и абортами у коров, баланопоститами у быков [59].

ИРТ/ИПВ – одна из главных проблем молочного и мясного животноводства, поэтому методы диагностики и профилактики данного заболевания определены стандартами Всемирной организации здоровья животных [180].

Возбудитель болезни – герпес-вирус 1 КРС (BoHV-1 – bovine herpesvirus 1), впервые выделенный в культуре клеток Медин, Йорк и Мак-Керчер в 1956 г., Ли и Бейкер – в 1957 г. [59, 139].

BoHV-1 является ДНК-содержащим вирусом, относящимся к семейству Herpesviridae подсемейству Alphaherpesvirinae роду Varicellovirus. Вирус имеет липопротеиновую оболочку; вирионы икосаэдрической симметрии со сложной структурой, включающей капсид, сердцевину, суперкапсидную структуру и липидосодержащую оболочку. Вирус устойчив к замораживанию. При температуре -60–70°C вирус сохраняется в течение 7-9 мес., при 4°C активность его снижается через 30-

40 суток всего на 1 lg. Ацетон, эфир, хлороформ и этиловый спирт инактивируют вирус немедленно [59, 94, 142].

Рестрикционный анализ ДНК позволил разделить BoHV-1 на подтипы 1.1, 1.2a и 1.2b. Подтип 1.2 считается менее вирулентным, чем подтип 1.1. Развитие респираторной или генитальной формы заболевания зависит не столько от подтипа вируса, сколько от пути инфицирования животных. Кроме того, подтип 1.3, вызывающий нейропатологию у телят, в настоящее время классифицирован как герпесвирус КРС 5 (BoHV-5 – bovine herpesvirus 5) [13, 44, 48, 180].

По данным Deptula, существует 3 типа вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота: 1, 2 (подтипы 2a, 2b) и 3 (подтипы 3a и 3b) [59].

Установлено, что вирусы, выделенные при респираторном (ринотрахеит – тип 1.1) и генитальном (пустулезный вульвовагинит – тип 1.2) синдромах, в антигенном отношении идентичны, однако имеют различную электрофоретическую подвижность. Доказано антигенное отличие новозеландских штаммов от американских и австралийских штаммов [85].

В антигенном отношении вирус инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота отличается от вирусов простого герпеса, бычьих герпесвирусов типа Allerton, злокачественной катаральной лихорадки, болезни Ауески, но проявляет некоторое родство с вирусом ринопневмонии лошадей.

Также установлено существование антигенных вариантов герпесвируса 1 крупного рогатого скота, выявляемых в следующих реакциях:

- 1) перекрестной реакции нейтрализации с сыворотками кролика;
- 2) гель-электрофорезе меченных радиоизотопами вирусиндуцированных полипептидов и гликопротеинов;

3) взаимодействия с моноклональными антителами, что выявляется реакцией непрямой иммунофлуоресценции [59].

Между тем флюорографический анализ очищенных протеинов показал, что герпес вирус 1 (инфекционный ринотрахеит) содержит 29 протеинов с молекулярной массой от 11 до 224 кД, а вирус болезни Ауески – 25 протеинов с молекулярной массой от 21 до 250 кД. Между вирусами инфекционного ринотрахеита и болезни Ауески существует антигенное родство. Также имеется информация относительно родства вируса инфекционного ринотрахеита с вирусом простого герпеса (Herpes Simplex) [85].

Все изоляты вируса BoHV-1 иммунологически и генетически идентичны, невозможно различить полевые и генно-модифицированные штаммы без использования молекулярных методов [117].

BoHV-1 может мигрировать со слизистых оболочек в ЦНС через аксоны нервных клеток внутри нервных волокон. ЦНС поражается вследствие центростремительного распространения вируса через тройничный нерв и его ганглий, а менингомиелит возникает при проникновении вируса по нервным окончаниям, ганглиям и корешкам в спинной мозг. Вирус сохраняется в нейронах спинномозговых ганглиев в период латентной инфекции. Латенция вируса порождает ряд проблем, создающих большие трудности в борьбе с этой болезнью. После заражения вирулентным штаммом возбудителя все животные становятся латентными носителями вируса точно так же, как и все вакцинные (аттенуированные) штаммы вируса остаются в организме в латентном состоянии. Диссеминация аттенуированных штаммов в окружающую среду практически не контролируется. Вакцинация не предотвращает латенции вирулентного вируса в организме вакцинированных животных [22, 59, 126, 158].

Вирус ИРТ распространен повсеместно. При его попадании в популяцию заболеваемость скота может достигать 100%, а смертность –

20%. К BoHV-1 также чувствительны козы, овцы, буйволы, верблюды, ламы и свиньи. Вирус в большом количестве выделяется с носовыми, глазными и половыми секретами инфицированных животных. Наиболее чувствительны новорожденные телята до двухнедельного возраста, не получавшие колостральные АТ с молоком иммунных матерей [59, 72, 117].

Передача вируса происходит воздушно-капельным, алиментарным и половым путями, а также трансплацентарно.

Чаще болеют животные мясных пород по сравнению с молочным скотом, что связано с технологией выращивания, большей скученностью при содержании, частыми стрессами при транспортировке и перемещении животных. В племенных хозяйствах наиболее часто наблюдаются аборт и поражение репродуктивных органов [117].

Клинические признаки и тяжесть течения болезни зависят от штамма вируса, инфицирующей дозы, способа заражения, иммунологического статуса восприимчивого животного, факторов внешней среды, в частности стресса, сопутствующих инфекций. Нередко у коров отмечают латентное течение болезни без проявления клинических симптомов.

Инкубационный период при ИРТ/ИПВ составляет 2-6 суток.

Болезнь может протекать в различных формах, при которых наблюдаются поражение респираторных и репродуктивных органов, аборт, конъюнктивиты, у новорожденных телят может протекать в виде генерализованной инфекции [43, 59, 117, 126, 139].

При респираторной форме ИРТ/ИПВ у животных отмечаются лихорадка, анорексия, гиперсаливация, учащение дыхания, одышка. Обильные носовые истечения сначала серозные, затем слизистые приводят к образованию слизистых пробок и закупорке носовых ходов, в результате чего животные часто дышат ртом, наблюдаются гиперемия и покраснение морды и носовых ходов (симптом «красный нос»). При изучении слизистой оболочки носа отмечают белые очаги некроза, образованные в результате слияния отдельных пустул. Этот симптом патогномоничен

для респираторной формы ИРТ/ИПВ, но его следует дифференцировать от травмирования носа посторонними предметами. При респираторном синдроме также могут наблюдаться конъюнктивиты с поражением слезных желез и слизисто-гнойные истечения из глаз. Болезнь длится 5-10 суток. Летальность при отсутствии секундарной инфекции низкая, животные в основном страдают от затруднения дыхания. Однако в большинстве случаев происходит осложнение болезни другими патогенными вирусами и бактериями, что значительно усугубляет ее течение и нередко приводит к летальному исходу.

При развитии конъюнктивита наблюдаются сначала серозные, а затем слизисто-гнойные истечения из глаз, покраснение конъюнктивы, далее развиваются кератоконъюнктивиты, проявляющиеся помутнением и изъязвлением роговицы и зачастую приводящие к потере зрения у животного. При постановке диагноза ИРТ/ИПВ следует дифференцировать от острого конъюнктивита. При конъюнктивите, вызванном BoHV-1, на конъюнктиве и слизистой оболочке век характерны язвочки и эрозии, а также белые очаги некроза. У инфицированных животных может быть помутнение роговицы, идущее от границы роговицы и склеры в центр глаза, в отличие от животных, инфицированных *Moraxella bovis*, когда помутнение идет из центра к краям роговицы.

После первичной репликации в слизистой оболочке верхних дыхательных путей и глаз вирус переходит в латентное состояние в сенсорных нейронах. Вирус может находиться в таком состоянии в течение всей жизни инфицированного животного, периодически реактивироваться под воздействием стресса или на фоне лечения глюкокортикостероидами и выделяться во внешнюю среду [177].

Осеменение коров инфицированной спермой приводит к эндометритам, укорочению астрального периода, снижению уровня оплодотворяемости, абортam и бесплодию [165].

Количество аборт, вызванных вирусом ИРТ крупного рогатого скота, при которых удалось доказать его этиологическую роль, обычно не превышает 5-11%, при этом у первотелок аборты регистрируются чаще, чем у взрослых коров [44].

При поражении репродуктивных органов у коров развивается инфекционный пустулезный вульвовагинит, характеризующийся отеком половых органов, образованием пустул и белых некротических очагов на слизистой оболочке вульвы и влагалища, скоплением слизисто-гнойных выделений без запаха на дне влагалища. У животных отмечают частые позывы к мочеиспусканию. Вирус передается при естественном осеменении, при обнюхивании и облизывании инфицированного животного. Если животные находятся в контакте друг с другом, в одном стаде могут быть животные с респираторной и генитальной формой болезни.

ИРТ/ИПВ следует дифференцировать от некротического вульвовагинита неинфекционного происхождения (травмы, химические ожоги). У быков при естественном осеменении коров с ИРТ/ИПВ может развиваться инфекционный пустулезный баланопостит. Клиническая картина сходна с ИРТ/ИПВ [66].

BoHV-1 выявляют в семени быков как с явными клиническими признаками баланопостита, так и латентно инфицированных. Вирус с инфицированной спермой передается при искусственном осеменении, поскольку хорошо сохраняется в замороженной сперме [66].

У телят, инфицированных в поздние сроки стельности *in utero* или в первые дни жизни, часто наблюдается генерализованная инфекция, в большинстве случаев заканчивающаяся летальным исходом. У больных телят характерны одышка, белые некротические очаги на слизистой рта, языка, пищевода, всех отделов желудка, диарея, а также диффузный перитонит [44].

Инфицирование стельных восприимчивых коров BoHV-1 вызывает аборт плода в любой период стельности, но чаще в последней трети. Среди абортировавших коров выделяют как клиническую форму ИРТ/ИПВ, так и латентную. Промежуток между заражением и абортом может длиться от 8 суток до нескольких месяцев, т.е. аборты, вызванные BoHV-1, происходят через несколько месяцев после вспышки инфекции в стаде. Телята, инфицированные в поздние сроки стельности, рождаются мертвыми или погибают в течение первых дней жизни с признаками септицемии [67].

Персистентная инфекция при ИРТ/ИПВ развивается в результате острой инфекции у телят или взрослых животных, вследствие чего все инфицированные животные становятся персистентно инфицированными. При этом BoHV-1 переходит в латентное состояние в сенсорных ганглиях. Вирус не размножается в период латенции, однако в результате стресса или лечения глюкокортикостероидами не исключена реактивация вируса. После длительного периода латенции уровень АТ может значительно снизиться и животные будут серонегативными. Таким образом, отсутствие специфических АТ при ИРТ/ИПВ не всегда свидетельствует об отсутствии вирусоносительства, и животные, персистентно инфицированные BoHV-1, периодически выделяют вирус во внешнюю среду [44, 69, 177].

Летальный исход при ИРТ/ИПВ наблюдается только при очень тяжелом течении, что отмечается очень редко или при осложнении секундарной инфекцией. Первично ИРТ/ИПВ протекает бессимптомно, иногда на слизистых оболочках встречаются белые некротические очаги, содержащие лейкоциты, фибрин и некротизированные клетки эпителия. При гистологическом исследовании пораженных тканей обнаруживают внутриклеточные тельца-включения [73].

При респираторной форме ИРТ/ИПВ такие изменения могут иметь место на слизистой оболочке носовой полости и носовых пазух, глотки, гортани и трахеи. Также наблюдаются петехиальные и экхимотические

кровоизлияния, гнойно-слизистые выделения. Глоточные и легочные лимфоузлы могут быть увеличены [73].

Генитальная форма ИРТ/ИПВ нелетальна. У плодов и новорожденных телят при генерализованной форме отмечают наличие эрозий и язв на слизистой носа, пищевода и желудка, кроме того, некротические очаги нередки в печени, почках, селезенке и лимфоузлах. У абортированных плодов отмечают множественные некротические поражения во всех органах и тканях, особенно обширные в печени [73].

При гибели плода *in utero* может наблюдаться аутолиз, ткани становятся рыхлыми, коричневатого цвета, в полостях тела присутствует жидкость, отсутствуют какие-либо характерные изменения. Однако при микроскопическом исследовании можно увидеть очаги некроза в печени, почках, надпочечниках и желудке [73].

Иммунитет при ИРТ/ИПВ включает в себя комплекс взаимодействий гуморальных и клеточных механизмов. Немаловажную роль на ранних стадиях инфицирования играет местный клеточный иммунитет.

Наличие вируснейтрализующих АТ в сыворотке крови не считается показателем резистентности животного или болезни. Оно говорит о более раннем инфицировании или вакцинации животного, а у телят до 6-месячного возраста – о наличии колостральных АТ.

Серопозитивные животные только частично защищены от болезни. При этом степень защиты зависит от уровня гуморального и клеточного иммунитета. Для поддержания достаточного уровня АТ в крови необходима ревакцинация. Иммунные животные могут суперинфицироваться ВоНВ-1, но у них редко возникают клинические проявления и аборты.

Колостральный иммунитет, полученный при выпойке молозива в 1-е сутки жизни новорожденных телят, длится 1-6 месяцев в зависимости от уровня АТ в молозиве, количества полученного молозива и от активности всасывания АТ в кишечнике теленка. В тоже время, работами,

проведенными сотрудниками ВИЭВ в 1970-е года под руководством Я.Р. Коваленко, было установлено, что колостральные антитела отрицательно влияют на формирование активного иммунитета животных [26, 27].

Предварительный диагноз на ИРТ/ИПВ ставится на основании клинических, патологоанатомических и эпизоотологических данных. Для постановки окончательного диагноза необходимо подтверждение лабораторными методами, регламентированными стандартами OIE [180].

Выделение вируса от одного больного животного не позволяет поставить окончательный диагноз на ИРТ/ИПВ, необходимо исследование группы животных с одновременным подтверждением серологическими методами. Наиболее широко для этого используют методы РН и ИФА. При положительном результате должна наблюдаться сероконверсия, т.е. четырехкратный и более прирост титра вирусоспецифических АТ при изучении парных проб сывороток крови, полученных с интервалом 3-4 недели.

Для ликвидации ИРТ/ИПВ в ряде стран разработаны Национальные программы по искоренению болезни, однако в большинстве стран меры борьбы основаны на вакцинации, проведении санитарно-гигиенических мероприятий и удалении из стада инфицированных животных. Вакцинация предотвращает появление клинических признаков, снижает уровень аборт, сокращает выделение вируса во внешнюю среду, но не предохраняет от инфицирования [59, 158].

В мире широко применяют живые и инактивированные моно- и ассоциированные вакцины против ИРТ/ИПВ. Также разработаны маркированные вакцины, которые в сочетании с соответствующими диагностическими подходами позволяет дифференцировать инфицированных животных от вакцинированных (стратегия DIVA – differentiation of infected from vaccinated animals). Благодаря стратегии DIVA ИРТ/ИПВ считается полностью ликвидированным в Австрии,

Дании, Финляндии, Швеции, Швейцарии, и Норвегии. В настоящее время такие программы успешно реализуются в Германии и Италии [44].

Советскими учеными еще в 1980-е года предлагалось использовать иммунные сыворотки для профилактики ИРТ/ИПВ [36].

На современном отечественном рынке представлено большое разнообразие живых вакцин против ИРТ/ИПВ для интраназального и внутримышечного введения. Преимущество интраназальной вакцинации состоит в том, что при этом усиливается синтез Ig A и локальное образование интерферона. Однако использование живых вакцин ведет к персистенции и экскреции аттенуированного штамма вируса, они небезопасны и могут вызывать побочные эффекты: внутриутробную инфекцию, иммуносупрессию, респираторную патологию. Многие исследователи наблюдали аборт стельных коров через 21-105 дней после применения живых вакцин [44, 59, 62, 158].

Применение инаktivированных вакцин против ИРТ/ИПВ показывает их безопасность и эффективность в отношении защиты плодов от внутриутробной инфекции, а следовательно, от абортов и появления латентных вирусоносителей [148].

В России для профилактики инфекционного ринотрахеита применяют живую вакцину «ТК-А» (ВИЭВ), сухую ассоциированную вакцину «ТРИВАК» (ВИЭВ) для профилактики инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3 и вирусной диареи крупного рогатого скота, вакцину, ассоциированную против инфекционного ринотрахеита, и парагриппа-3 крупного рогатого скота (ВНИИЗЖ), инаktivированную комбинированную вакцину «КОМБОВАК» против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной болезнью телят (ЗАО НПО «Нарвак»), ее модификации и другие вакцины [4, 28, 34, 38, 60].

В последнее время на российском рынке появилась живая маркерная вакцина против ИРТ производства компании «Интервет» (Нидерланды).

Вакцина «Бовилюс JBR marker» изготовлена из аттенуированного генетически маркированного штамма «GK/Д» вируса ИРТ, культивируемого в культуре клеток почек телят. Указанная вакцина не вызывает выработку антител к гликопротеину Е, содержащегося в эпизоотических штаммах вируса ИРТ. Это позволяет дифференцировать вакцинированных животных от инфицированных. Рекомендуется применять эту вакцину для иммунизации стельных и лактирующих коров, а также быков-производителей. Считается, что указанной вакциной можно иммунизировать животных на любой стадии стельности и, что данный препарат позволяет надежно защищать телят с 14-ти дневного возраста, независимо от уровня колостральных антител [44].

Существенным недостатком живых вакцин против ИРТ является то, что используемая в процессе культивирования вируса сыворотка КРС может содержать контаминанты (вирусы, микоплазмы и другие патогены) [62].

Так, в 7 сериях маркированной вакцины против ИРТ фирмы «Вауег», реализованных в Нидерландах, был обнаружен вирус диареи крупного рогатого скота [10, 30].

2.1.3. Эпизоотическая ситуация по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота в мире с 2012 по 2014 года.

Динамика изменения эпизоотической ситуации по ИРТ в мире с 2012 г. по 2014 г. включительно была прослежена с использованием материалов информационной базы данных OIE – WAHID [171].

На рисунках 1–6 отражено изменение эпизоотической ситуации по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота в мире по полугодиям с 2012 по 2014 годы.

Рисунок 1

Эпизоотическая ситуация в мире по
инфекционному ринотрахеиту крупного
рогатого скота в I полугодии 2012 г. (по
данным WAHID)

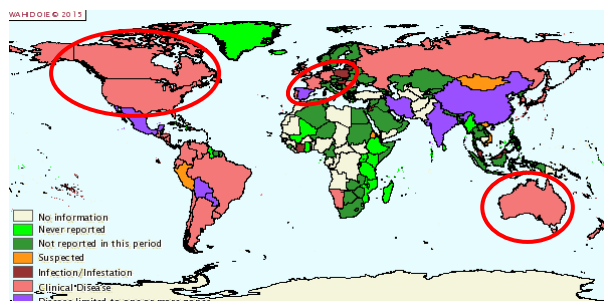


Рисунок 2

Эпизоотическая ситуация в мире по
инфекционному ринотрахеиту крупного
рогатого скота во II полугодии 2012 г. (по
данным WAHID)

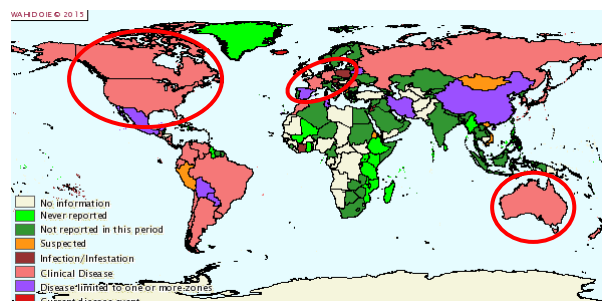


Рисунок 3

Эпизоотическая ситуация в мире по
инфекционному ринотрахеиту крупного
рогатого скота в I полугодии 2013 г. (по
данным WAHID)

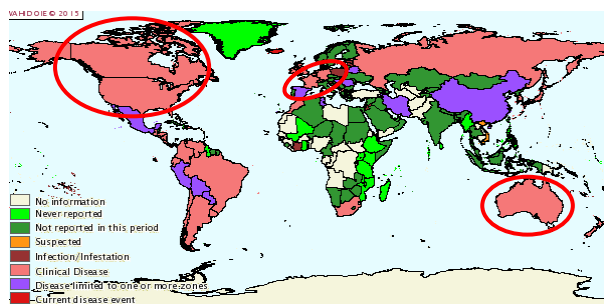


Рисунок 4

Эпизоотическая ситуация в мире по
инфекционному ринотрахеиту крупного
рогатого скота во II полугодии 2013 г. (по
данным WAHID)

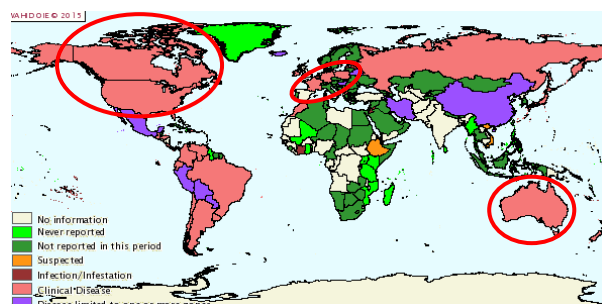


Рисунок 5

Эпизоотическая ситуация в мире по
инфекционному ринотрахеиту крупного
рогатого скота в I полугодии 2014 г. (по
данным WAHID)

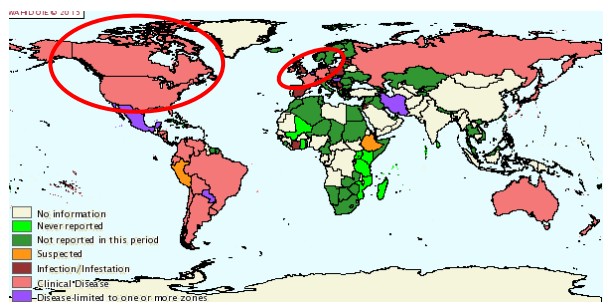
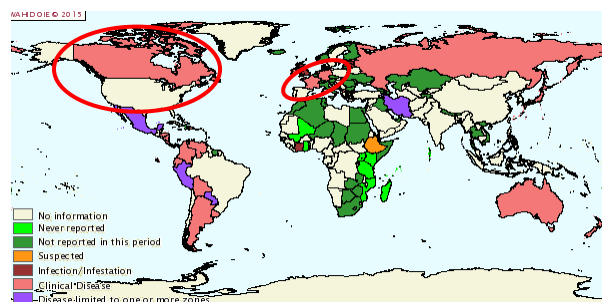


Рисунок 6

Эпизоотическая ситуация в мире по
инфекционному ринотрахеиту крупного
рогатого скота во II полугодии 2014 г. (по
данным WAHID)



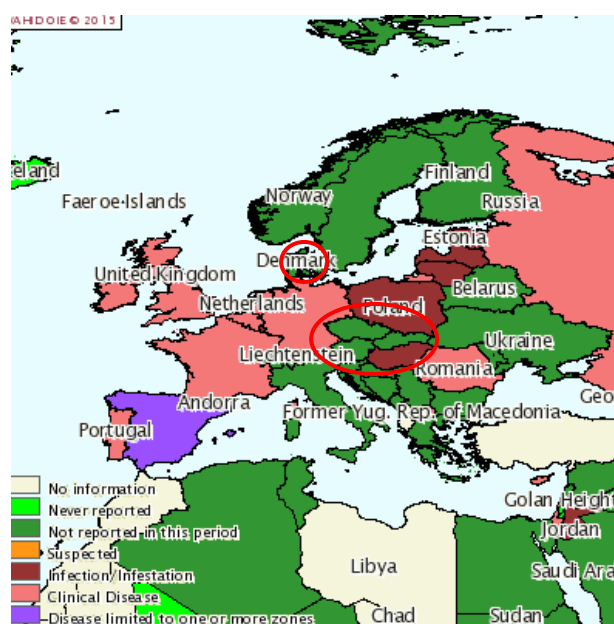
○ – территории, с которых осуществлялся импорт крупного рогатого скота в Россию

На рисунках 7–9 отражена динамика изменения эпизоотической ситуации по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота в странах Европы по полугодиям с 2012 по 2014 годы.

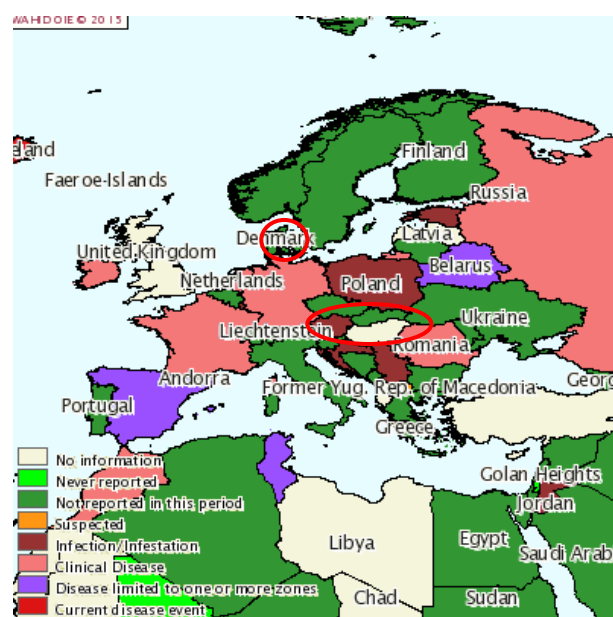
Рисунок 7

Эпизоотическая ситуация в Европе по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота в 2012 г. (по данным WAHID)

I полугодие 2012 г.



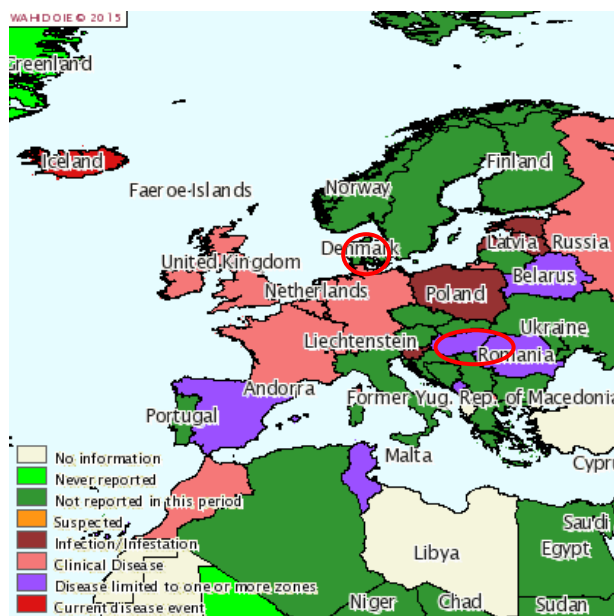
II полугодие 2012 г.



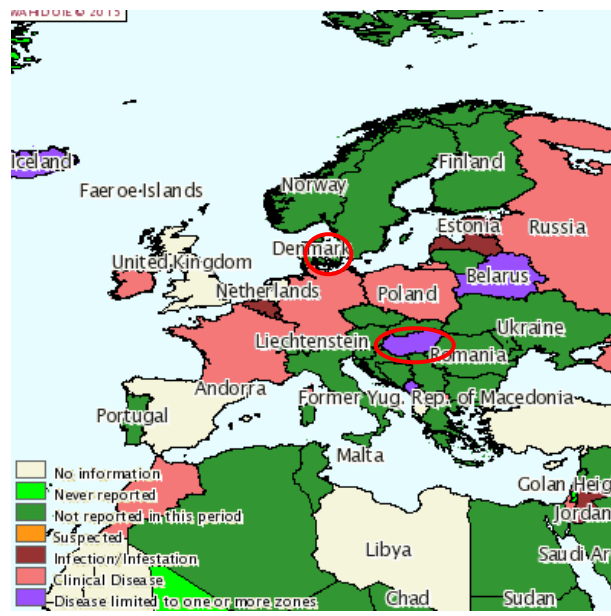
○ – территории, с которых осуществлялся импорт крупного рогатого скота в Россию

**Эпизоотическая ситуация в Европе по инфекционному ринотрахеиту
крупного рогатого скота в 2013 г. (по данным WAHID)**

I полугодие 2013 г.



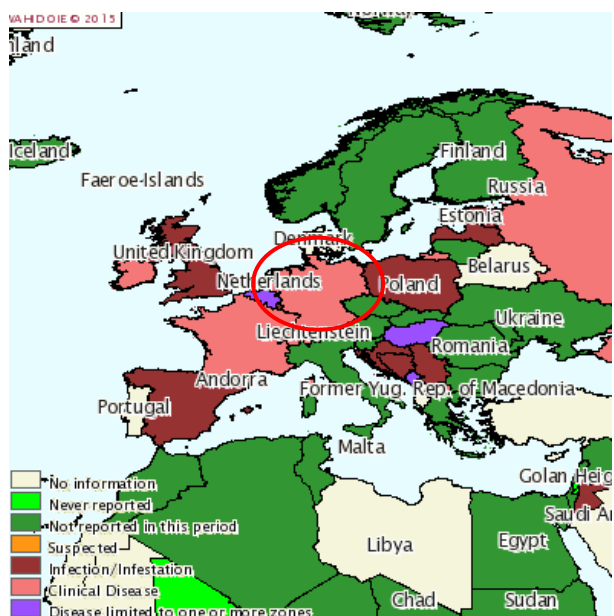
II полугодие 2013 г.



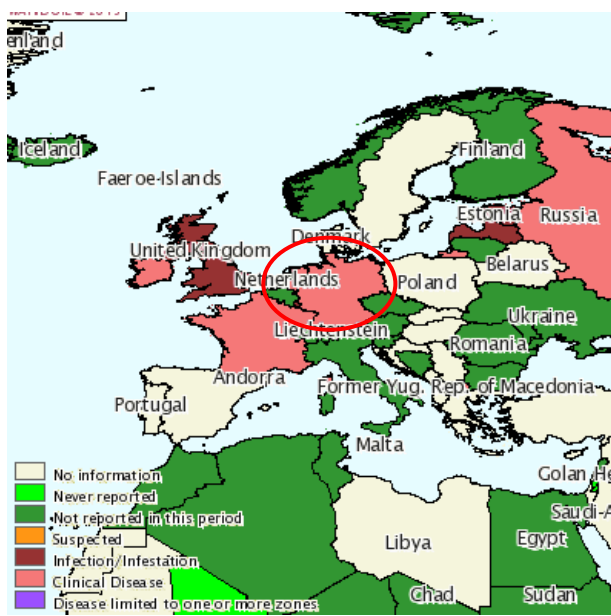
○ – территории, с которых осуществлялся импорт крупного рогатого скота в Россию

**Эпизоотическая ситуация в Европе по инфекционному ринотрахеиту
крупного рогатого скота в 2014 г. (по данным WAHID)**

I полугодие 2014 г.



II полугодие 2014 г.



○ – территории, с которых осуществлялся импорт крупного рогатого скота в Россию

На рисунках 10–13 отражена информация о представлении странами, ранее благополучными по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота, срочных отчетов о регистрации вспышек этого заболевания с 2012 г. по 2015 г. [171].

Рисунок 10

**Нотификация новых вспышек
инфекционного ринотрахеита крупного
рогатого скота в ранее благополучных
странах 2012 г.
(по данным WAHID)**

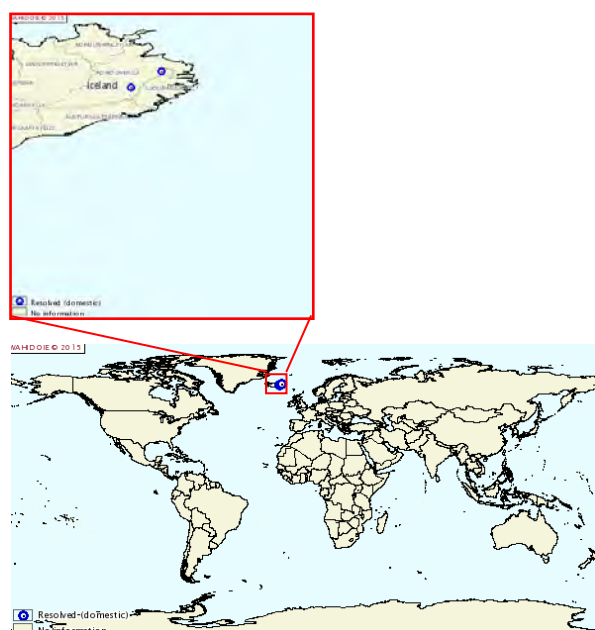


Рисунок 12

**Нотификация новых вспышек
инфекционного ринотрахеита крупного
рогатого скота в ранее благополучных
странах 2014 г.
(по данным WAHID)**

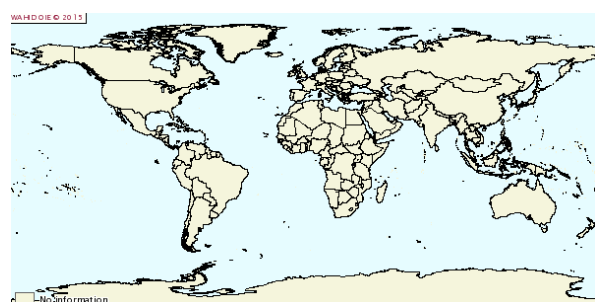


Рисунок 11

**Нотификация новых вспышек
инфекционного ринотрахеита крупного
рогатого скота в ранее благополучных
странах 2013 г.
(по данным WAHID)**

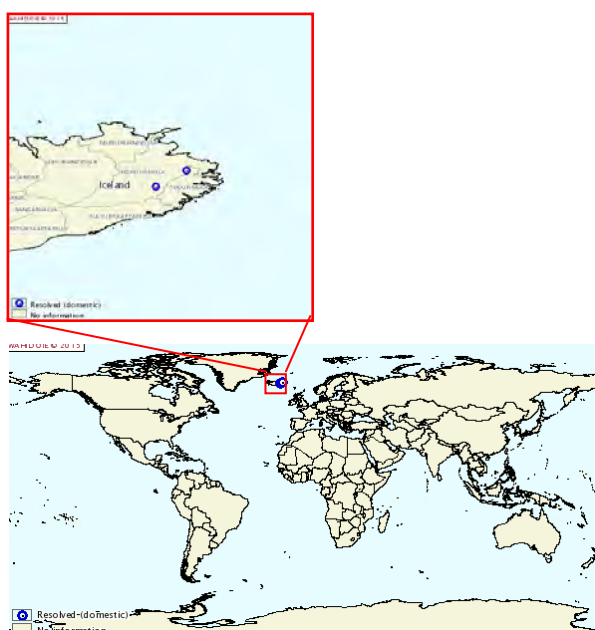
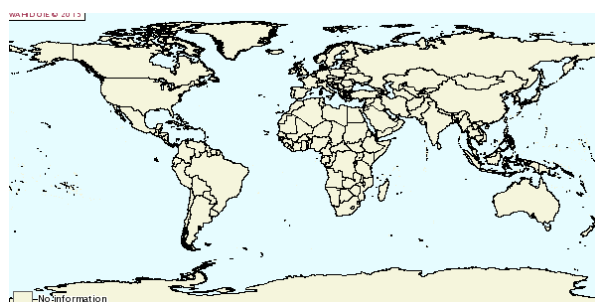


Рисунок 13

**Нотификация новых вспышек
инфекционного ринотрахеита крупного
рогатого скота в ранее благополучных
странах 2015 г.
(по данным WAHID)**



По результатам эпизоотологического анализа распространения герпесвируса крупного рогатого скота 1 типа в мире, можно сделать заключение, что эпизоотическая обстановка по ИРТ в мире характеризуется стабильностью. За последние три года в МЭБ поступило только 2 сообщения о регистрации заболевания в ранее благополучных странах (Ирландия 2012 г. и 2013 г. 2 эпизоотических очага) (рисунки 10 и 11). В 2014 и 2015 гг. ни одна страна не отправляла отчеты о регистрации новых очагов заболевания в ОIE (рисунки 12 и 13).

Вирус ИРТ распространен практически во всех странах мира, за исключением Африканского континента.

При анализе эпизоотической ситуации по ИРТ на территории Европы (рисунки 7, 8 и 9) установлено, что по итогам 2014 года благополучными по этому заболеванию официально признаны: Норвегия, Швеция, Финляндия, Литва, Молдавия, Болгария, Греция, Словакия, Италия, Румыния и Чешская Республика.

Это заключение подтверждается данными В.А. Мищенко (2012 год) [44].

2.1.4. Герпесвирус крупного рогатого скота 5 серотипа

В 1962 году из проб патологического материала от больных менингоэнцефалитом 2-6-ти месячных телят выделили вирус, который серологическим исследованием был идентифицирован как герпесвирус типа 1 – возбудитель инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. Больные телята происходили из стада, где погибло 50% молодняка [101].

В последующем в Австралии, США, Венгрии, Италии, Канаде, Аргентине, Бразилии, Уругвае и Швеции были зарегистрированы случаи массовых заболеваний молодняка крупного рогатого скота, проявляющиеся глубокой депрессией, скрежетанием зубами,

неадекватным ответом на раздражение, параличом языка и другим нейропатогенными признаками и высокой превалентностью гибели (до 100%). Все это послужило основанием для предположения, что выделенный возбудитель значительно отличается от возбудителя инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота [113].

В настоящее время указанный возбудитель классифицируется как BoHV-5 [44, 180].

У телят, инфицированных BoHV-5, отмечаются энцефаломиелиты, болезнь проявляется нарушением координации движения, движением по кругу, облизыванием боков, угнетением и гибелью [85].

При гистологических исследованиях у павших животных отмечают негнойный некротический менингоэнцефалит. Все штаммы возбудителя BoHV-5 на основании рестриктивного анализа делят на 3 типа: «а»; «b» и «non-a-non-b», прототипы их австралийский штамм № 569, аргентинский A663 и бразильские изоляты вируса соответственно. Наиболее часто выявляют штаммы типа «а» [42, 118].

Заболевание с высокой летальностью чаще наблюдают у телят. Один и тот же штамм может вызвать летальную инфекцию у новорожденных телят и бессимптомное заболевание с длительным вирусоносительством у 5-6-месячных животных. Телята с острой формой заболевания быстро погибают, так как у них не успевает сформироваться иммунный ответ [18, 68].

Установлено, что иммунизация вакциной против ИРТ предотвращала развитие патологического процесса в головном мозге, но не позволяла предотвращать латентную инфекцию герпесвируса крупного рогатого скота 5 типа [85].

По данным G.J. Wellenberg et al., телята, экспериментально инфицированные герпесвирусом типа 5, были одновременно серопозитивны по гликопротеину В и серонегативны по гликопротеину Е

одного и того же штамма герпесвируса крупного рогатого скота типа 1 [174].

2.1.5. Другие заболевания КРС, вызываемые герпесвирусами

Злокачественная катаральная лихорадка – острая инфекционная болезнь КРС и буйволов, характеризующаяся крупозным воспалением слизистых оболочек головы, поражением глаз и нервной системы. Болезнь встречается повсеместно. В 1972 г. тяжелая эпизоотия злокачественной катаральной лихорадки наблюдалась в штате Колорадо. Из 235 заболевших животных 87 (37%) пало [59].

Вирус злокачественной катаральной лихорадки впервые был выделен Пирси в 1953 г. В 1964 г. Армстронг описал его и отнес к герпесвирусам. Аналогичный вирус выделил Плоурайт с сотр. (1963) в Кении из лейкоцитов и ткани селезенки антилопы-гну. В 1967 г. от животного с клиникой злокачественной катаральной лихорадки выделен штамм Rims [117].

Возбудителем является лимфотропный герпесвирус, который изначально был отнесен к роду *Radinivirus* подсемейства *Gammaherpesvirinae*, поскольку оказался идентичным герпесвирусу овец 2 типа и герпесвирусу коровьих антилоп типа 1 [25, 127, 130].

Отечественные исследователи выделенный вирус относят к группе герпесвирусов крупного рогатого скота 3 типа [21, 49, 69].

Многие исследователи считают, что источником возбудителя являются овцы, так как болезнь чаще возникает после контакта восприимчивого крупного рогатого скота с овцами – вероятными носителями вируса [40, 49, 59]

Возбудитель болезни широко распространен среди жвачных животных. Так, в Африке латентная инфекция зарегистрирована у голубого гну, коровьей антилопы и других видов, которые являются резервуаром вируса [117].

Известны 2 штамма вируса злокачественной катаральной лихорадки – WC-11 и 707K, которые нейтрализуются с различной скоростью с гомологичными и гетерологичными антигенами [117].

Диагноз на злокачественную катаральную горячку ставится на основании данных эпизоотологического обследования, клинических признаков болезни, патологоанатомических изменений и результатов лабораторных исследований. При дифференциальной диагностике исключают ящур, инфекционный ринотрахеит вирусную диарею отравления, лептоспироз, бешенство и листериоз [40].

Анализ зарегистрированных ошибок при клинической диагностике ящура у крупного рогатого скота на территории СССР (1975-1991 гг.) и Российской Федерации (1992-2014 гг.) свидетельствуют о том, что из 102 случаев ошибок в 21 случае (20,6%) за ящур были приняты клинические признаки и патологоанатомические изменения, выявляемые при злокачественной катаральной горячке крупного рогатого скота [41].

В последнее время появилось много сообщений о регистрации инфекции крупного рогатого скота, вызываемой герпесвирусом типа 4 [46].

Все герпесвирусы типа 4 близки по молекулярной структуре генома, имеют между собой антигенные связи, относятся к подсемейству гаммагерпесвирусов рода Rhadinovirus [25].

Впервые этот возбудитель был выделен в Венгрии в 1963 году от теленка с клинической картиной заболевания органов дыхания и кератоконъюнктивитом. Указанный штамм был назван Мовар 33/63. С 1987 года все подобные штаммы были объединены под названием герпесвирус 4 типа [47].

В последующем Международный комитет по таксономии вирусов (ICTV) официально принял название возбудителя «герпесвирус КРС 4 типа» [25].

Герпесвирусы КРС 4 типа были выделены от животных с поражением органов пищеварения, дыхания и воспроизводства. Доказана инфицированность животных во многих странах мира, в том числе в Венгрии, Италии, Бельгии, Японии, Израиле, США, Индии, Кении, России, Египте, Швейцарии [47, 76, 91, 93, 96, 99, 132].

Чрезвычайно важными являются сообщения о выделении герпесвируса крупного рогатого скота 4 типа от клинически здоровых котят и львов [25, 132, 162, 175].

Лабораторная диагностика герпесвирусной инфекции 4 типа основана на обнаружении фрагмента гена кодирующего фермент тимидинкиназу полимеразной цепной реакцией (ПЦР) и выявлении вирусоспецифических антител в ИФА и МФА [46].

Выделение герпесвируса 4 типа в культуре клеток весьма затруднительно, поскольку возбудитель имеет длительный цикл репродукции. Средств специфической профилактики указанной инфекции до настоящего времени не разработано [46].

2.1.6. Малоизученные герпесвирусы крупного рогатого скота

Помимо вирусов инфекционного ринотрахеита, маммиллита и злокачественной катаральной лихорадки крупного рогатого скота из трахеи, заглочных лимфоузлов и других органов животных этого вида удавалось выделить герпесвирусы, не имеющие четкого таксономического положения. Идентичные герпесподобные вирусы были выделены от коров, больных лимфосаркомой, однако этиологическая роль их в появлении лимфосарком и герпетического маммиллита не установлена. В 1969 г. Боулинг, Гудхерд и Пламмер выделили 6 герпесподобных вирусов из ротовой полости и гениталий КРС, идентичных между собой в антигенном отношении. Предполагается, что генитальный вирус герпеса вызывает рак шейки матки у коров. В 1971 г. Лутер и др. выделили из спонтанно

дегенерировавшей почки клинически здорового теленка вирус, характерный для группы герпетических вирусов. [151].

Болезни крупного рогатого скота, вызываемые малоизученными герпесвирусами, проявляются довольно разнообразно, однако чаще характеризуются поражением органов дыхания [157].

В антигенном отношении малоизученные вирусы герпеса крупного рогатого скота родственны, но не идентичны вирусам простого герпеса, ринотрахеита, маммиллита – Allerton, болезни Ауески, злокачественной катаральной лихорадки, герпеса собак, лошадей и птиц. Два штамма-изолята герпесвирусов крупного рогатого скота, выделенные в 1972 г. Смитом и др., антигенно родственные между собой в серологических реакциях, отличаются от вируса инфекционного ринотрахеита. Штамм, выделенный Лугером и др. (1971), родственен штамму Reims (возбудителю злокачественной катаральной лихорадки крупного рогатого скота) [151].

Одним из последних герпесвирусов крупного рогатого скота был описан вирус лимфотропного герпеса. По данным Carl A. Gagnon (2008) до обнаружения в 2008 г. в Канаде лимфотропный герпесвирус крупного рогатого скота выявили только в США (1998 г.) и Великобритании (2006 г.) [103].

Еще в 1969 году группой советских ученых: Б.И. Суриным, А.Ф. Валиховым, Г.А. Надточим и другими впервые был выделен от коров, больных лейкозом, а в последующие годы детально описан вирус бычьего герпеса [2, 3, 50, 55, 56, 57, 58]. Но дальнейшее изучение выделенного вируса в СССР не проводилось и принадлежность вируса, описанного советскими учеными к альфа- или гаммагерпесвирусам в настоящее время не установлена.

В 1998 году американские авторы J. Rovnak и др. идентифицировали лимфотропный герпес вирус крупного рогатого скота, основываясь на результатах полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием вырожденных олигонуклеотидов-праймеров, специфичных генам,

кодирующим ДНК-полимеразу герпесвирусов всех типов. ДНК вируса ЛГГК обнаружили в нормальных мононуклеарных клетках периферической крови КРС, а также в клетках В-лимфомы, вызванной вирусом лейкоза. Результаты филогенетического анализа нового вируса выявили значительные отличия первичной структуры генома от таковой других известных типов герпесвирусов. Сравнительный анализ последовательности аминокислот выявил сходство вируса ЛГГК на 70% с герпесвирусом овец типа 2; на 69% – с вирусом злокачественной катаральной лихорадки; на 65% – с герпесвирусом КРС типа 4 и на 42% – с вирусом ринотрахеита КРС. Новому вирусу присвоили таксономическое положение в группе опухолеродных гаммагерпесвирусов КРС. Лимфотропный гамма-герпесвирус крупного рогатого скота обнаруживают в основном в крови взрослых коров (91% положительных случаев у взрослых коров и 38% положительных случаев у молодняка – из ~100 обследованных животных). Среди животных, серопозитивных к вирусу лейкоза, лимфотропный гамма-герпесвирус обнаруживали в 94% случаев, а среди серонегативных – в 87% случаев. 17 животных из серопозитивной группы имели хронический лимфоцитоз, и у всех этих животных методом ПЦР обнаружили лимфотропный гамма-герпесвирус [150].

2.2. Флавивирусы

2.2.1. Общая характеристика

Флавивирусные инфекции являются природно-очаговыми зоонозами и имеют большое ветеринарное значение. К ним относятся желтая лихорадка, лихорадка денге, лихорадка Западного Нила, японский энцефалит, энцефалит Сент-Луис, энцефалит Росио, лихорадка долины Муррея, клещевой энцефалит, Омская геморрагическая лихорадка и др. [84, 107, 108, 144, 145, 163, 169].

Большинство флавивирусов являются арбовирусами, т.е. передаются позвоночным хозяевам путем биологической трансмиссии членистоногими переносчиками. Из них более 50% передаются комарами, около 30% клещами. Для ряда флавивирусов переносчик или отсутствует или не обнаружен. Также выделяют группу флавивирусов, инфицирующих только насекомых без позвоночных хозяев [87, 106, 107, 115, 120, 152, 160].

Флавивирусы распространены на всех континентах, главным образом, в странах с экваториальным и тропическим климатом (передаваемые комарами), меньше – в условиях умеренного климатического пояса (передаваемые клещами) [152].

Данное семейство включает четыре рода: *Flavivirus* (от лат. *flavus* – желтый, к нему относится вирус желтой лихорадки); *Pestivirus* (от лат. *pestis* – чума), *Hepacivirus* (от лат. *hepar* – печень, к этому роду принадлежит вирус гепатита С) и *Pegivirus* [170].

Род *Pestivirus* (прототипный представитель – вирус диареи КРС 1-го типа) включает вирусы, инфицирующие домашних и диких копытных (свиней, коров, овец, коз) [131, 169, 172].

В род входят вирусы BDV (*Border disease virus* – вирус пограничной болезни), BVDV-1, BVDV-2, CSFV (*Classical swine fever virus* – вирус классической чумы свиней) [131, 152, 168].

В последнее время зарегистрировано несколько новых видов вирусов, отнесенных к роду *Pestivirus*:

- вирус вилорога (*Pronghorn virus*) – выделен от слепой вилорогой антилопы в США [167];
- вирус жирафа H138 – выделен от жирафа в Кении [169];
- вирус Bungowannah – выделен от свиней в Австралии [119];
- НоВи-подобный вирус – выделен из фетальной сыворотки крупного рогатого скота [70, 78].

Эти новые, до конца не охарактеризованные представители рода *Pestivirus* могут отрицательно влиять на эффективность мероприятий по

контролю, профилактике и ликвидации вирусной диарей крупного рогатого скота [9, 11].

2.2.2. Вирусная диарея крупного рогатого скота

Вирусная диарея КРС – контагиозное вирусное заболевание КРС, характеризующееся поражением желудочно-кишечного и респираторного трактов, нарушением функции воспроизводства. Болезнь распространена повсеместно. ВД-БС представляет серьезную проблему для животноводства во многих странах мира, поэтому методы диагностики и специфической профилактики данного заболевания определены стандартами ОIE [179].

В России болезнь впервые зарегистрировали в 1974 г. [33].

Отечественными исследователями доказана возможность межвидовой передачи вируса при совместном выпасе крупного рогатого скота с овцами, козами, верблюдами и дикими жвачными [19].

Вирус ВД-БС (BVDV – bovine viral diarrhea virus) впервые был выделен в США от телят с признаками острой диареи и изъязвлениями на слизистой оболочке пищеварительного тракта [143].

Различные штаммы ВД-БС отличаются по вирулентности, тропизму и ЦПД, но идентичны в антигенном отношении [33, 59].

Вирус представлен 2 генотипами (1-й и 2-й), которые дифференцируют с помощью моноклональных антител к поверхностным полипептидам E2 и E^{ns}, а также филогенетическим анализом [65].

Штаммы первого генотипа вируса чаще обнаруживают в популяции крупного рогатого скота, а также в качестве контаминантов клеточных культур. Они относятся более чем к десяти субгенотипам. Второй генотип вируса представлен 2 субгенотипами и обнаруживают его значительно реже [7, 63].

Различают два биотипа вируса ВД-БС: цитопатогенный и нецитопатогенный, взаимодействие которых в организме

восприимчивых животных определяет форму течения инфекционного процесса. Оба биотипа вируса имеют несущественные генетические и иммунологические отличия. Генетический анализ различных изолятов вируса ВД-БС выявил тенденцию субтипов и штаммов к мутациям и рекомбинациям, в результате которых происходят внезапные изменения биологических и антигенных свойств вируса [20, 95, 102].

Биотипы вируса классифицируются по их способности вызывать цитопатический эффект в культуре клеток, а не по патогенности для животных. Серологически оба биотипа вируса близки. Однако на молекулярном уровне было обнаружено, что в инфицированных клетках цитопатогенный вирус продуцирует один дополнительный белок, не выявляющийся в клетках, инфицированных нецитопатогенным вирусом. Данный белок считается маркером цитопатогенного вируса ВД-БС. Способность вызывать разрушение клеток в культуре служит лабораторным маркером цитопатогенного биотипа вируса ВД-БС. Нечитопатогенный биотип вируса более широко распространен в природе и идентифицируется генетическими или непрямыми иммунологическими методами [33].

Существует мнение, что возникновение цитопатогенного биотипа вируса является результатом генетических изменений в нецитопатогенном биотипе. Это подтверждается тем, что цитопатогенные штаммы вируса ВД-БС выделяют в ассоциации с нецитопатогенными [95, 104].

В организме персистентно инфицированных животных нецитопатогенные штаммы вируса могут трансформироваться в цитопатогенные путем включения клеточных последовательностей в геном вируса в результате рекомбинации [59].

В естественных условиях к вирусу ВД-БС восприимчивы коровы, буйволы, олени, косули. Вирус ВД-БС также был выделен от человека, овец, коз, бизонов, свиней. Крупный рогатый скот болеет независимо от возраста и пола, чаще болезнь проявляется у телят от 4 месяцев до 2 лет.

Больные и персистентно инфицированные животные – основной источник возбудителя. Персистентно инфицированные животные поддерживают циркуляцию вируса в стаде, при этом серопозитивность животных составляет 85–100%. Дикие животные также могут быть источником и резервуаром вируса [59, 117].

Вирус передается алиментарным, контактным, воздушно-капельным, половым путями, а также трансплацентарно. Вирус выделяется со спермой персистентно инфицированных и клинически больных быков, хорошо сохраняется при замораживании, и передается при осеменении [117].

Различают несколько форм течения болезни: острую или собственно вирусную диарею, врожденную или внутриутробную инфекцию, персистентную инфекцию и болезнь слизистых [179].

Острая форма ВД-БС является результатом первичного инфицирования восприимчивых животных как цитопатогенными, так и нецитопатогенными штаммами возбудителя и характеризуется выраженным поражением ЖКТ, респираторных органов, абортами. У животных с острой формой инфекции выявляется высокий уровень сывороточных АТ.

Клинические признаки заболевания наблюдают преимущественно у животных в возрасте 4-24 месяца, что связано с присутствием колостральных АТ у животных более раннего возраста. У животных старше 2 лет болезнь протекает, как правило, субклинически и часто остается незамеченной. Вследствие иммуносупрессивного действия вируса у инфицированных животных нередко происходит осложнение болезни секундарными инфекциями.

Одним из тяжелых проявлений острого течения болезни, иногда выделяемым в отдельную форму, является развитие тромбоцитопении и геморрагической болезни с высоким уровнем смертности. При геморрагическом синдроме наблюдаются геморрагии на слизистых оболочках, кровавый понос и сильная кровоточивость при повреждении

кожного покрова. От таких животных был выделен только нецитопатогенный вирус ВД-БС [33, 90, 104].

Часто неблагоприятный исход острого течения ВД-БС связан с трансплацентарным инфицированием потомства, результат которого зависит от стадии стельности, биотипа возбудителя и может проявиться абортами, мертворождаемостью, врожденными аномалиями и внутриутробной инфекцией, приводящей к рождению персистентно инфицированных телят. Инфицирование на ранней стадии стельности часто приводит к гибели, рассасыванию или мумификации плодов [59, 179].

Экспериментально доказано, что нецитопатогенные штаммы вируса ВД-БС гораздо чаще вызывают аборт, чем цитопатогенные [65, 136].

По данным А.Г. Глотова (2016 г.) из описанных в литературе врожденных уродств у абортированных плодов 4 – 6-месячного возраста чаще наблюдали гидроцефалию, а у рожденных живыми – отсутствие или наличие выходящего шерстного покрова, врожденную катаракту и поражение суставов. В большинстве случаев у матерей регистрировали сероконверсию к вирусу после аборта. Возбудитель присутствовал в 28,98% пробах вагинальных и маточных выделений первотелок [12].

Заражение нецитопатогенным биотипом вируса на 80-125-е сутки стельности может привести к рождению персистентно инфицированных телят [59, 102, 136].

Незрелая иммунная система плода еще не может определить персистирующий вирус как чужеродный, в результате чего животное остается иммунотолерантным и серонегативным. Такие телята выделяют вирус в течение всей жизни и поэтому служат основным источником распространения вируса в стаде [117, 136].

Персистентно инфицированные животные, имеющие АТ к вирусу ВД-БС, за исключением телят, получивших колостральные АТ, вероятно,

приобретают их вследствие инфицирования другим биотипом либо генотипом вируса естественным путем или в результате вакцинации [95].

Цитопатогенный вирус также обладает способностью проникать через плаценту и инфицировать плод, тем не менее он не вызывает персистентной инфекции, а обуславливает деструктивные изменения в органогенезе плода, замедление в росте, гибель или рождение слабых, нежизнеспособных телят [136].

Плоды, инфицированные после 125-150 суток стельности, обычно рождаются без проявления патологических изменений в развитии, у них образуются вируснейтрализующие АТ и происходит элиминация вируса [15].

У инфицированных животных вирус может распространяться по всему организму, включая головной мозг, селезенку, почки, легкие и некоторые части кишечника [136].

Нецитопатогенный биотип вируса ВД-БС инфицирует нейроны коры головного мозга. Его также в больших количествах выделяют из клеток гипофиза и поджелудочной железы. Цитопатогенный вирус чаще выделяют из клеток ретрофаренгиальных, мезентериальных, сычужных лимфоузлов, тимуса и пейеровых бляшек [65, 155].

Персистентно инфицированные телята часто рождаются и вырастают внешне здоровыми, однако в их организме вирус продолжает размножаться и постоянно выделяется во внешнюю среду [59, 95, 136].

У персистентно инфицированных телят отсутствуют патогномичные клинические признаки. Они могут быть клинически здоровыми или слабыми, с патологическими изменениями в ЦНС, мышечным тремором, нарушением координации движения, слепотой. Такие телята часто погибают в 1-е сутки после рождения [179].

Следует отметить, что персистентная инфекция при ВД-БС сильно отличается от персистентной (латентной) инфекции, вызванной вирусом ИРТ/ИПВ КРС. Персистентная инфекция при ИРТ/ИПВ развивается

в результате острой инфекции у телят или взрослых животных, вследствие чего все инфицированные животные становятся персистентно инфицированными, у них наблюдается иммунный ответ, и животные могут оставаться клинически здоровыми. При этом вирус ИРТ/ИПВ переходит в латентное состояние в сенсорных ганглиях. Вирус не размножается в период латенции, однако в результате стресса или лечения глюкокортикостероидами может наблюдаться реактивация вируса [125].

В отличие от вируса ИРТ/ИПВ, вирус ВД-БС инфицирует плод, что приводит к рождению персистентно инфицированного животного, у которого не вырабатываются АТ к персистирующему вирусу. Кроме того, постнатальное инфицирование вирусом ВД-БС не приводит к развитию персистентной инфекции, у животных развиваются иммунный ответ и клинические признаки болезни [95].

Иммунный ответ при ВД-БС достаточно сложен. У невакцинированных животных АТ выявляются на 8-10-е сутки после инфицирования независимо от проявления клинических признаков. АТ не предохраняют животных от заражения, однако снижают тяжесть течения болезни при воздействии гомологичных и антигенно-родственных штаммов вируса, а также значительно уменьшают распространение вируса в стаде. Наличие АТ не препятствует реинфицированию. Низкий уровень АТ в крови связан с персистентной инфекцией, длительной виремией и разрушительным действием вируса на лейкоциты [59].

Инфицирование стельных коров в зависимости от периода стельности и биотипа вируса может привести к рождению серонегативных персистентно инфицированных телят со штаммоспецифической иммунной толерантностью или же сероположительных телят. Колостральный иммунитет у новорожденных телят сохраняется 2-11 мес. [59, 117].

В сыворотке молозива от коров, иммунизированных эмульсионной вакциной против вирусной диареи, титры антител превышали аналогичные показатели, полученные при исследовании проб от животных, привитых

сорбированным препаратом. Титры антител к возбудителю вирусной диареи в молозиве на $2,5-3,0 \log_2$ выше, чем в крови [19].

В качестве средства профилактики заболевания крупного рогатого скота вирусной диареей советские ученые на основании зарубежного опыта еще в 1978 г. пытались применять метод создания гетерологичного иммунитета у телят путем вакцинации их живой вакциной против чумы свиней [33].

В некоторых странах Европы вакцинация против ВД-БС запрещена, а программа по оздоровлению основана на выявлении и уничтожении инфицированных животных. В других европейских странах разрешено использовать только инаktivированные вакцины.

По данным О.В. Сергеева (2009 г.) в ряде европейских стран (Франция, Германия) получили распространение живые вакцины против ВД [6].

На Российском рынке представлены как инаktivированные (вакцины КОМБОВАК производства ЗАО НПО «НАРВАК»), так и живые вакцины (ВК-181, Таурус-В, Тривак) [15, 29, 53].

В настоящее время разработка средств специфической профилактики ВД-БС КРС продолжается.

Так российскими учеными было экспериментально установлено, что размножение BVDV КРС подавляется препаратами интерферона [16].

В 2014 г. Т.И. Глотовой описан новый препарат производства компании ООО «Виталанг-2» (г. Новосибирск), который подавляет репродукцию BVDV в культуре клеток и при интерназальном курсовом введении телятам с субклинической формой ВД-БС сокращает сроки выделения вируса с носовым секретом [17].

2.3. Парамиксовирусы (*Paramyxoviridae*)

2.3.1. Общая характеристика

Название семейства происходит от др. греч. *пара* – возле, около, рядом и названия ранее существовавшего семейства *Муховиридае*.

Парамиксовирусы – группа вирусов, поражающая позвоночных животных. Вирионы парамиксовирусов – частицы плеоморфной, чаще округлой формы, диаметром 150-300 нм, состоят из нуклеокапсида спиральной симметрии и липопротеидной оболочки, на поверхности которой имеются выступы длиной 8-12 нм. Парамиксовирусы чувствительны к жирорастворителям, формальдегиду, неионным детергентам и окисляющим агентам [59].

Геном представлен единой линейной молекулой минус-РНК, состоящей из 15-16 тысяч нуклеотидов. РНК не обладает инфекционностью и составляет всего 0,5% массы вириона [59].

В семейство *Paramyxoviridae* входит семь родов [170].

1. Род *Aquaparamyxovirus* включает единственный вирус атлантического лосося.

2. Род *Avulavirus* включает вирус Болезни Ньюкасла (прототипный вирус) и парамиксовирусы птиц со 2 по 12 типов.

3. Род *Ferlavirus* включает единственный вирус ямкоголовой гадюки.

4. Род *Henipavirus* включает вирусы Нила, летучих мышей и др.

5. Род *Morbillivirus* (от лат. *morbillus* – корь) включает вирус кори (прототипный вирус), вирус чумы КРС, мелких жвачных, собак и тюленей. Вирусы не обладают нейраминидазной активностью, имеют антигенное родство и имеют цитоплазматические и внутриядерные включения, содержащие вирусный рибонуклеопротеин.

6. Род *Respirovirus* включает японский геммаглютинирующий вирус мышей (прототипный вирус), вирусы парагриппа КРС 3, человека 1, 3 и свиней 1.

7. Род *Rubulavirus* включает вирус паротита, который обладает гемагглютинирующей, нейраминидазной и гемолитической активностью.

2.3.2. Парагрипп 3 крупного рогатого скота

Парагрипп 3 КРС или транспортная лихорадка КРС – острая контагиозная вирусная болезнь, характеризующаяся поражением органов дыхания. В настоящее время болезнь распространена повсеместно.

Впервые болезнь описали в США в 1932 г., определив пастереллы в качестве этиологического агента, а в 1959 г. от больных телят Рейзенгер и Хедделсон выделили и описали вирус ПГ-3 КРС (*bovine parainfluenza type 3 virus*) [83, 149].

Вирус ПГ-3 КРС относится к семейству *Paramyxoviridae* роду *Respirovirus*. Вирус быстро разрушается под действием высокой температуры, ультрафиолетового излучения, жирорастворителей (хлороформа, эфира), низких значений pH [59].

Антигенной вариабельности штаммов вируса ПГ-3 КРС не установлено. В разных странах все штаммы, выделенные от телят и взрослых животных, по антигенной структуре идентичны и соответствуют прототипному штамму SF-4, выделенному в США [100, 159, 166].

Эритроциты многих видов животных адсорбируются на клетках, инфицированных вирусом ПГ-3 КРС (гемадсорбция), а вирусная суспензия агглютинирует эритроциты морской свинки, кролика, свиньи, обезьяны, коровы и других видов животных и не агглютинирует эритроциты лошади [59, 117, 164].

Источником инфекции преимущественно являются больные телята. Передача возбудителя происходит воздушно-капельным путем, а также, возможно, пероральным и половым, так как вирус был выделен из молока, фекалий и вагинальных истечений [43].

К вирусу чувствителен крупный рогатый скот, болеют телята в возрасте до года, заболеваемость может достигать 90–100%. Также к вирусу восприимчивы буйволы, лошади, овцы, козы, верблюды, собаки, крысы. Широко распространен вирус ПГ-3 КРС и среди овец [54, 59].

Вирус ПГ-3 КРС редко самостоятельно вызывает заболевание. Вызывая местный иммуносупрессивный эффект, ПГ-3 КРС часто осложняется другими патогенными вирусами и бактериями и является важным этиологическим агентом энзоотической пневмонии телят [97].

Частота вспышек ПГ-3 КРС указывает на возможную персистенцию вируса, отсутствие длительного иммунитета, постоянную реинфекцию и роль неспецифических хозяев вируса ПГ-3 КРС, служащих резервуаром и дополнительным источником возбудителя. Кроме того, установлено, что вирус ПГ-3 КРС размножается в альвеолярных макрофагах, не разрушая их, но при низких температурах происходит высвобождение вируса и реинфицирование животных [164].

Сывороточные и секреторные АТ не защищают организм восприимчивых животных от инфицирования, но значительно снижают тяжесть течения болезни. Высокий уровень сывороточных АТ после переболевания или вакцинации предупреждает трансплацентарную передачу вируса плоду, предотвращая аборт и инфицирование плода. Интраназальная вакцинация вызывает образование секреторных АТ в слизистой оболочке респираторного тракта и при их достаточно высоком уровне может обеспечить защиту от заражения вирусом ПГ-3 КРС [134].

Колостральный иммунитет у новорожденных телят может сохраняться от 10 недель до 8 месяцев.

2.4. Коронавирусы (*Coronaviridae*)

2.4.1. Общая характеристика

Название семейства происходит от лат. *corona* – корона, так как на фотографиях, сделанных с помощью электронного микроскопа, видно, что пепломеры создают вокруг оболочки вирионов выраженное зубчатое обрамление.

Coronaviridae включает 2 подсемейства: *Coronavirinae* и *Torovirinae*. Первое подразделяется на 4 рода: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, *Deltacoronavirus*. *Torovirinae* подразделяется на 3 рода: *Torovirus* (от лат. *torus* – вздутие, узел – из-за кренделообразной формы вирионов) и *Bafinivirus* (от англ. *BA*cilliform *F*ish *N*idoviruses – бациллоподобные нидовирусы рыб); отдельно выделен род *Unassigned*, в который входит единственный вирус королевского питона [170].

Коронавирусы распространены повсеместно. Природным резервуаром *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus* являются рукокрылые (*Chiroptera*) [15, 81, 92, 124, 133, 181]; *Gammacoronavirus* и *Deltacoronavirus* – птицы [86, 88, 92, 112, 178]; *Torovirus* – млекопитающие [92, 154]; *Bafinivirus* – рыбы [77, 92, 105].

Заражение коронавирусами происходит капельно-воздушным и фекально-оральным путями. Вирус поражает эпителиальные клетки респираторного и желудочно-кишечного трактов, хотя вирус также обнаруживается и в других органах (например, печени и почках). У домашних птиц и свиней выявлена персистирующая инфекция с выделением вируса в составе фекалий [73].

Основными клетками-мишенями коронавирусов являются эпителиальные клетки и макрофаги, имеющие на своей поверхности рецепторы, с которыми взаимодействуют поверхностный S-белок вируса. [79, 154].

2.4.2. Коронавирусная инфекция крупного рогатого скота

Коронавирусная инфекция КРС – острое контагиозное заболевание новорожденных телят, характеризующееся поражением ЖКТ и органов дыхания. Болезнь распространена повсеместно. Заболевание изучено мало.

РНК-содержащий коронавирус КРС впервые выделен в 1971 г. [140] и назван вирусом диареи телят Небраски [98].

Вирус относится к семейству Coronaviridae роду Betacoronavirus [5, 59, 141, 147].

В зависимости от системы органов, пораженных вирусом, изоляты коронавируса КРС дифференцируют на кишечный и респираторный коронавирусы. При этом установлено, что кишечные и респираторные изоляты коронавируса КРС принадлежат к одному серотипу независимо от источника выделения [109, 110, 128, 156].

Изоляты коронавируса КРС вызывают агглютинацию и адсорбцию эритроцитов цыплят, хомяков, мышей и крыс. Большинство коронавирусов антигенно родственны [59, 109].

К вирусу восприимчивы коровы и буйволы. Инфицированные животные являются резервуаром и постоянным источником инфекции, выделяя возбудителя с фекалиями и носовыми истечениями. Вирус передается алиментарным путем [117].

Коронавирус КРС вызывает диарею новорожденных телят, а также поражает органы дыхания. Телята чаще болеют с 8-10-х по 15-21-е сутки после рождения. Коронавирус КРС инфицирует эпителиальные клетки дистального отдела тонкого и толстого кишечника, а также слизистой оболочки носовой полости, трахеи и легких. После инкубационного периода, длящегося 2-3 суток, у телят в результате атрофии ворсинок слизистой оболочки тонкого и толстого кишечника с последующим нарушением функции всасывания развивается острая диарея. Диарея продолжается 5-6 суток, без лечения больные телята погибают от

обезвоживания. Гибели телят предшествуют слабость, сонливость, депрессия, анорексия, сильная дегидратация и гиповолемический шок [73].

Коронавирус КРС может вызывать развитие латентной инфекции, при которой клинически здоровые животные являются носителями вируса и выделяют его во внешнюю среду. Влияния на развивающийся плод вирус не оказывает, абортотенным действием не обладает [5, 61, 80, 117, 153].

Природа иммунного ответа при коронавирусной инфекции КРС и его роль в защите животных недостаточно изучена. Известно, что гуморальные АТ не предотвращают инфицирования организма коронавирусом КРС, однако колостральные АТ могут обеспечить частичную защиту новорожденных телят в течение нескольких суток.

3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Материалы

3.1.1. Культуры клеток

Для размножения вирусов использовали перевиваемую линию клеток почки телят MDBK из банка клеточных культур ФГБНУ ВИЭВ.

3.1.2. Референтные и лабораторные штаммы вирусов

В качестве положительного контроля использовали штаммы ТК и BGV-1 инфекционного ринотрахеита, штамм КЛ-2 коронавируса крупного рогатого скота и штамм ВК-1 вируса диареи крупного рогатого скота из музея отдела вирусологии ФГБНУ ВИЭВ.

3.1.3. Отбор проб

Исследования проводили в молочно-товарных животноводческих хозяйствах с примерно одинаковым количеством животных (1200-1500 голов), различающихся по степени эпизоотического благополучия, расположенных в Псковской области, а также в Люберецком, Подольском и Сергиево-Посадском районах Московской области.

В соответствии с намеченной целью, материал для исследования (пробы сыворотки крови и смывы со слизистой оболочки носовой полости) от здоровых и больных животных (коров, телят) отбирали ежеквартально с III квартала 2012 по II квартал 2016 года.

3.2. Методы исследования

3.2.1. Эпизоотологический анализ

Анализ проводили на основании открытых данных, размещенных в сети Интернет на официальных сайтах Международного эпизоотического бюро (OIE) (<http://www.oie.int/en/>), Евразийской

экономической комиссии (<http://www.eurasiancommission.org/ru/Pages/default.aspx>), Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) (<http://www.fsvps.ru>), и материалов, предоставленных ФГБУ «Центр ветеринарии».

Построение нозологических карт было выполнено в лаборатории эпизоотологии ФГБНУ ВИЭВ ФАНО России А.А. Шабейкиным в программе ArcGIS® for Desktop.

3.2.2. Выделение и изучение возбудителей

Суспензию культуры клеток почки теленка концентрацией 50-150 тыс. кл/мл рассевали в пробирки, пластиковые флаконы различной емкости, пластиковые 96-, 48-, 24-луночные культуральные планшеты фирмы НОЙКЕМ (Швейцария). Культивирование клеток проводили в среде Игла с 0,25% ГЛА производства фирмы НПО компания ПанЭко (Россия) с добавлением пенициллина по 100 ЕД/мл и стрептомицина по 100 мкг/мл. Культивирование проводили при температуре 37 °С без смены среды до формирования монослоя.

Перед заражением культуру клеток проверяли на отсутствие контаминации вирусом диареи крупного рогатого скота [1].

Заражение культуры клеток проводили путем внесения исследуемого материала (суспензии органов, в которых мог содержаться вирус) или суспензии музейного вируса на монослой клеток в пластиковых флаконах и плашках, предварительно удалив использованную ростовую среду и дважды промыв клетки подогретым раствором Хенкса. После адсорбции клетками в течение 1 часа при температуре 37°С монослой клеток двукратно отмывали раствором Хенкса и заливали поддерживающую безсывороточную среду. В опытах по накоплению культуральных вирусов рассчитывали множественность заражения 1,0-5,0 ТЦД₅₀/мл на одну клетку. Для обеспечения указанной множественности заражения концентрат посевного вируса

и поддерживающую среду смешивали в соотношении 1:30-1:50. Затем в культуральные сосуды добавляли среду ПСП без сыворотки и инкубировали в течение 45-96 часов при температуре 37°C до получения характерного цитопатического действия вируса.

3.2.3. Реакция нейтрализации

Для постановки реакции применяли стандартные 96 луночные культуральные планшеты.

Сыворотки крови крупного рогатого скота перед постановкой реакции прогревали на водяной бане при температуре 56 °C в течение 30 минут.

РН проводили микрометодом с двукратными разведениями сывороток и постоянной дозой вируса (100TCD₅₀/ml). В лунки культуральных планшет («Costar», США) вносили 0,03 мл сыворотки в двукратном разведении и равный объем вируса, инкубировали 1 час до внесения суспензии клеток MDBK (1 млн. клеток/ мл).

Планшеты с раститрованными сыворотками инкубировали при 5% CO₂ и температуре 37 °C в термостате LabTech LCO-256AI производства фирмы Daihan LabTech CO., LTD (Корея).

Учет результатов реакции проводили на 3 сутки визуально, используя инвертированный микроскоп производства фирмы ОПТИКА (Италия). За титр антител исследуемой сыворотки принимали наибольшее ее разведение, которое сдерживало развитие ЦПД вируса.

3.2.4. Иммуноферментный анализ

Для постановки реакции использовали Тест-системы для иммуноферментной диагностики инфекционного ринотрахеита (ИРТ) крупного рогатого скота и иммуноферментной диагностики вирусной диареи-болезни слизистых (ВД-БС) крупного рогатого скота,

разработанные в 2003 г. сотрудниками лаборатории вирусологии ФГБНУ ВИЭВ ФАНО России Г.К. Юровым и др.

Компоненты тест-систем для постановки иммуноферментного анализа были любезно предоставлены ведущим научным сотрудником лаборатории вирусологии ФГБНУ ВИЭВ ФАНО России С.В. Алексеенковой.

Для проведения исследований использовали непрямой вариант твердофазного ИФА. Антигены (вирионы ИРТ-ИПВ и ВД-БС, очищенные ультрацентрифугированием в градиенте сахарозы) адсорбировали на иммунологические планшеты по 100 мкл в лунку в 0,01 М фосфатном буфере с pH 8,0 в течение 12 часов. После адсорбции планшеты отмывали на приборе WellWash производства фирмы Thermo scientific (США) отмывочным раствором. В качестве отмывочного раствора использовали фосфатно-солевой буфер в присутствии 0,05% Твина – 20 (0,02 М фосфатном буфере pH 7,4, 170 мМ NaCl; 0,05 % Твина – 20).

Для постановки ИФА готовили ряд последовательных двукратных разведений сывороток в фосфатно-солевом буфере с добавлением Твина – 20. Реакцию проводили в объеме 100 мкл.

Сыворотки крови телят и взрослого крупного рогатого скота раститровывали с начальным разведением 1:400.

Планшеты с раститрованными сыворотками инкубировали в течение 2-х часов при комнатной температуре.

После инкубации проводили отмывку планшет на приборе WellWash производства фирмы Thermo scientific (США).

В отмытые планшеты добавляли иммунопероксидазный конъюгат в разведении 1:10 000 (по 100 мкл), и инкубировали в течение 1,5 часов при температуре 37 °С, после чего снова проводили отмывку планшет. Использовали специфический иммунопероксидазный конъюгат против иммуноглобулинов КРС.

В качестве субстратной смеси использовали коммерческий препарат «ТМБ» на основе 3,3',5,5'-тетраметилбензидина («Биолаб», Россия). Окраску субстратной смесью проводили по протоколу фирмы – изготовителя.

Учет реакции проводили на приборе STAT FAX 4300 (CHROMATE), производства фирмы AWARENESS TECHNOLOGY (США) при длине волны 450 нм. Положительными считали пробы, коэффициент оптического поглощения которых, начиная с разведения 1:400 в 2 раза и более превышал коэффициент оптического поглощения отрицательного контроля, но при этом был не ниже 0,200 оптических единиц (о.е.). Уровень оптической плотности менее 0,150 о.е. принимали за отрицательный результат. Образцы с оптической плотностью в диапазоне от 0,150 до 0,200 признавали сомнительными и проверяли повторно.

Результаты ИФА обрабатывали при помощи программы Microsoft Office Excel 2007. Оценку результатов проводили по коэффициенту S/N – отношению значений оптической плотности исследуемой пробы (S) к отрицательному контролю (N).

3.2.5. Реакция торможения гемагглютинации для обнаружения антител к вирусу ПГ-3 крупного рогатого скота

Для постановки реакции использовали Набор для диагностики парагриппа-3 крупного рогатого скота в реакции торможения гемагглютинации РТГА (ТУ-10-19-84-89) производства ООО «Агровет» (Москва). Постановку реакции проводили по протоколу, рекомендованному производителем.

Для реакции использовали микропланшеты.

На первом этапе проводили определение активности антигена, прилагаемого к набору. Во все лунки микропланшета добавили 0,05 мл физраствора (рН – 7,3), проводили титрование антигена методом двукратных разведений, добавляли 0,05 мл 1% взвеси эритроцитов

морской свинки. Инкубацию проводили в течение 3 часов при комнатной температуре.

Определяли рабочее разведение антигена 4 ГАЕ.

Сыворотки крови крупного рогатого скота перед постановкой реакции прогревали на водяной бане при температуре 56 °С в течение 30 минут.

Во все лунки микропланшета вносили по 0,05 мл физраствора (рН – 7,3), в первые лунки добавили по 0,05 мл исследуемой сыворотки. Сыворотки титровали и вносили 0,05 мл разведенного антигена.

Инкубацию проводили в течение 1 часа при температуре 37°С, затем во все лунки вносили по 0,05 мл 1% взвеси эритроцитов морской свинки и инкубировали в течение 3 часов при комнатной температуре.

Учет реакции проводили визуально.

3.2.6. Определение титра антител к коронавирусу КРС

Определение титра антител к коронавирусу крупного рогатого скота выполнено сотрудниками лаборатории вирусологии ФГБНУ ВИЭВ ФАНО России Л.А. Мниковой и Т.А. Ишковой.

3.2.7. Полимеразная цепная реакция

Методом полимеразной цепной реакции проводили исследования биологического материала (смывы со слизистой оболочки носовой полости телят с клиническими признаками респираторных заболеваний). Исследования проводили на вирусные инфекции:

- герпесвирус 1 типа;
- злокачественную катаральную лихорадку;
- язвенный маммит;
- герпесвирус 4 типа;
- герпесвирус 5 типа;
- лимфотропный гаммагерпесвирус;

- вирусную диарею;
- парагрипп-3;
- респираторно-синцитиальную инфекцию;
- аденовирус-3
- короновирусную инфекцию.

Для экстракции вирусной ДНК из биологического материала использовали коммерческий набор «Quick-gDNA MiniPrep» («Zymo Research», США), для выделения РНК – «Комплект реагентов для выделения тотальной РНК из цельной крови, клеточных культур и образцов тканей» («Синтол», Россия).

Экстракцию ДНК и РНК проводили в соответствии с рекомендациями производителей наборов.

Реакцию обратной транскрипции проводили, используя коммерческий набор фирмы «Синтол» по схеме, рекомендованной производителем.

Праймеры и режимы, используемые при амплификации, обобщили в таблице 1 в соответствии с опубликованными в литературе рекомендациями [73, 89, 111, 116, 122, 123, 129, 135, 182].

Реакционная смесь включала 10 мМ Трис-НСl (рН 8,3); 50 мМ КСl; 4 мМ MgCl₂; 0,4 мМ каждого dNTP; 1,0 мМ каждого праймера; 0,5 ЕД Taq-полимеразы; 25,0 нг ДНК-матрицы.

При исследовании биологического материала на наличие генетического материала герпесвирусов крупного рогатого скота в реакционную смесь добавляли 5% DMSO и применяли технологию Hot Start. Для предварительного прогревания реакционной смеси использовали термостат фирмы ДНК-технология (Россия).

Амплификацию проводили в твердотельном амплификаторе фирмы ДНК-технология (Россия).

Результаты реакции учитывали путем электрофореза амплифицированной ДНК в 1,5%-ном агарозном геле с добавлением бромида этидия в трис-боратном буферном растворе.

Детекцию результатов проводили на трансиллюминаторе фирмы Vilber Lourmat (Франция) при длине волны 312 нм.

Определение нуклеотидных последовательностей проводили сотрудники ЗАО «Постгеномные и нанотехнологические инновации» Т.А. Акопьян и др.

Полученные результаты анализировали с помощью компьютерной программы «FASTA», разработанной Европейским институтом биоинформатики.

Филогенетический анализ проводили с помощью программы ClustalX. Построение дендрограмм выполнено совместно с ведущим научным сотрудником лаборатории вирусологии ФГБНУ ВИЭВ ФАНО России С.В. Алексеенковой в программе MEGA6.

Таблица 1

**Праймеры и режимы амплификации, использованные при исследовании биологического материала
от крупного рогатого скота методом ПЦР**

№ п.п.	Возбудитель заболевания	Праймеры	Режимы ПЦР						
			Отжиг праймеров		Амплификация			Элонгация	
			Темп., °С	Время, сек.	Темп., °С	Время, сек.	Кол-во циклов	Темп., °С	Время, сек.
1.	Обратная транскрипция	Random 6	–	–	25 42 92	600 2400 300	1	–	–
2.	герпесвирус 1 и 5 типа	5'-TACCTGCGCAGCGGGCGC-3' 5'-CTTCGATCACGCAGTCGCTCA-3	–	–	94 55 72	60 90 120	30	72	300
		5'-ACGACGGACGATGTGTAC-3' 5'-CTCTCGTCTCGCAGCAT-3'	–	–	94 55 72	60 90 120	30	72	300
3.	злокачественная катаральная лихорадка	5'-ATAATACATGTCATTTAAGACACCCACGCACCA-3' 5'-CTGGTGCAGGATGACCACAATTTTACTATC-3'	–	–	94 55 72	60 60 180	35	72	600

№ п.п.	Возбудитель заболевания	Праймеры	Режимы ПЦР						
			Отжиг праймеров		Амплификация			Элонгация	
			Темп., °C	Время, сек.	Темп., °C	Время, сек.	Кол-во циклов	Темп., °C	Время, сек.
4.	язвенный маммилит	5'-GTTTGACGCTGGCTTAGTGG-3' 5'-TATCAGGATTACCCCGACCC-3'	—	—	94 62 72	45 60 60	30	—	—
		5'-TGACGCTGGCTTAGTGGGTA-3' 5'-CGGNAGGTATAGACGGTCGCTC-3'	—	—	94 64 72	45 60 60	30	—	—
5.	герпесвирус 4 типа	5'-GTTGGGCGTCCTGTATGGTAGC-3' 5'-ATGTATGCCCAAACTTATAATATGACCAG-3'	94 60 72	180 120 60	94 46 72	30 60 60	44	—	—
		5'-TTGATAGTGCGTTGTTGGGATGTGG-3' 5'-CACTGCCCCGGTGGGAAATAGCA-3'	94 65 72	180 120 60	94 63 72	30 30 15	35	—	—
6.	лимфотропный гаммагерпесвирус	5'-GTCCGGTTTGCTTCCTTGCT-3' 5'-CACGCGCAAGCTAGGATCGGC-3'	94 60 72	180 120 60	94 46 72	30 60 60	44	—	—
		5'-GAAAATTGCAGAAACGGTCA-3' 5'-CGCCCCCTCTGCGACTGCAAT-3'	94 65 72	180 120 60	94 63 72	30 30 15	35	—	—

№ п.п.	Возбудитель заболевания	Праймеры	Режимы ПЦР						
			Отжиг праймеров		Амплификация			Элонгация	
			Темп., °С	Время, сек.	Темп., °С	Время, сек.	Кол-во циклов	Темп., °С	Время, сек.
7.	вирусная диарея	5'-GATTTCAAGGGGACTTTTTT-3' 5'-ТАСТАСТТАGТАGGAТGТ-3'	94	120	94 55 72	60 60 60	50	72	420
8.	парагрипп-3	5'-GATCAGGAACTCTTAAAGGC-3' 5'-TTTTCCCGACCCCTTCTAT-3'	94	900	95 50 72	60 60 60	30	72	600
9.	респираторно- синцитиальная инфекция	5'-AACCGGCTTCCTTCAGTAGAGC-3' 5'-CAATACCACCCACGATCTGTCC-3'	94	180	94 55 72	30 30 60	35	72	600
10.	аденовирус-3	5'-GCAGACGGATCCCAGGTTAGGGTTA-3' 5'-GCTAAGCTTCCAACCTATTTAAGTCCAG-3'	95	300	95 60 72	30 30 45	40	72	300
11.	коронавирус	5'-GCAGGTTTAATCCTTCTACTTGGA-3' 5'-CACCAAGAATTATGTCTGTGTTTGA-3'	—	—	94 55 68	10 30 45	35	68	420

3.3. Результаты собственных исследований

3.3.1. Мониторинг герпесвирусной инфекции 1 крупного рогатого в России и зарубежных странах.

В настоящее время в популяции крупного рогатого скота во многих странах и России описывается герпесвирусная инфекция крупного рогатого скота, которая обусловлена герпесвирусом крупного рогатого скота 1 (BoHV-1). Различают три подтипа вируса: 1.1, 1.2a и 1.2b. Заболевание наносит наибольший экономический ущерб животноводству разных стран вследствие массовых вспышек. Возбудитель занесен на территорию РФ при импорте племенного скота, а также генетического материала – спермы, яйцеклеток (Н.Н. Крюков с соавт., В.Н. Сюрин с соавт. и др., 1968).

Для оценки распространенности инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота на территории Российской Федерации нами проанализированы данные ежегодной ветеринарной отчетности, предоставленные ФГБУ «Центр ветеринарии» с 2004 по 2015 годы включительно. Выбраны три временных периода: 2004-2007, 2008-2011 и 2012-2015 годы. Сводная информация за указанные периоды обобщена и статистически обработана при помощи программы Microsoft Office Excel 2007. На основании полученной сводной информации с использованием ГИС-технологий построены карты (рисунки 14-16).

Рисунок 14

**Субъекты Российской Федерации,
неблагополучные по ИРТ КРС в период
2004-2007 гг.**



Рисунок 15

**Субъекты Российской Федерации,
неблагополучные по ИРТ КРС в период
2008-2011 гг.**

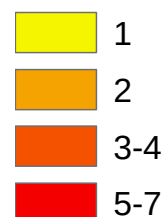


Рисунок 16

**Субъекты Российской Федерации,
неблагополучные по ИРТ КРС в период
2012-2015 гг.**



**Количество вспышек
заболевания в течение
рассматриваемого периода**



При анализе приведенных карт, нами установлено, что вирус на территории страны встречается повсеместно, но чаще всего заболевания крупного рогатого скота ИРТ регистрируются в границах двух основных ареалов распространения вируса, которые условно можно назвать Европейский и Азиатский. При этом на протяжении изучаемого периода (12 лет) Азиатский ареал характеризуется относительной стабильностью, а Европейский имеет тенденцию к смещению.

Чтобы провести оценку угрозы рисков заноса герпесвирусов крупного рогатого скота на территорию Российской Федерации при ввозе племенного скота, проанализированы объемы импорта крупного рогатого скота в Россию за последние 5 лет (2011-2015 гг.).

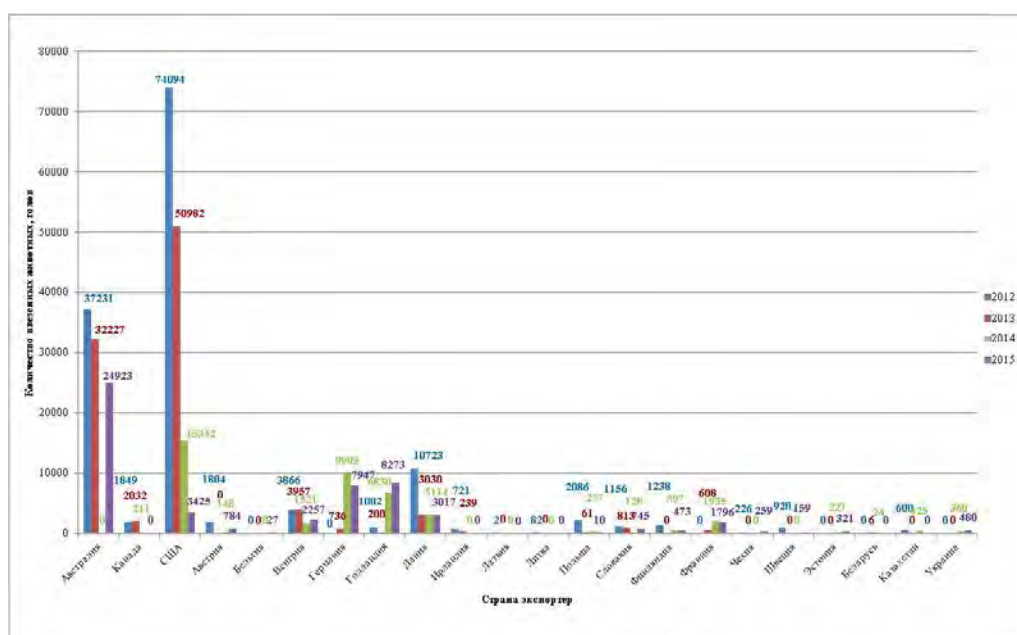
В работе использовали отчетные данные ФГБУ «Центр ветеринарии».

Установлено, что в период с 2012 г. по 2015 г. включительно на территорию Российской Федерации было ввезено 328 225 голов крупного рогатого скота из 22 стран мира.

Динамика изменения ввоза КРС по странам за указанный период представлена на рисунке 17.

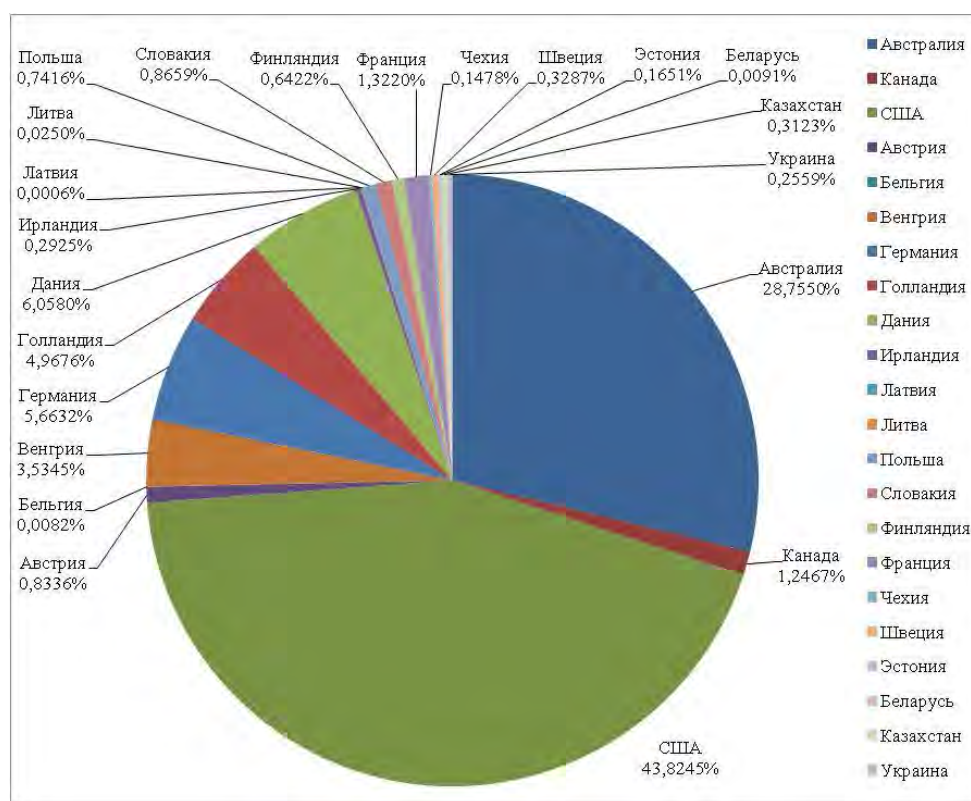
Рисунок 17

Оценка динамики ввоза крупного рогатого скота в Россию по странам – экспортерам (2012 г. – 2015 г.)



Доля импорта каждой страны-экспортера за указанный период представлена на рисунке 18.

Доля стран-экспортеров в суммарном импорте крупного рогатого скота на территорию России (2011 г. – 2015 г.)



Анализ доли импорта отдельных стран показывает, что основными экспортерами крупного рогатого скота в Россию являются США (43,8%) и Австралия (28,8%). На долю стран Европейского союза суммарно приходится около 25,6% от всего экспорта в Российскую Федерацию.

Для оценки угрозы рисков заноса герпесвируса 1 типа крупного рогатого скота на территорию Российской Федерации при ввозе племенного скота мы наложили основные регионы экспорта на карты эпизоотической ситуации по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота (рисунки 1-9 на страницах 29-31).

В результате нами установлено, что большинство стран-экспортеров (за исключением Австрии, Дании, Словакии, Финляндии и Швеции) в течение всего прослеживаемого периода (2012-2014 гг.) неблагополучны по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота.

3.3.2. Результаты диагностических исследований на основе молекулярно-генетических методов (полимеразная цепная реакция)

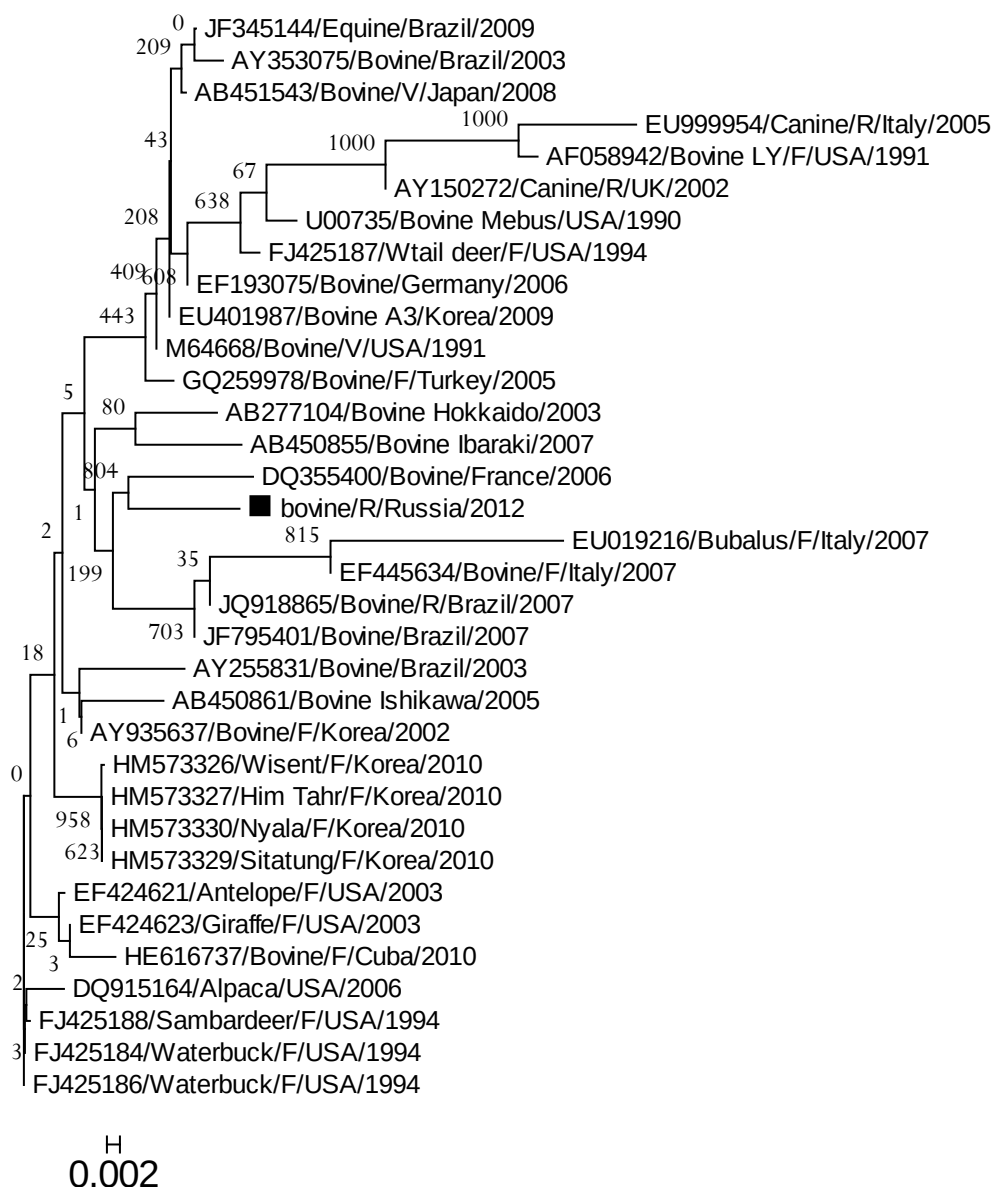
Для идентификации вирусов – возбудителей респираторных заболеваний молодняка крупного рогатого скота проводили молекулярно-генетические исследования в племенных хозяйствах, расположенных в Московской и Псковской областях.

В результате исследований в клиническом материале нами были обнаружены фрагменты генома коронавируса и герпесвируса типа 5.

По нашим наблюдениям, использование технологии горячего старта позволяет повысить выход продукта реакции при выявлении герпесвирусов крупного рогатого скота.

Ампликоны, полученные в ходе исследований, изучили методом филогенетического анализа. Дендрограмма на рисунке 19 демонстрирует степень филогенетического родства между исследуемым российским полевым изолятом Bovine/R/Russia/2012 и референтными штаммами коронавируса крупного рогатого скота, основанного на анализе нуклеотидной последовательности гена гликопротеина S.

Дендрограмма, отражающая степень филогенетического родства между российским эпизоотическим вирусом и референтными штаммами коронавируса крупного рогатого скота, основанного на анализе нуклеотидной последовательности гена гликопротеина S



Сравнительный анализ с помощью программы FASTA нуклеотидной последовательности гена гликопротеина S изолята коронавируса крупного рогатого скота и референтных штаммов, зарегистрированных в INSD,

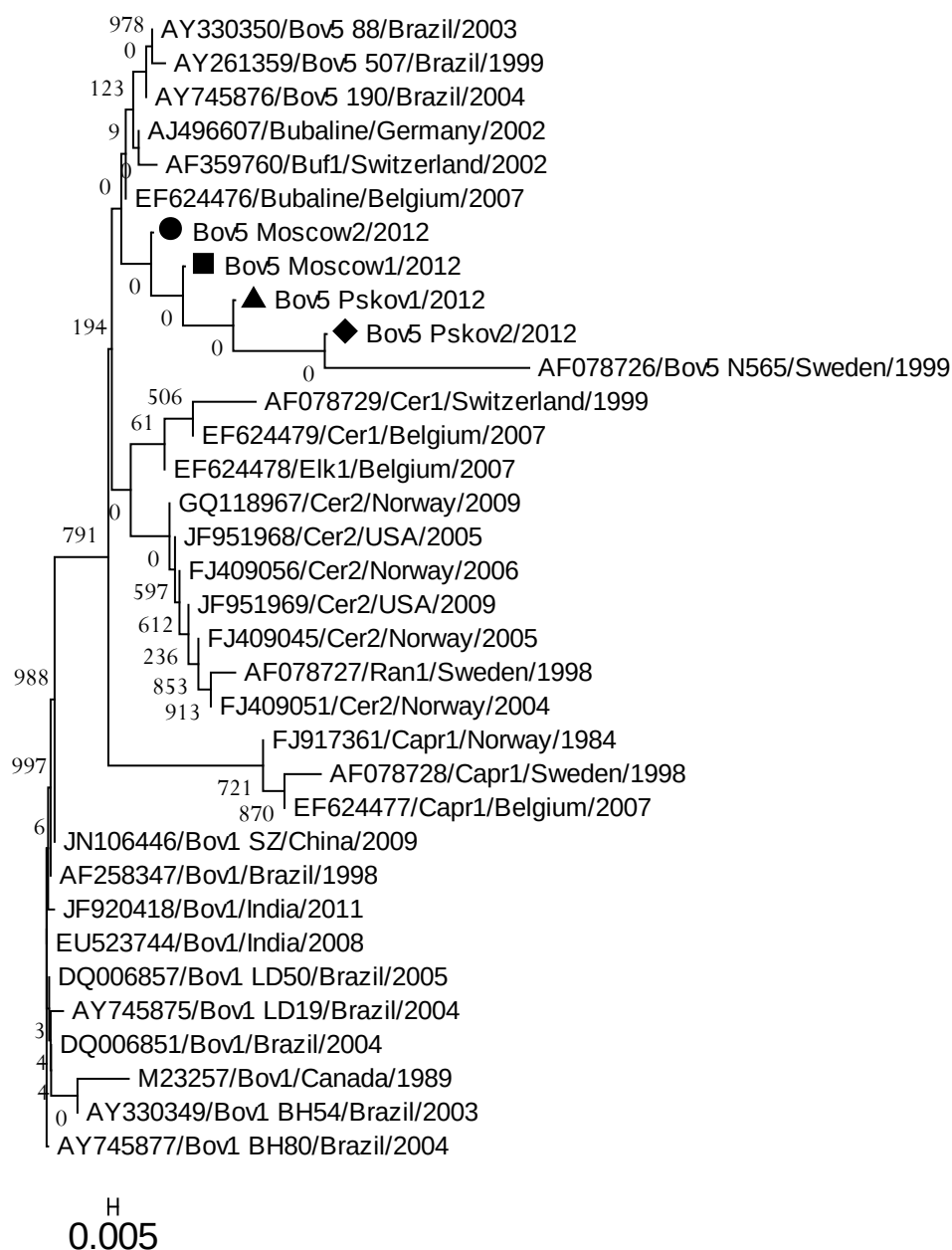
показал его сходство с эпизоотическими штаммами коронавируса диких жвачных, выделенными в 1994 г. в США при исследовании фекалий оленей Самбара и водяных козлов. Гомология выравнивания первичной структуры генома составила 96,9%.

Позицию расшифрованных нуклеотидов в геноме выявленного изолята определяли относительно полноразмерной копии генома (13016 пн) референтного штамма коронавируса крупного рогатого скота R-AN65 (EF424617) [37]. Результаты представлены в таблице 2.

На рисунке 20 представлена дендрограмма, отражающая степень филогенетического родства по анализу нуклеотидной последовательности гена гликопротеина В между новыми российскими изолятами возбудителя (Bov5_Moscow1/2012; Bov5_Moscow2/2012; Bov5_Pskov1/2012; Bov5_Pskov2/2012) и референтными штаммами альфагерпесвирусов крупного рогатого скота.

При сравнительном анализе этой нуклеотидной последовательности изолятов и штаммов альфагерпесвирусов крупного рогатого скота, зарегистрированных в INSD, установлено их сходство с эпизоотическими штаммами герпесвируса крупного рогатого скота типа 5: SV507/99 (AY261359); N565 (AF091605); а также герпесвируса буйволов типа 1 – Buffalo (AF359760), выделенными в 1999 г. в Бразилии и Швеции от телят с менингоэнцефалитом. Гомология выравнивания первичной структуры генома опытных полевых изолятов и референтных штаммов герпесвируса крупного рогатого скота типа 5 и герпесвируса буйволов типа 1 составила 99,4-98,1 и 98,6-97,8% соответственно. Позиция расшифрованных нуклеотидов в геноме исследуемых изолятов нами определялась относительно полноразмерной копии генома (138390 пн) референтного штамма герпесвируса типа 5 крупного рогатого скота SV507/99 (AY261359). Результаты представлены в таблице 2.

**Дендрограмма, отражающая степень филогенетического родства
между эпизоотическим вирусом и референтными штаммами
альфагерпесвирусов крупного рогатого скота, оленей, буйволов, коз,
основанного на анализе нуклеотидной последовательности гена
гликопротеина В**



**Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей
российских полевых изолятов и референтных штаммов герпесвируса
типа 5 и коронавируса крупного рогатого скота с помощью
компьютерной программы FASTA**

Российские полевые изоляты	Расшифрованные нуклеотидные последовательности		Наиболее сходные штаммы (инвентарный номер в базе данных нуклеотидных последовательностей INSD)	Сходс тво, %
	Длина, пн	Позиция		
¹ Коронавирус «Bovine/R/Russia/2012»	508	25007–25512	Sambar_deer – WD388 (FJ425189) Waterbuck – WD358 (FJ425186) R-AH65 (EF424617)	96,9 96,9 96,7
² Герпесвирус 5 «Bov5_Moscow1/2012»	372	57494–57853	SV507/99 (AY261359) N565 (AF091605) Buffalo (AF359760)	99,4 99,4 98,7
² Герпесвирус 5 «Bov5_Moscow2/2012»	369	57483–57853	SV507/99 (AY261359) N565 (AF091605) Buffalo (AF359760)	98,6 98,6 98,1
² Герпесвирус 5 «Bov5_Pskov1/2012»	371	57486–57853	SV507/99 (AY261359) N565 (AF091605) Buffalo (AF359760)	98,6 98,6 98,1
² Герпесвирус 5 «Bov5_Pskov2/2012»	374	57490–57853	SV507/99 (AY261359) N565 (AF091605) Buffalo (AF359760)	98,1 98,1 97,6

Примечание:

¹позиция нуклеотидной последовательности гена полипептида S исследуемого изолята Bovine/R/Russia/2012 определена относительно полноразмерной копии (1–31016 пн) генома референтного штамма коронавируса крупного рогатого скота R-AH65 (EF424617);

²позиция нуклеотидной последовательности гена полипептида В исследуемых изолятов: Bov5_Moscow1/2012; Bov5_Moscow2/2012; Bov5_Pskov1/2012; Bov5_Pskov2/2012 – определена относительно полноразмерной копии (1–138390 пн) референтного штамма герпесвируса типа 5 крупного рогатого скота SV507/99 (AY261359).

Результаты ретроспективных серологических исследований, представленные в таблице 3, подтверждают этиологическую роль герпесвируса крупного рогатого скота типа 5 и коронавирусов в патологии органов дыхания этих животных.

Таблица 3

**Антитела к вирусам корона и ИРТ в сыворотке крови крупного
рогатого скота**

Локализация вспышки, животные	Обнаружение антител к*	
	Коронавирусу (минимальный диагностический титр 1:100)	Вирусу ИРТ (минимальный диагностический титр 1:400)
Псковская область, телята	240±216	298,6±231,2
Московская область, телята	1777,1±1211,5	537,1±678,7
Московская область, коровы	2057,1±2166,9	4160±2734

* – приведены обратные титры антител.

Таким образом, в исследуемых образцах методами ПЦР и ОТ-ПЦР идентифицировали геномы коронавируса и герпесвируса крупного рогатого скота типа 5, одновременно были исключены герпесвирусы 1, 2, 3 и 4 типов, лимфотропного гамма-герпесвируса, а также возбудители вирусной диареи-болезни слизистых, парагриппа 3, респираторно-синцитиальной и аденовирусной инфекций.

3.3.3. Сравнительное изучение полевых и лабораторных изолятов герпесвирусов крупного рогатого скота методом филогенетического анализа.

Учитывая большое разнообразие представителей семейства Herpesviridae, мы предположили возможное генетическое различие

герпесвирусов, находящихся в активной циркуляции в обследуемых нами животноводческих хозяйствах, с известными вакцинными штаммами, что могло служить причиной неудовлетворительных результатов вакцинопрофилактики заболевания.

Для подтверждения данного предположения проводили филогенетический анализ структуры генетического кода выявленных нами изолятов и музейных штаммов вируса из коллекции ФГБНУ ВИЭВ.

В исследовании использовали следующие музейные штаммы вируса ИРТ:

- ТК пассаж 7 ПЭК – 77 – выделен в 1977 году;
- ТК пассаж 8 ПЭК – 77 – выделен в 1977 году;
- BGB-1 – 2006 – выделен в 2006 году.

В результате молекулярно-генетических исследований и последующей обработки полученной информации, последовательности нуклеотидов музейных штаммов вируса были сравнены с таковыми референтных штаммов из международной базы данных INSD, в результате музейные штаммы вируса ИРТ нами были идентифицированы как:

– ТК пассаж 7 ПЭК – 77 – Bovine herpesvirus type 1.2 сходство первичной генетической структуры на 99% со штаммом SP1777, выделенным в Оклахоме (США) в 2009 году;

– ТК пассаж 8 ПЭК – 77 – Bovine herpesvirus type 1.2 сходство первичной генетической структуры на 99% со штаммом SP1777, выделенным в Оклахоме (США) в 2009 году;

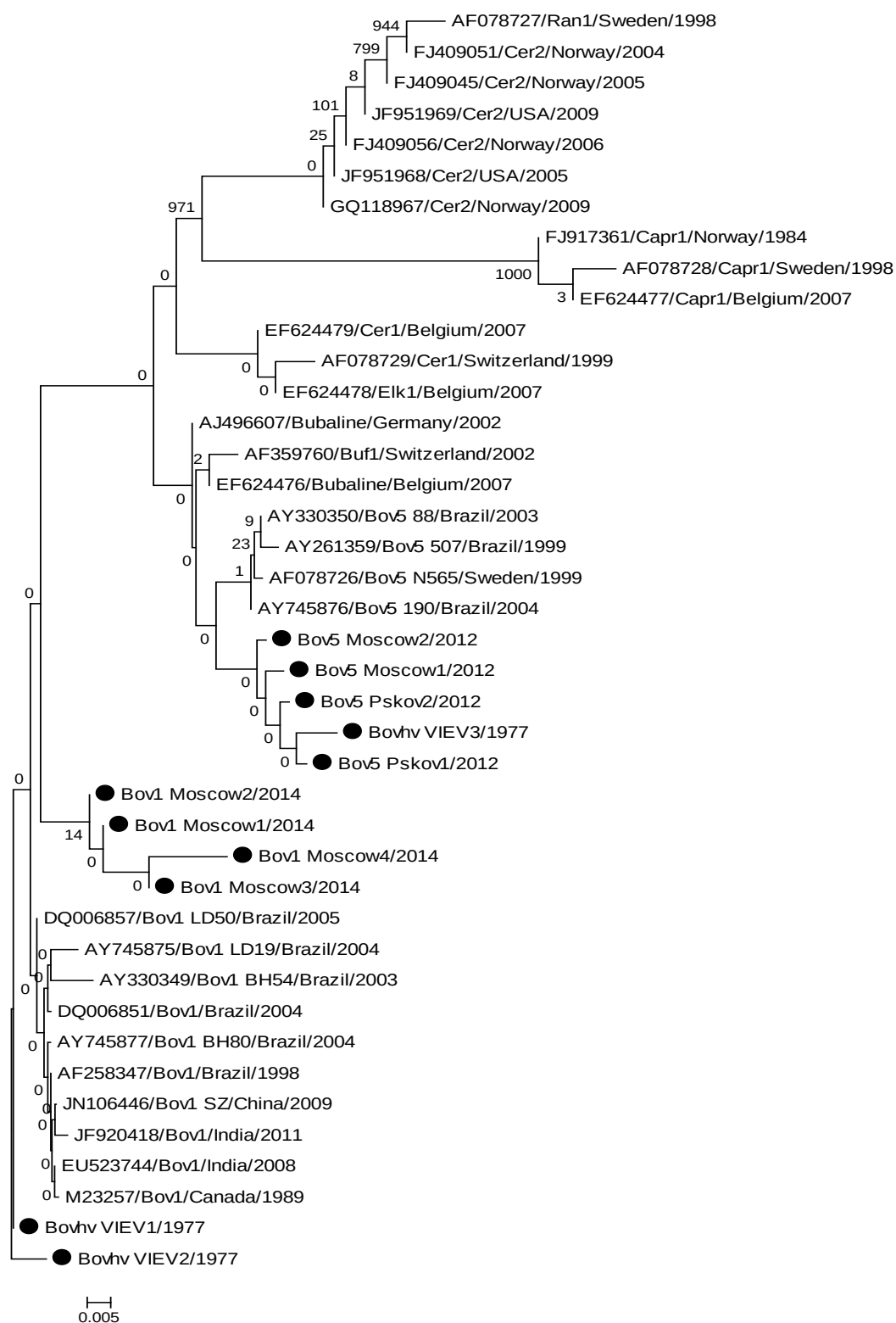
– BGB-1 – 2006 – Bovine herpesvirus type 5 сходство первичной генетической структуры на 97% со штаммом SV507/99, выделенным в Бразилии в 1999 году.

Полученные нуклеотидные последовательности, после идентификации музейных штаммов вируса ИРТ, использовали для филогенетического анализа.

Для удобства оценки филогенетического родства музейных штаммов вируса с полевыми штаммами, выделенными в ходе наших исследований, и референтными штаммами мы построили дендрограмму, отражающую степень филогенетического родства, основанного на анализе нуклеотидной последовательности гена гликопротеина В (рисунок 21).

В результате мы убедились в отсутствии значительных изменений в генетическом материале изучаемых вирусов в рамках гена, ответственного за синтез гликопротеина В.

**Дендрограмма, отражающая степень филогенетического родства
российских эпизоотических изолятов и референтных штаммов
альфагерпесвирусов крупного рогатого скота, основанного на анализе
нуклеотидной последовательности гена гликопротеина В**



3.3.4. Клинико-эпизоотологические исследования в хозяйствах Московской области

Исследования проводились в хозяйствах с разной эпизоотической обстановкой по респираторным болезням телят, расположенных в Люберецком, Подольском и Сергиево-Посадском районах Московской области.

Во всех обследуемых хозяйствах воспроизводство стада проводится за счет собственного ремонтного молодняка. Ввоз животных из-за рубежа или других хозяйствующих субъектов Российской Федерации не проводился в течение последних 15-20 лет. На основании указанных данных нами было сделано предположение, что в этих хозяйствах циркулирует устоявшийся круг возбудителей и занос новых возбудителей маловероятен.

Хозяйство 1. Болезни органов дыхания у телят и аборт у коров наблюдают в виде спорадических случаев. Против респираторных и кишечных заболеваний молодняк не вакцинируют. Отел коров проходит в специализированном родильном отделении в индивидуальных боксах. Телят до 5-дневного возраста содержат в боксах (со 2-го дня – по 3-5 голов в боксе) Телят старше 5-дневного возраста переводят в телятник с групповым содержанием. Помещение телятника – сухое, оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, отсутствуют сквозняки.

В единичных случаях у телят регистрируются субфебрильная температура, ринит и кашель.

Хозяйство 2. Ежегодно регистрируют заболевания органов дыхания молодняка КРС. Телята с рождения до 6-месячного возраста содержатся в сыром помещении. Крыша протекает, стены внутри влажные, оконные проемы затянуты пленкой. В навозных желобах стоит вода. Вентиляция – смешанного типа: приточная – пассивная (каналы в основном заделаны кирпичной кладкой), вытяжная – активная – электрические вентиляторы (большую часть года выключены). Вследствие этого у телят в возрасте 2-

4 месяца ежегодно в осенне-зимний период обостряются и приобретают массовый характер болезни органов дыхания. У больных телят в ранний постнатальный период отмечали вялость, невысокую лихорадку, ринит, конъюнктивит, задержку роста. При переводе их в группу дорастивания регистрировались массовые вспышки острой респираторной инфекции. У коров и телок диагностировали вульвовагиниты, однако аборт не наблюдали.

Стельных и сухостойных коров вакцинируют против комплекса возбудителей респираторно-кишечных заболеваний телят. Используют многокомпонентную вакцину.

Хозяйство 3. В течение нескольких лет сохраняется статус благополучного по массовым заболеваниям органов дыхания телят. За последний год в осенне-зимний период зарегистрирована вспышка абортов у коров и заболеваний органов дыхания у телят невыясненной этиологии. Вспышка повторилась в более доброкачественной форме в начале лета 2013 года. Болели телята 2-6 месяцев с симптомами кашля, ринита, повышенной температурой тела. Профилактическая вакцинация глубокостельных коров против комплекса респираторных и кишечных заболеваний молодняка не проводится.

Первая вспышка заболевания характеризовалась массовым охватом поголовья телят. У животных отмечался сухой прерывистый кашель, который усиливался после небольшой физической нагрузки. При этом повышения температуры тела у больных животных зарегистрировано не было или лихорадка имела субфебрильный характер. Истечения из носа отсутствовали.

У коров в этот период увеличилось количество абортов.

Повторная вспышка заболевания характеризовалась меньшим охватом поголовья и более стертым (бессимптомным) течением.

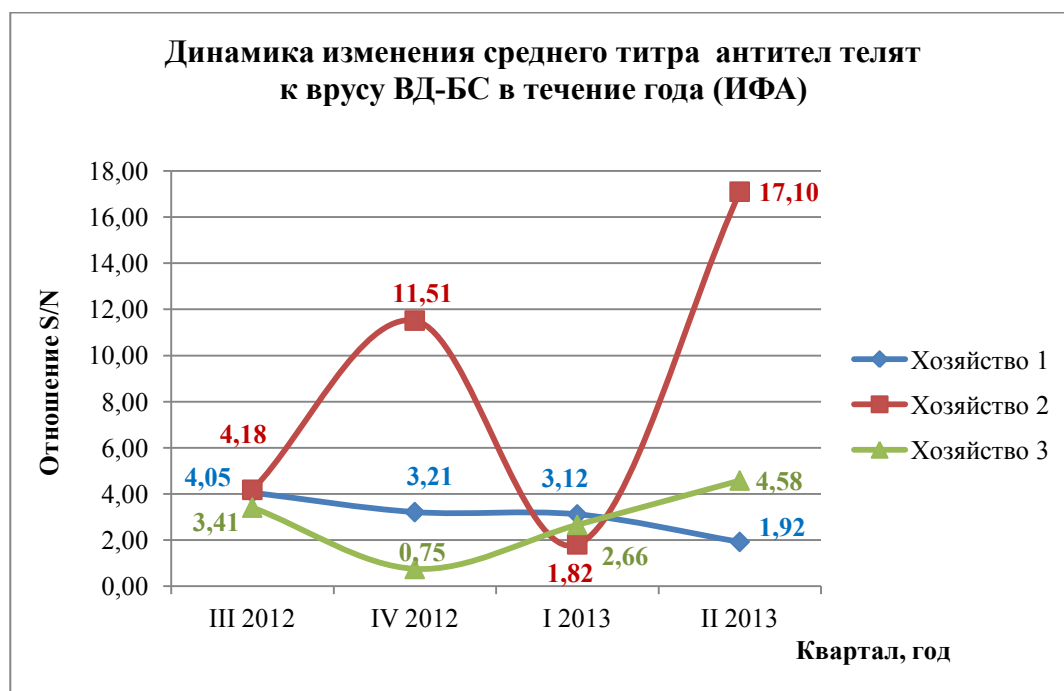
3.3.5. Сезонная динамика вспышек респираторных заболеваний молодняка крупного рогатого скота в нескольких типичных хозяйствах Московской области

Анализ сезонной динамики титров вирусспецифических антител проводили методом ИФА.

Результаты ИФА обрабатывали с использованием приложения Microsoft Office Excel 2007 с расчетом отношения S/N и последующим построением графиков изменения указанного отношения в зависимости от времени исследования (рисунки № 22 и № 23).

Рисунок 22





При анализе полученных результатов отмечено, что в хозяйствах 1 и 3 в осенний период наблюдается высокий титр антител против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. В течение последующего периода наблюдений происходит значительное снижение уровня антител и в летние месяцы (второй квартал 2013 г.) их титр значительно ниже. Титр антител к вирусной диарее крупного рогатого скота в указанных хозяйствах не достигает диагностических значений в течение всего периода наблюдений.

В хозяйстве 2 в весенне-осенний период происходит резкое нарастание титра антител к возбудителю вирусной диареи крупного рогатого скота, титры антител к вирусу инфекционного ринотрахеита достигают диагностических значений в весенне-летний период (III квартал 2012 г. и II квартал 2013 г.).

3.3.6. Иммунная реакция телят на вирус парагриппа-3.

В обследованных нами хозяйствах не регистрировали заболевания с симптомами, свойственными парагриппозной инфекции крупного

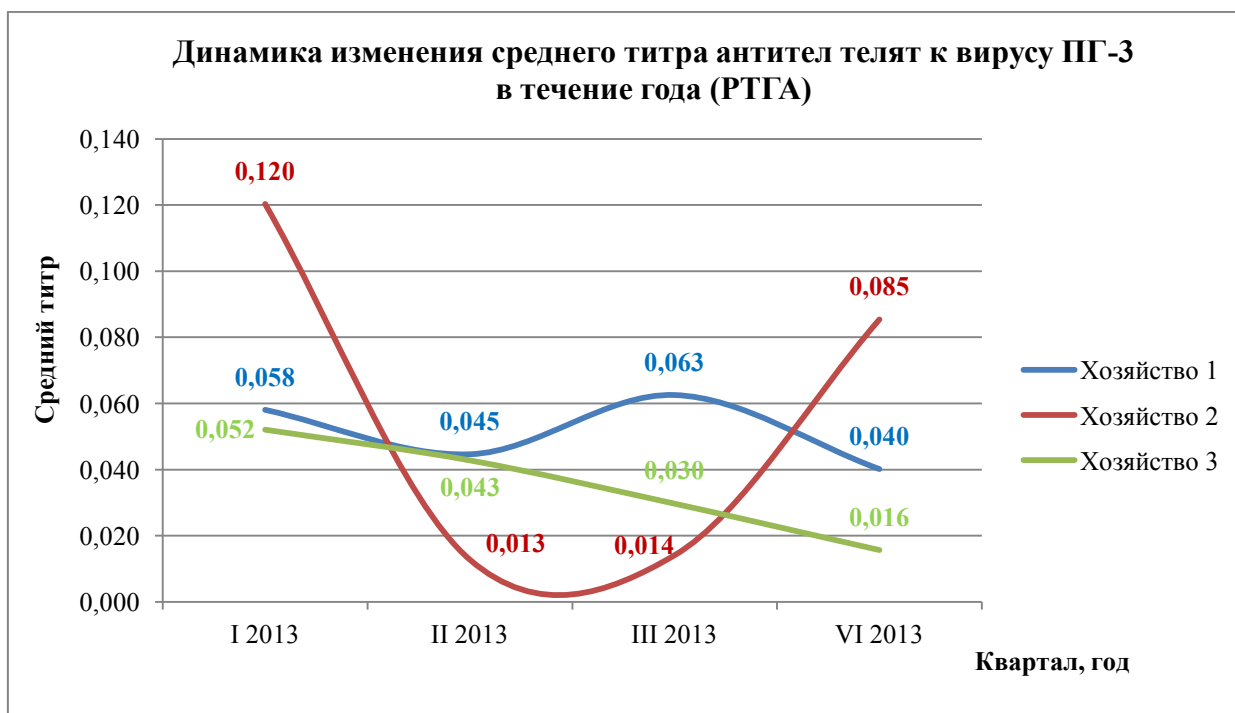
рогатого скота. При этом применявшиеся поливалентные вакцины для профилактики респираторных инфекций (в хозяйствах 2 и 3) содержали антиген вируса ПГ-3 КРС.

По результатам серологического исследования полученные значения титра антител переводили в десятичную дробь и вычисляли среднее значение. Данные средних значений титров использовали для построения графика годичной динамики вирусспецифических антител у телят (рисунок 24).

В хозяйстве 1 средний титр антител к парагриппу-3 КРС в течение года находится практически на одном уровне, не достигая при этом диагностического значения.

В хозяйстве 2 пик антител к вирусу ПГ-3 наблюдается в I и IV квартале 2013 года.

Рисунок 24



В хозяйстве 3 в первом квартале 2013 года средний уровень антител низкий и не достигает диагностических значений. В последующие кварталы наблюдается постепенное увеличение значения среднего титра антител, что указывает на высокий уровень защиты животных.

При молекулярно-генетических исследованиях вирус ПГ-3 КРС не был выделен ни в одном из обследуемых хозяйств.

3.3.7. Изучение этиологии массовых вспышек респираторных инфекции телят в хозяйствах Московской области по результатам молекулярно-генетических исследований

Результаты серологических исследований в трех обследуемых хозяйствах Московской области подтверждали молекулярно-генетическими исследованиями, результаты которых обобщили в виде таблицы (таблица 4).

В изолятах, полученных в хозяйствах 1 и 3, на основании анализа нуклеотидной последовательности генома, был идентифицирован герпесвирус КРС 1-го типа (возбудитель ИРТ). В хозяйстве 1 также идентифицирован герпесвирус КРС 5-го типа.

**Результаты исследования в ПЦР и ОТ-ПЦР клинического
и патологического материала от телят с респираторной патологией
в хозяйствах Московской области**

Исследуемые вирусы	Гены-мишени, кодирующие полипептиды:	Результаты по хозяйствам		
		Хозяйство 1	Хозяйство 2	Хозяйство 3
Герпесвирус КРС типа 1	Гликопротеин В	<u>положительный</u>	отрицательный	<u>положительный</u>
Герпесвирус КРС типа 5	То же	<u>положительный</u>	отрицательный	отрицательный
Герпесвирус КРС типа 4	»	отрицательный	отрицательный	отрицательный
Герпесвирус КРС типа 2	»	отрицательный	отрицательный	отрицательный
Аденовирус КРС типа 3	Протеин DBP	отрицательный	отрицательный	отрицательный
Коронавирус КРС	Гликопротеин S	отрицательный	отрицательный	отрицательный
Герпесвирус коровьих антилоп типа 1 (вирус катаральной горячки)	Гликопротеин В	отрицательный	отрицательный	отрицательный
Лимфотропный гаммагерпесвирус КРС	ДНК-полимераза	отрицательный	отрицательный	<u>положительный</u>
Респираторно-синцитиальный вирус	Протеин F	отрицательный	отрицательный	отрицательный
Вирус ПГ-3 КРС	Протеин М	отрицательный	отрицательный	отрицательный
Вирус ВД-БС КРС	Протеин NS3	отрицательный	отрицательный	отрицательный

3.3.8. Обнаружение лимфотропного гамма-герпесвируса крупного рогатого скота

Молекулярно-генетическими исследованиями в хозяйстве 3 во время повторной вспышки заболевания, был выявлен нетипичный для респираторной инфекции возбудитель – лимфотропный гаммагерпесвирус КРС (таблица 4).

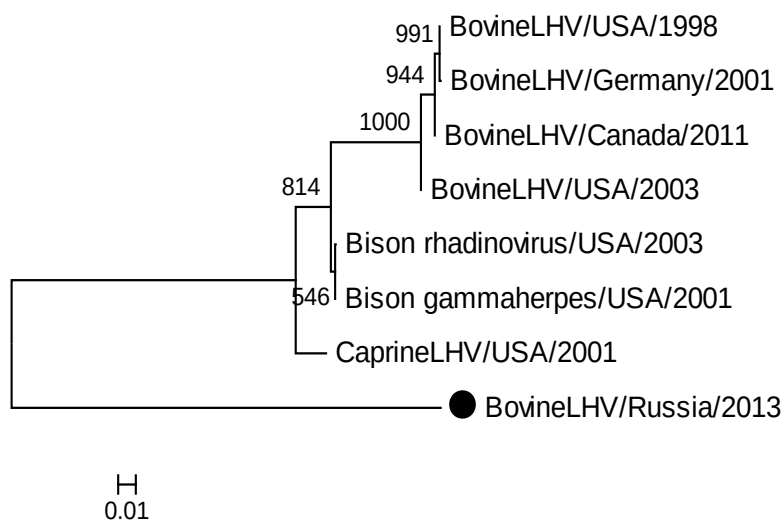
Данный возбудитель ранее не был зарегистрирован на территории Российской Федерации

Сравнительный анализ последовательности нуклеотидов исследуемого вируса с таковыми референтных штаммов из

международной базы данных INSd выявил сходство первичной структуры участка генома на 98% с канадским штаммом лимфотропного гамма-герпесвируса крупного рогатого скота из провинции Квебек (рисунок 25).

Рисунок 25

Дендрограмма, отражающая степень филогенетического родства между эпизоотическим вирусом и референтными штаммами лимфотропного гамма-герпесвируса крупного рогатого скота, основанного на анализе нуклеотидной последовательности на участке генома, кодирующего вирусную ДНК-полимеразу



4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

В 67-70 гг. прошлого столетия в России (Советском Союзе) сложилась сложная эпизоотическая обстановка по респираторным заболеваниям крупного рогатого скота. Обусловлена она массовым завозом племенного скота, прежде всего, черно-пестрого (голштино-фризы) из ряда стран Западной Европы, США, Канады и др. Этиология массовых вспышек респираторных инфекций на первых порах оставалась неизвестной, средства и методы диагностики и специфической профилактики отсутствовали. Вследствие контактов импортированных животных с местным неиммунным скотом вспышки ИРТ, ПГ-3, ВД и др. заболеваний с респираторным синдромом характеризовались острым течением, большим отходом, быстрым охватом поголовья.

Исследованиями, проведенными в связи с этим в ВИЭВ, а также в Московской ветеринарной академии на кафедре вирусологии в конце 60 – начале 70 годов XX века были выделены и идентифицированы вирусы ринотрахеита, парагриппа, вирусной диареи и др. Указанное определило необходимость создания и внедрения в биофабричное производство и ветеринарную практику ряд вакцин и диагностикумов.

Широкое применение вакцин российских и зарубежных производителей, определенным образом изменили характер течения и проявления вирусных респираторных инфекций в животноводческих хозяйствах. Заболевание стало чаще проявляться в атипичной, стертой форме. Сочетание специфической профилактики с общими ветеринарно-санитарными мероприятиями позволило снизить потери от карантинных вирусных инфекций, таких, например, как инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота во многих хозяйствах. Однако проблема респираторной патологии молодняка крупного рогатого скота разного возраста сохраняет свою актуальность и является одной из основных причин существенных экономических потерь.

Картографический анализ импорта крупного рогатого скота в Россию по отдельным странам показывает, что основными экспортерами являются США (43,8%) и Австралия (28,8%). На долю стран Европейского союза суммарно приходится около 25,6% от всего экспорта в Российскую Федерацию.

Методом картографии нами показано, что большинство стран-экспортеров (за исключением Австрии, Дании, Словакии, Финляндии и Швеции – суммарно 8,7% от всех ввезенных животных) в течение всего прослеживаемого периода (2011-2014 гг.) неблагополучны по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота. Полученные результаты подтверждаются литературными данными (Мищенко В.А. и др., 2012).

Учитывая свойство герпесвирусов, в том числе возбудителя ринотрахеита крупного рогатого скота, персистировать в организме восприимчивых животных (Мищенко В.А. и соавт., Юров К.П. и соавт., Winkler M.T.C. et al.), можно полагать, что угроза заноса возбудителя на территорию Российской Федерации при ввозе племенного скота оценивается как высокая.

По-видимому, высок риск заноса на территорию страны и других герпесвирусов крупного рогатого скота. Таких, например, как герпесвирус крупного рогатого скота 5 типа, циркуляция которого на территории нашей страны зарегистрирована в процессе наших исследований. Данный возбудитель генетически родственен герпесвирусу крупного рогатого скота 1 типа, но не идентичен ему. В соответствии с литературными данными иммунизация животных вакциной против ИРТ предотвращает развитие инфекционного процесса, вызываемого герпесвирусом крупного рогатого скота 5 типа, но не предотвращает латентную инфекцию и персистенцию этого возбудителя в организме восприимчивых животных (Cascio K.E. et al, 1999).

Учитывая приведенные данные, мы предположили, что именно с племенным крупным рогатым скотом, вакцинированным против ИРТ, герпесвирус крупного рогатого скота 5 типа и был занесен на территорию Российской Федерации. Учитывая неблагополучие основных стран-экспортеров крупного рогатого скота в Россию по ИРТ, а также возможную циркуляцию на территории этих стран герпесвируса крупного рогатого скота 5 типа, угроза заноса этого возбудителя на территорию Российской Федерации при ввозе племенного скота также оценивается нами как высокая.

Филогенетический анализ консервативных участков генома, кодирующих гликопротеин В эпизоотических изолятов и референтных штаммов герпесвирусов крупного рогатого скота 1 и 5 типа, проведенный нами с использованием собственных данных и материалов международной базы данных INSD, позволил подтвердить консервативность участка генома ответственного за синтез гликопротеина В данных вирусов.

В ходе исследований нами также было установлено, что штамм BGB-1 – 2006 из коллекции ФГБНУ «ВИЭВ им. Я.Р. Коваленко», который до настоящего времени хранился как штамм герпесвируса крупного рогатого скота 1 типа, на самом деле является штаммом герпесвируса крупного рогатого скота 5 типа.

Это позволяет сделать заключение, что герпесвирус крупного рогатого скота 5 типа циркулирует на территории Российской Федерации уже в течении достаточно продолжительного периода времени.

При анализе сезонной динамики антител к ИРТ и ВД-БС крупного рогатого скота в трех племенных животноводческих хозяйствах с поголовьем по 1500-2000 животных отмечено, что в двух хозяйствах – 1 и 3 в осенний период наблюдается высокий титр антител против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. В течение последующего периода наблюдений происходит значительное снижение уровня антител и в летние месяцы (второй квартал 2013 г.) их титр

значительно ниже. Титр антител к вирусной диарее крупного рогатого скота в указанных хозяйствах не достигает диагностических значений в течение всего периода наблюдений. Последующее обострение инфекционного процесса возможно при воздействии неблагоприятных факторов.

В хозяйстве 1 при проведении молекулярно-генетических исследований, выделения генетического материала герпесвируса крупного рогатого скота 1 типа из биологического материала совпадали с наивысшими уровнями антител к этому возбудителю.

В хозяйстве 3, при отсутствии вакцинации, в осенне-зимний период регистрируется пик заболеваемости телят с респираторной патологией.

Эпизоотическая обстановка по болезням молодняка в хозяйстве 2 характеризуется следующим: в весенне-осенний период происходит резкое нарастание титра антител к возбудителю вирусной диареи крупного рогатого скота, титры антител к вирусу инфекционного ринотрахеита достигают диагностических значений в весенне-летний период (III квартал 2012 г. и II квартал 2013 г.). На указанный период приходится максимальное количество больных животных. В это же время в хозяйстве проводится плановая вакцинация глубокостельных коров.

При этом, несмотря на высокие титры антител к инфекционному ринотрахеиту и вирусной диарее во втором хозяйстве, при молекулярно-генетических исследованиях нам не удалось выделить генетический материал вирусов – возбудителей данных заболеваний. На фоне применения в данном хозяйстве многокомпонентной вакцины полученные результаты могут свидетельствовать о том, что зафиксированный нами методом ИФА уровень антител соответствует уровню колострального иммунитета телят. Пики уровня антител в данном случае могут свидетельствовать либо о низком иммунном ответе стельных сухостойных коров (низкий уровень колострального иммунитета), либо о несвоевременном выпаивании молозива новорожденным телятам. Таким

образом, повышенные титры антител являются следствием применения многокомпонентной вакцины. Тем не менее, в данном случае нельзя исключать персистентную инфекцию, которая в осенне-зимний период переходит в клиническую стадию на фоне неблагоприятных зоотехнических условий содержания телят, что в свою очередь вызывает повышение уровня антител в крови телят в весенне-летний период (зарегистрированные нами пики уровня антител). На фоне повышения титра антител вирус переходит в стадию персистирования. Похожие случаи описаны в публикациях В.А. Мищенко с соавт. (2012 г.), К.П. Юрова с соавт. (1998 г.), Winkler M.T.C. et al (2000 г.).

Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать заключение зависимости интенсивности эпизоотического процесса в неблагополучных по респираторным заболеваниям хозяйствах от сезона года.

Эффективность используемых в обследуемых нами хозяйствах вакцин была прослежена посредством изучения изменения титра антител к вирусу парагриппа-3 крупного рогатого скота. При проведении этих исследований мы руководствовались следующими данными:

1. Обследуемые нами хозяйства официально благополучны по парагриппу-3 крупного рогатого скота.

2. При молекулярно-генетических исследованиях генетический материал вируса парагриппа-3 крупного рогатого скота нами выделен не был.

3. Возможная персистентная инфекция, описанная K.S. Tsai et al в 1977 г., была исключена в ходе проведения исследований (пики антител точно соответствуют периодам применения соответствующих вакцин в хозяйствах и, по нашим предположениям, отражают эффективность проведенных мероприятий).

В хозяйстве 1 вакцинация животных против возбудителей респираторных заболеваний не практикуется. Вследствие этого средний

титр антител к парагриппу-3 КРС в течение года находится практически на одном уровне, не достигая при этом диагностического значения.

В хозяйстве 2 используется многокомпонентная вакцина. Пик антител в I и IV квартале 2013 г., вероятно, свидетельствует о низком иммунном ответе стельных сухостойных коров (низкий уровень колострального иммунитета), либо о несвоевременном выпаивании молозива новорожденным телятам.

В хозяйстве 3 вакцинация племенного ядра основного стада проводилась по нашей рекомендации в конце первого квартала 2013 года. Иммунный ответ контролировали спустя 3 месяца – в конце второго квартала 2013 года. Для первого исследования пробы крови получали у телят, родившихся как от вакцинированных, так и от не вакцинированных коров. В последующем исследовали телят, полученных только от вакцинированных коров. Анализ полученных результатов позволяет сделать заключение об эффективности вакцины, применявшейся в данном хозяйстве. В первом квартале 2013 года (до применения вакцины) средний уровень антител низкий и не достигает диагностических значений. В последующие кварталы наблюдается постепенное увеличение значения среднего титра антител, что указывает на высокий уровень защиты животных.

Таким образом, данные клинического, серологического, вирусологического обследования хозяйств свидетельствуют о том, что течение эпизоотического процесса в хозяйствах существенно зависит от условий содержания животных, возраста, сезона года, давности циркуляции возбудителя в хозяйстве, принятой схемы вакцинации, сроков неблагополучия хозяйства по респираторным инфекциям. Результаты серологических исследований подтверждаются положительными результатами выявления вирусов ИРТ и ВД-БС молекулярными методами – ПЦР и ОТ-ПЦР.

При проведении молекулярно-генетических исследований было установлено, что в хозяйстве 3 второй пик антител ассоциируется с гамма-герпесвирусом КРС.

Лимфотропный гамма-герпесвирус крупного рогатого скота по данным J. Rovnak et al. (1998 г.) зарегистрирован в США, Канаде, Великобритании, Бельгии. Патогенез инфекции изучен недостаточно.

Следует отметить, что еще в 1969 году группой советских ученых: Б.И. Суриным, А.Ф. Валиховым, Г.А. Надточим и другими впервые был выделен от коров, больных лейкозом, а в последующие годы детально описан вирус бычьего герпеса. Но дальнейшее изучение выделенного вируса в СССР не проводилось и принадлежность вируса, описанного советскими учеными к альфа- или гамма-герпесвирусам в настоящее время не установлена и дальнейшие исследования в этом направлении в нашей стране не проводились.

Тем не менее способность ретро- и герпесвирусов играть роль кофактора в инфекционном процессе была обнаружена еще в 1973 г. в США W.P. Peters et al при изучении смешанной инфекции лейкоза и болезни Марека у птиц. По данным исследователей, результатом такого синергизма является трансактивация экспрессии ретровирусов под действием герпесвирусов.

J. Rovnak с соавторами выделили генетический материал лимфотропного гамма-герпесвируса крупного рогатого скота из клеток крови и считают, что данный возбудитель может рассматриваться как кофактор в патогенезе энзоотического лейкоза крупного рогатого скота.

Однако, обследованное нами поголовье длительное время благополучно по лейкозу крупного рогатого скота. Мы не располагаем достаточными сведениями об этиологической роли гамма-герпесвируса в респираторной патологии телят, является ли он возбудителем заболевания или выполняет роль вируса-помощника. Тем не менее, мы полагаем, что дальнейшие исследования с целью определения роли этого

вируса в инфекционной патологии респираторных органов крупного рогатого скота имеет существенное значение, поскольку позволит объяснить определенные недостаточно изученные стороны патогенеза этих заболеваний.

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований, проведенных нами в нескольких племенных хозяйствах, завозивших племенной крупный рогатый скот из-за рубежа в последнее время, выделен герпесвирус 5 типа. Возможно, что вирус является одним из ведущих этиологических факторов массовых инфекций животных в странах, экспортирующих племенной скот и продукты животноводства в Российскую Федерацию. Однако в соответствующих отечественных публикациях, в том числе известных авторов (Глотов и соавт., Мищенко и соавт. и др.) мы не обнаружили сообщений о регистрации этого возбудителя на территории страны.

При оценке угрозы риска заноса возбудителя ИРТ в Россию установлено, что большинство стран-экспортеров (за исключением Австрии, Дании, Словакии, Финляндии и Швеции – суммарно 8,7% от всех ввезенных животных) в течение всего прослеживаемого периода (2011-2014 гг.) неблагополучны по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота, которое наносит большой экономический ущерб животноводству этих стран. В связи с этим полученные нами данные могут быть использованы при разработке правил противодействия дальнейшему распространению герпесвируса крупного рогатого скота 5 типа.

Методами молекулярно-генетических исследований идентифицирован геном лимфотропного гамма-герпесвируса крупного рогатого скота. Литературных данных об участии этого вируса в патологии органов дыхания на территории России нами не обнаружено. Ряд зарубежных исследователей (J. Rovnak et al., 1998, Carl A. Gagnon et al., 2010) считает, что вирус может рассматриваться, как кофактор в патогенезе энзоотического лейкоза крупного рогатого скота. Однако наши исследования указывают на возможность ведущей роли

лимфотропного гамма-герпесвируса в этиологии респираторных заболеваний телят, в ряде случаев.

6. ВЫВОДЫ

1. На основе литературных данных, материалов, размещенных в открытом доступе на сайте Международного эпизоотического бюро, а также по результатам статистической обработки данных ежегодной ветеринарной отчетности, предоставленных ФГБУ «Центр ветеринарии», используя элементы ГИС технологии, проведен анализ распространенности герпесвируса крупного рогатого скота 1 типа на территории Российской Федерации и в мире.

2. При вирусологических, серологических и молекулярно-генетических исследованиях в нескольких типичных животноводческих хозяйствах обнаружены респираторные вирусы крупного рогатого скота, не регистрировавшиеся на территории Российской Федерации, в том числе альфа-герпесвирус крупного рогатого скота 5-типа (BoHV-5), иммунологически родственный, но не идентичный возбудителю ИРТ (BoHV-1) и лимфотропный гамма-герпесвирус крупного рогатого скота. Показано участие лимфотропного гамма-герпесвируса крупного рогатого скота в этиологии респираторных заболеваний телят, при этом исключены (методами ПЦР, ОТ-ПЦР) герпесвирусы 1, 2, 3, 4 и 5 типов, а также возбудители вирусной диареи-болезни слизистых, парагриппа 3, респираторно-синцитиальной, адено- и короновirusной инфекций.

3. Проведен сравнительный филогенетический анализ выявленных в хозяйствах Московской и Псковской областей эпизоотических изолятов и музейных штаммов герпесвирусов крупного рогатого скота. Отмечено отсутствие значимых изменений в консервативном участке генома, кодирующего гликопротеин В, штаммов герпесвируса крупного рогатого скота 1 типа (BoHV-1) циркулировавших ранее.

4. Отмечена зависимость интенсивности эпизоотического процесса в неблагополучных по респираторным заболеваниям хозяйствах от возраста телят и сезона года.

5. Филогенетический анализ консервативных участков генома, кодирующих гликопротеин В эпизоотических изолятов и референтных штаммов герпесвирусов крупного рогатого скота 1 и 5 типа, подтвердил консервативность участка генома ответственного за синтез гликопротеина В данных вирусов.

6. С учетом полученных результатов проведен анализ рисков заноса вирусов – возбудителей респираторных болезней крупного рогатого скота при ввозе племенных животных из зарубежных стран. Степень риска оценена как высокая.

7. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. При планировании ввоза крупного рогатого скота из-за рубежа необходимо учитывать эпизоотический статус страны-экспортера не только по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота, но и по остальным герпесвирусным инфекциям.

2. Проводить исследование крупного рогатого скота, ввезенного на территорию Российской Федерации из зарубежных стран, в период 30 дневного карантина на герпесвирусные инфекции, независимо от его статуса вакцинации против инфекционного ринотрахеита.

3. Массовые обработки крупного рогатого скота в хозяйствах проводить с учетом сезонности респираторных заболеваний молодняка.

4. Для профилактики герпесвирусных заболеваний крупного рогатого скота можно применять уже разработанные отечественной и зарубежной промышленностью иммунобиологические препараты, зарегистрированные установленным порядком на территории России, без обновления их антигенного состава.

5. При лабораторном подтверждении диагноза на инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота проводить дифференциальную лабораторную диагностику возбудителя инфекции (BoHV-1, BoHV-5). Для дифференциальной диагностики можно использовать разработанные нами Методические рекомендации по молекулярной диагностике альфа-герпесвирусных инфекций крупного рогатого скота 1 и 5 типа.

8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеенкова С.В. Проверка клеточных культур на контаминацию вирусом диареи КРС – необходимое условие производства биологических препаратов / С.В. Алексеенкова, Г.К. Юров, Т.В. Гальнбек и др. // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные – 2013. – № 1. – С. 15-18.
2. Бурба Л.Г. Роль вирусов в этиологии лейкозов крупного рогатого скота / Л.Г. Бурба, А.Ф. Валихов, Г.А. Надточей и др. – М., 1976. – С. 21.
3. Валихов А.Ф. Электронно-микроскопическое исследование вируса группы герпеса, выделенного из культуры клеток селезенки коровы, больной лимфойдным лейкозом / А.Ф. Валихов, А.П. Головченко, Г.А. Надточей // Бюл. ВИЭВ. – 1974. – Вып. 17. – С. 20-21.
4. Верховская А.Е. Распространение и специфическая профилактика вирусных инфекций крупного рогатого скота. / А.Е. Верховская, Е.А. Мокеева // Ветеринария. – 2010. – № 3. – С. 20-23.
5. Гаффаров Х.З. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорождённых телят и поросят / Х.З. Гаффаров, А.В. Иванов, Е.А. Непоклонов и др. – Казань: ФЭН. – 2002. – 592 с.
6. Глотов А.Г. Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота (обзор литературы) / А.Г. Глотов // Ветеринария. – 2008. – № 6. – С. 56-60.
7. Глотов А.Г. Выделение на территории Российской Федерации нецитопатогенного изолята 2-го генотипа вируса диареи – болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота. / А.Г. Глотов, Т.И. Глотова, А.В. Нефедченко // Вопросы вирусологии. – 2009. – № 6. – С. 43-49.
8. Глотов А.Г. Мониторинг возбудителей инфекционных болезней высокопродуктивного молочного скота, в том числе поступившего по импорту, на территории Сибири и Дальнего востока / А.Г. Глотов,

- Т.И. Глотова, О.В. Семенова и др. // Материалы VI Международного ветеринарного конгресса – Сочи. – 2016 г. – 9 с.
9. Глотов А.Г. Нетипичные пестивирусы крупного рогатого скота (обзор) / А.Г. Глотов, Т.И. Глотова // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – т. 50. – № 4. – С. 399-408.
 10. Глотов А.Г. Особенности проявления вирусных и ассоциативных вирусно-бактериальных болезней крупного рогатого скота. // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2006. – № 8. – С. 15-24.
 11. Глотов А.Г. Пестивирусы жвачных животных / А.Г. Глотов, Т.И. Глотова, А.Ф. Шуляк // Вопросы вирусологии. – 2016. – № 61 (2). – С. 59-62.
 12. Глотов А.Г. Роль вируса вирусной диареи – болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота в патологии воспроизводства на молочных комплексах Сибири / А.Г. Глотов, Т.И. Глотова, О.В. Семенова и др. // Материалы VI Международного ветеринарного конгресса – Сочи. – 2016 г. – 9 с.
 13. Глотов А.Г. Сравнительное изучение патогенности изолятов вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота / А.Г. Глотов, А.Ф. Шуляк, Т.И. Глотова // Российский ветеринарный журнал. – 2005. – № 1. – С. 6-8.
 14. Глотов А.Г. Этиология бронхопневмоний крупного рогатого скота на молочных комплексах / А.Г. Глотов, Т.И. Глотова, О.В. Семенова и др. // Ветеринария. – 2014. – № 4. – С. 7-11.
 15. Глотов А.Г. Эффективность вакцинации при профилактике аборт, вызванных вирусом диареи крупного рогатого скота / А.Г. Глотов, В.В. Краснов, Т.И. Глотова // Вестник КрасГАУ. – 2009. – № 8. – С. 89-94.
 16. Глотова Т.И. Действие препаратов экзогенного интерферона на вирус вирусной диареи – болезни слизистых крупного рогатого скота /

- Т.И. Глотова, О.В. Кунгурцева, А.Г. Готов // Аграрный вестник Урала. – 2012. – № 5 (97). – С. 34-36.
17. Глотова Т.И. Эффективность нового препарата в отношении вируса вирусной диареи крупного рогатого скота. / Т.И. Глотова, А.Г. Готов, О.В. Семенова и др. // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. – 2014. – Т. 2. – № 7. – С. 358-362.
 18. Дмитриев А.Ф. Внутритружное инфицирование потомства у продуктивных животных. / А.Ф. Дмитриев // Ветеринарная патология. – 2012. – № 2. – С. 25-29.
 19. Думова В.В. Превалентность антител к вирусу вирусной диареи крупного рогатого скота в сыворотке крови жвачных животных / В.В. Думова, В.А. Мищенко, А.В. Мищенко и др. // Ветеринария Кубани. – 2012. – № 5. – С. 19-20.
 20. Жидков С.Л. Роль вирусной диареи в этиологии респираторных и желудочно-кишечных болезней телят / С.Л. Жидков // Вестник РАСХН. – 1995. – № 3. – С. 50-53.
 21. Закутский Н.И. Герпесвирусные болезни животных / Н.И. Закутский, И.Ю. Хухоров, В.И. Жестерев и др. – Владимир/Покров: «Фолиант», 2003. – С. 88-96.
 22. Закутский Н.И. Оценка иммуногенности различных форм вакцины инфекционного ринотрахеита / Н.И. Закутский, В.И. Жестерев // Вопр. вет. вирусол., микробиол. и эпизоотол. – 1992. – Т. 1. – С. 142-143.
 23. Зотов А.П. Параинфлюэнца крупного рогатого скота / А.П. Зотов, Н.Н. Крюков, А.В. Акулов и др. // Ветеринария. – 1969. – № 11. – С. 58-59.
 24. Зудилина З.Ф. Выделение и идентификация вируса параинфлюэнцы-3 от крупного рогатого скота / З.Ф. Зудилина, Н.Н. Крюков // Материалы 2-ой научной конференции ВИЭВ, М., 1970. – С. 58-60.

25. Инфекционная патология. / Под редакцией А.Я. Самуйленко и соавт. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – Т. 1. – С. 633-758, 687-691.
26. Коваленко Я.Р. Иммунодепрессивное действие специфических антисывороток на поствакцинальный иммунитет. / Я.Р. Коваленко, Ю.Н. Федоров, Н.А. Лихотина // Сельскохозяйственная биология. – 1976. – т. 11. – № 6. – С. 825-830.
27. Коваленко Я.Р. Роль пассивного иммунитета в специфической профилактике заболеваний сельскохозяйственных животных. / Я.Р. Коваленко, Ю.Н. Федоров // Труды ВИЭВ. – 1979. – т. 49. – С. 25-33.
28. Концевая Н.Н. Вакцины КОМБОВАК 2+Л и КОМБОВАК 4+Л для создания колюstralного иммунитета у молодняка крупного рогатого скота. / Н.Н. Концевая, Г.Л. Соболева, И.В. Непоклонова // Ветеринария. – 2016. – № 5. – С. 8-13.
29. Концевая Н.Н. Инактивированные комбинированные вакцины для профилактики инфекционных абортов коров / Н.Н. Концевая, Г.Л. Соболева, И.В. Непоклонова // Ветеринария. – 2013. – № 11. – С. 10-16.
30. Костыркин Ю.А. Меры профилактики и борьбы с инфекционным ринотрахеитом – инфекционным пустулезным вульвовагинитом КРС в условиях молочного скотоводства / Ю.А. Костыркин, В.А. Мищенко, И.В. Нестеренко и др. // Труды ФГУ «ВНИИЗЖ». – 2005. – № 1. – С. 171-183.
31. Крюков Н.Н. Изучение вирусной этиологии бронхопневмонии телят / Н.Н. Крюков, А.В. Родникова, Ю.Д. Караваев / В кн.: Проблемы ветеринарной иммунологии. – М. – 1968. – вып. 4. – С. 8-10.
32. Крюков Н.Н. Инфекционный ринотрахеит КРС. / Н.Н. Крюков, К.П. Юров // Труды ВИЭВ. – 1970. – Т. 37. – С. 148-150.

33. Крюков Н.Н. О неспецифической профилактике вирусной диареи крупного рогатого скота / Н.Н. Крюков, З.Ф. Зудилина, К.П. Юров и др. // Ветеринария. – 1978. – №. 1. – С. 37-39.
34. Крюков Н.Н. Ранняя устойчивость телят к инфекционному ринотрахеиту. / Н.Н. Крюков, А.Ф. Шуляк, О.Н. Щегловитова и др. // Ветеринария. – 1990. – № 9. – С. 28-31.
35. Крюков Н.Н. Серопрофилактика инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. / Н.Н. Крюков, С.А. Жидков, З.Ф. Зудилина и др. // Труды ВИЭВ. – 1975. – т. 43. – С. 185-190.
36. Крюков Н.Н. Специфическая профилактика вирусных респираторных болезней сельскохозяйственных животных. / Н.Н. Крюков // Труды ВИЭВ. – 1982. – Т. 55. – С. 52-56.
37. Кудрявцев В.А. Сравнительный анализ вариабельных фрагментов НЕ и S генов различных штаммов и изолятов коронавируса КРС / В.А. Кудрявцев, Г.Н. Дороненкова, П.К. Аянот // Генодиагностика инфекционных заболеваний: Сборник тезисов 4-ой Всероссийской научно-практической конференции. – М., 2002. – С. 345-347.
38. Макаримов А.С. Специфическая профилактика вирусных заболеваний крупного рогатого скота в Республике Удмуртия. [Электронный ресурс]. / А.С. Макаримов, Г.Н. Бурдов, В.А. Сергеев // НПО НАРВАК, г. Москва – Режим доступа: http://www.narvac.com/art_udm.htm
39. Манин Б.Л. Линия клеток почки теленка *bos taurus rbt (rene bos taurus)* для репродукции вирусов животных [Электронный ресурс]. / Б.Л. Манин, С.В. Хлебопашникова, М.Н. Лабзова и др. // Патент – Режим доступа: <http://www.findpatent.ru/patent/248/2488631.html>
40. Мищенко А.В. Злокачественная катаральная горячка крупного рогатого скота / А.В. Мищенко, С.Н. Фомина, В.А. Мищенко и др. // Ветеринария Кубани. – 2015. – № 1. – С. 9-10.

41. Мищенко А.В. Ошибки при клинической диагностике ящура у крупного рогатого скота / А.В. Мищенко, В.А. Мищенко, Г.А. Джаилиди и др. // Ветеринария Кубани. – 2014. – № 1. – С. 22-23.
42. Мищенко А.В. Экологические особенности герпесвируса крупного рогатого скота типа 5 / А.В. Мищенко, В.А. Мищенко, В.В. Думова и др. // Ветеринария Кубани. – 2015. – № 2. – С. 19-22.
43. Мищенко В.А. Вакцинация новорожденных телят против ИРТ и ПГ-3 КРС / В.А. Мищенко, Ю.А. Костыркин, Н.А. Яременко и др. // Ветеринария. – 2003. – № 7. – С. 19-22.
44. Мищенко В.А. Проблема борьбы и профилактики инфекционного ринотрахеита – инфекционного пустулезного вульвовагинита крупного рогатого скота / В.А. Мищенко, Г.А. Джаилиди, О.Ю. Черных и др. // Ветеринария Кубани. – 2012. – № 6. – С. 3-5.
45. Мищенко В.А. Проблема респираторной патологии новорожденных телят / В.А. Мищенко, А.В. Мищенко, О.В. Черных // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 6. – С. 19-20.
46. Мищенко В.А. Экологические особенности герпесвируса крупного рогатого скота 4 типа / В.А. Мищенко, В.В. Думова, А.В. Мищенко и др. // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 2. – С. 11-13.
47. Мищенко В.А. Экологические особенности герпесвирусов крупного рогатого скота / В.А. Мищенко, Н.А. Яременко, О.Н. Сухарев и др. – Воронеж, 1999. – С. 125-126.
48. Морозов И.А. Рестрикционный анализ и молекулярное клонирование ДНК вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.23 / Морозов Игорь Анатольевич – Москва. – 1991. – 24 с.
49. Муруева Г.Б. Эпизоотологические и клинические особенности злокачественной катаральной горячки крупного рогатого скота при экстенсивном ведении животноводства / Г.Б. Муруева // Вестник

Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2013. – № 3. – С. 24-29.

50. Надточей Г.А. Электронно-микроскопическое исследование герпетических вирусов, выделенных от коров, больных различными формами лейкоза / Г.А. Надточей, А.Ф. Валихов, Б.И. Сурин // Бюл. ВИЭВ. – 1974. – Вып. 17. – С. 18-19.
51. О результатах работы референтной лаборатории болезней КРС ФГБУ «ВНИИЗЖ» за 1 квартал 2015 г. [Электронный ресурс]. / Новости с официального сайта Россельхознадзора // 2015 г. – Режим доступа: <http://www.fsvps.ru/fsvps/news/13068.html>
52. Осмаев И.А. Иммуномодулирующие свойства эндогенного интерферона у телят / И.А. Осмаев, К.П. Юров, М.П. Неустроев // Ветеринария. – 2007. – № 1. – С. 11-12.
53. Сергеев О.В. Иммунобиологические и патогенетические особенности вирусной диареи крупного рогатого скота. / О.В. Сергеев // Ветеринария Кубани. – 2009. – № 5. – С. 23-26.
54. Соколов М.Н. Выявление вируса парагриппа при респираторной патологии ягнят. / М.Н. Соколов // Ветеринария. – 1978. – № 1. – С. 40-41.
55. Сурин Б.И. Выделение вируса герпеса от коровы, больной лимфосаркомой / Б.И. Сурин, Г.А. Надточей, А.Ф. Валихов – В кн.: «Тезисы докладов Всесоюзной межвузовской научной конференции по ветеринарной вирусологии». М., 1973. – Часть 2. – С. 16-17.
56. Сурин Б.И. Выделение и идентификация вируса герпеса крупного рогатого скота / Б.И. Сурин, А.М. Лактионов, Б.Е. Блехерман и др. // Доклады ВАСХНИЛ. – 1969. – № 10. – С. 35-38.
57. Сурин Б.И. Выделение и некоторые свойства вируса бычьего герпеса / Б.И. Сурин, Г.А. Надточей – В сб.: «Всесоюзный симпозиум по проблеме лейкозов сельскохозяйственных животных». Харьков, 1972. – С. 18-19.

58. Сурин Б.И. Изоляция вируса герпеса из крови коровы, больной лимфосаркомой / Б.И. Сурин, А.Ф. Валихов, Г.А. Надточей // Бюл. ВИЭВ. – 1974. – Вып. 17. – С. 24-25.
59. Сюрин В.Н. Вирусные болезни животных. / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев и др. – М.: ВНИТИБП, 1998. – 928 с.
60. Хитрова А.Е. Применение комбинированных вакцин серии Комбовак для специфической профилактики инфекционных болезней крупного рогатого скота [Электронный ресурс]. / А.Е. Хитрова, Г.П. Соболева, Т.И. Алипер // НПО НАРВАК, г. Москва – Режим доступа: http://www.narvac.com/art_x_telata.htm
61. Шегидевич Э.А. Природа, этиологическая структура, патогенез, диагностика массовых желудочно-кишечных заболеваний новорождённых телят и меры борьбы с ними / Э.А. Шегидевич, М.М. Гоголев, С.А. Жидков и др. // В сб.: Труды ВИЭВ. – 2003. – Т. 73. – С. 15-22.
62. Штрауб О.Х. Инфекции крупного рогатого скота, вызываемые герпесвирусами. / О.Х. Штрауб – М.: Колос, 1984. – С. 43-112.
63. Шульпин М.И. Индикация вируса диареи крупного рогатого скота, генотипирование и филогенетический анализ изолятов, выявленных на территории Российской Федерации / М.И. Шульпин, П.К. Аялот, В.А. Мищенко // Вопросы вирусологии. – 2003. – № 5. – С. 41-46.
64. Щербаков П.Н. Препарат для лечения и профилактики респираторных болезней молодняка сельскохозяйственных животных / П.Н. Щербаков, К.П. Юров, Ю.Д. Караваев и др. – Патент на изобретение от 22 августа 2000 г. № 2180239.
65. Юров Г.К. Антигенные свойства нецитопатогенных штаммов вируса диареи КРС / Г.К. Юров, С.В. Алексеенкова, К.А. Диас Хименес и др. // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2013. – № 2. – С. 24-26.

66. Юров Г.К. Специфичность гуморальной иммунной реакции у быков-производителей на маркированную вакцину против ИРТ / Г.К. Юров, С.В. Алексеенкова, К.П. Юров // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2012. – № 3. – С. 14-16.
67. Юров К.П. Вирусные заболевания крупного рогатого скота и овец в СССР (проблемы профилактики и борьбы) / К.П. Юров, Ю.Д. Караваев // Труды ВИЭВ. – 1991. – Т. 69. – С. 3-8.
68. Юров К.П. Выделение латентного герпетического вируса лошадей / К.П. Юров // Ветеринария. – 1974. – № 4. – С. 49-50.
69. Юров К.П. Герпесвирусы – возбудители массовых заболеваний крупного рогатого скота / К.П. Юров, А.Ф. Шуляк // Ветеринария. – 1998. – № 11. – С. 10-12.
70. Юров К.П. Новый пестивирус – Хоби вирус – контаминант вакцины против чумы мелких жвачных животных / К.П. Юров, А.М. Аноятбекова, С.В. Алексеенкова // Ветеринария. – 2016. – № 10. – С. 8-11.
71. Юров К.П. Профилактика вирусных болезней телят / К.П. Юров // Ветинформ. – 2001. – № 2. – С. 12-13.
72. Юров К.П. Распространение инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи – болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота в различных регионах России / К.П. Юров, А.Ф. Шуляк, О.Г. Петрова и др. // Тр. ВИЭВ. – 2003. – Т. 73. – С. 22-25.
73. Юров К.П. Современный подход к диагностике респираторных инфекций крупного рогатого скота, вызываемых корона- и герпесвирусами / К.П. Юров, С.В. Алексеенкова, А.В. Пчельников и др. // Ветеринария. – 2013. – № 8. – С. 23-29.
74. Юров, К.П. Парвовирусная инфекция крупного рогатого скота / К.П. Юров, И.А. Третьякова, А.С. Вечеркин // Ветеринария. – 1994. – № 5. – С. 26-27.

75. Balboni A. The SARS-like coronaviruses: the role of bats and evolutionary relationships with SARS coronavirus / A. Balboni, M. Battilani, S. Prosperi // *New Microbiol.* – 2012. – V. 35. – № 1. – P. 1-16.
76. Bartha A. Isolation of a bovine herpesvirus from calves with respiratory disease and keratocconjunctivitis / A. Bartha, M. Juhasz, H. Libermann // *Acta vet Acad. Sci Hung.* – 1966. № 16. – P. 357-358.
77. Batts W.N. Genetic analysis of a novel nidovirus from fathead minnows / W.N. Batts, A.E. Goodwin, J.R. Winton // *J. Gen. Virol.* – 2012. – V. 93. – Pt. 6. – P. 1247-1252.
78. Bauermann F.V. HoBi-like viruses: an emerging group of pestivirus. / F.V. Bauermann, J.F. Ridpath, R. Weiblen et al. // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 2013. – № 25 (1). – P. 6-15.
79. Bender S.J. Murine coronavirus receptors are differentially expressed in the central nervous system and play virus strain-dependent roles in neuronal spread / S.J. Bender, J.M. Phillips, E.P. Scott et al. // *J. Virol.* – 2010. – V. 84. – № 21. – P. 11030-11044.
80. Benefield D.A. Cell culture propagation of a coronavirus isolated from cows with winter dysentery / D.A. Benefield, L.J. Saif // *J. Clinical Microbiol.* – 1990. – V. 28. – P. 1454-1457.
81. Bolles M. SARS-CoV and emergent coronaviruses: viral determinants of inter-species transmission / M. Bolles, E. Donaldson, R. Baric // *Curr. Opin. Virol.* – 2011. – V. 1. – № 6. – P. 624-634.
82. Brownlie G. Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhea virus / G. Brownlie // *Vet. Microbiol.* – 1990. – V. 23. – P. 371-373.
83. Bryson D.G. Parainfluenza-3 virus in cattle // In: *Infectious diseases of ruminants* / Eds. Z. Dinter, B. Morein. – Amsterdam: Elsevier Scientific Publishers, 1990. – P. 319-333.
84. Calisher C.H. Persistent emergence of Dengue / C.H. Calisher // *Emerg. Infect. Dis.* – 2005. – V. 11. – № 5. – P. 738-739.

85. Cascio K.E. Encephalitis induced by bovine herpesvirus 5 and protection by prior vaccination or infection with bovine herpesvirus 1 / K.E. Cascio, E.B. Belknap, P.C. Schultheiss et al. // J. Vet. Diagn. Invest. – 1999. – V. 11. – P. 134-139.
86. Cavanagh D. Coronaviruses in poultry and other birds / D. Cavanagh // Avian Pathol. – 2005. – V. 34. – № 6. – P. 439-448.
87. Chanel R.N. Alkhurma hemorrhagic fever in Ornithodoros savignyi ticks / R.N. Chanel, S. Fagbo, G. Mourean et al. // Emerg. Infect. Dis. – 2007. – V. 13. – № 1. – P. 153-155.
88. Chu D.K. Avian coronavirus in wild aquatic birds / D.K. Chu, C.Y. Leung, M. Gilbert et al. // J. Virol. – 2011. – V. 85. – № 23. – P. 12815-12820.
89. Collins James K. Malignant catarrhal fever: polymerase chain reaction survey for ovine herpesvirus 2 and other persistent herpesvirus and retrovirus infections of dairy cattle and bison / James K. Collins, Christa Bruns, Tracy L. Vermedahl et al. // J. Vet. Diagn. Invest. – 2000. – V. 12. – P. 406-411.
90. Corapi W.V. Thrombocytopenia and hemorrhages in veal calves infected with bovine viral diarrhea virus / W.V. Corapi, R.D. Elliot, T.W. French et al. // J. Amer. Vet. Med. Assoc. – 1990. – V. 196. – P. 590-596.
91. Czaplicki Y. An association exists between bovine Herpesvirus-4 seropositivity and abortion in cows / Y. Czaplicki, E. Thiry // Prev. Vet. Med. – 1998. № 3. – P. 235-240.
92. de Groot R.J. Family Coronaviridae / R.J. de Groot, S.C. Baker, R. Baric et al. // In: Virus Taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses / Eds. A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz. – Elsevier Science, 2011. – P. 806-828.
93. Deim Z. Detection of bovine herpesvirus 4 in aborted bovine placentas / Z. Deim, L. Szeredi, V. Tompo et al // Microb. Pathol. – 2006. – V. 41. – № 4-5. – P. 144-148.

94. Deptula W. Cell-mediated and humoral immunity in bulls infected with IBR/IPV virus (BHV1) / W. Deptula // Arch. Vet. Pol. – 1994. – V. 34. – P. 13-23.
95. Deregt D. Bovine viral diarrhea virus: biotypes and disease / D. Deregt, K.G. Loewen // Can Vet. J. – 1995. – V. 36. – P. 371-378.
96. Dewals B. Antibodies against bovine herpes 4 are highly prevalent in wild African buffaloes throughout eastern and southern Africa / B. Dewals, L. Gillet, T. Gerdes et al. // Vet. Microbiol. – 2005. – V. 110. – P. 209-220.
97. Ellis J.A. Bovine parainfluenza-3 virus / J.A. Ellis // Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. – 2010. – V. 26. – № 3. – P. 575-593.
98. Espinasse J. Winter dysentery of adult cattle / J. Espinasse, M. Savey, M. Viso // In Infectious Diseases of Ruminants / Eds. Z. Dinler, B. Morein. – Amsterdam: Elsevier Scientific Publishers, 1990. – P. 301-307.
99. Evermannj F. Clinical and Diagnostic implications of bovid herpesvirus type 4 (bovine cytomegalovirus) infections / F. Evermannj, G.M. Mueller, P.M. Dilbeck // Amer. Assn. Vet. Lab Dignost. – 1984. – P. 125-136.
100. Frank G.H. Parainfluenza type-3 / G.H. Frank // In: Veterinary Diagnostic Virology: A Practitioners Guide / Eds. A.E. Castro, W.P. Heuschele. – St. Louis: Mosby Yearbook, 1992. – P. 114-116.
101. French E.L.A. Specific virus encephalitis in calves isolation and characterization of the causal agent / E.L.A. French // Austral Vet. J. – 1962. – V. 38. – P. 216-221.
102. Fulton R.W. Challenge with Bovine viral diarrhea virus by exposure to persistently infected calves: protection by vaccination and negative results of antigen testing in non-vaccinated acutely infected calves / R.W. Fulton, B.J. Johnson, R.E. Briggs et al. // Can. J. Vet. Res. – 2006. – V. 70. – P. 121-127.
103. Gagnon Carl A., Detection of bovine lympotropicherpesvirus DNA in Tissues of bovine aborted fetus / Carl A. Gagnon, Allam Ossama, Richard

- Drolet, Donald Tremblay // Cross-Canada Disease Report CVJ – Vol. 51. – September 2010. – P. 1021-1022.
104. Gollan A. Aislamiento y caracterizacion del virus de la diarrea viral bovina en un ternero con sindrome purpurico / A. Gollan, Zoth S.A. Chimeno, M.E. Piccone et al. // Arch. Med. Vet. – 2006. – V. 38 – № 2. – P. 167-174.
105. Granzow H. Identification and ultrastructural characterization of a novel virus from fish / H. Granzow, F. Weiland, D. Fichtner et al. // J. Gen. Virol. – 2001. – V. 82. – Pt. 12. – P. 2849-2859.
106. Grard G. Genomics and evolution of Aedes-borne flaviviruses / G. Grard, G. Moureau, R.N. Chancel et al. // J. Gen. Virol. – 2010. – V. 91. – № 1 – P. 87-94.
107. Gubler D.J. Dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem / D.J. Gubler, G. Clark, G. Dengue // Emerg. Infect. Dis. – 1995. – V. 5. – № 2. – P. 55-57.
108. Ha D.Q. Dengue epidemic in Southern Vietnam, 1998 / D.Q. Ha, N.T.K. Tieh, V.T.Q. Huong et al. // Emerg. Infect. Dis. – 2000. – V. 16. – № 4. – P. 422-425.
109. Hasoksuz M. Isolation of bovine respiratory corona viruses from feedlot cat I le and comparision of their biological and antigenic properties with bovine enteric coronaviruses / M. Hasoksuz, S.L. Lathmp, K.L. Gadfield et al. // Amer. J. Vet. Re. – 1999. – V. 60. – P. 1227-1233.
110. Heckert R.A. A longitudinal study of bovine coronavirus enteric and respiratory infections in two dairy herds in Ohio / R.A. Heckert, L.J. Saif, K.H. Hoblet et al. // Vet. Microbiol. – 1990. – V. 22. – P. 187-201.
111. Horwood P.F. Identification of two distinct bovine parainfluenza virus type 3 genotypes / P.F. Horwood, J.L. Gravel, T.J. Mahony // Journal of General Virology – 2008. – V. 89. – P. 1643-1648.

112. Hughes L.A. Genetically diverse coronaviruses in wild bird populations of northern England / L.A. Hughes, C. Savage, C. Naylor et al. // *Emerg. Infect. Dis.* – 2009. – V. 15. – № 7. – P. 1091-1094.
113. Isernhagen A.J. Asymptomatic encephalitis in calves experimentally infected with bovine herpesvirus-5 / A.J. Isernhagen, M. Cosenza, M.C. da Costa et al. // *Canadian Veterinary Journal.* – 2011. V. 52. – P. 1312-1318.
114. Jensen R. Diseases of yearling feedlot cattle in Colorado / R. Jensen, R.E. Pierson, P.M. Braddy et al // *J.A.V.M.A.* – 1976. – № 169(5) – P. 97-99.
115. Junglen S. A new flavivirus and a new vector: characterization of a novel flavivirus isolated from *uranotaenia* mosquitoes from a tropical rain forest / S. Junglen, A. Kopp, A. Kurth et al. // *J. Virol.* – 2009. – V. 83. – № 9. – P. 4462-4468.
116. Ka'lma'n D. PCR detection of bovine herpesviruses from nonbovine ruminants in hungary / Do' ra Ka'lma'n, La'szlo' Egyed // *Journal of Wildlife Diseases.* – 2005. – V. 41(3). – P. 482-488.
117. Kahrs R.F. *Viral diseases of cattle.* – 2-nd ed. – Ames: Iowa State University Press, 2001. – 324 p.
118. Keuser V. Improved antigenic methods for differential diagnosis of bovine, caprine, and cervine Alphaherpesviruses related to Bovine Herpesvirus 1 / V. Keuser, F. Schynts, B. Detry et al. // *Journal of Clinical Microbiology.* – 2004. – № 42(3). – P. 1228-1235.
119. Kirkland P.D. Identification of a novel virus in pigs – Bungowannah virus: a possible new species of pestivirus. / P.D. Kirkland, M.J. Frost, D.S. Finlaison et al. // *Virus Res.* – 2007. – № 129. – P. 26-34.
120. Kuno G. Phylogeny of the genus *Flavivirus* / G. Kuno, G.J. Chang, K.P. Tsushiya et al. // *J. Virol.* – 1998. – V. 72. – P. 73-83.
121. Ladelfa M.F. Comparative study on the in vitro and in vivo properties of two bovine herpesvirus-5 reference strains / M.F. Ladelfa, M.P. Del MédicoZajac, F. Kotsias et al // *Acta Veterinaria Scandinavica.* – 2011. – V. 53. – P. 37.

122. Lahijani Roya S. Application of polymerase chain reaction to detect animals latently infected with agents of malignant catarrhal fever / Roya S. Lahijani, Stacy M. Sutton, Robert B. Klieforth et al. // J. Vet. Diagn. Invest. – 1994. – V. 6. – P. 403-409.
123. Larsen L.E. Diagnosis of enzootic pneumonia in Danish cattle: reverse transcription–polymerase chain reaction assay for detection of bovine respiratory syncytial virus in naturally and experimentally infected cattle / L.E. Larsen, K. Tjørnehøj, B. Viuff et al. // J. Vet. Diagn. Invest. – 1999. – V. 11. – P. 416-422.
124. Lau S.K. Isolation and characterization of a novel Betacoronavirus subgroup A coronavirus, rabbit coronavirus HKU14, from domestic rabbits / S.K. Lau, P.C. Woo, C.C. Yip et al. // J. Virol. – 2012. – V. 86. – № 10. – P. 5481-5496.
125. Lemaire M. Effects of bovine herpesvirus type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency / M. Lemaire, V. Weynants, J. Godfroid et al. // J. Clin. Microbiol. – 2000. – V. 38. – P. 1885-1894.
126. Lemaire M. Production of bovine herpesvirus type 1-seronegative latent carriers by administration of live-attenuated vaccine in passively immunized calves / M. Lemaire, G. Meyer, E. Baranowski et al // J. Clin. Microbiol. – 2000. – V. 38. – P. 4233-4238.
127. Li H. Newly recognized herpesvirus causing malignant catarrha white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) / H. Li, N. Dyer, J. Keller et al. // J. Clin. Microbiol. – 2000. – V. 38(40). – P. 1313-1318.
128. Lin X. Infection of polarized epithelial cells with enteric and respiratory tract bovine coronaviruses and release of viral progeny / X. Lin, K.L. O'Reilly, J. Stan // Amer. J. Vet. Res. – 1997. – V. 58. – P. 1120-1124.
129. Lopez O. J. Rapid Detection of Bovine Viral Diarrhea Virus by Polymerase Chain Reaction / O.J. Lopez, F.A. Osorio, R.O. Donis // Journal of clinical microbiology – 1991. – V. 29. – N. 3. – P. 578-582.

130. Malraux A. The family Herpesviridae: an update / A. Malraux // Arch. Virol. – 1992. – V. 123. – P. 425-449.
131. Marco I. Border disease virus among chamois, Spain / I. Marco, R. Resell, O. Cabezon et al. // Emerg. Infect. Dis. – 2009. – V. 15. – № 3. – P. 448-451.
132. Markine-Gorianoff N. Herpesvirus-4 cattle / N. Markine-Gorianoff, F. Minner De Faysk et al. // Ann. Med. Vet. – 2003. V 147. – P. 215-247.
133. Marra M.A. The genome sequence of the SARS-associated coronavirus / M.A. Marra, S.J. Jones, C.R. Astell et al. // Science. – 2003. – V. 300. – № 5624. – P. 1399-1404.
134. Marshall R.G. Clinical and immunological response of calves with colostrally acquired maternal antibody against parainfluenza-3 virus to homologous viral infection / R.G Marshall., G.H. Frank // Amer. J. Vet. Res. – 1975. – V. 36. – P. 1085-1089.
135. Masri S.A. Rapid Detection of Bovine Herpesvirus 1 in the Semen of Infected Bulls by a Nested Polymerase Chain Reaction Assay / S.A. Masri, W. Olson, P.T. Nguyen at al. // Can J Vet Res – 1996. – V. 60. – P. 100-107.
136. McClurkin A.W. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus / A.W. McClurkin, E.T. Littledike, R.C. Cutlip et al. // Can. J. Comp. Med. – 1984. – V. 48. – P. 156-161.
137. McKercher D.G. Bovine respiratory infections / D.G. McKercher // J.A.V.M.A. – 1968. – № 152(6). – P. 29-37.
138. McKercher D.G. Infectious bovine rhinotracheitis / D.G. McKercher // Adv. Vet. Sci. Comp. Med. – 1959. № 5. – P. 299-328.
139. McKercher D.G. Studies of the etiologic agents of infectious bovine rinotracheitis and blaschenausschlag (coital vesicular exanthema) / D.G. McKercher // Amer. J. Vet. Res. – 1963. – V. 24. – P. 501-509.
140. Mebus C.A. Neonatal calf diarrhea: propagation, attenuation, and characteristics of a coronavirus-like agent / C.A. Mebus, E.L. Stair, M.B. Rhodes et al. // Amer. J. Vet. Res. – 1973. – V. 34. – P. 145-150.

141. Mebus C.A. Scanning electron, light, and immunofluorescent microscopy of intestine of a gnotobiotic calf infected with calf diarrheal coronavirus / C.A. Mebus, L.E. Newman, E.L. Stair // Amer. J. Vet. Res. – 1975. – V. 36. – P. 1719-1725.
142. Murphy F.A. Infectious bovine rhinotracheitis (caused by bovine herpes virus-1) / F.A. Murphy, E.P.J. Gibbs, M.C. Horzinek. et al. // In: Veterinary Virology / Eds. F.A. Murphy, E.P.J. Gibbs, M.C. Horzinek, M.J. Studdert. – 3rd ed. – San Diego: Academic Press, 1999. – P. 309-311.
143. Olafson P. An apparently new transmissible disease of cattle / P. Olafson, A.D. MacCallum, F.H. Fox // Cornell. Vet. – 1946. – V. 36. – P. 205-213.
144. Onyango C.O. Yellow fever outbreak, Imatang, Southern Sudan / C.O. Onyango, V.O. Ofula, R.C. Sang et al. // Emerg. Infect. Dis. – 2004. – V. 10. – № 6. – P. 1064-1068.
145. Ooi E.E. Dengue prevention and 35 years of vector control in Singapore / E.E. Ooi, K.T. Yoh, D.J. Gubler // Emerg. Infect. Dis. – 2006. – V. 12. – № 6. – P. 887-893.
146. Oxender W.D. Factors influencing dairy calf mortality in Michigan / W.D. Oxender, L.E. Newman, D.A. Morrow // J.A.V.M.A. – 1973. – № 162(8). – P. 58-60.
147. Pensaert M.B. Bovine coronavirus infection / M.B. Pensaert, P. Callebaut // In Infectious Diseases of Livestock With Special Reference to Southern Africa / Eds. J.A.W. Coetzer, G.R. Thomson, R.C. Tustin. – Capetown: Oxford University Press, 1994. – P. 878-883.
148. Pospisil Z. The efficacy of an inactivated IBR vaccine in the prevention of intrauterine infection and its use in a disease-control programme / Z. Pospisil, J. Krejci, M. Machatkova // Zentralbl. Veterinarmed. B. – 1996. – V. 43. – P. 15-21.
149. Reisinger R.C. A mixovirus (SF-4) associated with shipping fever of cattle / R.C. Reisinger, K.I. Heddleston, C.A. Manthei // J. Amer. Vet. Med. Assoc. – 1959. – V. 28. – P. 45-49.

150. Rovnak J. Detection of a novel bovine limphotropic herpesvirus / J. Rovnak, S.L. Quackenbush, R.A. Reyes et al // Journal of Virology. – 1998. – V. 72(5). – P. 4237-4242.
151. Schroeder R.J. An acute upper respiratory infection of dairy cattle / R.J. Schroeder, M.D. Moys // J. Am. Vet. Med. Assoc. – 1954. – V. 125. – P. 471-472.
152. Simmonds P. Family Flaviviridae / P. Simmonds, P. Becher, M.S. Collett et.al. // In: Virus Taxonomy: Ninth report of the International Committee on taxonomy of viruses / Eds. A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz. – Elsevier Science, 2011. – P. 1003-1020.
153. Smith D.R. Epidemiologic herd-level agents and risk factors for winter dysentery in dairy cattle / D.R. Smith, P.J. Fedorka-Gray, R. Mohan et al. // Amer. J. Vet. Res. – 1998. – V. 59. – P. 994-1001.
154. Spaan W.J.M. Family Coronaviridae / W.J.M. Spaan, D. Brian, D. Cavanagh et al. // In: Virus Taxonomy. Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / Eds. C.M. Fauquet, M.A. Mayo, J. Maniloff et al. – Elsevier Academic Press, 2005. – P. 947-964.
155. Spagnuolo-Weaver M. Distribution of cytopathic and non-cytopathic bovine viral diarrhea virus antigens in tissues of calves following acute experimental infection / M. Spagnuolo-Weaver, G.M. Allan, S. Kennedy et al. // J. Vet. Diagn. Invest. – 1997. – V. 9. – P. 287-297.
156. Storz J. Corona viral morphogenesis and ultrastructural changes in intestinal infections of calves / J. Storz, A.M. Doughri, I. Hajer // J. Amer. Vet. Med. Assoc. – 1978. – V. 173. – P. 633-635.
157. Straub O.C. Bovine Herpesvirus infektionen / O.C. Straub // Jena: Veb. Gustav Fischer Verlag. Jena, 1978.
158. Straub O.C. Infectious bovine rhinotracheitis virus. In: Infectious Diseases of Ruminants / Eds. K. Dinter, B. Morein. – Amsterdam: Elsevier Scientific Publishers, 1990. – P. 71-108.

159. Swift B.L. Bovine parainfluenza-3 virus experimental fetal disease / B.L. Swift // J. Amer. Vet. Med. Assoc. – 1973. – V. 163. – P. 861-862.
160. Telford S.R. A new tick-borne encephalitis virus infecting New England Deer ticks, *Ixodes dammini* / S.R. Telford, P.M. Armstrong, P. Katavolos et al. // Emerg. Infect. Dis. – 1997. – V. 3. – № 2. – P. 165-170.
161. Terrestrial Animal Health Code [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/>
162. Thiry E. Bovine herpesvirus - 4 (BHV - 4) infections in cattle. Wittman G (ed) *Herpesvirus diseases of cattle, horses and pigs* / E. Thiry, M. Bubbot, P.P. Pastoret – Kluwer. Norwell. 1989. – P. 96-115.
163. Tomori O. Impact of yellow fever on the developing world / O. Tomori // Adv. Virus. Res. – 1999. – V. 53. – P. 5- 34.
164. Tsai K.S. Replication of parainfluenza type-3 virus in alveolar macrophages: evidence of in vivo infection and of in vitro temperature sensitivity in virus maturation / K.S. Tsai // Infect. Immunol. – 1977. – V. 18. – P. 780-791.
165. Van Engelenburg F.A.C. Excretion of bovine herpesvirus 1 in semen is detected much longer by PCR than by virus isolation / F.A.C. Van Engelenburg, F.W. Van Schie, F.A.M. Rijsewijk // J. Clin. Microbiol. – 1995. – V. 33. – P. 308-312.
166. Van Vuuren M. Parainfluenza infection / M. Van Vuuren. In: *Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa* / Eds. J.A.W. Coetzer, G.R. Thomson, R.C. Tustin. – Capetown: Oxford University Press, 1994. – P. 766-768.
167. Vilcek S. Characterization of a novel pestivirus originating from a pronghorn antelope. / S. Vilcek, J.F. Ridpath, H. Van Campen and al. // Virus Res. – 2005. – № 108 (1-2). – P. 87-93.

168. Vilcek S. Complete genomic sequence of a border disease virus isolated from Pyrenean chamois / S. Vilcek, Willoughby K., Nettleton P. et al. // *Virus Res.* – 2010. – V. 152. – № 1-2. – P. 164-168.
169. Vilcek S. Pestiviruses in wild animals / S. Vilcek, P.F. Nettleton // *Vet. Microbiol.* – 2006. – V. 116. – № 1-3. – P. 1-12.
170. Virus Taxonomy: 2015 Release [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>
171. WAHID Interfase [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseaseoutbreakmaps?disease_type_hidden=&disease_id_hidden=&selected_disease_name_hidden=&disease_type=0&disease_id_terrestrial=37&disease_id_aquatic=999&selected_start_day=1&selected_start_month=1&selected_start_year=2013&selected_end_day=1&selected_end_month=5&selected_end_year=2014&submit2=OK
172. Wang E. Genetic variation in yellow fever virus: duplication in 3' non-coding region of strains from Africa / E. Wang, S.C. Weaver, R.E. Shope et al. // *Virology.* – 1996. – V. 225. – P. 274-281.
173. Wang L.F. Family Paramyxoviridae / L.F. Wang, P.L. Collins, R.A.M. Fouchier et al. In: *Virus Taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses* / Eds. A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz. – Elsevier Science, 2011. – P. 672-685.
174. Wellenberg G.J. Antibodies against bovine herpesvirus (BHV) 5 may be differentiated from antibodies against BHV1 in a BHV1 glycoprotein E blocking ELISA / G.J. Wellenberg, M.H. Mars, J.T. van Oirschot // *Veterinary Microbiology.* – 2001. – V. 78. – P. 79-84.
175. Wellenberg G.J. Simultaneous intramammary and intranasal inoculation of lactating cows with bovine herpesvirus - 4 induce subclinical mastitis / G.J. Wellenberg, C.J.M. Bruschke, H.J. Wisselink et al. // *Vet. Microbiol.* 2002, 86, 1-2, 115-129.

176. Willadsen C.M. Respiratory disease in calves: An economic analysis. Nord / C.M. Willadsen, O. Aslund, L. Christensen // Vet. Med. – 1977. – V. 29. – P. 13-28.
177. Winkler M.T.C. Persistence and reactivation of bovine herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves / M.T.C. Winkler, A. Doster, C. Jones // J. Virol. – 2000. – V. 74. –P. 5337-5346.
178. Woo P.C. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus / P.C. Woo, S.K. Lau, C.S. Lam et al. // J. Virol. – 2012. – V. 86. – № 7. – P. 3995-4008.
179. World Organization of Animal Health (OIE). Bovine viral diarrhea [Электронный ресурс]. / Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2014. – 2014. – V. 1. – Режим доступа: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.08_BVD.pdf
180. World Organization of Animal Health (OIE). Infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis. (NB: Version adopted in May 2010) [Электронный ресурс]. / Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2014. – 2014. – V. 1. – Режим доступа: <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>
181. Zhou P. Bat severe acute respiratory syndrome-like coronavirus ORF3b homologues display different interferon antagonist activities / P. Zhou, H. Li, H. Wang et al. // J. Gen. Virol. – 2012. – V. 93. – Pt. 2. – P. 275-281.
182. Zhu Y.M. Isolation, identification and complete genome sequence of a bovine adenovirus type 3 from cattle in China / Y.M. Zhu, Z. Yu, H. Cai at al. // Virol. J. – 2011. – V. 8. – P. 257-265.