

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**

Кыргызский научно-исследовательский институт ветеринарии
имени. А. Дуйшеева

На правах рукописи
УДК:619:578.822.9

НУРМАНОВ ЧЫНГЫЗ АБДЫКАДЫРОВИЧ

**ДИАГНОСТИКА ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА И
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ КРС**

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

06.02.01- диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и
морфология животных

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научные руководители:
академик НАН КР,
доктор ветеринарных наук, профессор
Нургазиев Рысбек Зарылдыкович

доктор ветеринарных наук, профессор
Иргашев Алмазбек Шукурбаевич

Бишкек-2023

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	3
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Общая характеристика вируса инфекционного ринотрахеита ...	11
1.2. Распространение инфекционного ринотрахеита в мире и в Кыргызстане	17
1.3. Диагностика инфекционного ринотрахеита	19
1.4. Культивирование вируса инфекционного ринотрахеита	30
1.5. Выделение вируса инфекционного ринотрахеита	31
1.6. Кратко об изученности органов иммунной системы и САЛТ у телят	33
1.7. Патоморфологические изменения при инфекционном- ринотрахеите крупного рогатого скота	36
1.8. Заключение по обзору литературы	42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	44
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	50
.....	
3.1. Мониторинг по заболеваемости животных инфекционным ринотрахеитом в хозяйствах Чуйской области.....	50
3.2. Выделение и культивирование вируса инфекционного ринотрахеита	59
3.3. Гистологическое строение трахеи, ТАЛТ, легких и БАЛТ у клинически здорового теленка	65
3.4. Макроскопическое и гистологическое строение лимфатических узлов и селезенки у телят	71
3.5. Клинические и патоморфологические изменения при респираторной форме ИРТ	76
3.6. Иммуноморфологические реакции в лимфоидных тканях и	

органах при респираторной форме ИРТ у телят	88
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	96
ВЫВОДЫ	104
ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ	105
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	108
ПРИЛОЖЕНИЯ	121

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ОРВИ	- острые респираторные вирусные инфекции
ИРТ	- инфекционный ринотрахеит
ВД	- вирусная диарея
ВРСИ	- вирусная респираторно-сицитиальная инфекция
ПГ-3	- парагрипп-3
АВ	- аденовирус
РЗ	- респираторные заболевания
КРС	- крупный рогатый скот
КНИИВ	- Кыргызский научно-исследовательский институт ветеринарии им. А. Дуйшеева
ИФА	- иммуноферментный анализ
РН	- реакция нейтрализации
РДП	- реакция диффузионной преципитации
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ЦПД	- цитопатическое действие
Vero	- перевиваемая линия клеток почки зеленой мартышки
MDBK	- перевиваемая линия клеток почки теленка
ПЭК	- почки эмбриона коровы
ТБ	- тестикулы бычка
ЛЭК	- легкие эмбриона коровы
HELA	- клетки карциномы шейки матки
ВНК-21	- почки сирийского хомячка
ТЦД50	- 50% тканевая цитопатогенная доза
МПА	- мясо-пептонный агар
МПБ	- мясопептонный бульон
NCBI	- National Center for Biotechnological Information
ГПЗ	- Государственный племенной завод

КХ	- крестьянское хозяйство
БАЛТ	- бронхо-ассоциированная лимфоидная ткань
БСА	- альбумин бычей сыворотки
ГАЛТ	- гастроэнтерально-ассоциированная лимфоидная ткань
КАЛТ	- кишечно-ассоциированная лимфоидная ткань
САЛТ	- слизисто-ассоциированная лимфоидная ткань
ТАЛТ	- трахея-ассоциированная лимфоидная ткань
ДАВ	- 3,3-диамино-бензидин-тетрагидрохлорид дигидрат
Ig	- иммуноглобулин
РАР	- комплекс пероксидаза-антипероксидаза
НФБ (PBS)	- натрий фосфатный буфер
PCNA	- ядерный антиген пролиферирующих клеток

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Наблюдаемая в аграрном секторе концентрация большого поголовья скота с разным иммунологическим фоном на ограниченных площадях создает нестабильную эпизоотическую ситуацию, что является предпосылкой для возникновения и быстрого распространения инфекционных заболеваний. Среди них наибольший удельный вес занимают инфекционные заболевания респираторного характера у КРС. В Кыргызской республике наиболее распространенным заболеванием, вызывающим острые инфекционные вирусные заболевания среди молодняка КРС является инфекционный ринотрахеит (ИРТ).

В этой связи в ветеринарной науке и практике возникают множество проблем, связанных с совершенствованием методов и средств профилактики и разработки эффективных систем по охране хозяйств от заноса инфекционного ринотрахеита КРС.

Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота (*Rhinotracheitis infectiosa bovim*, пустулёзный вульвовагинит) – контагиозная вирусная болезнь, характеризуется главным образом поражением верхних дыхательных путей (респираторная форма), вульвовагинитом, баланопоститом, абортами (генитальная форма), энцефалитом (Нургазиев Р.З., К.А.Абдыкеримов 2012, Vanderrlassche, M., Bouters, R., 1969; Perino, L.J., Hunsaker, B.D., 1997; Van Schaik, G., 1998; Самуйленко, А.Я., Кузнецов, Д.П., Кузнецова, С.В., 2001; Петрова, О.Г., Печура, Е.В., Бурнадзе, Т.П., 2006; Гаффаров, Х.З., Гумеров, В.Г., Ефимова, М.А. и соавт., 2008). Возбудитель - вирус семейства *Herpesviridae*. К болезни восприимчив крупный рогатый скот (Сюрин, В.Н., Белоусова, Р.В., Фомина, Н.В., 1991; Петрова, О.Г., 2013). По нашим наблюдениям на территории Кыргызской Республики циркулирует несколько видов вирусов КРС (особенно у молодняка) которые вызывают респираторные болезни. Однако одним из наиболее часто встречающийся и причиняющий значительный экономический ущерб фермерским хозяйствам является

инфекционный ринотрахеит (ИРТ). В отдельных фермерских хозяйствах Чуйской области зараженность данной инфекцией среди молодняка крупного рогатого скота довольно высока. Ветеринарной наукой и практикой разработаны достаточно эффективные методы борьбы с ИРТ. Однако многие вопросы дифференциальной диагностики, профилактики респираторных болезней КРС, восприимчивости к ним разных возрастных групп и при разной системе содержания животных остаются недостаточно изученными, особенно патоморфологические и гистологические изменения павших животных.

Одна из причин вспышек инфекционного ринотрахеита на территории Кыргызской Республики – это занос вируса из сопредельных неблагополучных стран в связи с нелегальным завозом животных, продуктов животноводства и кормов, через контакты животных на общих пастбищах и водопоях.

В Кыргызстане изучением инфекционного ринотрахеита и разработкой мер борьбы с ними в разные годы занимались ученые Нургазиев Р.З., Биримкулова А.Т., Абдыкеримов Н.К., Акматова Э.К., Зиядинов И.К., Узакбаев Т.М., Толубаева М.Т.

Однако проблема борьбы с ИРТ остается актуальной, поскольку биология вирусов сложная и многогранная. Одни вирусы вызывают только респираторный синдром (риновирус, респираторно-синцитиальный вирус, реовирус); другие наравне с респираторным синдромом вызывают поражение кишечника, генитальной, нервной системы (вирусной диареи, инфекционного ринотрахеита); третья группа обладает иммунодепрессивным действием (вирусная диарея и аденовирус I и II серовары).

Ежегодно на территории Кыргызской Республики (КР) регистрируются очаги ИРТ среди молодняка крупного рогатого скота (КРС). Особенностью этого заболевания является высокая контагиозность, которая является одной из основных причин экономических потерь в скотоводстве. Данное заболевание негативно влияет на рост и развитие телят, снижает дальнейшую их продуктивность и в тяжёлых случаях вызывает гибель заболевших телят. Выздоровевшие телята остаются слабыми, отстают в росте, менее

продуктивные во взрослом возрасте. Из-за длительного применения сильнодействующих лекарственных препаратов и позднего развития от них в зрелом возрасте ожидается недополучение продукции. В связи с этим своевременное выявление возбудителя ИРТ является актуальной задачей для ветеринарной вирусологии. В условиях Кыргызской Республики не исследовано патоморфологические изменения в органах-мишенях (трахея, легкие) у телят при респираторной форме ИРТ, а также иммуноморфологические реакции со стороны локальной лимфоидной ткани трахеи и бронхиальной системы, регионарных лимфатических узлов легких и селезенки у телят на патологические изменения, вызываемой возбудителем ИРТ. По этой причине мы проводили исследование в вышеуказанном направлении и результаты изложены в настоящей диссертации.

Связь темы диссертации с приоритетными научными направлениями, крупными научными программами (проектами) основными научно-исследовательскими работами, проводимыми научными учреждениями.

Тема инициативная.

Цель и задачи исследования. Целью научной работы является идентификация и изоляция возбудителя инфекционного ринотрахеита, изучение патоморфологических изменений в органах-мишенях, а также иммуноморфологических реакций ТАЛТ, БАЛТ, регионарных лимфатических узлов и селезенки у телят при респираторной форме ИРТ.

Для достижения цели исследования будут решаться следующие задачи:

1. Проведение иммунологического мониторинга по заболеваемости КРС на ИРТ;
2. Выделение и культивирование возбудителя ИРТ в перевиваемых культурах клеток.
3. Изучить клинические и патоморфологические изменения в пораженных органах-мишенях у телят при ИРТ.

4. Изучить гистологические изменения трахеи, легких, ТАЛТ, БАЛТ, регионарных лимфатических узлов и селезенки у клинически здоровых телят.
5. Изучить иммуноморфологические реакции ТАЛТ, БАЛТ, регионарных лимфатических узлов трахеи, легких и селезенки у телят при ИРТ.

Научная новизна полученных результатов.

1. Выделен и адаптирован полевой штамм вируса инфекционного ринотрахеита на перевиваемой культуре клеток.
2. Изучено гистологическое изменение ТАЛТ, БАЛТ, регионарных лимфатических узлов легких и селезенки у клинически здоровых телят.
3. Изучены патогистологические изменения в пораженных органах-мишенях у телят при ИРТ.
4. Изучены иммуноморфологические реакции ТАЛТ, БАЛТ, регионарных лимфатических узлов легких и селезенки у телят при ИРТ.

Практическая значимость полученных результатов.

Результаты исследовательской работы вносят существенный вклад в ветеринарную практику и науку в части описания патологических изменений органов у животных, переболевших инфекционным ринотрахеитом, что обеспечивает быстроту и точность постановки диагноза.

Высокий уровень зараженности сельскохозяйственных животных инфекционным ринотрахеитом указывает на необходимость обязательной вакцинации КРС, а также усиление контроля ввозимых животных на территории Кыргызской Республики, особенно это касается завозимых племенных животных, течение болезни у которых имеет хроническую форму. Полученные результаты исследований представляют собой новые научные данные о гистологических изменениях органов и тканей, у переболевших животных иммуногенеза и патогенеза при инфекционном ринотрахеите, участие в нем иммунокомпетентных клеток местного назначения и всего

организма. Полученные научные данные исследования рекомендуются использовать при патогистологической диагностике болезни.

Материалы исследования используются в учебном процессе при изучении гистологии, патологической анатомии, патологической гистологии и вирусологии, при подготовке ветеринарных врачей и специалистов биомедицинского направления. Также могут быть использованы при написании научных трудов, учебников, учебных пособий, справочников и рекомендаций.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Проведение иммунологического мониторинга по заболеваемости КРС на ИРТ;
2. Выделение и культивирование возбудителя ИРТ в перевиваемых культурах клеток;
3. Выявление клинических и патоморфологических изменений в пораженных органах-мишенях у телят при ИРТ.
4. Сравнительное гистологическое изучение состояния трахеи, легких, ТАЛТ, БАЛТ, регионарных лимфатических узлов и селезенки у клинически здоровых телят с больными.
5. Выявление иммуноморфологических реакций в ТАЛТ, БАЛТ, регионарных лимфатических узлах легких и селезенке у телят при ИРТ.

Личный вклад соискателя. Соискателем самостоятельно проведен сбор и анализ литературных данных, а также сбор первичного биологического материала от инфицированных животных и их обработка. Проведены лабораторные исследования возбудителя инфекционного ринотрахеита с применением ИФА. Культивирование и адаптация вируса. Проведение сбора и фиксация тканевых проб, гистологическая обработка тканевых проб, микроскопическое исследование гистологических препаратов сделаны лично соискателем. Анализ и обобщение экспериментальных данных проведен самостоятельно под руководством академика НАН КР Нургазиева Р.З., а гистологические, патоморфологические и иммуноморфологические исследования при ИРТ под руководством д.в.н., профессора Иргашева А.Ш.

Апробация результатов исследований. Материалы диссертации доложены и обсуждены на заседаниях ученого совета Кыргызского научно-исследовательского института ветеринарии им. А. Дуйшеева, конференции Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина (Бишкек, 2018); в качестве лекционного материала проходил слушание по патоморфологии и вирусологии студентам факультета ветеринарной медицины и биотехнологии КНАУ им. К.И. Скрябина.

Полнота отражения результатов диссертации в публикациях. По материалам диссертации опубликованы 9 научных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 120 страницах компьютерного текста и включает оглавление, перечень условных обозначений, введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, собственные исследования, обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, список использованных источников литературы и приложения. Работа иллюстрирована 43 рисунками и 5 таблицами. Список использованных источников литературы включает 121 наименование, из которых 116 иностранных авторов.

ГЛАВА I

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общая характеристика вируса инфекционного ринотрахеита

Острые респираторные вирусные инфекции крупного рогатого скота эта группа болезней, которые протекают в виде смешанных инфекций. В эту группу входят инфекционный ринотрахеит, парагрипп 3, аденовирусная, ротавирусная, коронавирусная, респираторно-синцитиальная инфекции, микоплазмоз и хламидиоз (Р.З.Нургазиев –2011; Straub, O.C., Bohm, H.O., 1965; Todd, J.D., 1974; Durham, P.J.K., Johnson, R.H., Parker, R.J., 1985; Anderews, A.H., Blowey, R., Boyd, H., 2004).

Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота (ИРТ) является высококонтагиозным заболеванием крупного рогатого скота и некоторых диких жвачных животных, вызван вирусом герпеса крупного рогатого скота (BHV) -1 (семейство Herpesviridae, подсемейство Alphaherpesvirinae (Сюрин, В.Н., Белоусова, Р.В., Фомина, Н.В., 1991; Roizman, B., Furlong, D., 1974; Mayr, A., 1988; Барышников, П.И., 2006; Петрова, О.Г., Рубинский, И.А., 2012). (рис. 1.1).

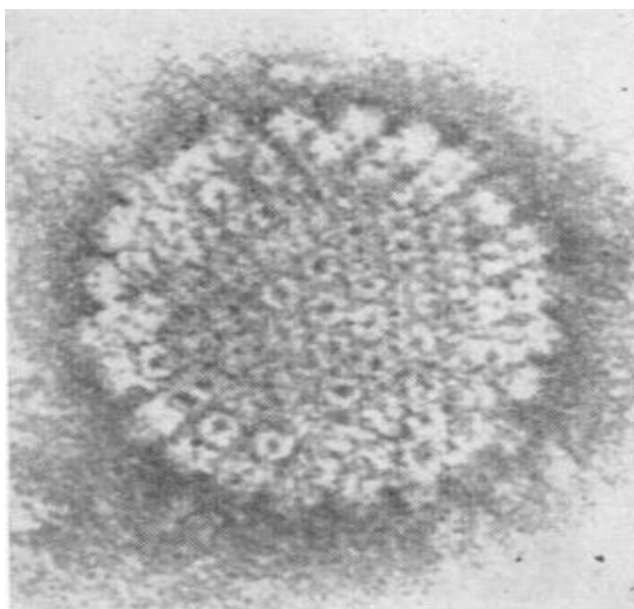


Рис.1.1. Нуклеокапсид вируса, штамм ТК. Негативное контрастирование (x450000, препарат Г.А. Надточей)

ИРТ морфологически сходен со всеми герпесвирусами. Размер вирусной частицы, установленный дифференциальным центрифугированием и ультрафильтрацией, был подтвержден методом электронной микроскопии (Сюрин, В.Н., Белоусова, Р.В., Фомина, Н.В., 1991; Петрова, О.Г., 2002).

При электронно-микроскопическом исследовании полевых штаммов вирусов группы герпеса, выделенных в СССР от больных телят, обнаружено, что вирионы состоят из нуклеокапсида и окружающей его суперкапсидной оболочки (Крюков, Н.Н., 1970). Общий диаметр вироспор с суперкапсидной оболочкой составляет 1400 – 2150А. Часть вирионов имеет дополнительную оболочку неправильной формы толщиной около 30 А. На ее поверхности выявляются отростки длиной около 35А. Большинство нуклеокапсидов сферической формы с шестиугольным профилем, диаметр их 1050 - 1100А. В нуклеокапсиде выявляется нуклеоидное пространство округлой формы диаметром 750 - 775А. Капсид вириона представляет собой сферическое тело — икосаэдр с осями симметрии 5:3:2. Оболочка его сформирована из 162 капсомеров, имеющих форму усеченной пирамиды с шести или пятиугольными основаниями. Высота капсомеров 125А, диаметр нижнего и верхнего (наружного) оснований равен соответственно 95 и 85А. В центре капсомеров выявляется канал диаметром около 40А. Нуклеоидная полость только в 15% случаев заполнена ядерным веществом, представляющим собой спираль ДНК, в 60 % случаев полость не содержит ядра, а в 25% частично заполнена ядром (Крюков Н. Н., 1980; Barret, T., Bird, P., Clegg, J. et al.; Mahy, B 1988; Бурдов, Г.Н., Марасинская, Е.И., Крысенко, Ю.Г., 2001; Закутский, Н.И., В.И. Жестеров, И.Ю. Хухоров, А.Г. Кушнир, Н.А. Лагуткин 2003; Anderews, A.H., Blowey, R., Boyd, N., 2004; Барышников, П.И., 2006; Бессарабов, Б.Ф., Вашутин, А.А., Воронин, Е.С. и соавт., 2007; Caswell, J., Williams, K., 2007; Muylkens, B., Thiry, J., Kirten, P. et al., 2007; Глотов, А.Г., Глотова, Т.И., Семенова, О.В. и соавт., 2014; Majumder, S., Ramakrishnan, M.A., Nandi, S., 2015).

Вирус относительно устойчив во внешней среде. При температурах от минус 30 °С до минус 70 °С сохраняется 10 – 30 мес, при температурах от

минус 20 °С до минус 30 °С – 5-7 мес, при 4 – 5 °С – 60 дней, при 20 – 22 °С – 30, при 37 °С – 4-10 дней. Хорошо переносит многократное замораживание и оттаивание, длительно сохраняется при рН 6 – 9 (до 9 мес), но быстро теряет активность в кислой среде. Высушенный в замороженном состоянии вирус сохраняется при 4 °С 8 мес, при 5 °С – 4 мес. В сперме быков, хранящейся при температуре сухого льда, остается активным в течение 4 – 12 мес, а в жидком азоте – в течение года. Кипячение убивает вирус мгновенно, температура 56 °С – в течение 60 мин, солнечные лучи разрушают вирус через 48 ч (Нургазиев Р.З., 2011; Барышников, П.И., 2006; Глотов, А.Г., Нефедченко, А.В., 2001; Мищенко, В.А., Лисицын, В.В., Костыркин, Ю.А. и соавт., 2003; Петрова, О.Г., Рубинский, И.А., 2012).

Инфекционный ринотрахеит протекает в двух формах: респираторная и генитальная. В 1958 г. I. Gillespie и др. установили, что обе болезни (инфекционный ринотрахеит и инфекционный пустулезный вульвовагинит) вызывает один и тот же возбудитель (Бурдов, Г.Н., Марасинская, Е.И., Крысенко, Ю.Г., 2001; Глотов, А.Г., Нефедченко, А.В., 2001; Корочкин, Р.Б., Гласкович, А.А., 2008; Шилова, Е.Н., Донник, И.М., Ряпосова, М.В., 2011; Масюк, Д.Н., Коляда, С.Г., Кокарев, А.В., 2016).

Генитальная форма у быков начинается отеком и гиперемией слизистой оболочки препуциального мешка и полового члена. На поверхности слизистой оболочки появляются мелкие везикулы с прозрачным содержимым. Через 3 - 4 дня они превращаются в пустулы, которые затем лопаются, и на их месте образуются язвы, появляются дифтеритические пленки, болезненная припухлость. Болезнь может осложняться язвенно-некротическим акропоститом. При переходе болезни в хроническое течение на месте отека вокруг препуциального мешка развивается плотная фибринозная ткань. У отдельных животных процесс осложняется фимозом (Закутский, Н.И., Жестеров, В.И., Хухоров, И.Ю. и соавт., 2003; Иванов, А.В., Гаффаров, Х.З., 2008).

Возможно развитие рецидивирующего дерматита (облысение, образование струпьев) промежности, а также вокруг ануса, иногда – на хвосте, мошонке. Из других признаков болезни отмечают угнетение, снижение аппетита, повышение температуры тела, у некоторых животных – поражение органов дыхания и конъюнктивит.

Генитальная форма у маточного поголовья проявляется в виде пустулезного вульвовагинита и аборт. Спустя 1-3 сут после осеменения инфицированной спермой или естественной случки отмечают гиперемию и отечность слизистой вульвы и влагалища, затем появляются пустулы, переходящие в язвы. Выздоровление наступает через 2-3 нед. У стельных коров и нетелей через 3 недели после инфицирования поражается плод (возможно его рассасывание), наблюдаются аборты, после которых возникают эндометриты. Присутствие антител у стельных коров не предупреждает аборты и гибель плода в утробе матери. В отдельных случаях у коров регистрируют случаи острого мастита (Perino, L.J., Hunsaker, B.D., 1997; Van Schaik, G., 1998; Самуйленко, А.Я., Кузнецов, Д.П., Кузнецова, С.В., 2001; Юров, К.П., Шуляк, А.Ф., Петрова, О.Г., Майджи О.В., 2003; Петрова, О.Г., Татарчук, А.Т., Хаматов М.Ф., Кушнир, Е.Ю., 2005; Петрова, О.Г., Печура, Е.В., Бурнадзе, Т.П., 2006; Гаффаров, Х.З., Гумеров, В.Г., Ефимова, М.А. А.И. Яруллин, Р.Г. Ахметсафин, 2008).

Кератоконъюнктивальная форма чаще проявляется лихорадкой и слезотечением, которое со временем становится слизисто-гнойным. К кератоконъюнктивальной форме относятся легкие случаи, когда болезнь проявляется только конъюнктивитами, реже кератоконъюнктивитами. Воспалительные процессы, обусловленные вторичной бактериальной инфекцией, могут заканчиваться кератитом (Глотов, А.Г., Нефедченко, А.В., 2001; Петрова, О.Г., 2002; Корочкин, Р.Б., Гласкович, А.А., 2008; Шилова, Е.Н., Донник, И.М., Ряпосова, М.В., 2011; Масюк, Д.Н., Коляда, С.Г., Кокарев, А.В., 2016) (рис.1.2.)



Рис.1.2. Кератоконъюнктивальная форма у телят

Менингоэнцефалитную форму наблюдают у телят 4 – 6-месячного возраста. Она характеризуется поражением центральной нервной системы, что проявляется расстройством движения, манежными движениями, дрожанием групп мышц, депрессивным состоянием, мычанием, скрежетом зубов, слюноотечением, слепотой, опистотонусом. У больных отмечаются незначительное повышение температуры тела, конъюнктивит, ринит и двусторонний кератит. Исход летальный. Эта форма регистрируется сравнительно редко. Болезнь продолжается 4 - 5 дней (Сергеев, В.А., 1976; Frerichs, G.N., Woods, S.B., Lucas, M.M., 1982; Салтыкова, В.А., Петрова, О.Г., 2008; Красиков, А., Водопьянова, П. Н., 2009, Петрова, Барышников, П.И., 2006).

Атипичная форма характеризуется тем, что при ней кроме характерных симптомов болезни у больных животных развивается подкожная эмфизема, распространяющаяся вдоль живота и тазовых конечностей. Появляется остропротекающая диарея (Бурдов, Г.Н., Марасинская, Е.И., Крысенко, Ю.Г., 2001; Глотов, А.Г., Нефедченко, А.В., 2001; Петрова, О.Г., 2002; Корочкин, Р.Б., Гласкович, А.А., 2008; Шилов, Е.Н., Донник, И.М., Ряпосова, М.В., 2011; Масюк, Д.Н., Коляда, С.Г., Кокарев, А.В., 2016).

Вирус кроме респираторных заболеваний вызывает конъюнктивит, вульвовагинит, менингоэнцефалит и аборт (Нургазиев Р.З., 2011, В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина., 1991).

Пневмония или пульмонит у животных может быть вызвана не только бактериями, паразитами, стрессом, но и вирусами (В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина., 1991).

Вирус чувствителен к эфиру, разрушается под действием трипсина, хорошо размножается в первично трипсинизированных и перевиваемых культурах клеток, приготовленных из разных тканей эмбриона крупного рогатого скота и взрослых животных с проявлением выраженного цитопатического эффекта. Вирус обладает способностью образовывать бляшки (негативные колонии) в культурах клеток под агаровым покрытием величиной до 7 мм (Барышников, П.И., 2006; Глотов, А.Г., Нефедченко, А.В., 2001; Мищенко, В.А., Лисицын, В.В., Костыркин, Ю.А. Ручнов Ю.Е., Гетманский О.И., 2003; Петрова, О.Г., Рубинский, И.А., 2012).

Вирус инфекционного ринотрахеита не имеет антигенно различных вариантов. В антигенном отношении он отличается от вируса герпеса бычьего типа, но проявляет некоторое родство с вирусами ринопневмонии лошадей в реакциях связывания комплемента и диффузионной преципитации в агаровом геле (Сапожкова, О.А., Сулейманов, С.М., Толкачев, И.С. и соавт., 1993; Юров, К.П., Шуляк, А.Ф., 2007).

До недавнего времени инфекционный вульвовагинит считался самостоятельным заболеванием. Гиллеспи и др. (Gillespie et al.) в 1958 г. установили, а позже другие исследователи подтвердили полную идентичность вируса инфекционного ринотрахеита (ИРТ) с вирусом инфекционного вульвовагинита (ИПВ). С этого времени принято обозначение возбудителя как ИРТ-ИПВ (Марковская, С.А., Хаматов, М.Ф., Салтыкова, В.А., 2008; Шахов, А.Г., Д.В. Федосов, Ю.Н. Масьянов и соавт. 2012).

1.2. Распространение инфекционного ринотрахеита в мире и в Кыргызстане

Инфекционным ринотрахеитом болеет крупный рогатый скот, независимо от породы и возраста. У молодняка, особенно мясного направления болезнь протекает тяжелее. Источником инфекции и резервуаром вируса служат больные и переболевшие животные. Студдерт и соавторы считают, что после переболевания возбудитель может находиться в организме в латентном состоянии. Автор наблюдал повторную вспышку инфекционного ринотрахеита у молочных коров через 14 месяцев после возникновения болезни в хозяйстве. Занос инфекции извне был исключен. Роль животных других видов как вирусоносителей и вирусовыделителей не установлена, хотя Ноу и Довис выделили вирус от оленя через 4 недели, а Онстед и Саксегард от свиньи, после экспериментального заражения (Петрова, О.Г., Донник, И.М., Шкуратова, И.А. и соавт., 2006).

Заболевание откормочного и молочного скота с поражением органов дыхания наблюдали в США в начале 1950 г. Оно было описано под различными названиями: острая инфекция верхних дыхательных путей, инфлюэнцеподобное заболевание, инфекционный некротический ринотрахеит, инфекционный ринотрахеит. По предложению Мак Корчера (1955) болезнь официально стали называть инфекционным ринотрахеитом (Марковская, С.А., Хаматов, М.Ф., Салтыкова, В.А., 2008; Шахов, А.Г., 2012).

Опыты, проведенные учеными, показали, что инфекционный ринотрахеит – заразная болезнь, однако культивировать возбудителя на лабораторных животных им не удалось. Выделение вируса в культуре ткани открыло новые возможности для изучения свойств возбудителя с целью разработки методов лабораторной диагностики и средств профилактики.

В последующие годы появились многочисленные сообщения, свидетельствующие о наличии инфекционного ринотрахеита в Канаде, Новой Зеландии, Австралии, Англии, Африке, Италии, Венгрии, Югославии,

Чехословакии, Болгарии, Франции и др. По мнению некоторых авторов эта болезнь распространена во всех странах с развитым промышленным скотоводством.

В СССР респираторное заболевание крупного рогатого скота, находящегося на откорме, сходное с инфекционным ринотрахеитом, наблюдал в 1938 г. Ф. М. Пономаренко, описавший его в 1940 г. под названием инфекционный катар дыхательных путей. В 1969 г. от больных телят откормочного хозяйства Тамбовской области был выделен в культуре клеток штамм ТК вируса инфекционного ринотрахеита. В последующие годы от больных телят из других откормочных хозяйств этой же области было выделено еще несколько штаммов вируса, болезнь диагностирована по клиническим признакам, патологоанатомическим изменениям и результатам серологического исследования среди племенного скота Пермской области (Крюков, Н.Н., 1970, 1980; Иванов, В.С., Зудилина, З.Ф., Надточий, Г.А. и соавт., 1972; Аликаев, В.А., Шарабрин И.Г., Замарин Л.Г. и соавт. 1986; Тихомирова, Л.М., 1991; Клестова, З.С., 1998; Пруцаков, С.В., 2000; Кузнецов, Д.П., Самуйленко, А.Я., Белоусов, В.И., 2002; Мищенко, В.А., Костыркин, Ю.А., Яременко, Н.А. и соавт., 2002; 2003; Мищенко, В.А., 2011; Строганова, И.Я., 2011).

В Кыргызской Республике от телят с клиническими признаками поражения респираторного и желудочно-кишечного тракта выделено 19 цитопатогенных агента. В эпизоотическом отношении аденовирусная инфекция крупного рогатого скота характеризуется быстрым распространением и широким охватом поголовья. В течение 10-14 дней заболевают до 70-80 % (Нургазиев Р.З., 2011; Толубаева М.Т., 2015). По данным наших исследователей респираторные инфекции широко распространены в хозяйствах Чуйской долины Кыргызской Республики. При сопоставлении уровня серопозитивных животных к аденовирусам наибольший процент наблюдался в хозяйствах Панфиловского (93,5%) и Кантского районов (73%). В хозяйствах Московского района процент серопозитивных животных был 77,2% (Толубаева М.Т., 2015).

Учитывая вышеприведенные данные, следует заключить, что респираторные инфекции широко распространены в скотоводстве, особенно среди молодняка раннего возраста.

1.3. Диагностика инфекционного ринотрахеита

На распространение инфекции влияют продолжительность выделения вируса из организма больного и переболевшего животного, сроки устойчивости возбудителя во внешней среде и условия передачи его восприимчивому скоту. При остром течении болезни вирус в больших количествах выделяется со слизью из носовой полости, влагалища, конъюнктивы. В носовых истечениях экспериментально зараженных телят вирус можно обнаружить с 1-го по 11-й день, во влагалищной слизи – с 1-го по 6-й день и в содержимом конъюнктивального мешка только на 5-й день после заражения. Наибольшая концентрация вируса (4,5 - 4,75 Ig ТЦД50/мл) отмечена в носовой слизи на 5 - 6-й день после заражения (Н. Н. Крюков, 1970).

В эпизоотологическом отношении наиболее опасна генитальная форма болезни, так как при ней вирус выделяли из половых путей в течении 2 – 3 месяцев. От нетелей, зараженных внутривлагалищно, вирус был выделен на 117, 133 и 364-й день, при внутривенном заражении – через 578 дней, а от быка, зараженного в препуций, через 361 день. Большую опасность представляет скрытое вирусоносительство у быков. Хук и соавт. сообщают, что быки, переболевшие инфекционным ринотрахеитом в генитальной форме, в момент покрытия не выделяли вирус (вирус от них был выделен за 23 и 33 дня до случки), но заражали нетелей, у которых развивалась клиническая картина болезни и из соскобов влагалища был выделен вирус. Вирус может сохраняться в семени быков продолжительное время и заражать коров при искусственном осеменении (Апатенко, В.М., Пустовар, А.Я., Белнонь, И.И., 1999, Горбань, Н.И., 1981; Бурдов, Г.Н., Марасинская, Е.И., Крысенко, Ю.Г., 2001; Закутский, Н.И., 2003; Иванов, А.В., Майджи, О.В., 2003; Хлыстунов, А.Г., 2015; Anderews, А.Н., Blowey, R., Boyd, Н., 2004; Барышников, П.И., 2006;

Бессарабов, Б.Ф., Вашутин, А.А., Воронин, Е.С. и соавт., 2007; Сергеев, В.А., Непоклонов, Е.В., Алипер, Т.И., 2007; Muylkens, B., Thiry, J., Kirten, P. et al., 2007; Корочкин, Р.Б., Гласкович, А.А., 2008; Глотов, А.Г., Глотова, Т.И., Семенова, О.В., Войтова К.В., 2014; Majumder, S., Ramakrishnan, M.A., Nandi, S., 2015).

В эксперименте болезнь можно воспроизвести при интраназальном, интратрахеальном, подкожном, внутримышечном, внутривенном, интравлагалищном, интрацеребральном и контактном способах заражения. В естественных условиях вирус передается от больного животного здоровому аэрогенно, или путем прямого контакта при случке. Инфекционный процесс при этом может протекать с преобладанием респираторного или генитального синдромов.

Болезнь чаще возникает в хозяйствах с высокой концентрацией и при скученном содержании животных. Возникновение болезни может происходить при комплектовании стада животными, среди которых могут быть скрытые вирусоносители. Вспышка болезни в таких хозяйствах возникает через 6 - 30 дней с момента ввода новых животных. Многократно пассируясь через организм животного, вирус усиливает свою вирулентность. Об этом свидетельствуют наблюдения о том, что в крупных хозяйствах мясного направления, с поточным откормом животных, болезнь протекает тяжелее.

Болезнь может возникнуть в любое время года. Ее возникновению и распространению способствуют неблагоприятные факторы внешней среды и нарушение правил содержания животных. Поэтому вспышки чаще возникают осенью, зимой и весной. Часто болезнь принимает характер энзоотии, а при нарушении ветеринарно-санитарных правил, недостаточном контроле за проведением охранно-ограничительных мероприятий может возникнуть эпизоотия. За короткое время (1-3 недели) заболевают все животные хозяйства. В дальнейшем могут возникать спорадические случаи болезни, в основном среди вновь поступивших животных.

Первые патологические изменения возникают на месте внедрения возбудителя. Вирус, проникая в клетки слизистой оболочки носа или влагалища, размножается в них и вызывает воспалительную реакцию и деструктивные изменения в виде мелких очагов некроза, которые впоследствии могут сливаться, образуя некротические участки. Первичный патологический процесс распространяется по продолжению на слизистые оболочки гортани, трахеи или через носослезный канал в слизистую конъюнктивы, вызывая аналогичные изменения. Из первичного очага вирус, адсорбированный на лейкоцитах, попадает по лимфатическим путям в кровяное русло, вызывая общую реакцию организма. Полагают, что вирус не размножается в лейкоцитах, а только пассивно переносится ими. В период виремии он может быть выделен из лейкоцитов, но после появления в крови вируснейтрализующих антител выделить его из лейкоцитов не удастся. Током крови вирус может заноситься в мозг или в беременную матку, вызывая менингоэнцефалит или аборт, который наступает в тот период, когда в крови матери высокий уровень антител. Молелло и соавт. считают, что в результате проникновения вируса в плаценту нарушается плацентарное кровообращение, что приводит к дегенеративным изменениям и гибели плода. В период между виремией и наступлением аборта вирус локализуется в клетках хориона и может быть выделен из котиледонов (Kendrick, 1971). Вирус был выделен также из органов абортированных плодов, при экспериментальном заражении полевым вирусом, или после вакцинации живой вакциной.

Патологоанатомические изменения. При респираторной форме болезни основные изменения происходят в верхнем отделе органов дыхания. Слизистая оболочка носовых ходов и раковин гиперемирована и отечна, в полости носа содержится небольшое количество серозного экссудата. Признаки воспалительного процесса (точечные, полосчатые и разлитые кровоизлияния) можно обнаружить на слизистой оболочке гортани и трахеи. После удаления экссудата на слизистой оболочке можно наблюдать некротические участки. Вокруг носовых отверстий видны корочки засохшего экссудата. Заглоченные,

бронхиальные и средостенные лимфатические узлы набухшие, на разрезе сочные, иногда с кровоизлияниями. Конъюнктивы и слизистая оболочка третьего века гиперемированы и набухшие.

Изменения в легких, сычуге и тонком отделе кишечника, описанные некоторыми авторами, не характерны для ринотрахеита и являются, по-видимому, следствием проникновения секундарной микрофлоры, или смешанной вирусной инфекции.

При генитальной форме болезни слизистая оболочка влагалища гиперемирована, на ней видны единичные и сливные пустулы и очаги некроза, во влагалище скопление слизисто-гнойного экссудата. У самцов сходные изменения обнаруживают на слизистой оболочке пениса и препуция.

При абортах характерных микроскопических изменений не обнаруживают. Кендрик и Штрауб (1967) отмечают, что степень отека плаценты зависит от времени нахождения в матке погибшего плода. Отеки амниотической оболочки наблюдали в тех случаях, когда плоды извлекали из матки на 3 - 5-й день после их гибели. Амниотическая жидкость мутная, желто-коричневого цвета. Волосы, кожа и подкожная клетчатка желтовато-коричневого цвета.

На плевре, легких, лимфатических узлах, желчном пузыре, печени можно обнаружить кровоизлияния, а в корковом слое почек обширные очаги некроза. При менингоэнцефалитах Баренфус и др. наблюдали инфильтрацию паутинной оболочки мозга мононуклеарными клетками.

Диагноз. Эпизоотологические данные, клиническая картина и результаты патологоанатомического вскрытия не дают оснований для постановки диагноза, так как сходные признаки могут быть обнаружены при других вирусных респираторных заболеваниях крупного рогатого скота. На основании этих признаков можно поставить только предварительный диагноз. Однако при дифференциальной диагностике следует исключить вирусную диарею, злокачественную катаральную горячку, параинфлюэнцу-3, аденовирусную инфекцию.

Окончательный диагноз на инфекционный ринотрахеит ставят по результатам лабораторных исследований. Для этого из материалов, взятых от больных животных, выделяют вирус и проводят его идентификацию, а также обнаруживают специфические антитела в сыворотках переболевших животных.

Из серологических методов Йорк рекомендует использовать реакцию нейтрализации в культурах клеток, метод иммунофлуоресценции и реакцию непрямой гемагглютинации.

Четем и Грендел, Кендрик и др. (1958), Грендел и др. (1959), З. Ф. Зудилина (1970) считают характерным для ринотрахеита обнаружение в клетках культур тканей, зараженных вирусом, или в эпителиальных клетках больных животных внутриядерных телец-включений типа А. Каудри.

Для выделения вируса от больного животного берут тампоном пробы носовой слизи, или соскобы со слизистой оболочки носа, влагалища, конъюнктивы, или кусочки носовых раковин, трахеи, легкого, головного мозга, плаценты, а от плода – пробы легких, печени, селезенки. Из патологического материала готовят суспензию и ею заражают культуры первично-трипсинизированных клеток почек эмбрионов коров, тестикул бычков, почек телят или их субкультуры. При высокой концентрации вируса в исследуемом материале цитопатические изменения появляются в первом пассаже. При отсутствии этих изменений необходимо провести три последовательных пассажа. Если при третьем пассаже не будет обнаружено изменений в клетках, исследование материалов прекращают.

В культуре тестикулов бычков, как наиболее чувствительной к вирусу, цитопатические изменения наступают через 36 - 48 часов по всему монослою и характеризуются округлением клеток. В культурах клеток почек эмбрионов коров и почек телят эти изменения вначале носят очаговый характер, затем распространяются по монослою, могут образовываться симпласты.

Выделенный вирус идентифицируют реакцией нейтрализации в культурах клеток с заведомо положительной сывороткой против ринотрахеита. Подавление цитопатогенного действия вируса специфической сывороткой при

наличии этого действия в контроле указывает на видовую принадлежность исследуемого вируса.

Сыворотки получают от морских свинок или кроликов, гипериммунизируя их культуральным вирусом. Активные сыворотки, обладающие высокими вируснейтрализующими свойствами, можно получить гипериммунизацией телят культуральным вирусом, а также от отдельных животных, переболевших в естественных условиях.

Ретроспективную диагностику ринотрахеита проводят исследованием проб сыворотки от переболевших животных реакцией нейтрализации, с использованием известного штамма вируса, или реакцией непрямой гемагглютинации с использованием специфического антигена. Пробы сывороток берут не ранее чем через 15 дней после выздоровления, лучше на 28-й день, так как в это время титр антител достигает максимального уровня (Крюков Н. Н., Семенихин А. Л., 1970). Диагноз считают положительным, если в сыворотках обнаруживают антитела с индексом нейтрализации не ниже 2 Ig ТЦДг,0/мл или с титром 1:8 и выше в реакции непрямой гемагглютинации.

При постановке реакций непрямой гемагглютинации используют антиген, которым сенсibiliзируют эритроциты барана, обработанные танином. Реакцию ставят на досках из органического стекла с лунками, в которые вносят по 0,5 мл двукратные разведения исследуемых сывороток, от 1:4 до 1:512 и такое же количество сенсibiliзированных эритроцитов. Учитывают реакцию через 3-5 часов. Если в сыворотках есть специфические антитела, происходит агглютинация эритроцитов и оседание их в виде зонтика (реакции положительная).

Для ускоренной диагностики ринотрахеита применяют метод иммунофлуоресценции в прямой и непрямой модификациях. При помощи этого метода обнаруживают специфический антиген в культурах клеток, зараженных выделенным вирусом, светящийся интенсивно зеленым светом. Антиген обнаруживают через 12 - 16 часов после заражения, т. е. раньше, чем наступают цитопатические изменения. В одних клетках он локализуется вокруг мембраны

ядра, в виде узкой полосы, в других – непосредственно около ядер, а затем в цитоплазме.

По данным Шроера и Естердея методом иммунофлуоресценции нельзя обнаружить антиген в клетках, полученных от больных животных, так как он в большинстве случаев дает неспецифические результаты.

Удовлетворительные результаты диагностики инфекционного ринотрахеита дает реакция преципитации в агаровом геле. Сыворотки от животных необходимо получать через 4 недели после переболевания. В качестве антигена используют культуральный вирус, очищенный углеводородом. Линии преципитации появляются через 48 часов инкубирования реагентов во влажной камере, при температуре 5 °С.

РН (реакция нейтрализации) является наиболее чувствительным и достоверным методом диагностики инфекционного ринотрахеита. Метод основан на способности специфических антител прочно соединяться с вирусной частицей и подавлять ее биологическую активность. РН ставят на чувствительной биологической системе, которой может быть тканевая культура клеток, или организм восприимчивого животного, где вирус может размножаться и вызывать поддающиеся учету изменения, которые частично или полностью подавляются в присутствии антител (В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина., 1991., (Емельяненко, П.А., 1985; Третьяков, А.Д., 1987).

Иммуноферментный анализ (ИФА). Высокоэффективен для выявления антител инфекционного ринотрахеита. Установлена высокая степень специфичности и чувствительности ELISA для идентификации и типирования инфекционного ринотрахеита.

Из всех серологических методов диагностики более чувствительным и специфичным является ИФА. Среди методов ИФА, разработанных для диагностики инфекционного ринотрахеита, используют конкурентный метод, «сэндвич» - вариант для выявления антигена с использованием моноклональных антител и блокирующий вариант ИФА. При постановке

конкурентного метода к антигену, иммобилизованному на твердой фазе, добавляют смесь контрольных и тестируемых сывороток с моноклональными антителами, затем вносят антитела, меченые ферментом. Установлена высокая чувствительность сэндвич-варианта ИФА (на основе щелочной фосфатазы), который по эффективности превосходит в 207-219 раз, а с хромогенными субстратами - в 4-64 раза, в сравнение с традиционными методами РПГА, РСК. Блокирующий вариант ИФА при диагностике инфекционного ринотрахеита отличается от конкурентного варианта тем, что моноклональные антитела добавляются после контакта с сыворотками. Учет результатов обоих методов одинаковый – уровень оптической плотности обратно пропорционален содержанию антител в пробах исследуемых сывороток. Все носители для твердофазного ИФА должны отвечать следующим требованиям: быть нерастворимыми в технологическом процессе, обладать достаточной сорбционной емкостью, определяемой количеством иммобилизованного компонента на единицу массы, или площади носителя, однородность сорбционной емкости по всей поверхности носителя, которая гарантирует воспроизводимость получаемых результатов, обладать минимальной способностью к неспецифическому связыванию, прочное связывание сорбируемого компонента и стабильности при хранении, удобство носителя для анализа в методическом плане и возможность его применения на автоматизированных комплексах (Miller, N.J., 1955; Корочкин, Р.Б., Гласкович, А.А., 2008; Zeedan, G.S.G., Abdalhamed, A.M., Ghazy, N. H. Ghoneim., 2018., Костыркин, Ю.А., Мищенко, В.А., Нестеренко, И.В. и соавт., 2007).

Основные принципы и этапы приготовления гистологических препаратов.

Основным методом исследования в гистологии является микроскопирование, - изучение гистологических препаратов под микроскопом. В последнее время микроскопия сочетается с другими методами - гистохимией и гисторадиографией. Для микроскопии используют различные конструкции

микроскопов, позволяющие изучать различные параметры гистологических препаратов. Выделяются следующие виды микроскопии:

- световая микроскопия (наиболее распространенный вид микроскопии, при этом разрешающая способность микроскопа составляет 0,2 мкм);
- ультрафиолетовая микроскопия (разрешающая способность микроскопа составляет 0,1 мкм);
- люминисцентная микроскопия (применяется для определения в исследуемом гистологическом препарате определенных химических структур);
- фазово-контрастная микроскопия (применяется для обнаружения и изучения определенных структур в неокрашенных гистологических препаратах);
- поляризационная микроскопия (используется в основном для изучения волокнистых структур);
- микроскопия в темном поле применяется для изучения живых объектов;
- микроскопия в падающем свете (предназначена для изучения толстых объектов);
- электронная микроскопия (наиболее современный вид микроскопии, имеющий разрешающую способность 0,1 - 0,7 нм).

Имеются две разновидности электронной микроскопии - просвечивающая (трансмиссионная) и сканирующая (или растворная) микроскопия, дающая отображение поверхностных ультраструктур.

Гистологические и цитохимические методы применяются для определения состава химических веществ и их количества в определенных структурах. Принцип метода заключается в химической реакции между реактивом и субстратом, содержащимся в исследуемом веществе. При этом образующиеся побочные продукты реакции можно обнаружить с помощью световой или люминисцентной микроскопии. Метод гистоавторадиографии позволяет выявить состав химических веществ в исследуемых структурах и интенсивность обмена по включению радиоактивных изотопов. Данный метод чаще всего используется при экспериментах на животных. Метод

интерферометрии позволяет определять сухую массу вещества в живых или фиксированных объектах.

Таким образом, основным и наиболее распространенным методом изучения в гистологии является микроскопия.

Приготовление гистологического препарата включает в себя следующие этапы.

1. Взятие материала - кусочка ткани или органа. При заборе материала необходимо выполнять следующие правила:

1) забор материала должен проводиться как можно раньше после смерти или забоя животного, по возможности от живого объекта, чтобы как можно лучше сохранить структуру исследуемых клеток;

2) забор материала должен проводиться острым инструментом, чтобы не травмировать ткани;

3) толщина кусочка не должна превышать 5 мм, чтобы фиксирующий раствор смог проникнуть на всю глубину ткани;

4) необходимо произвести маркировку кусочка, при этом указываются наименование органа, номер или кличка животного, дата забора.

2. Фиксация материала. Данный этап проводится для того, чтобы остановить обменные процессы в клетке и сохранить ее от распада. Для этого взятый на исследование кусочек ткани погружают в фиксирующий раствор. Раствор может быть простым (спирт или формалин) и сложным (раствор Карнуа, фиксатор Цинкера). Фиксатор вызывает денатурацию белков и сохраняет структуру клеток в состоянии, близком к прижизненному. Фиксацию можно проводить также путем замораживания - охлаждением жидким азотом или струей углекислого газа.

3. Заливка кусочков ткани в уплотняющие среды (парафин, смолы) – или замораживание. Данный этап необходим для того, чтобы в последующем из исследуемой ткани можно было изготовить тонкий срез.

4. Приготовление срезов на микротоме или ультрамикротоме с помощью специальных ножей. Срезы для световой микроскопии приклеиваются на предметные стекла, а для электронной - монтируются на специальные сеточки.

5. Окраска срезов или их контрастирование (для электронной микроскопии). Перед окраской срезов необходимо удалить уплотняющую среду - выполнить депарафирование. С помощью окраски достигается контрастность изучаемых структур. Красители можно подразделить на основные, кислые и нейтральные. Наиболее широко применяются основные красители (гематоксилин) и кислые (эозин). Часто используются и сложные красители.

6. Просветление срезов в ксилоле и толуоле. Срезы заключают в смолы (бальзам и полистирол) и закрывают покровным стеклом.

После данных приготовлений препарат можно исследовать под световым микроскопом. Помещенные под стекло срезы для светового микроскопа могут долго храниться и многократно использоваться. Для электронной микроскопии каждый срез используется только 1 раз. При этом он фотографируется, и изучение структур ткани производится по электронограмме.

Если ткань имеет жидкую консистенцию (например, кровь, костный мозг), препарат изготавливают в виде мазка на предметном стекле, который затем также фиксируется, окрашивается и изучается.

Из ломких паренхиматозных органов изготавливают препараты в виде отпечатка органа, проводят разлом органа, затем к месту разлома прикладывают предметное стекло, на которое приклеиваются свободные клетки. После этого препарат фиксируется и изучается.

Из некоторых органов (например, брыжейки, мягкой мозговой оболочки), или из рыхлой волокнистой соединительной ткани изготавливают пленочные препараты путем растягивания или раздавливания между двумя стеклами с последующей фиксацией и заливкой в смолы.

1.4. Культивирование вируса инфекционного ринотрахеита

Вирус инфекционного ринотрахеита размножается в первично-трипсинизированных культурах клеток из органов и тканей эмбрионов коров, телят и перевиваемой линии и линиях культур клеток почки эмбриона коровы с проявлением цитопатогенного действия. К вирусу наиболее чувствительны культуры клеток тестикулов бычков и почки эмбриона коровы. В культурах клеток под агаровым покрытием вирус образует бляшки (негативные колонии).

В последние годы для культивирования ИРТ предложена перевиваемая культура клеток. Из перевиваемых - на культуре клеток почек теленка - MDBK, ПТ-80, тестикул бычка – ТБ, почки эмбрионов овцы, хомячка и др.

Цитопатическое действие (ЦПД) вируса инфекционного ринотрахеита

Зараженную культуру необходимо инкубировать в термостате при температуре 37 °С, микроскопировать монослой клеток каждый час. При первом пассаже цитопатическое действие (ЦПД) вируса хорошо заметно через 48 часов: появляются многоядерные клетки и клетки с вакуолями в цитоплазме, отдельные клетки приобретают более темную окраску на общем фоне, а затем становятся округлыми и отделяются от стенки матраца группами по несколько клеток - в виде «гроздьев винограда». Во втором и третьем пассажах время проявления цитопатического действия заметно сокращается – изменения в монослое наблюдается уже через 6 часов и достигает максимума к 18-24 ч после заражения. Изменения клеток сопровождаются нарушением межклеточных связей, конденсацией субстрата цитоплазмы, округлением клеток и распадом цитоплазмы. Вирус размножается в цитоплазме. В ядрах происходит укрупнение глыбок хроматина, а затем пикноз или рексис ядра. ЦПД вируса инфекционного ринотрахеита развивается без образования включений и симпластов.

1.5. Выделения вируса инфекционного ринотрахеита

Вирус ИРТ впервые выделен в США в 1956 г. Вирус относится к семейству Herpesviridae, к подсемейству Alphaherpesvirinae, роду Varicellovirus. Вирионы вируса округлой формы, диаметром 120 - 200 нм. Состоят из нуклеотида, упакованного в состоящий из 126 капсомеров капсид кубической симметрии, мембраны (тегумента), покрывающей капсид, и наружной оболочки с шипиками. Геном вируса содержит одну непрерывную линейную двуспиральную ДНК.

Антигенная структура изучена недостаточно. Выделено и охарактеризовано 9 структурных белков, за индукцию вируснейтрализующих антител ответственны 4 оболочечных гликопротеина. Гемагглютинирующая активность вируса связана с гликопротеином, расположенным в наружной оболочке вириона.

Антигенная вариабельность вируса установлено, что резких антигенных отличий в выделенных штаммах вируса ИРТ нет. Однако отдельные штаммы могут различаться по вирулентности. Показано некоторое антигенное отличие новозеландских штаммов от американских и австралийских. Имеется сообщение об антигенном родстве изолятов герпесвируса коз с вирусом ИРТ крупного рогатого скота.

Антигенная активность его при естественном и экспериментальном заражении, вирус индуцирует образование вируснейтрализующих, комплементсвязывающих и преципитирующих антител, которые выявляются в реакциях РН, РСК, РДП, РИГА.

Гемагглютинирующие свойства вируса в 1982 г Н. Н. Крюков с соавт. впервые сообщил, что концентрированный вирус ИРТ с титром не ниже 10^7 ТЦД₅₀/мл гемагглютинирует эритроциты белых мышей, белых крыс, морских свинок, хомячков и человека. В дальнейшем это было подтверждено и зарубежными исследованиями. Интерферогенная активность ИРТ установлена способность интактного и облученного УФ-лучами вируса ИРТ

индуцировать синтез интерферона в культурах клеток различных тканей крупного рогатого скота *in vitro* и в организме животных. Непатогенные или аттенуированные штаммы вирусов обладают наилучшей интерфероногенной способностью.

Экспериментально она лучше воспроизводится на телятах. Клиническое проявление болезни зависит от метода заражения, вирулентности вируса и возраста животных. При интратрахеальном, интраназальном, алиментарном и интравенозном методах заражения болезнь чаще протекает в виде ринотрахеита с конъюнктивитом. При введении вируса в половые органы появляется вульвовагинальная инфекция. Иногда при заражении полевыми штаммами вируса интраназально удавалось у телят вызвать клиническую картину менингоэнцефалита. У нетелей, зараженных в вымя, развивается некроз эпителиальных клеток альвеол и молочных протоков.

Экспериментально зараженные телята выздоравливают, как правило, через 1 - 2 мес. Экспериментально заражаются и козы. На кроликах удается воспроизвести латентную инфекцию ИРТ, других лабораторных животных заразить не удавалось.

Пока единственным способом выделения ИРТ крупного рогатого скота является заражение монослойных культур клеток суспензиями пораженных органов, носовыми и глазными смывами.

Для культивирования культур клеток используют питательную среду Игла MEM (рН 7,5-7,6), синтетическая среда 199. К ней добавляют раствор канамицина для подавления роста бактериальной микрофлоры, а также аминокислоту L-глутамин. В случаях, когда требовалась ростовая среда, к среде Игла MEM также добавляют fetalную сыворотку крупного рогатого скота 5-10 % от общего объема. Для пересева культур клеток используют 0,02 % раствор Версена с 0,25 % раствором трипсина в соотношении 9:1.

При появлении выраженного ЦПД после первичного заражения или в последующих пассажах для освобождения вируса клетки разрушают

трехкратным замораживанием и оттаиванием и производят следующий пассаж. Затем выделенные изоляты подвергают всесторонней идентификации.

Таким образом, приводя краткую литературную справку относительно выделения вируса ИРТ крупного рогатого скота различными методами, показывает современный уровень научных успехов в этой области и некоторую противоречивость в оценке методов иммунизации лабораторных животных.

1.6. Кратко об изученности органов иммунной системы и САЛТ у телят

Лимфоидная ткань составляет около 1 % от общей массы позвоночных животных и основная ее функция это иммунологическая реактивность (Петров Р.В., 1987). В организме, кроме основных органов иммунной системы (костный мозг, тимус, селезенка, лимфатические узлы), имеется лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками органов или САЛТ. САЛТ включает в себе ГАЛТ, БАЛТ, лимфоидная ткань мочеполовой системы, лимфоидную ткань носа, горла и глаз (Сапин М.Р., 1987; Иргашев А.Ш., 2001; Асанова Э.И., 2011; Касиева Г.К., 2015; Bayraktaroglua.g., astir.n., 2009).

В научной литературе ближнего и дальнего зарубежья встречаются труды, посвященные исследованию вопросов морфологии органов и тканей иммунной системы у телят.

Н.М. Фомина (1990) исследовала возрастную морфологию миндалина, лимфатических узлов и селезенки у телят в зависимости от различной степени двигательной активности.

У новорожденных телочек в миндалинах лимфоидная ткань отсутствует. К 4-х месячному возрасту в миндалинах образование лимфоидных узелков выражено в меньшей степени. К 4-х и 9-ти месячному возрасту в миндалинах отмечается увеличение паренхимы (при одновременном нарастании лимфоидных узелков в ней) и уменьшение стромы.

Цвет лимфатических узлов изменяется от бледно-розового у новорожденных до серо-розового у 9-ти месячных. Консистенция

лимфатических узлов с возрастом уплотняется, и орган приобретает более округлую форму. У новорожденных телочек лимфатические узлы имеют очень малую величину, их паренхима дифференцирована на корковое и мозговое вещество. К концу молочного периода образование лимфоидных узелков выражено в большей степени в лимфатических узлах. К 4-х и 9-ти месячному возрасту в лимфатических узлах при дозированном принудительном движении отмечается большее содержание количества лимфоидных узелков, чем у телочек при гиподинамии.

Селезенка меняет свою топографию, цвет от голубого до серо-голубого, но не изменяет она своей формы. У новорожденных телочек в селезенке белая пульпа представлена только диффузной лимфоидной тканью. Селезенка морфофункциональной зрелости достигает к 4-х месячному возрасту. В селезенке образование лимфоидных узелков выражено в меньшей степени. С возрастом в селезенке изменяется соотношение количества паренхимы и стромы в сторону увеличения стромы. В селезенке, зрелость которой наступает позже, чем в тимусе возрастная регрессия отмечается позже, лишь к 9-ти месячному возрасту и также только у телят, находившихся в условиях гиподинамии.

Пролиферация это новообразование клеток и внутриклеточных структур (митохондрий, эндоплазматической сети, рибосом и др.). Пролиферация различных клеток иммунокомпетентной системы является основой иммуногенеза (HartwellL., 1995).

C.W. David и др. (2003) исследовали клеточную пролиферацию, апоптоз в лимфатических узлах недоношенных телят и полноценно рожденных телят при рождении и на 5-й день жизни.

В исследуемых мезентериальных и прескапулярных лимфатических узлах, количество пролиферирующих клеток и В-лимфоцитов в фолликулах и паракортикальной зоне было больше в группе полноценно рожденных телят, чем в группе недоношенных телят. Усиленный темп пролиферации В-лимфоцитов может сопровождаться усиленным апоптозом В- лимфоцитов. В

соответствии количество апоптотических клеток было выше в группе полноценно рожденных телят, чем в группе недоношенных телят.

Доказано наличие слизисто-ассоциированной лимфоидной ткани (САЛТ) у сельскохозяйственных животных, но их строение и функция изучены фрагментарно и недостаточно. Исследование САЛТ у животных нужно для разработки оральной, назальной и конъюнктивальной вакцинации и для лучшей защиты соответствующих видов животных от различных инфекций (E.M.Liebler-Tenorio,R.Pabst,2006).

Бронхо-ассоциированная лимфоидная ткань (БАЛТ) является частью САЛТ. Исследование БАЛТ важно для сельскохозяйственных животных, так как у них часто встречаются инфекционные болезни органов дыхания. До сих пор методы иммунизации против комплекса болезней, которые нередко имеют мультифакторную этиологию, не были равномерно успешными. Следует признать, что дыхательный иммунитет лучше связан с местными иммунными реакциями и БАЛТ в легких способствует этим ответам. Поэтому знания о БАЛТ должно помочь в разработке методов по стимулированию местного респираторного иммунитета.

В отличие от миндалин Вальдейерова кольца и ГАЛТ, БАЛТ отсутствуют до рождения у крупного рогатого скота (AndersonM.L., MooreP.F., HydeD.M., DungworthD.L.,1986). Структуры БАЛТ стратегически расположены в легких на участках, где на них влияют ингаляционные антигены.

БАЛТ не обнаружено у новорожденных телят, все большее число лимфоидных узелков и лимфоидных агрегатов было обнаружено у телят от 4 месяцев до 18 месяцев и отмечено уменьшение их количества с возрастом у старого скота. БАЛТ находится под эпителием крупных бронхов, в подслизистой мелких бронхиол и она простирается от эпителия до адвентиции бронхиол. Организованные лимфоидные узелки с первичными и вторичными фолликулами и униорганизованные агрегаты лимфоцитов можно обнаружить в ткани легких (Anderson, M.L. и др. 1986).

Кольцо лимфоидной ткани, играющей ключевую роль в индукции иммунных реакций, присутствует в слизистой оболочке глотки, где огромное количество вредных антигенов попадают в организм во время кормления и дыхания (Waldeyer-Hartz, W., 1984; Brandtzaeg, P., 1999). Миндалины являются основными компонентами этой слизисто-ассоциированной лимфоидной ткани. У крупного рогатого скота присутствуют пять миндалин: глоточные, носовые, расположенные в носоглотке, языковые, небные миндалины и рудиментарные миндалины мягкого неба в ротоглотке. Интересно, что лимфоидная ткань гортаноглотки крупного рогатого скота лишены каких-либо макроскопически видимых миндалин (Schummer, A., 1967; Barone, R., 1997). Доказано наличие гортань-ассоциированной лимфоидной ткани у молодняка крупного рогатого скота (Casteleyn, C., 2008).

Изучено гистологическое строение и клеточный состав БАЛТ, КАЛТ, лимфатических узлов и селезенки у взрослых яков (Асанова, Э. И., 2011), и у взрослого крупного рогатого скота (Касиева, Г.К., 2015).

Анализ литературных данных по исследуемой теме показывает актуальность исследования морфологии и клеточного состава трахея-ассоциированной лимфоидной ткани (ТАЛТ), БАЛТ, лимфатических узлов и селезенки у клинически здоровых телят, как базовые морфологические параметры для применения в дальнейшем для сравнительных исследований при различных патологиях трахеи, бронхиальной системы и легких.

1.7. Патоморфологические изменения при ИРТ крупного рогатого скота

Острые респираторные вирусные инфекции крупного рогатого скота эта группа болезней, которые протекают в виде смешанных инфекций. В эту группу входят инфекционный ринотрахеит, парагрипп 3, аденовирусная, ротавирусная, коронавирусная, респираторно-синцитиальная инфекции, микоплазмоз и хламидиоз (Cashwell J.L., Williams K., 2007; Ceribasi A.O., 2014;

Chow T.L. и др., 1964; Mattson D.E., 1973; Nettleton F. И др., 1983; Yates W.D.G., 1982).

Вирус парагриппа типа 3, бычий респираторно-синцитиальный вирус, бычий аденовирус и бычий герпесвирус 1 вызывают инфекционные болезни дыхательных путей у крупного рогатого скота и схожие патоморфологические изменения в легких. Гистологически в пораженных участках легких при данных инфекциях установлены некротический бронхолит, альвеолит, гиперплазия клеток в бронхах, бронхиолах и пневмоцитов, утолщение межальвеолярных перегородок, ателектаз, лимфоидная гиперплазия, тельца-включения в эпителии дыхательных путей (Ceribasi A., 2014).

Вирус кроме респираторных заболеваний вызывает конъюнктивит, вульвовагинит, менингоэнцефалит и аборт (Зудилина З. Ф., 1971; Abinanti P. R. & Plumer G.J., 1961; Chow T. L. и др., 1964; Hughes J. P. и др., 1964; Kendrick J. W. и др., 1958).

Вирус парагриппа типа 3, бычий респираторно-синцитиальный вирус, бычий аденовирус и бычий герпесвирус 1 вызывают инфекционные болезни дыхательных путей у крупного рогатого скота и исходные патоморфологические изменения в легких сходны (Cashwell J.L., Williams K., 2007; Edwards S. и др., Fulton R.W. и др., 2000; Mattson D.E., 1973; Nettleton F. и др., 1983; Shimiau Y. et al., 1972). Макроскопически, выше указанные вирусы при естественной и экспериментальной инфекции вызывают воспаление легких, которое характеризуется наличием уплотненных участков серо-красного цвета и ателектаза (Belknap E.B. и др. 1995; Ide P.R. и др., 1969; Yates W.D.G., 1982).

Клинические и патологические данные экспериментального ИРТ у молодых телят впервые были зарегистрированы в 1960 г. (Baker J.A. и др., 1960). Эти данные заставили изменить представление о том, что вирус ИРТ имеет склонность к респираторным и вульвовагинальным трактам. Поражения пищеварительного тракта у телят в Онтарио с ИРТ были зарегистрированы в 1963 г. (Thomson, R.G. и др, 1963), а при естественных вспышках в США в 1964

г. (Van Krutningen и др., 1964). В Онтарио поражения ротовой полости наблюдались только у молодых телят с явной инфекцией верхних дыхательных путей (Curtis R.A. и др., 1966).

К возбудителю наиболее чувствительны телята, которые заражаются от больных и переболевших животных, выделяющие вирус с истечениями (Ackermann M., 1990).

Молодые телята обезвожены, истощены и имеют грубую шерсть. Поражения гортани, глотки и трахеи варьируют от генерализованной гиперемии до некроза с образованием псевдодифтеральной мембраны на поверхности эпителия. Слизь присутствует в трахее и бронхах. Темно-красные пятна в легких наблюдались у трех телят, но у двух телят апикальная и сердечная доли были темно-красными и консолидированными.

Многочисленные мягкие беловатые узелки присутствуют на слизистой оболочке рубца, сетки и книжки. Эпителий под этими узелками шероховатый и эродированный. У трех из пяти обследованных телят по паренхиме печени были разбросаны множественные беловатые точечные очаги некроза (Curtis R.A., и др., 1966).

Гистологические изменения в верхних респираторных путях у телят аналогичны тем, которые описаны у крупного рогатого скота старшего возраста. Изменения в сетке, рубце и книжке представляют острое некротизирующее воспаление эпителия с тяжелой инфильтрацией полиморфно ядерных лейкоцитов и макрофагов в собственной пластинке (Curtis R.A. и др., 1966).

Вирус ИРТ в организме больного животного вызывает множество клинических признаков как ринотрахеит, вульвовагинит, баланопостит, аборт, конъюнктивит и генерализованная системная инфекция (Gibbs E.P.J. и др., 1977).

Вирус ИРТ находясь в стадах крупного рогатого скота, может вызывать респираторные и генитальные синдромы, а также кератоконъюнктивит, менингоэнцефалит у телят и аборт у коров. Этот патоген вызывает

эндометрит, пиометру, аборт, бесплодие (Kendrick J.W. и др., 1971; Molello J.A. и др., 1966, а также мультифокальные некротические поражения в печени [Owen N.V. и др., 1964). Гематогенное распространение вируса через пупочную вену представляется вероятным путем распространения вируса от плаценты к плоду (Rodger S.M. и др., 2007) и это подтверждается экспериментальным внутривенным введением вируса в организм. Гематогенное распространение вируса от матери к плоду связано с обширными поражениями в печени плода и с кровеносными сосудами в плаценте плода (Smith K.C., 1977).

Постановка диагноза после аборта от ВНВ-1 основывается на наличие гистологических изменений, изоляцию вируса, на результаты иммуногистохимии для обнаружения вирусного антигена и полимеразной цепной реакции. Изоляция вируса может быть успешным в одной трети случаев абортов с гистологическими поражениями, поскольку изоляции вируса часто препятствует автолиз плода (Smith K.C. и др., 2004). Иммуногистохимические исследования использовались для обнаружения ВНВ-1 в тканях (Mahajan V. И др., 2013; Wang J. и др., 2008). ПЦР-тест является предпочтительным тестом для быстрого обнаружения ВНВ-1 в тканях плода.

В исследовании Yamini et al. сообщалось, что у абортированных плодов из-за ИРТ развиваются поражения сердца в виде миокардита (Anderson M.L., 2007), потому что в большинстве случаев (42,1 %) наблюдались поражения миокардита и некроз, что указывает на то, что, вероятно, агент ИРТ может вызвать такие поражения.

В исследованиях Farhang Sasani (2013) поражение головного мозга включали 4 случая (23,52 %) с колликвационным мультифокальным некрозом, 3 случая (17,64 %) преждевременное сокращение желудочков, 1 случай (5,88 %) подменингеальное кровоизлияние и некоторые поражения в виде энцефалита и некроза. Эти данные подтверждают результаты исследований Jubb K. В и др. (2007).

Safarpoordehkordi (2013) установил, что поражение пневмонией являются наиболее частыми формами у абортированных плодов. У них была

зарегистрирована интерстициальная бронхопневмония. Гистологически бронхоальвеолярные пространства заполнялись многочисленными нейтрофилами и макрофагами. Из этого следует, что наиболее значимыми причинами интерстициальной пневмонии являются ИРТ и парагрипп 3.

Исследованиями Farhang Sasani и др. (2013) установлено 6 случаев (28,57 %) интерстициальной лимфоцитарной пневмонии, 5 случаев (23,8 %) бронхопневмонии, 8 случаев (38,9 %) тяжелого интерстициального отека. Кроме того, эти 6 случаев интерстициальной пневмонии определенно были связаны с ВНВ-1. По данным Yamini V. et al (2002) и Jubb K. (2007) в случае поражения почек отмечались нефрит и некроз почек, тогда как в исследованиях Farhang Sasani и др. (2013) установлено 8 случаев (38,09 %) интерстициального нефрита, 2 случая (9,52 %) острого канальцевого некроза, вакуолярная дегенерация канальцевого эпителия в 2 случаях (9,52 %), почечное кровоизлияние в 1 случае (4,76 %) и 3 случаях (14,28 %) аутолиз (Farhang Sasani и др., 2013).

Anderson M. L., 2007, Jubb K. и др., 2007 и Yamini V. и др., 2002 отмечали поражение печени в виде небольших некротических очагов, гепатита и инфильтрации мононуклеарных клеток. В исследовании проведенный Yamini V. и др. (2002) 10 случаев (47,61 %) имели лимфоцитарный гепатит, 5 случаев (23,8 %) некротического гепатита, 6 случаев (28,57 %) мультифокальный коагуляционный некроз без воспалительной реакции и 3 случая (14,28 %) портальный лимфоцитарный гепатит. Большинство поражений печени были связаны с некрозом и гепатитом и с ИРТ (Jubb K. и др., 2007; Yamini V. и др., 2002; Anderson M. L., 2007).

Согласно исследованиям, Anderson M. L. (2007), Jubb K. и др. (2007) в селезенке отмечались лимфоидный некроз и некротические очаги с небольшой клеточной инфильтрацией. Согласно данному исследованию, в 12 случаях (52,17 %) наблюдались некроз и опустошение лимфоидной ткани, которые связаны с ИРТ [Jubb K. и др., 2007]. В кишечнике микроскопические поражения содержали некротические очаги с небольшой клеточной инфильтрацией,

гиперемией и дилатацией и имели прозрачный слой фибринозного экссудата на серозной поверхности (Jubb K., 2007). По результатам исследований, проведенный Farhang Sasani и др. (2013) энтерит выявлен в 10 случаях (100%).

При морфологическом исследовании ИРТ у коров и у молодняка установлено серозно-нейтрофильная пневмония и катаральный бронхит. В бронхиальных и средостенных лимфоузлах установлены серозный и серозно-некротический лимфадениты, а у отдельных телят - атрофия лимфоидной ткани. В печени и почках обнаружены гидropическая дистрофия гепатоцитов и клеток эпителия почечных канальцев (Беляева Е.В., 2018).

В эпителии рубца у двух телят были обнаружены ацидофильные внутриядерные тельца-включения. Очаги некроза с лейкоцитарной инфильтрацией слизистой оболочки сычуга присутствовали у одного теленка. Множественные очаги некроза были обнаружены в печени у трех телят. Поражение состояло из гомогенного ацидофильно окрашенного некротического материала, клеток на различных стадиях дегенерации и легкой лейкоцитарной инфильтрации. Специальная окраска не выявила каких-либо организмов в этих очагах. У одного теленка были очаги некроза в коре и мозговом веществе надпочечников. Тельца-включения не были обнаружены в ткани печени или надпочечников (Curtis R.A. и др., 1966).

При ИРТ установлено наличие в ядрах эпителиальных клеток слизистой оболочки бронхов ацидофильных внутриядерных телец-включений у большинства коров и телят (Беляева Е.В., 2018). Бронхо-легочные поражения при ИРТ могут возникнуть в результате бактериального осложнения. Внутриядерные тельца-включения могут быть обнаружены в эпителиальцитах дыхательных путей на ранних стадиях ИРТ (Gu X., 2008).

Анализ литературных источников показал, что при ИРТ поражаются не только органы дыхания и репродуктивной системы, но и органы желудочно-кишечного тракта, печень, почки и органы иммунной системы. Также в литературных источниках указано, что существуют корреляции результатов исследований между ПЦР и гистопатологическим исследованием, т.е.

выявление вируса ИРТ в тканях и органах сопровождалось определенными патоморфологическими изменениями в исследуемых органах.

Данная диссертационная работа впервых нацелена на исследование клинических признаков и патогистологических изменений в верхних дыхательных путях, в легких, а также на выявление иммуноморфологических реакций в лимфоидных тканях и органах телят при ИРТ с хроническим течением а также во вторых выявление антител притив ИРТ методом ИФА, выделение (изоляция) возбудителя ИРТ и идентификация его с помощью ПЦР.

1.8. Заключение по обзору литературы

Актуальность и востребованность в научной разработке средств и методов борьбы с инфекционным ринотрахеитом заключается в крайне широком его распространении среди молодняка сельскохозяйственных животных. Наблюдаемая в аграрном секторе концентрация многочисленного поголовья скота с разным иммунологическим фоном на ограниченных площадях поддерживает нестабильную эпизоотическую ситуацию, по ИРТ не только на нашей республике, но и во всем мире. Проблема в том, что инфекционные респираторные болезни вызываются несколькими видами вирусных возбудителей. В этой связи перед ветеринарной наукой и практикой возникает много проблем, связанных с совершенствованием методов дифференциальной диагностики инфекционных болезней и их профилактики.

Инфекционный ринотрахеит КРС – высококонтагиозная вирусная болезнь, сопровождается поражением верхних дыхательных путей, вульвовагинитом, абортom. По наблюдениям автора научной работы в фермерских хозяйствах Чуйской области зараженность молодняка КРС с ИРТ достигает как минимум 40 % и более. Ветеринарной наукой и практикой разработаны достаточно эффективных методов борьбы с ИРТ, но вопросы дифференциальной диагностики, профилактики данной болезни остаются недостаточно решенными.

В Кыргызстане изучением ИРТ и разработкой мер борьбы с ним в разные годы занимались ученые Нургазиев Р.З., Биримкулова А.Т. и др. Однако проблема борьбы с ИРТ остается актуальной, поскольку биология вирусов сложная и многогранная. Зачастую вирусы действуют в ассоциации, в виде смешанной инфекции, вследствие чего может произойти изменения в его геноме. Это подтверждается тем, что при лабораторных исследованиях в сыворотке крови больного животного выделяется 2-4 разных антигена. Выделение и идентификация респираторных вирусов по видам может ускорить и повысить результативность диагностики болезни.

Ежегодно на территории КР регистрируются множество очагов респираторных болезней. Из-за высокой их контагиозности они являются одной из основных причин гибели молодняка с/х животных.

Исполнителем в историческом аспекте в научных работах разных стран представлены данные о степени распространения в мире респираторных инфекций в разные периоды. Данное заболевание описывалось под различными названиями - острая инфекция верхних дыхательных путей, инфекционный некротический ринотрахеит и др. Ученые приходили к единому мнению, что ИРТ – заразная болезнь, однако культивировать возбудителя на лабораторных животных не удавалось. И только после выделения вируса в культуре ткани открыло новые возможности для изучения свойств возбудителя и разработки методов лабораторной диагностики и средств профилактики.

Исполнителем в результате обширных биологических исследований изучены иммунобиологические свойства вирусов ИРТ, адаптирован штамм вируса на перевиваемой культуре клеток, изучена морфофункциональная характеристика органов животных, больных инфекционным ринотрахеитом. Высокий уровень зараженности сельскохозяйственных животных инфекционным ринотрахеитом указывает на необходимость разработки ассоциированных препаратов против этой инфекции. Однако сохраняющаяся сложная эпизоотическая ситуация по ИРТ требует от ветеринарной науки продолжения исследований по их дифференциальной диагностике, разработке

эффективных специфических, профилактических препаратов и меры борьбы с этой инфекцией.

ГЛАВА II

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа выполнена на базе лаборатории вирусологии и биотехнологии Кыргызского научно-исследовательского института ветеринарии им. А. Дуйшеева, лаборатории кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, гистологии и патологии факультета ветеринарной медицины и биотехнологии Кыргызского национального аграрного университета имени К.И. Скрябина, в государственном учреждении «Образовательно-научно-инновационный центр по сельскому хозяйству» (ГУ «ОНИЦ»), в крестьянском хозяйстве «Чабрец» Сокулукский район, ОАО «МИС-СҮТ» Ыссык-Атинский район, а также в частных хозяйствах Московского и Жайылского районов.

Обследования проводились в неблагополучных хозяйствах, где регистрировались респираторно-кишечные заболевания среди молодняка КРС. Изучали сезонность и характер течения заболеваний, источники и пути передачи инфекционных агентов. Выясняли участие в инфекционном процессе различных половозрастных групп животных, а также изучали условия содержания, полноценность кормления животных и ветеринарно-санитарное состояние животноводческих помещений. Клинические обследования животных проводили общепринятыми методами: термометрия, осмотр видимых слизистых оболочек носовой и ротовой полостей, конъюнктивы, обращали внимание на их цвет, наличие выделений, возможные дефекты (эрозии, язвы), а также признаки патологии органов пищеварения (истощение, диарея). Патологоанатомические исследования вынужденно убитых и павших животных проводили по общепринятым методикам. При осмотре трупов животных основное внимание уделяли на наличие ярко-выраженных патологических изменений в органах респираторного и пищеварительного трактов.

В неблагополучных хозяйствах для выявления инфекционного ринотрахеита отбирались пробы крови и патологический материал для

проведения лабораторных исследований от животных с клиническими признаками заболевания.

Материалом для исследований служили сыворотки крови, пораженные внутренние органы (гортань, трахея, апикальная и сердечная доли легких, регионарные лимфатические узлы, селезенка и головной мозг) взятые от 8 голов КРС разных возрастов с клиническими признаками.

Всего серологическими методами было исследовано 249 проб сывороток крови. Забор крови производили из вены одноразовой иглой в специальную вакуумную систему типа «Vacutainer». Для получения сыворотки пробирки с кровью отстаивали при комнатной температуре, затем сыворотку переносили отдельными наконечниками в стерильные пробирки объемом 1,5 мл. Подготовленный материал исследовали в лаборатории вирусологии и биотехнологии. Патологический материал брали и доставляли в лабораторию с соблюдением правил взятия, хранения и транспортировки биологического материала.

Исследование биологических проб проводили с помощью респираторного пентавалентного набора для непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) (BoHV-1, BVDV, BRSV, BPI-3, Adenovirus-3) - Bio-XDiagnostics - Бельгия. Для постановки ИФА использовали 96-луночную планшетку, сенсibilизированную моноклональными антителами, специфичными к пяти патогенам: BoHV-1, BVDV, BRSV, BPI-3, Adenovirus-3. Исследуемые сыворотки разводили 1:100 в соответствующем буфере и инкубировали на планшете в течение одного часа при 21 °C +/- 3 °C. Планшетку промыли и добавили в лунки конъюгат, маркированный пероксидазой моноклональных антител анти-бычьим IgG. Планшетку инкубировали при 21°C +/- 3°C в течение 1 часа. После второй инкубации планшетку промыли и добавили хромоген (тетраметилбензидин), хромоген более чувствительный в сравнение с пероксидазой хромогена и не является канцерогенным. Если в тестовой сыворотке присутствуют специфические иммуноглобулины, конъюгат остается связанным с соответствующей микролункой, а фермент катализирует превращение

бесцветного хромогена в пигментированное соединение. Интенсивность полученного синего цвета пропорциональна титру специфических антител в образце. Постановку реакции проводили согласно инструкции производителя Bio-XDiagnostics, Belgium, 2015. ВЮ К 028/2. Учет результатов проводили с помощью спектрофотометра MultiskanFC производства США.

С помощью ПЦР анализа и специфических праймеров (олигонуклеотидов) в исследуемых образцах был выявлен фрагмент ДНК возбудителя ИРТ. После выявления возбудителя была проведена адаптация возбудителя инфекционного ринотрахеита на линиях культур клеток. Способность его размножаться в культуре клеток с характерными цитопатическими изменениями и накапливаться в необходимых титрах проверяли методом пассирования в различных культурах клеток.

Титр инфекционности определяли по проявлению ЦПД и рассчитывали по методу Кербера. Готовили 10 % суспензию из патологического материала. В фарфоровой ступке с пестиком растирали измельченный патологический материал с добавлением физиологического раствора из расчета 1:10 и стеклянного песка до получения однородной массы. Суспензию замораживали и оттаивали трехкратно при -80°C , центрифугировали при 1000 об/м в течение 30 минут при $+4^{\circ}\text{C}$. Надосадочную жидкость пропускали через фильтр с добавлением стрептомицина (1000 ед/мл), гентамицина (200 мкг/мл), пенициллина (1000 ед/мл). Суспензию с антибиотиками оставляли при комнатной температуре в течение 15 минут.

В наших исследованиях для получения вирусосодержащей суспензии использовали 4-5-ти – суточные перевиваемые клетки MDBK выращенные в клинских матрасах с хорошо сформировавшимся монослоем, которые инфицировали вирусной суспензией. Данные культуры в монослое обладают высокой пролиферативной активностью, устойчивы к криоконсервированию. Перед заражением культуры клеток проводили смену ростовой питательной среды с промежуточным промыванием матрасов раствором Хенкса. Для заражения использовали вирусосодержащую суспензию, которую разводили

питательной средой и вносили по 1000 мкл в матрас из расчета 0,1 ТЦД₅₀ на клетку. Матрасы помещали в термостат при 37±0,5 °С на 1 час для адсорбции вирусов к клеточной оболочке (контакт). Далее убирали вирус содержащий материал и в матрасы вносили поддерживающую питательную среду с 2 % инактивированной сывороткой крови крупного рогатого скота в объеме 200 мл и инкубировали при температуре 37±0,5 °С. Через 24 часа питательную среду полностью меняли. Контролем служили 3 матраса с неинфицированной культурой клеток. Микроскопию инфицированных и контрольных матрасов проводили 1 раз в день. Цитопатическое действие вируса выражалось в характерном изменении морфологических признаков клеток в зараженных матрасах. Контрольная культура сохраняла нормальную морфологическую структуру.

Для гистологического анализа перед вскрытием трупы животных (молодняк, КРС) были тщательно осмотрены, наружные патологические изменения были зафиксированы в рабочем журнале. Вскрытие проводилось по общепринятой методике. Были внимательно осмотрены все органы и системы (гортань, трахея, апикальная и сердечная доли легких, регионарные лимфатические узлы, селезенка и головной мозг больных телят). Далее из образцов больных органов готовили суспензию по общепринятой методике.

Лабораторные исследования сывороток крови больных 15 голов телят показали наличие антител к вирусу ИРТ у 10 голов телят. Из них 5 голов в возрасте 4 - 5 мес. подвергались патогоанатомическому вскрытию. Тщательному исследованию подвергнуты трахея, легкие, лимфатические узлы легких и селезенка больных телят. В качестве контрольной группы применялись гистологические препараты трахеи, легких, лимфатических узлов легких и селезенки от клинически здоровых телят (3 головы) в возрасте 4-5 мес.

Тканевые пробы для гистологических исследований (гортань, трахея, апикальная и сердечная доли легких, регионарные лимфатические узлы, селезенка и головной мозг больных телят) были зафиксированы в 10 %-ном нейтральном водном растворе, а пробы из органов павших телят помещали в

парафиновый воск согласно методике, из которых готовили гистологические срезы. Для окрашивания гистологических срезов применяли гематоксилин-эозин, окраску по ван Гизон, иммуногистохимический РАР метод и моноклональные антитела Monoclonal Mouse Anti-Proliferating Cell Nuclear Antigen, Clone PC10. Code-Nr. M 0879 для выявления пролиферации клеток в исследуемых органах, нейтрального формалина для проведения гистологических исследований.

Серийные гистологические срезы были изготовлены с помощью санного микротомы 5-8 мк и автоматического микротомы новой модификации толщиной 2-4 мк.

Протокол процесса окраски гистосрезов с помощью РАР методом для выявления пролиферации клеток

1. Содержание гистосрезов при температуре + 56 °С на 30 мин.
2. **Депарафинирование и дегидратация гистосрезов:**
 - Ксилол - 3 раза по 4 мин.
 - Этанол 100 % - 2 раза по 3 мин.
 - Этанол 96 % - 2 раза по 3 мин.
 - Дистиллированная вода - 2 раза по 3 мин.
3. **Предварительная обработка гистосрезов:**
 - В скороварке в цитратном буфере, рН 6.0 в течение 10 мин.
 - Содержание гистосрезов в дистиллированной воде – 2 раза по 2 мин.
 - Обработка гистосрезов 1 % раствором пероксидазы водорода - 5 мин.
 - Содержание гистосрезов в дистиллированной воде – 2 раза по 3 мин.
 - Размещение гистосрезов в фосфатном буфере (PBS) – 2 раза по 5 мин.
4. **Помещение гистосрезов в инкубационную камеру:**
 - Блокинг сыворотку нанесли на 30 мин. при температуре 37° С.
 - Применили 1 % раствор бычьей сыворотки (BSA) в PBS.
 - Инкубация гистосрезов с первичным антителом в инкубационной камере на ночь при температуре 4° С.
 - Промывание гистосрезов в буфере PBS 3 раза по 7 мин.

Инкубация срезов с вторичным антителом в инкубационной камере (антимышиный IgG) – 1 час при комнатной температуре.

Соотношение: 1:200

Промывание гистосрезов в буфере PBS 3 раза по 7 мин.

Инкубация гистосрезов в ABC растворе – 1 час при комнатной температуре.

Промывание гистосрезов в буфере PBS 3 раза по 7 мин.

- 5. Инкубация гистосрезов для окраски в свежее приготовленном и профильтрованном хромогенном субстрате (ДАБ) - 5 мин.** При комнатной температуре. Состав ДАБ (100 μ l DAB + 900 μ l PBS + 1 μ l H_2O_2).

Промывание гистосрезов в дистиллированной воде – 3 раза по 7 мин.

Окрашивание гистосрезов гематоксилином Майера – 1 мин.

Промывание гистосрезов в водопроводной воде – 5 раз по 1 мин.

Промывание гистосрезов в дистиллированной воде – 2 раза по 2 мин.

Дегидратация срезов в восходящей крепости спирта (96% и 100%) – каждый 2 раза по 3 мин.

Применение ксилола – 3 раза по 4 мин.

- 6. Покрывание гистосрезов покровным стеклом с помощью ксилола.**

При положительной реакции клетки в состоянии митоза (пролиферация) окрашивались в коричневый цвет, а ядра неокрашенных остальных клеток в синий цвет. Ход и результаты работы протоколировались. Читка препаратов производилась с помощью бинокулярных микроскопов различных фирм.

При читке гистопрепаратов и получении микрофотографий использовали микроскоп LEICA ICC 50 HD и цифровую камеру.

ГЛАВА III

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Мониторинг по заболеваемости животных инфекционным ринотрахеитом в хозяйствах Чуйской области.

По данным ветеринарной службы при Министерстве сельского хозяйства Кыргызской республики в Чуйской области насчитывается более 260 тысяч голов крупного рогатого скота и их численность с каждым годом увеличивается. Несмотря на достаточно строгий эпизоотологический контроль и соблюдение всех норм по содержанию животных, в хозяйствах все-таки наблюдаются потери, связанные с респираторным течением болезни молодняка сопровождающиеся с уменьшением продуктивности, потерей живой массы, нарушением воспроизводительных функций и нередко с потерей молодняка. Все эти перечисленные потери приводят фермерские хозяйства к значительному экономическому ущербу.

С целью определения точной причины болезни провели сероиммунологический мониторинг на респираторные инфекции, в результате которых в большинстве случаев исследуемых образцах были обнаружены специфические антитела против инфекционного ринотрахеита.

Для проведения серологических исследований были отобраны в общей сложности 249 проб сыворотки крови крупного рогатого скота из племенных хозяйств Чуйской области, а также частных хозяйствах, где разводят КРС. Образцы брали, в основном от молодняка, реже от взрослых животных, не подвергавшихся вакцинации против инфекционного ринотрахеита и других исследуемых заболеваний. У животных наблюдались клинические признаки заболевания: с развитием угнетения, сильного кашля, отдышки, конъюнктивита, потери аппетита, наблюдались частые летальные исходы молодняка до 6-8 месячного возраста. Так как все клинические симптомы показывали на болезни респираторного характера, мы решили проверить на основные возбудители респираторных вирусов с помощью ИФА. Ранее на территории Кыргызской Республики в частности на территории Чуйской

области в промышленных молочно-товарных фермах регистрировались подобные случаи. При проведении диагностики были обнаружены аденовирусная инфекция, парагрипп-3 и инфекционный ринотрахеит КРС. Опираясь на результаты ранее сделанных исследований нами было принята решение исследовать с помощью ИФА теста на следующие возбудители респираторных инфекций КРС: аденовирус, герпесвирус-1 типа, парагрипп-3, пневмовирус (респираторно – синцитиальная инфекция) и вирусная диарея.

Для проведения исследований мы отбирали биологические материалы в основном сыворотки крови из следующих племенных и молочно-товарных ферм, а также из частных домов, где имелись заболевшие или переболевшие животные: ОсОО «Мис-сут», Государственное учреждение «Образовательно-научно-инновационный центр по сельскому хозяйству» (ГУ «ОНИЦ») и КХ «Чабрец». Из каждого хозяйства от больных животных было отобрано по 15 проб крови, всего было собрано из фермерских хозяйств 45 проб сывороток крови, остальные 204 пробы сывороток были собраны из частных домохозяйств, где разводят КРС.

Таблица 3.1 – Результаты исследования проб сывороток крови КРС на инфекционный ринотрахеит, отобранных из ГУ «ОНИЦ» (Сокулукский район).

ПП №	Индивидуальный номер	АДВ	ГВ-1 типа	ПГ-3	Пневмо вирус	Вирусная диарея
1	75	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
2	987	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
3	612	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
4	52	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
5	74	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
6	98	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
7	613	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
8	875	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
9	876	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
10	610	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
11	615	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
12	55	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
13	58	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
14	69	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
15	72	Пол	Пол	Отр	Отр	Отр
Итого:		1	5	0	0	1

Результаты исследования сывороток крови от животных ГУ «ОНИЦ» показали, что только в 5 образцах из 15 обнаружены антитела против ИРТ, по 1-му образцу против аденовирусной инфекции (АДВ) и вирусной диареи.

Таблица 3.2 – Результаты исследования проб сывороток крови КРС на инфекционный ринотрахеит, отобранных из КХ «Чабрец» (Сокулукский район).

ПП №	Индивидуальный номер	АДВ	ГВ-1 типа	ПГ-3	Пневмо вирус	Вирусная диарея
1	2185	Отр	Отр	Пол	Отр	Отр
2	2545	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
3	2728	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
4	2946	Пол	Отр	Отр	Отр	Пол
5	2275	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
6	4152	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
7	7356	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
8	2652	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
9	3596	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
10	3582	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
11	2950	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
12	2947	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
13	2184	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
14	2189	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
15	7340	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
Итого:		2	7	1	0	3

Результаты исследования сывороток крови от животных КХ «Чабрец» показали, что в 7 образцах из 15 обнаружены антитела против ИРТ, в 2 образцах против аденовирусной инфекции (АДВ), в 1 образце против парагриппа 3 и в 3 образцах против вирусной диареи.

Таблица 3.3 – Результаты исследования проб сывороток крови КРС на инфекционный ринотрахеит, отобранных из ОсОО «МИС-СУТ» (Иссык-Атинский район).

ПП №	Индивидуальный номер/кличка	АДВ	ГВ-1 типа	ПГ-3	Пневмо вирус	Вирусная диарея
------	-----------------------------	-----	-----------	------	--------------	-----------------

1	Ванна	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
2	СТФ0165	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
3	Узница 0502	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
4	АА 082	Отр	Отр	Пол	Отр	Отр
5	0163	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
6	Серна 0528	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
7	Дочурка 0504	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
8	АА 095	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
9	0161	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
10	Картонка 0458	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
11	Тесьма 1918	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
12	0151	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
13	0159	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
14	АА 085	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
15	Авка 0476	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
Итого:		1	6	1	0	2

Результаты исследования сывороток крови от животных ОсОО «Мис-Сут» показали, что только в 6 образцах из 15 обнаружены антитела против ИРТ, по 1-му образцу против аденовирусной инфекции (АДВ) и парагриппа-3 и в 2-х образцах против вирусной диареи.

Таблица 3.4 – Результаты исследования проб сывороток крови КРС на инфекционный ринотрахеит, отобранных из частных домохозяйств Чуйской области.

ПП №	Индивидуальный номер	АДВ	ГВ-1 типа	ПГ-3	Пневмо вирус	Вирусная диарея
1	2319	Пол	Пол	Отр	Отр	Отр
2	1519	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
3	1919	Пол	Пол	Отр	Отр	Отр
4	1319	Пол	Отр	Отр	Отр	Пол
5	2519	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
6	4519	Отр	Отр	Пол	Отр	Пол
7	1219	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
8	1719	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
9	5019	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
10	4319	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
11	3519	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
12	2619	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
13	1619	Отр	Отр	Пол	Отр	Отр
14	4419	Пол	Пол	Отр	Отр	Отр
15	7119	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
16	3719	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр

17	2419	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
18	2119	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
19	4819	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
20	3819	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
21	6919	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
22	6119	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
23	5319	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
24	4719	Отр	Пол	Пол	Отр	Отр
25	4119	Пол	Пол	Отр	Отр	Отр
26	3319	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
27	2919	Отр	Отр	Пол	Отр	Отр
28	1119	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
29	0919	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
30	7719	Отр	Пол	Пол	Отр	Отр
31	5719	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
32	5419	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
33	5919	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
34	6019	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
35	6719	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
36	1319	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
37	3820	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
38	2220	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
39	1520	Отр	Пол	Пол	Отр	Пол
40	0320	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
41	0520	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
42	0120	Пол	Пол	Отр	Отр	Пол
43	1820	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
44	2020	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
45	3120	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
46	3420	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
47	1920	Пол	Отр	Пол	Отр	Отр
48	1420	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
49	0720	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
50	1120	Отр	Пол	Пол	Отр	Пол
51	2720	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
52	3220	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
53	3320	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
54	3520	Пол	Пол	Отр	Отр	Отр
55	4420	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
56	4220	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
57	1620	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
58	0220	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
59	0520	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
60	1220	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
61	6425	Пол	Пол	Отр	Отр	Отр
62	6438	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
63	6423	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
64	6417	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
65	6418	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
66	6435	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр

67	6449	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
68	6433	Пол	Пол	Отр	Отр	Отр
69	6436	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
70	6424	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
71	6419	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
72	6420	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
73	6441	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
74	6421	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
75	6447	Пол	Пол	Отр	Отр	Отр
76	6413	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
77	6411	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
78	6446	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
79	6431	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
80	6429	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
81	6439	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
82	6427	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
83	6443	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
84	6430	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
85	7	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
86	87	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
87	62	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
88	68	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
89	4	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
90	517	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
91	487	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
92	024	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
93	4128	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
94	120	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
95	57	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
96	516	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
97	2814	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
98	2816	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
99	2834	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
100	2838	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
101	2722	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
102	1410	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
103	1440	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
104	1378	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
105	1482	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
106	791	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
107	1424	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
108	777	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
109	19а	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
110	196	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
111	2816	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
112	2834	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
113	2824	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
114	2838	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
115	2814	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
116	2464	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр

117	2722	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
118	64	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
119	70	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
120	89	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
121	79	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
122	1	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
123	85	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
124	78	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
125	87	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
126	83	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
127	75	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
128	7	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
129	4008	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
130	7210	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
131	3934	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
132	62	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
133	68	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
134	72	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
135	0003	Пол	Отр	Отр	Отр	Отр
136	0001	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
137	0013	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
138	0017	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
139	0021	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
140	0047	Отр	Отр	Пол	Отр	Отр
141	0069	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
142	0004	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
143	0028	Отр	Отр	Отр	Отр	Пол
144	0062	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
145	A451	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
146	A264	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
147	A335	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
148	A233	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
149	A260	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
150	A013	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
151	A045	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
152	A117	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
153	1771	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
154	0012	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
155	0037	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
156	0091	Отр	Пол	Отр	Отр	Пол
157	0074	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
158	A015	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
159	A147	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
160	A149	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
161	A152	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
162	A187	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
163	1342c	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
164	1348c	Отр	Отр	Пол	Отр	Отр
165	1385c	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
166	1387c	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр

167	1344с	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
168	1366с	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
169	7000	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
170	7100	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
171	7200	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
172	7400	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
173	7500	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
174	7600	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
175	7300	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
176	7405	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
177	7403	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
178	7412	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
179	7414	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
180	7409	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
181	7411	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
182	В320	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
183	В322	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
184	В323	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
185	В325	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
186	В327	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
187	В328	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
188	В330	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
189	8890	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
190	8891	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
191	8892	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
192	8893	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
193	8895	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
194	8880	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
195	8881	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
196	8894	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
197	8890	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
198	8897	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
199	8898	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
200	8899	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
201	8896	Отр	Пол	Отр	Отр	Отр
202	8889	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
203	8881	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
204	8882	Отр	Отр	Отр	Отр	Отр
Итого:		21	91	10	0	25

Результаты исследования сывороток крови от животных домохозяйств Чуйской области показали, что только в 91 образцах из 204 обнаружены антитела против ИРТ, в 21 образцах против аденовирусной инфекции (АДВ), 10 образцах против парагриппа-3 и в 25 образцах против вирусной диареи.

Итого методом ИФА всего протестировано 249 проб сывороток крови КРС на наличие специфических антител против вирусных заболеваний КРС:

Их них выявлены антитела против ИРТ - 109 (43,8 %)

Антитела против вирусной диареи – 31 (12,5 %)

Антитела против аденовируса – 25 (10 %)

Антитела против парагриппа 3 – 12 (4,8 %)

Как показаны результаты исследований в таблицах № 3.1, 3.2, 3.3 и 3.4 нами было проведено серологический мониторинг среди поголовья крупного рогатого скота из племенных и домохозяйств на наличие специфических антител против основных респираторных заболеваний КРС. Преобладающим заболеванием среди поголовья КРС Чуйской области был выявлен инфекционный ринотрахеит, который составил 43,8 % от всех протестированных животных. После ИРТ на втором месте вирусная диарея – 12,5 %, после аденовирусная инфекция – 10 % и в конце парагрипп 3 – 4,8 %. Так как владельцы животных и ветеринарные специалисты подтвердили о не проведенной ранее вакцинации этих животных, наши исследования показывают, что эти положительно выявленные КРС ранее уже встречались с вышеуказанными инфекциями и выработали вирусспецифические антитела против данных инфекций. Кроме того, как мы знаем по литературным источникам данные респираторные инфекции являются в большинстве случаев протекают в смешанной форме.

Как видно в результатах наших исследований циркуляция инфекционного ринотрахеита превалирует чем остальные виды инфекционных заболеваний. Важно отметить что мы отбирали образцы для исследований только от не давно переболевших и во время течения инфекционных заболеваний от молодых особей КРС с клиническими признаками респираторного характера. Это свидетельствует о том, что инфекционный ринотрахеит достаточно широко циркулирует среди крупного рогатого скота в различных хозяйствах Чуйской

области, и является одним из основных причин, приводящих к большим экономическим потерям в скотоводстве нашей республики.

3.2. Выделение и культивирование вируса инфекционного ринотрахеита

Борьба с респираторными инфекциями остается актуальной, поскольку биология вирусов сложная и многогранная. Одни вирусы вызывают только респираторный синдром (риновирус, респираторно-синцитиальный, реовирус); другие наравне с респираторным синдромом вызывают поражение кишечника, генитальной, нервной системы (парвовирус, вирусной диареи, инфекционного ринотрахеита); третья группа обладает иммунодепрессивным действием (вирусная диарея и аденовирус I и II серовары). Зачастую эти вирусы действуют в виде смешанной инфекции, вследствие чего может произойти изменение генома. Это подтверждается тем, что в сыворотке крови больного животного серологическими реакциями в диагностических титрах выделяется 2-4 разных антигена. Выделение и идентификация респираторных вирусов по видам может ускорить и повысить результативность диагностики.

В числе общих биологических характеристик респираторных вирусов особое место занимает их способность адаптироваться и размножаться в гетерологической системе культивирования для следующего изучения или для применения в приготовлении вакцинных штаммов или для других целей.

Вспышки инфекционного ринотрахеита у телят в обследуемых хозяйствах регистрировали на протяжении нескольких лет. В основном заболевали телята в возрасте от 20 дней до 6-7 месяцев. Как правило с ИРТ заболевают не только молодняки, но и взрослые животные. Во время нашего исследования были выявлены больные животные с более выраженными клиническими признаками с тяжелой респираторной формой и в некоторых случаях даже сопровождались летальными случаями молодых особей до 6-7 месяцев. Болезнь характеризовалась повышением температуры тела до 40-41,5

°С, угнетением, кашлем, затрудненным дыханием, потерей аппетита. У некоторых животных наблюдали истечения из носа катарального характера, слезотечение, диарею. Болезнь как правило протекала остро и продолжалась в пределах до 15 дней, в течение которых происходил наибольший отход телят.

Оставшиеся телята внешне казались здоровыми, но через 7-10 дней у них наступало обострение болезни, затем ее угасание и появление вновь. У многих животных эта клиническая форма проявлялась однотипно. Переболевшие животные отставали в росте и теряли в весе.

Для изоляции в перевиваемых культурах клеток мы с начала обнаруживали возбудителя ИРТ с помощью ПЦР. ПЦР применяли также для исключения смешанных инфекций вирусного типа. Так как ИРТ и другие респираторные вирусы вполне могут сосуществовать. Поэтому для получения чистого изолята мы тщательно проверяли на другие инфекции. Для культивирования брали только те образцы, которые показали на другие виды вирусов отрицательный результат.

Для получения и выделения инфекционного ринотрахеита использовали различный патологический материал (экссудат из носовых синусов, трахеи и бронхов, кусочки легких и трахеи). 10 % суспензию готовили из биоматериала заболевших, забитых и павших от ИРТ телят. В фарфоровой ступке с пестиком со стеклянным песком растирали до измельчения патологический материал, добавляли физиологический раствор в концентрации 1:10, путем смешивания получали однородную массу. Затем суспензию замораживали трехкратно при -80 °С, центрифугировали при 1000 об. в течение 30 минут при температуре 4°С. Образовавшуюся надосадочную жидкость пропускали через фильтр для удаления грибковых контаминантов с добавлением антибиотиков и антигрибковых препаратов. Суспензию с антибиотиками оставляли при комнатной температуре в течение 15 мин.

Для культивирования инфекционного ринотрахеита использовали перевиваемые линии культур клеток MDBK, которые имеются в лаборатории вирусологии и биотехнологии КНИИВ им. А. Дуйшеева. Использовали наборы

среды Игла, солевой раствор Хенкса, антибиотики, поддерживающие среды. Работу проводили в стерильном ламинарном боксе.

Для заражения клеток отбирали матрасы со сплошным клеточным монослоем (Рис. 3.1.). Ростовую питательную среду сливали, клетки 1-2 раза промывали раствором Хенкса, чтобы удалить сывороточные антитела и ингибиторы. В матрасы вносили по 1000 мкл вирусодержащего материала (инфекционный ринотрахеит, выделенный в Чуйской области) и покачиванием распределяли его равномерно по слою клеток. В таком виде матрасы оставляли на 1 ч при 37 °С периодически перемешивая для адсорбции вируса на поверхности клеток. Затем вирусодержащий материал удаляли из матраса и вводили поддерживающую среду. Матрасы закрывали и ставили на инкубацию в термостат при 37°С, в горизонтальном положении. На следующий день полностью меняли поддерживающую среду. Зараженный матрас ежедневно исследовали под микроскопом для изучения происходящих процессов.

Технология культивирования инфекционного ринотрахеита на культуре клеток состоит в следующем. В зараженном матрасе адсорбировавшиеся на клетках вирусные частицы проникают внутрь их, и начинается их репродукция. Новые вирусные частицы покидают (полностью или частично) клетки, в которых они образовались, проникают в непоражённые клетки, репродуцируются в них, переходят в новые клетки и поражают их. Так продолжается до тех пор, пока есть живые неповрежденные клетки. В результате происходящего процесса практически вся основная масса клеток в матрасе поражается вирусом.



Рис. 3.1. Культура клеток MDBK со сплошным молодым монослоем.

На рис. 3.2. отображены результаты репродукции вируса в культуре клеток, которые проявляются в виде цитопатического действия вируса в виде образования гроздьев винограда в монослое (ЦПД) (Рис. 3.2.). Физиологические изменения клеток установить довольно сложно, а морфологические изменения обнаруживаются довольно легко. Для этого достаточно использовать световой микроскоп и осмотреть монослой в матрасе. Сравнивали клетки, зараженные вирусом, с такими же клетками в матрасе, не подвергающиеся заражению (контрольные пробы). В этом случае практически любые наблюдаемые в микроскопе отличия зараженной культуры клеток от контрольной можно считать проявлением ЦПД. Эти отличия захватывали весь монослой или отмечались только в виде небольших очажков изменённых клеток в слое нормальных клеток. Интенсивность ЦПД выражается тем, какая часть клеточного монослоя изменена вирусом. ЦПД оценивали в баллах. Инфекционный ринотрахеит проявил ЦПД через 3 суток после заражения монослоя.

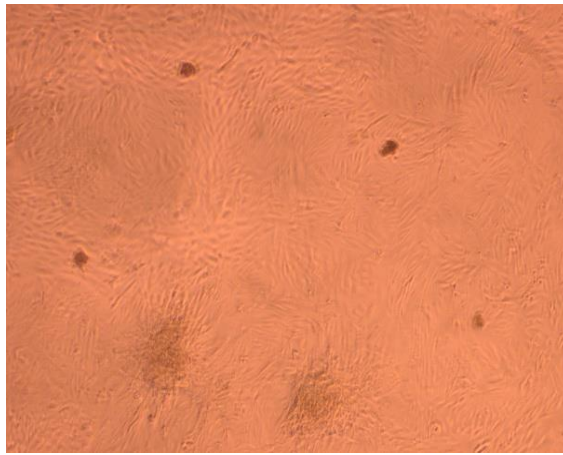


Рис. 3.2. Матрасы MDBK на 3-й день после заражения инфекционным ринотрахеитом

ЦПД наблюдали в обоих матрасах с первого пассажа на 3-е сутки после заражения. В начале клетки увеличились в объеме и стали обретать округлую форму. Затем клетки стали собираться в конгломераты, клеточный монослой терял свою форму. К концу культивирования монослой культуры клеток полностью терял свою первоначальную структуру. На 6 день микроскопированием было отмечено скопление клеток в конгломераты, образование пустот (Рис. 3.3).

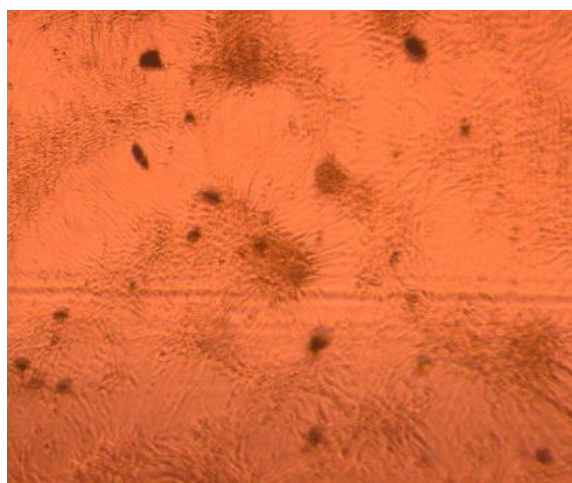


Рис. 3.3. Матрасы MDBK на 6-й день после заражения инфекционным ринотрахеитом

В цитопатических изменениях в зараженной культуре клеток наблюдали дегенерацию клеток в монослое, затем появлялись скопления округлых клеток по всему монослою. Клетки укрупнялись, появлялась зернистость цитоплазмы. Позднее они группировались в виде гроздьев винограда и отторгались от стекла, клеточный слой разрушался (Рис. 3.3.).

Образование «стерильных пятен» наблюдали на 6-7-е сутки и ЦПД составляло 60 %. На 8-9-е сутки площадь «стерильных пятен» увеличилась, образованные конгломераты были в виде гроздьев винограда. Площадь ЦПД составила 80 % от поверхности культуры. Спустя 9 суток зараженную культуру клеток консервировали (Таблица 3.5.).

Таблица 3.5. - Оценка чувствительности инфекционного ринотрахеита на культурах клеток

Перевиваемая культура клеток	1-й день	3-й день	7-й день	9-й день
MDBK	0 log	1,5 log	2,5 log	3 log

Инфекционный ринотрахеит хорошо репродуцировался на культуре MDBK, вызывая характерные цитопатические действия. Цитопатические изменения наблюдали в виде сбоя пораженных клеток в конгломераты, напоминающих «гроздь винограда», и последующее отторжение их от стекла. В культуре клеток MDBK вирус размножался с характерными изменениями клеток. Уже с 1го пассажа вызывали в культуре клеток характерные для инфекционного ринотрахеита внутриклеточные изменения. Выделенные изоляты хорошо репродуцировались в клетке MDBK, их титр достигал 3 log ТЦД 50/мл.

Выделенные изоляты характеризовались выраженными патогенными свойствами в отношении зараженной культуры клеток. Как показали результаты наших исследований, полевые изоляты при пассировании в культуре клеток MDBK проявляли ЦПД на протяжении нескольких пассажей.

Таким образом, инфекционный ринотрахеит (выделенный изолят) легко адаптировался на культуре клеток MDBK.

3.3. Гистологическое строение трахеи, ТАЛТ, легких и БАЛТ у клинически здорового теленка.

Макроскопически трахея представляет собой трубку, стенка которой состоит из не замкнутых хрящевых колец. Гистологически стенка трахеи состоит из 4 оболочек - слизистая оболочка, подслизистая основа, фиброзно-хрящевая оболочка (Рис.3.4) и адвентиция.

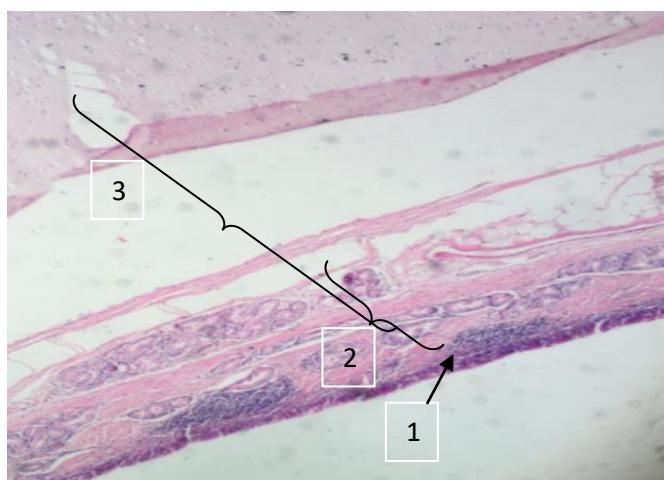


Рис. 3.4. Поперечный гистосрез трахеи теленка. 1. Слизистая оболочка. 2. Подслизистая основа. 3. Фиброзно-хрящевая оболочка. Окраска гематоксилин-эозин. х 40.

Слизистая оболочка трахеи выстлана призматическим эпителием, бокаловидными клетками и базальными клетками (Рис. 3.5).

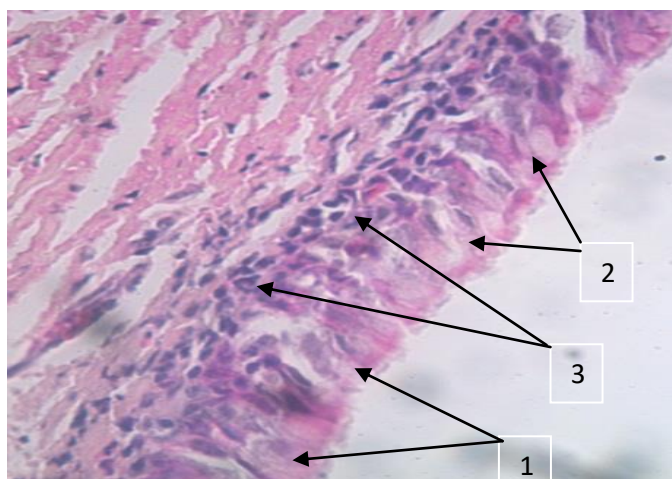


Рис. 3.5. Поперечный гистосрез трахеи теленка. 1. Призматические эпителиальные клетки. 2. Баколовидные клетки. 3. Базальные клетки. Окраска гематоксилин-эозин. х 400.

В собственной пластинке слизистой оболочки встречаются лимфоидные фолликулы, так называемые трахея-ассоциированная лимфоидная ткань (ТАЛТ) (Рис 3.6). ТАЛТ в норме находится в состоянии относительного покоя, т.е. отсутствуют лимфоидные фолликулы со светлыми центрами. Лимфоидные фолликулы имеют округлую или овальную форму без выраженной мантийной зоны и светлого центра (Рис. 3.6). В лимфоидных фолликулах отмечается деление лимфобластов. Клеточный состав ТАЛТ представлен в основном лимфоцитами, затем плазматическими клетками и макрофагами.

Подслизистая основа трахеи состоит из рыхлой волокнистой соединительной ткани, где располагаются собственные железы трахеи (Рис 3.6). Выводные протоки этих желез открываются на поверхности слизистой оболочки. Волокнисто-хрящевая оболочка трахеи состоит из гиалиновых хрящей, волокнисто-соединительной ткани и гладких мышечных клеток. Адвентициальная оболочка представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью.

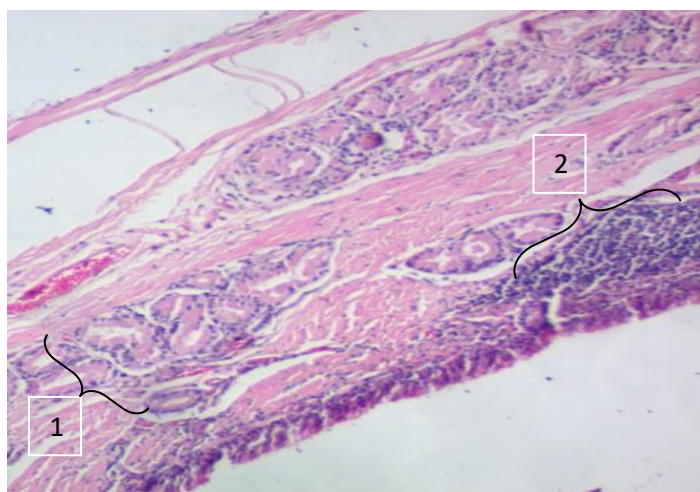


Рис. 3.6. Поперечный гистосрез трахеи телянка. 1. Собственные железы трахеи, расположенные в подслизистой основе. 2. Трахея – ассоциированная лимфоидная ткань, расположенная под слизистой оболочкой. Окраска гематоксилин-эозин. x 100.

Легкие телянка является парным органом и условно состоит из 8 долей- 3 верхушечные, 2 сердечные, 2 диафрагмальные и 1 добавочная. Макроскопически легкие телянка бледно-розового цвета, покрыты тонкой влажной плеврой. При пальпации легкие резиноподобной консистенции, края неровные, острые.

Гистологически слизистая оболочка бронхов малого калибра и бронхиол состоит из эпителиальных клеток кубической и цилиндрической формы. В стенках бронхов малого калибра отсутствуют хрящевая ткань и железы. Собственная пластинка бронхов и бронхиол имеет макрофаги, лимфоциты и плазматические клетки. Мышечная оболочка состоит из рядов гладких мышечных клеток (Рис. 3.7). Тонкий слой адвентиции граничит с паренхимой легкого и содержит единичные лимфоциты и макрофаги.

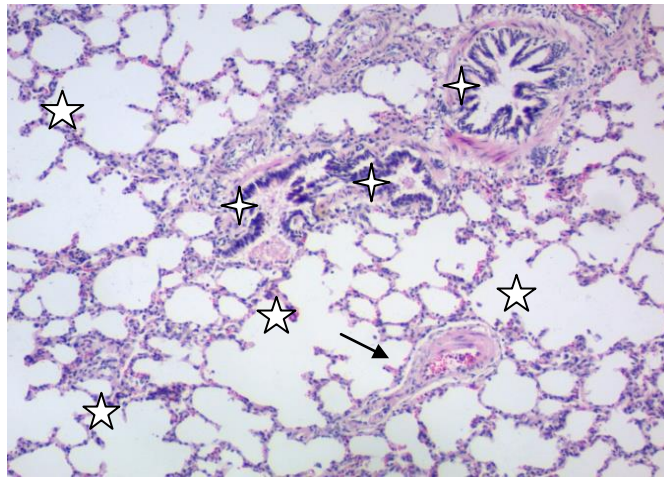


Рис.3.7. Гистосрез легких теленка. Альвеолы легких (5-конечные звезды), бронхиолярная система легких (4-конечные звезды) и сосуд (стрелка). Окраска гематоксилин-эозин. x 100.

Внутренняя поверхность альвеол покрыта альвеолоцитами, которые образуют непрерывную эпителиальную выстилку альвеол. В стенке альвеол также выделяют капилляры, гладкомышечные клетки, макрофаги и единичные лимфоциты (Рис. 3.8).

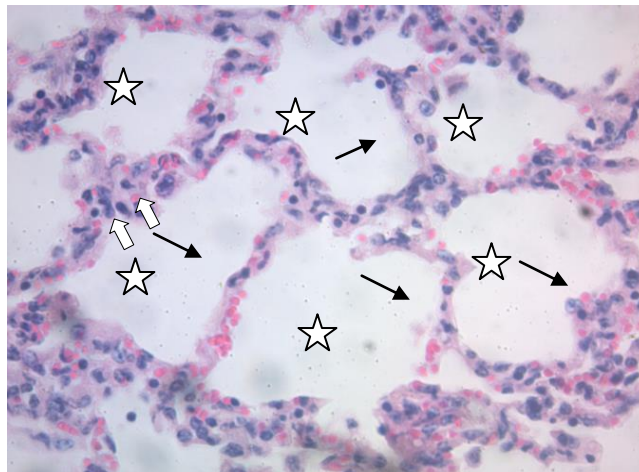


Рис.3.8. Гистосрез легких теленка. Альвеолы легких при большом увеличении. Полости альвеол (5-конечные звезды), стенки альвеол, состоящие из альвеолоцитов, эритроцитов, лимфоцитов и макрофагов (черные стрелки) и 2 макрофага в полости альвеол (белые стрелки). Окраска гематоксилин-эозин. x 400.

В легких имеется бронхо (или легочно) - ассоциированная лимфоидная ткань ЛАЛТ (или БАЛТ). Она располагается по ходу мелких бронхов и бронхиол в виде лимфоидных образований различных размеров (Рис. 3.9), а вокруг сосудов, в интерстиции и в паренхиме в виде диффузно распространенных лимфоидных клеток, которые выполняют в ткани легких функцию иммунного надзора.

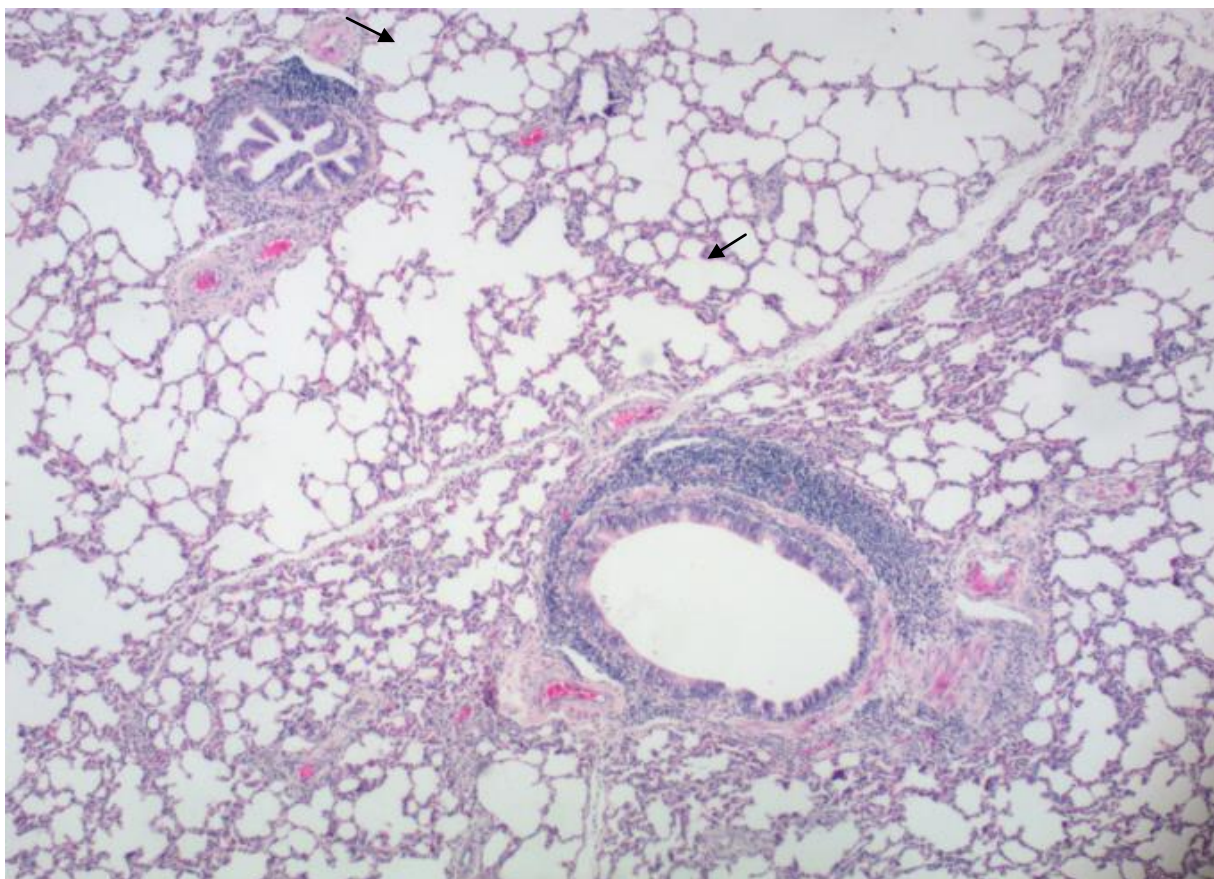


Рис. 3.9. Гистосрез легких телят. Легочно-ассоциированная лимфоидная ткань вокруг двух бронхов малого калибра (указаны черными стрелками). Окраска гематоксилином и эозином. х 40.

БАЛТ в норме находится в состоянии относительного покоя, которое объясняется отсутствием лимфоидных фолликулов со светлыми центрами. Лимфоидные фолликулы имеют округлую или овальную форму без выраженной мантийной зоны и светлого центра (Рис. 3.10). В лимфоидных фолликулах отмечается деление отдельных клеток. Клеточный состав БАЛТ

представлен в основном лимфоцитами, затем плазматическими клетками и макрофагами, которые в паренхиме легких встречаются в малом количестве.

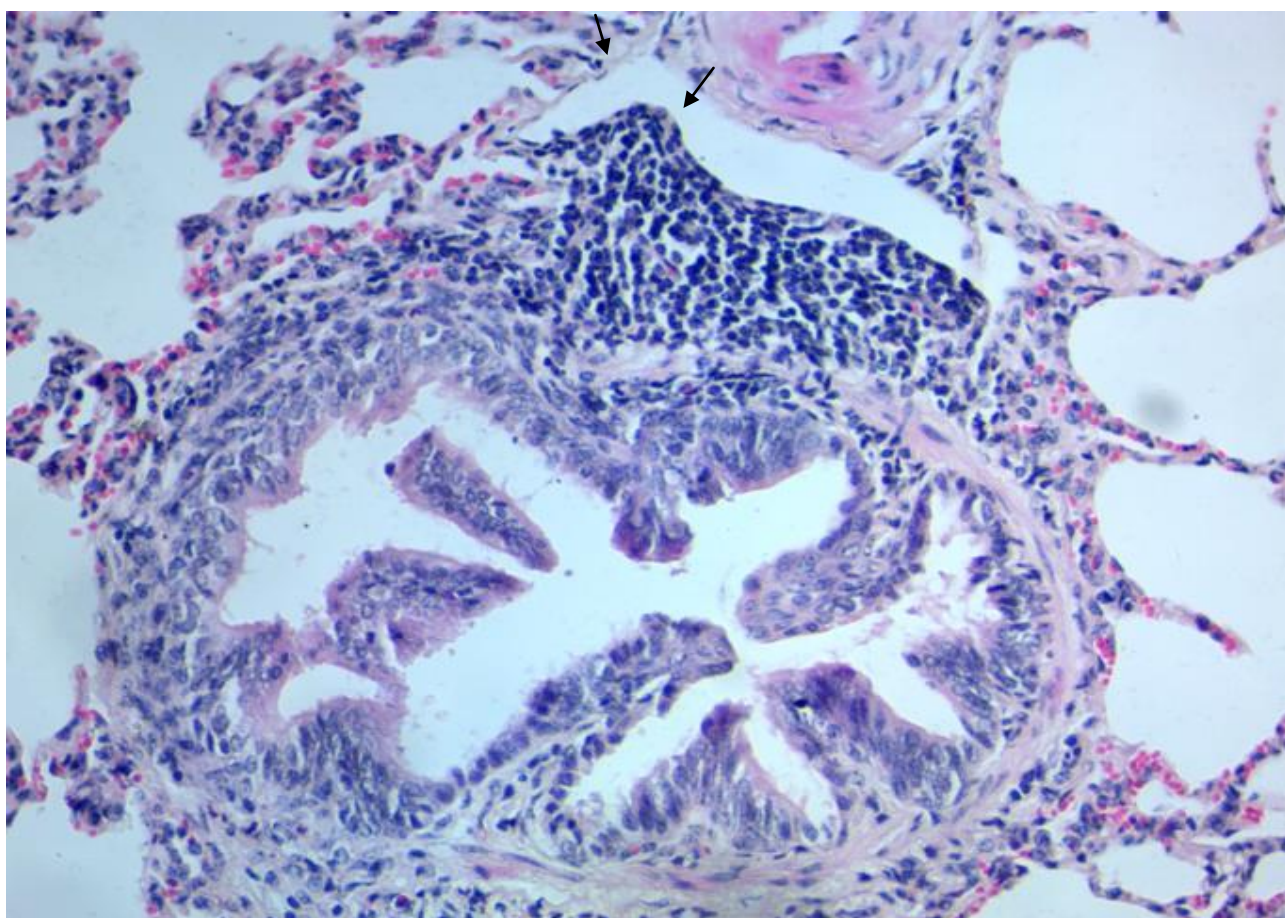


Рис. 3.10. Гистосрез легких теленка. А. Легочно-ассоциированная лимфоидная ткань вокруг двух бронхов малого калибра в состоянии относительного покоя (указаны черными стрелками). Окраска гематоксилином и эозином. х 200.

На основе исследований по данному разделу можно делать следующее заключение:

1. Описано гистологическое строение трахеи, трахея-ассоциированной лимфоидной ткани, легких и бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани теленка.
2. Функциональное состояние как трахея-ассоциированной лимфоидной ткани, так и легочно-ассоциированной лимфоидной ткани соответствует состоянию относительного покоя.

3.4. Макроскопическое и гистологическое строение лимфатических узлов и селезенки у телят

Макроскопически подчелюстные, заглочные, бронхиальные и средостенные лимфатические узлы телят имеют разные формы и величины (овальные, округлые – подчелюстные, заглочные, бронхиальные лимфатические узлы, округлые и удлинённые – средостенные лимфатические узлы). По консистенции плотноватые, серо-белого цвета, окружены жировой и соединительной тканью. На поперечном срезе лимфатических узлов визуальнo можно выделить корковое и мозговое вещества.

Гистологически лимфатический узел телят состоит из стромы (капсула, трабекулы), паренхимы (корковое и мозговое вещество) и синусов. Корковое вещество представлено кортикальной (В-зависимая зона) и паракортикальной зонами (Т-зависимая зона) (Рис. 3.11). В кортикальной зоне расположены лимфоидные фолликулы. В морфофункциональном отношении их можно разделить на активно функционирующие лимфоидные фолликулы, лимфоидные фолликулы в состоянии относительного покоя и новообразованные фолликулы. В лимфоидных фолликулах располагаются лимфоциты различных размеров, макрофаги, плазматические клетки и бластные клетки.

Паракортикальная зона находится между В-зависимой зоной и мозговым веществом и представлена диффузно локализованными лимфоцитами. Обнаруживаются лимфоциты (малые, средние и большие), плазматические клетки и макрофаги (Рис.3.11).

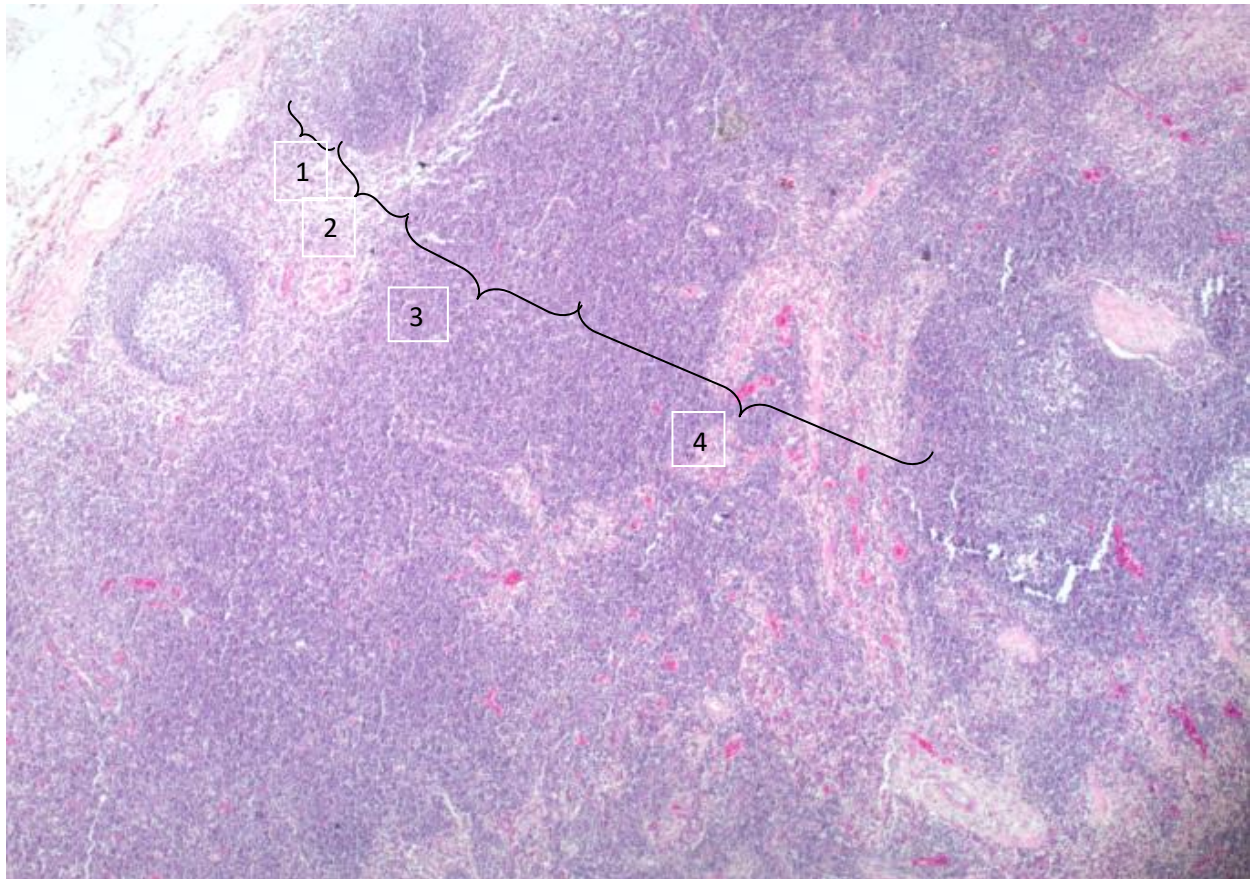


Рис.3.11. Лимфатический узел телят. 1. Капсула. 2 Лимфоидные фолликулы (В-зона). 3. Паракортикальная зона (Т-зона). 4. Мозговое вещество лимфатического узла. Окраска гематоксилином и эозином. х 40.

Мозговое вещество лимфатических узлов состоит из мозговых тяжей и синусов, где локализованы лимфоциты, макрофаги и плазматические клетки (Рис. 3.12) .

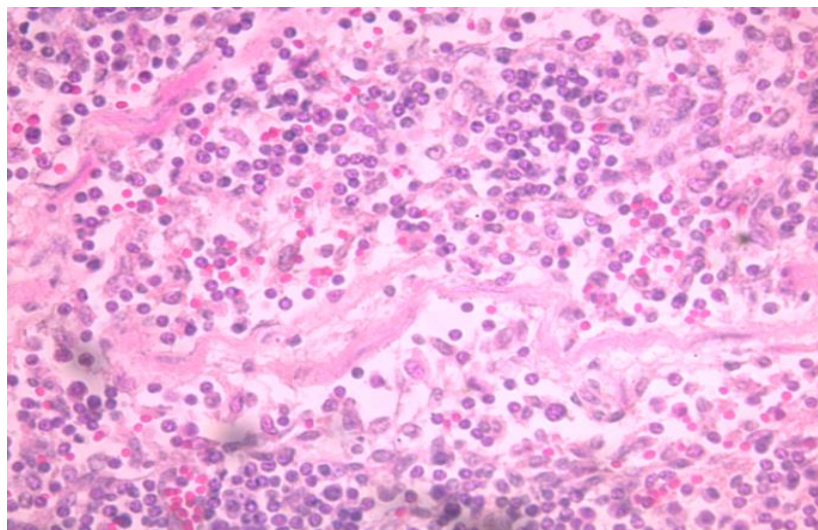


Рис.3.12. Лимфатический узел теленка. Мозговое вещество лимфатического узла теленка. Лимфоциты, макрофаги, плазматические клетки и эритроциты. Окраска гематоксилином и эозином. х 400.

Наряду с пролиферацией лимфобластов в В- зависимых, Т-зависимых зонах, в паренхиме лимфатических узлов, т.е. в В- зависимых, Т-зависимых зонах, а также в мозговом веществе выявлен апоптоз лимфоидных клеток.

Исследованием лимфатических узлов теленка получены следующие данные:

1. Функциональное состояние органа соответствует состоянию умеренного функционирования.
2. Установлены пролиферация и апоптоз клеток в Т- и В- зависимых зонах и в мозговом веществе лимфатических узлов.

Макроскопически селезенка теленка удлинённый паренхиматозный непарный орган с острыми краями. Цвет селезенки сине-красно-коричневый, а ее консистенция упругая. На разрезе органа видна пульпа, строма и четко выделяются серо-белые очажки в виде мелких точек.

Гистологически селезенка представлена стромой и пульпой. Строма органа состоит из капсулы и трабекулярной системы. Структура капсулы образована из соединительной ткани с примесью гладкомышечных клеток. От капсулы внутрь органа отходят трабекулы, которые образуют каркас органа.

Пульпа селезенки представлена белой и красной пульпой. Белая пульпа образована из клеток лимфоидной ткани, которые формируют периартериальные диффузные инфильтраты и лимфоидные фолликулы (Рис.3.13). Т- зависимые зоны белой пульпы селезенки локализованы вокруг артерий в виде диффузной инфильтрации и состоят в основном из малых лимфоцитов (Рис.3.13). В-зависимая зона белой пульпы локализована около Т-зависимой зоны и представлена лимфоидными фолликулами (Рис.3.13).

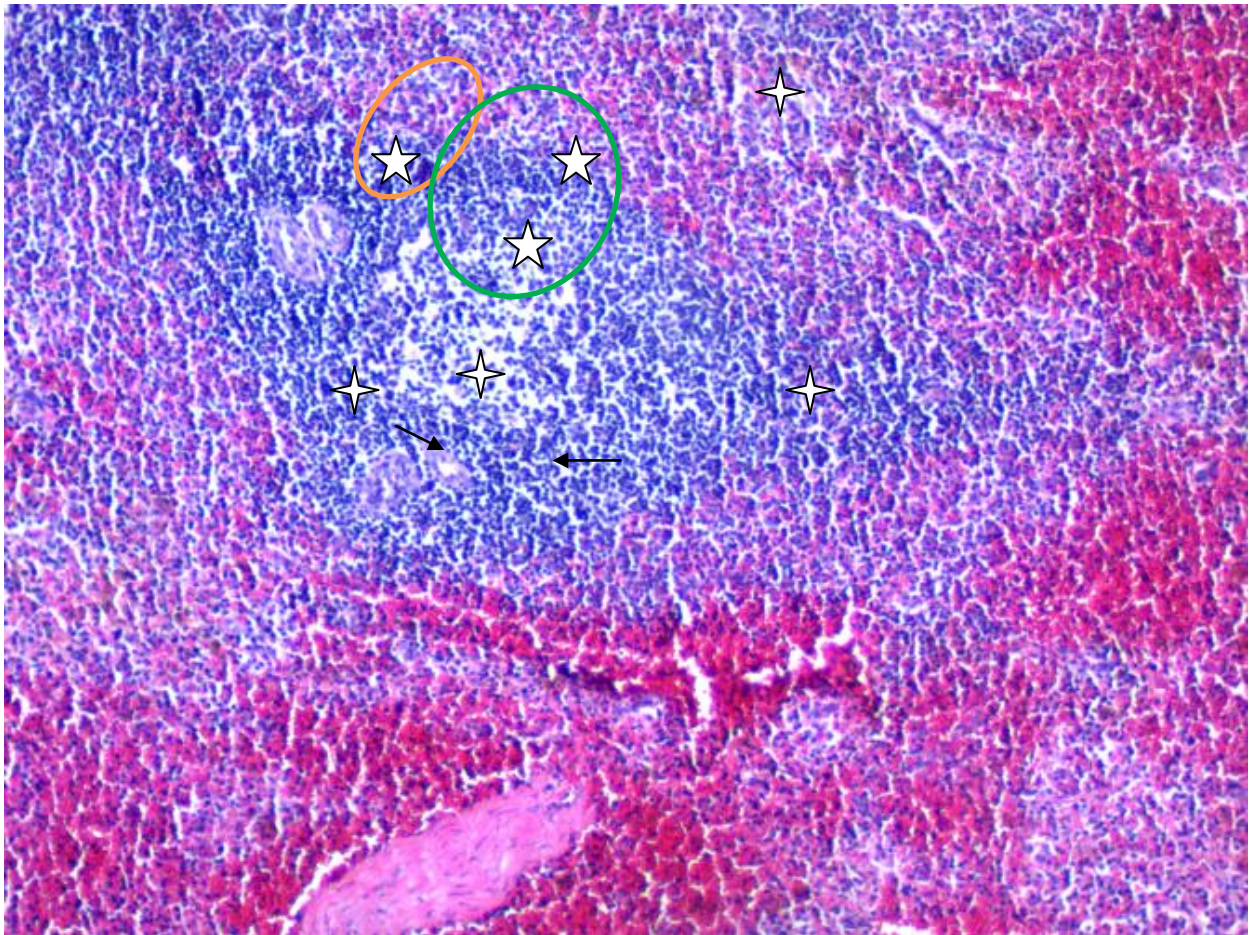


Рис.3.13. Селезенка теленка. Белая (5-конечные звезды) и красная (4-конечные звезды) пульпа, трабекула селезенки (стрелки). Овальным кругом желтого цвета указана Т-зависимая зона, зеленого цвета В-зависимая зона белой пульпы. Окраска гематоксилином и эозином. х 100.

Лимфоидные фолликулы могут находиться в различном морфофункциональном состоянии. Имеются лимфоидные фолликулы с ярко выраженным светлым центром, мантийной и маргинальной зонами (Рис. 3.14). Есть лимфоидные фолликулы с плотным скоплением лимфоидных клеток без выраженных зон и с рыхлым расположением лимфоцитов.

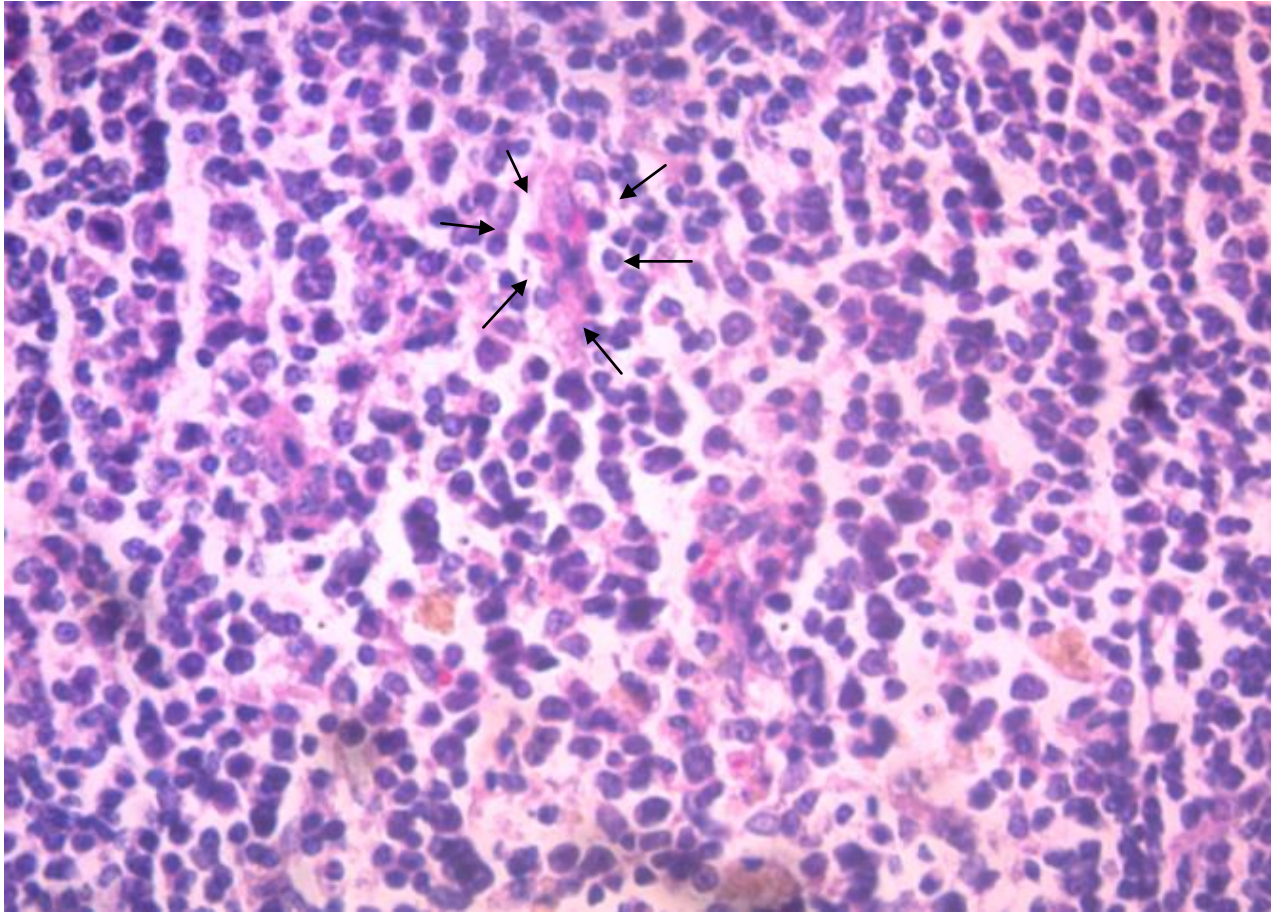


Рис.3.14. Селезенка теленка. Светлый центр лимфоидного фолликула. Пролиферация лимфобластов (стрелки). Окраска гематоксилином и эозином. х 400.

Красная пульпа состоит из синусов и тяжей, где в основном располагаются в большом количестве эритроциты. В красной пульпе также отмечено наличие макрофагов, лимфоцитов, плазматических клеток и клеток в состоянии апоптоза (Рис.3.15).

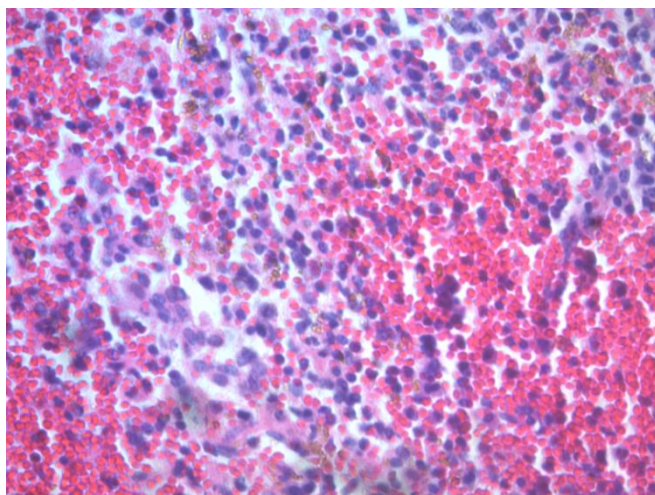


Рис.3.15. Селезенка теленка. Красная пульпа. В синусах расположены эритроциты, лимфоциты, макрофаги и плазматические клетки. х 400.

Таким образом, анализ полученных данных по морфофункциональному состоянию селезенки позволяет нам сделать следующие выводы:

1. Функциональное состояние белой пульпы селезенки соответствует состоянию умеренного функционирования.
2. Установлены пролиферация и апоптоз клеток в Т- и В- зависимых зонах белой пульпы и в красной пульпе селезенки.

3.5. Клинические и патоморфологические изменения при респираторной форме ИРТ

Анамнестические и клинические данные. Телята, которые подверглись исследованию при жизни, затем патологоанатомическому вскрытию содержались в обычных условиях. Содержание стойловое и соответствуют зооветеринарным требованиям. Телята до двух месяцев кормились молоком, а после двух месяцев – сеном и комбикормом, вода была доступна круглые сутки.

Клинические симптомы при жизни телят: угнетение общего состояния, стояли на месте или лежали, корм потребляет иногда и с неохотой, повышение температуры, покраснение носогубного зеркальца, затрудненное дыхание, кашель и истечения из носа и глаз.

Предположительный клинический диагноз – ринит, конъюнктивит и бронхопневмония.

Макроскопические изменения, обнаруженные при вскрытии телят.

Павшие телята сильно истощены (Рис. 3.16). У павших телят в носовых отверстиях обнаруживается серо-желтая густая слизь, слизистая оболочка носа отечная, покрасневшая, покрыта густой слизью, имеются мелкие поверхностные язвы. Глазные яблоки запавшие, конъюнктура покрыта густой серо-желтой слизью, имеются густые истечения из глазных щелей и корочки серо-желтого цвета. Глоточные миндалины гиперемированы, отечные, возвышаются над поверхностью слизистой оболочки, упругой консистенции. В просвете глотки, гортани и трахеи пенистая жидкость с примесью серо-желтой слизи. При разрезе гортани и глотки выделяется желтая масса с неприятным запахом (Рис.3.18).

Слизистая оболочка их отечная, покрасневшая, отдельные места слизистой оболочки изъязвлена. Бронхи заполнены пенистой прозрачной жидкостью с примесью серо-желтой массы, слизистая оболочка гиперемирована, отдельные места изъязвлены. Верхушечные и средние доли легких плотной консистенции, красно-фиолетового цвета, поверхность их бугристая (Рис. 3.17, рис. 3.18). Выражено дольчатое строение органа. После разреза паренхимы легкого и при надавливании вытекает пенистая жидкость с примесью серо-желтой массы. Кусочки легких тонут в воде. Задние доли легких розового или сине-красного цвета. При разрезе легких стекает пенистая жидкость. В некоторых легких были обнаружены утолщение плевры и спайки между долями. Головной мозг серого цвета, упругой консистенции, умеренно-влажный на разрезе, граница между белым и серым мозговым веществом сохранена. Отек, кровоизлияния отсутствуют.

Подчелюстные, заглочные, средостенные и бронхиальные лимфоузлы увеличены, плотные, сочные на разрезе. Селезенка немного увеличена, серо-фиолетового цвета, края притуплены, капсула напряжена.



Рис 3.16. ИРТ. Теленок 4-месяца по кличке Морозка. Гольштино фризская порода. Принадлежит Молочно-товарной ферме ОАО «МИС-СУТ». Клинический диагноз – ринит, конъюнктивит, бронхопневмония и сильное истощение.

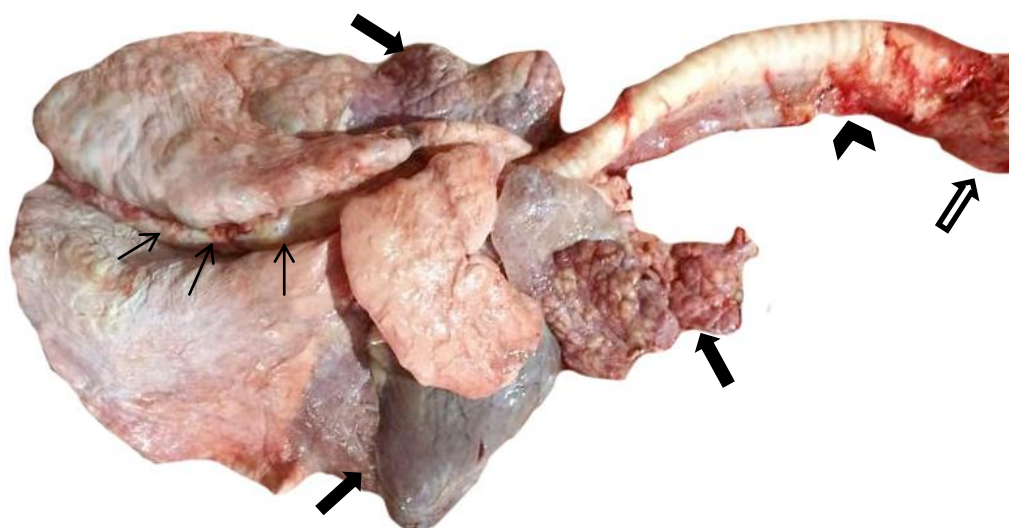
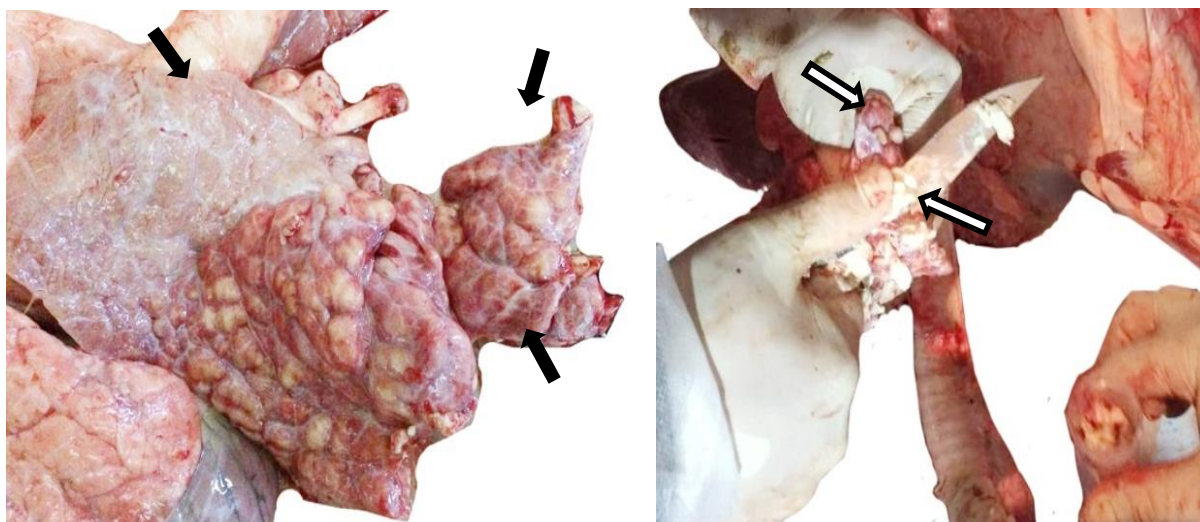


Рис. 3.17. ИРТ. Теленок 4 месяца. Комплексное поражение органов-мишеней: легкие, трахея, гортань и глотка. Воспаление верхушечных и средних долей правого и левого легких (указаны черными стрелками). Воспаление трахеи (указано головками черной стрелки). Очаговое гнойное воспаление

гортани и глотки (указано белыми стрелками). Увеличение средостенных лимфатических узлов (указано тонкими черными стрелками).



А

Б

Рис.3.18. ИРТ. Теленок 4 месяца.

А. Большое увеличение рисунка 2. Воспаленные участки легкого плотной консистенции, красно-фиолетового цвета, поверхность их бугристая (указаны черными стрелками).

Б. Большое увеличение рисунка 2. При разрезе воспаленной гортани и глотки выделяется гнойная масса желтого цвета с неприятным запахом (указана белыми стрелками).

Гистологическая диагностика. Исследование гистологических препаратов легких, павших от инфекционного ринотрахеита показывает смещанную бронхопневмонию (Рис. 3.19).

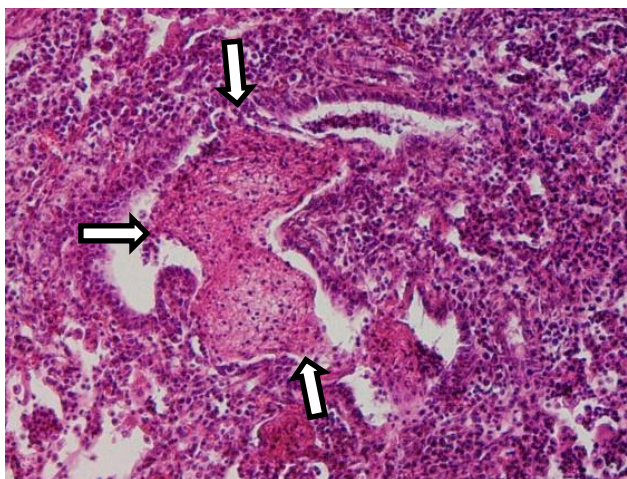
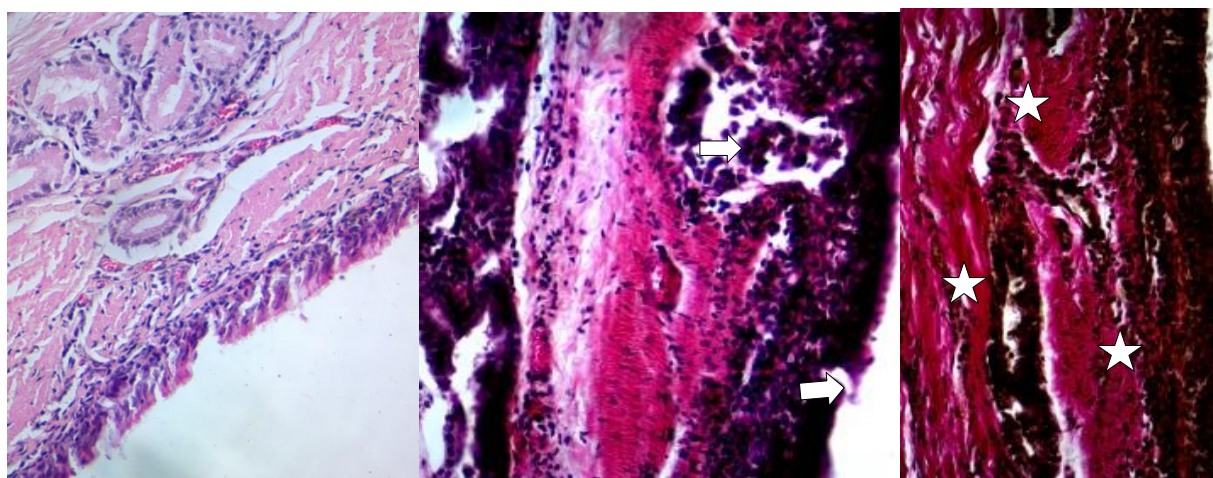


Рис.3.19. ИРТ. Теленок 4 месяца. Гистосрезы легких. Смешанная бронхопневмония. Отек легких. Альвеолы, бронхиолы и бронхи заполнены клеточным инфильтратом, фибрином и гноем (черные стрелки). Нарушена стенка альвеол и бронхиол. Гематоксилин-эозин. x100.

Исследуя клинические признаки и макроскопические изменения при респираторной форме ИРТ можно прийти к следующим выводам:

1. У телят, больных инфекционным ринотрахеитом клинически обнаруживались следующие клинические признаки: истощение, угнетенное состояние, снижение аппетита, повышение температуры, покраснение носогубного зеркальца, затрудненное дыхание, кашель и истечения из носа и глаз.
2. Макроскопические изменения:
 - Истощение
 - Ларингит, фарингит, трахеит, конъюнктивит.
 - Гиперплазия подчелюстных, заглочных, бронхиальных и средостенных лимфоузлов.
 - Катарально-гнойная, интерстициальная, фибринозная, и смешанная бронхопневмонии.
 - Отек легких.
 - В некоторых случаях плеврит.
3. Гистологическая диагностика- смещенная бронхопневмония.

Гистологические изменения в трахее. Стенка трахеи отечна. В отдельных местах отмечается отслоение эпителиального слоя от стенки трахеи и распад эпителиальных клеток. Среди эпителиальных клеток слизистой оболочки трахеи имеются единичные бокаловидные клетки, а в отдельных участках слизистой оболочки они отсутствуют. В собственной пластинке слизистой оболочки отмечается кровонаполнение сосудов и сильная инфильтрация ее лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками и нейтрофилами. Рыхлая соединительная ткань вокруг этих желез трахеи инфильтрирована лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками и нейтрофилами. Эпителиальные клетки желез отслаиваются со стенки желез и распадаются (Рис. 3.20 Б). В полости отдельных желез содержится эозинофильная однородная масса, в других – клетки в состоянии распада. В стенке трахеи отмечается разрастание коллагеновых волокон соединительной ткани (Рис. 3.20 В).



А

Б

В

Рис.3.20. А. Контрольная группа. Типичное гистологическое строение стенки трахеи. Окраска гематоксилин-эозин. х 100.

Б. ИРТ у телят. Распад эпителиальных клеток слизистой оболочки и желез трахеи (белые стрелки) и инфильтрация их лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками и нейтрофилами. Окраска гематоксилин-эозин. х 100.

В. Разрастание соединительной ткани в стенке трахеи (звездочки).
Окраска по Ван Гизону. х. 100.

В одних местах трахеи отмечается активная пролиферация эпителиальных клеток в слизистой оболочке и лимфобластов в подслизистой основе трахеи (Рис. 3.21), а в других участках пролиферация эпителиальных клеток слизистой оболочки очень слабая, но отмечается активная пролиферация лимфобластов в подслизистой основе трахеи.

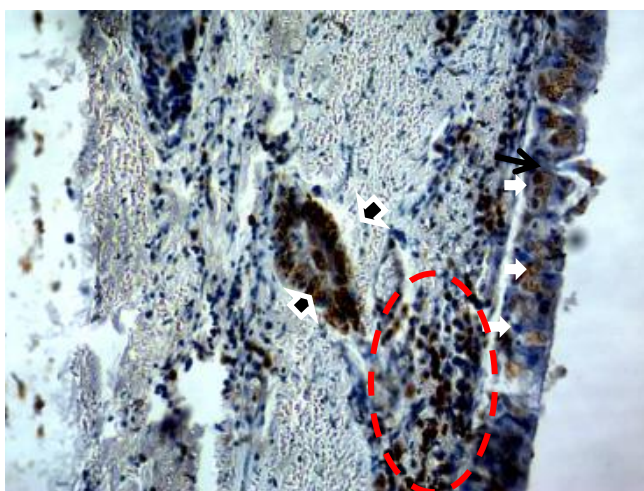
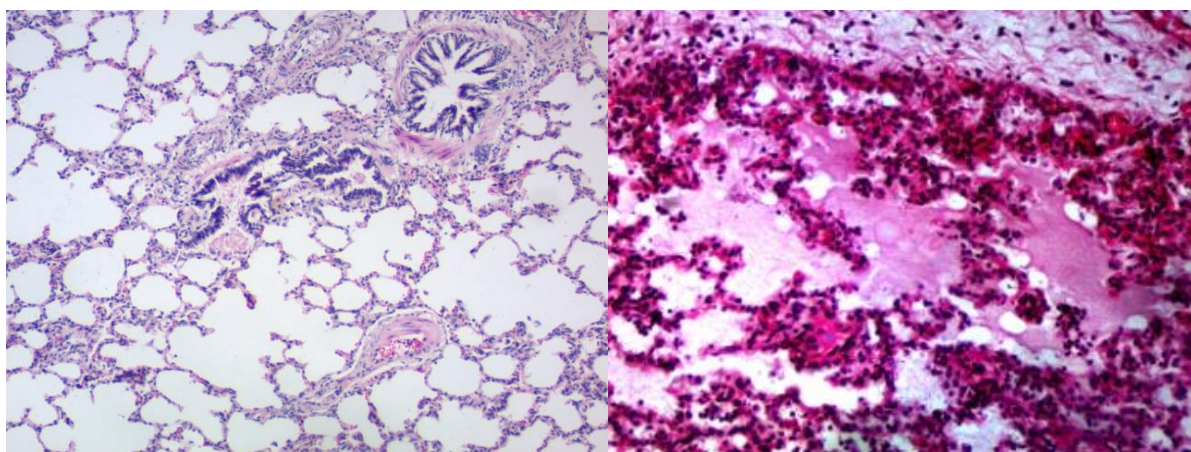


Рис.3.21. ИРТ у телят. Гистосрезы трахеи. Активная пролиферация эпителиальных клеток в базальном слое слизистой оболочки, желез трахеи (стрелки) и лимфобластов в подслизистой основе трахеи (внутри красного круга). (РАР метод, анти PCNA). х 100.

Гистологические изменения в альвеолах. Альвеолы легких находятся в различных состояниях: отдельные альвеолы спавшиеся, у других стенки утолщены, у третьих их стенки разорваны. Отдельные альвеолы заполнены гомогенной бледно-розовой эозинофильной массой. Отдельные альвеолоциты увеличены в размере и выступают в просвет альвеол (Рис. 3.22 Б).



А

Б

Рис.3.22. А. Контрольная группа. Гистосрез легких теленка. Альвеолы легких и в их просвете отсутствует постороннее содержимое, просвет бронхиол легких свободный. Окраска гематоксилин-эозин. х 100.

Б. ИРТ у теленка. Серозная пневмония. Разрыв стенок альвеол. Альвеолы заполнены однородной бледно-розовой эозинофильной массой. Окраска гематоксилин-эозин. х 100.

В просвете альвеол содержатся спущенные альвеолоциты, макрофаги, нейтрофилы. В просвете отдельных альвеол, кроме клеток содержится безструктурная некротическая масса. В другом участке паренхимы легкого отмечается распад альвеолоцитов за счет роста соединительных клеток (Рис. 3.23).

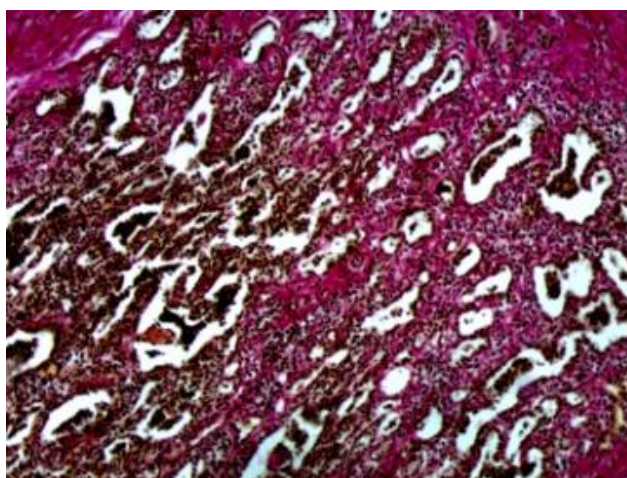


Рис.3.23. ИРТ. Легкие теленка. Разрастание соединительной ткани в паренхиме легкого и распад альвеолоцитов. Окраска по Ван Гизону. х 100.

Такие участки сильно инфильтрированы макрофагами, нейтрофилами, лимфоцитами и плазматическими клетками. Альвеолоциты имеют кубическую форму (Рис. 3.24), в просвете альвеол содержатся слущенные альвеолоциты, макрофаги, нейтрофилы и некротическая масса. В отдельных местах альвеолы полностью замещены соединительной тканью (Рис. 3.23).

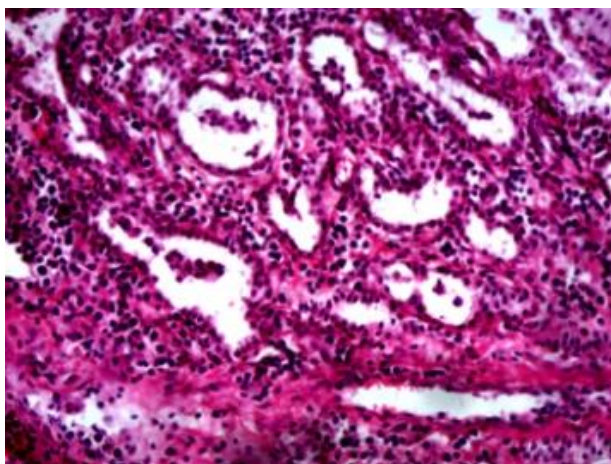


Рис.3.24. ИРТ. Легкие телянка. Стенки альвеол выстланы альвеолоцитами кубической формы. Окраска гематоксилин-эозин. х 200.

В паренхиме легких идет активная пролиферация клеток соединительной ткани (Рис. 3.25).

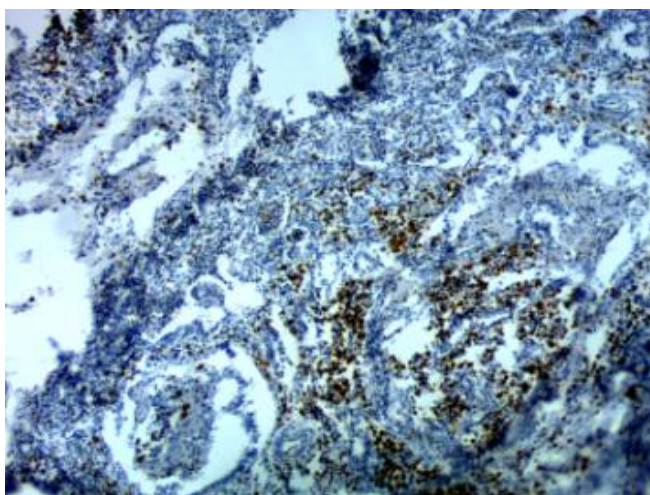


Рис.3.25. Легкие телянка, павшего от ИРТ. Гистосрезы легких. Активная пролиферация клеток соединительной ткани в паренхиме легких. (PAP метод, анти PCNA). х 100.

Гистологические изменения в бронхиальной системе. В бронхиолярной системе отмечаются следующие изменения: интенсивное слущивание эпителиальных клеток бронхиол и их распад, есть бронхиолы, где эпителиальные клетки в виде пласта отторгаются от стенки бронхиол. В просвете бронхиол содержится некротическая масса в разном количестве (Рис. 3.26).

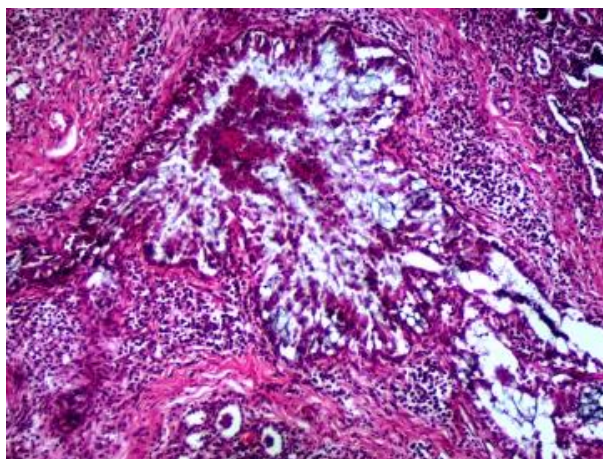


Рис.3.26. ИРТ. Легкие теленка. Распад эпителиальных клеток бронхов и бронхиол. Окраска гематоксилин-эозин. x 100.

В отдельных участках бронхиол отмечается интенсивная пролиферация эпителиальных клеток. Перибронхиолярная ткань инфильтрирована плазматическими клетками, макрофагами, лимфоцитами и нейтрофилами. Вокруг бронхиол отмечается разрастание соединительной ткани (Рис. 3.27).

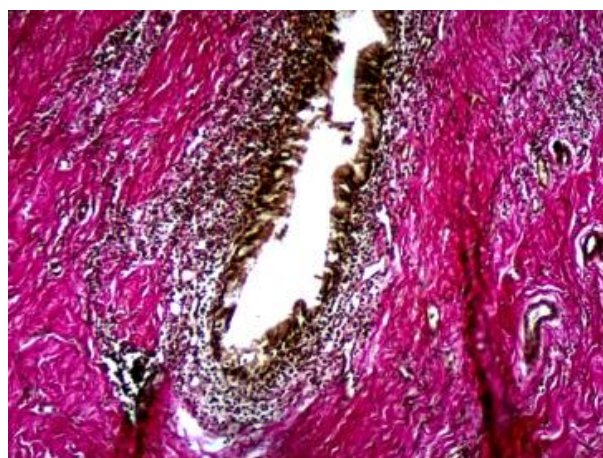


Рис.3.27. Легкие теленка, павшего от ИРТ. Разрастание соединительной ткани вокруг бронхов и бронхиол. Окраска по Ван Гизону. x 100.

В результате этого в бронхиолах отмечается распад стенок бронхиол и отдельные бронхиолы замещены соединительной тканью (фиброз) (Рис. 3.28). Между эпителиальными клетками встречаются малые лимфоциты и плазматические клетки. БАЛТ, расположенная вокруг бронхиальной системы гиперплазирована (Рис. 3.28). В БАЛТ отмечается активная пролиферация лимфобластов, а в паренхиме легких фибробластов (Рис. 3.29).

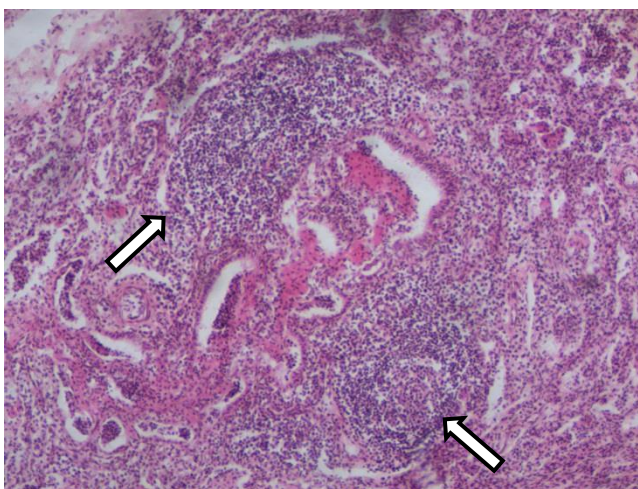


Рис.3.28. ИРТ. Гистосрез легких телянка. Распад стенок бронхиол и бронхов и гиперплазия БАЛТ (белые стрелки). Окраска гематоксилин-эозин. х 100.

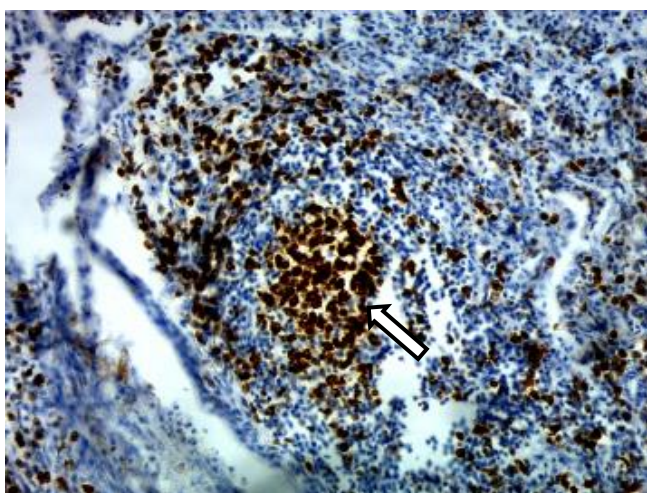


Рис.3.29. Легкие телянка, павшего от ИРТ. Гистосрезы легких. Активная пролиферация лимфобластов в БАЛТ (белая стрелка) и фибробластов в паренхиме легких. (PAP метод, анти PCNA). х 200.

Исход ИРТ завершается распадом эпителиальных клеток альвеол и бронхиальной системы, накоплением гнойного экссудата в альвеолах (Рис. 3.30 А), бронхиальной системе (Рис. 3.30Б) и замещением ткани легких полностью соединительной тканью (Рис. 3.31).

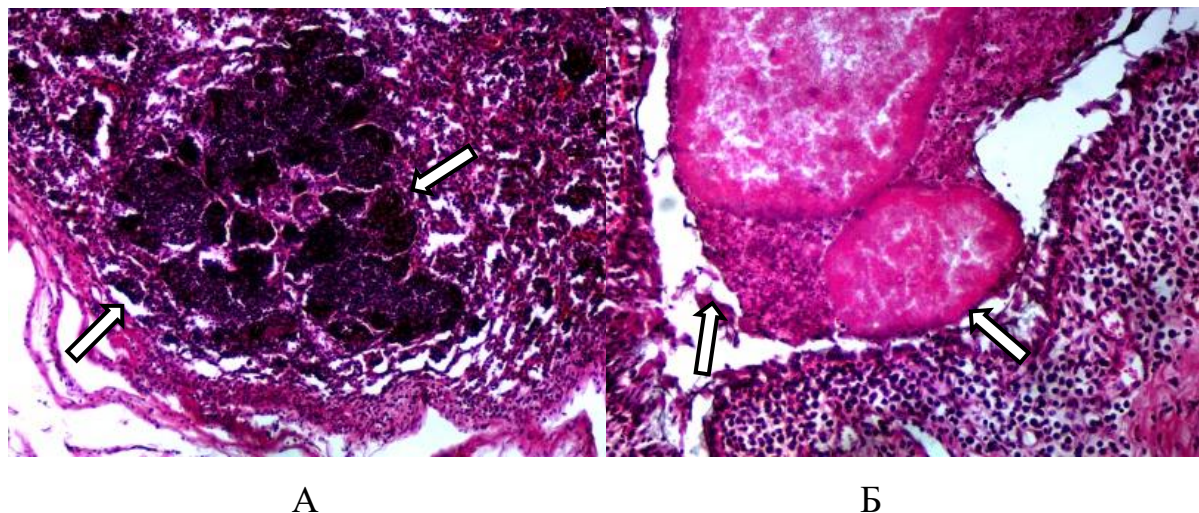


Рис.3.30. ИРТ. Легкие теленка. А. Осложнение ИРТ вторичной бактериальной инфекцией. Альвеолы заполнены нейтрофилами и безструктурной массой (белые стрелки). Окраска гематоксилин-эозин. х 40. ИРТ. Легкие теленка.

Б. Стенки бронхиол разрушены и заполнены безструктурной массой (белые стрелки). Окраска гематоксилин-эозин. х 200.

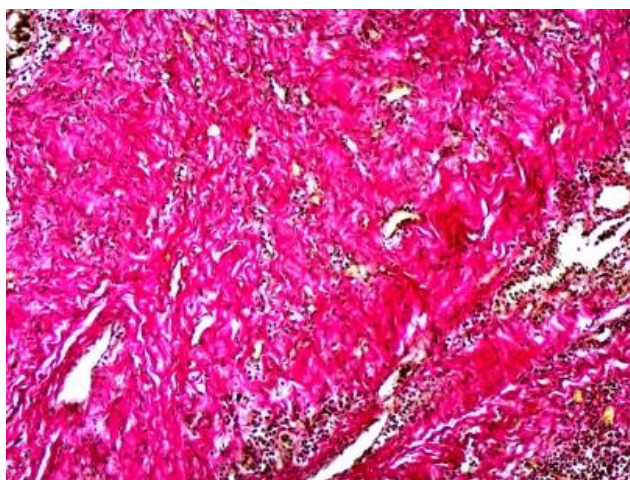


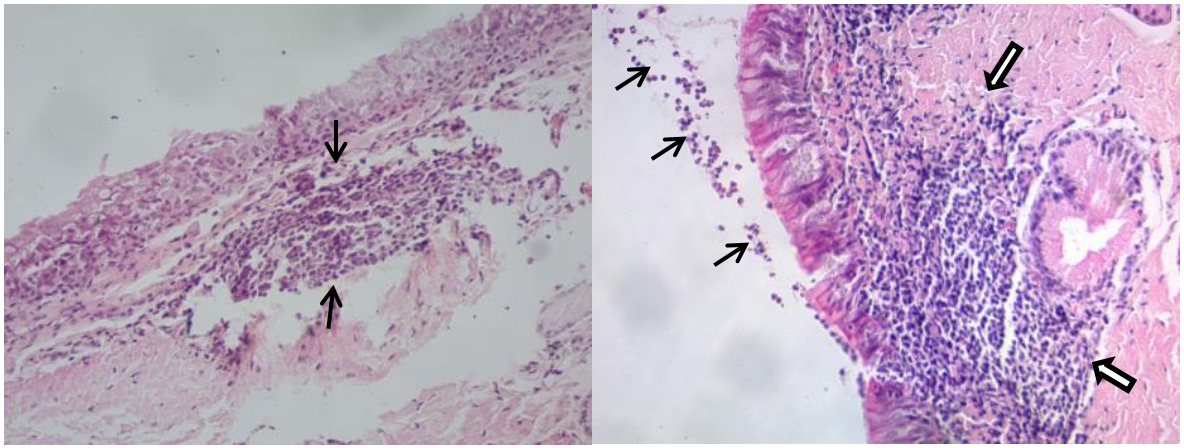
Рис.3.31. ИРТ. Легкие теленка. Полный фиброз ткани легких. Окраска по Ван Гизону. х 100.

Основываясь на данные патогистологических исследований можно прийти к заключению, что те изменения, обнаруженные нами в нашем исследовании характерно респираторной форме ИРТ с хроническим течением. У телят, павших от респираторной формы ИРТ, в трахее отмечается катаральное и катарально-гнойное воспаление и инфильтрация ее стенки лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками и нейтрофилами. В пораженных легких гистологически отмечается серозная, серозно-гнойная, фибринозно-некротическая и интерстициальная бронхопневмония, гиперплазия бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани и сильная инфильтрация очагов воспаления легких лимфоцитами, плазматическими клетками, макрофагами и нейтрофилами. Также установлена активная пролиферация клеток лимфоидной и соединительной ткани в пораженных участках легких. Хроническое течение ИРТ сопровождается осложнением вторичными бактериальными инфекциями и отсутствием внутриядерных телец - включений.

3.6. Иммуноморфологические реакции в лимфоидных тканях и органах при респираторной форме ИРТ у телят

В данном подразделе нами описано морфофункциональное состояние периферических органах иммуногенеза, как лимфоидной ткани, ассоциированной с трахеей, бронхиальной системой легких, а также регионарных лимфатических узлов и селезенки.

Иммуноморфологические реакции в трахее. Отмечается гиперплазия ТАЛТ. В слизистой оболочке трахеи и в ее собственной пластинке отмечается сильная инфильтрация лимфоцитами, плазматическими клетками и нейтрофилами. Рыхлая соединительная ткань вокруг этих желез трахеи инфильтрирована лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками и нейтрофилами (Рис. 3.32 Б). Также в центре лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой трахеи отмечается активная пролиферация лимфобластов (Рис. 3.33).



А

Б

Рис.3.32. А. Контрольная группа. Гистосрез трахеи от клинически здорового теленка. Слизистая оболочка трахеи без каких-либо изменений. Четко видно структура ТАЛТ, расположенная под слизистой оболочкой трахеи и находится в состоянии относительного покоя (стрелки). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 200.

Б. ИРТ. Гистосрез трахеи теленка. Серозно-гнойный трахеит. Гиперплазия ТАЛТ (белые стрелки). Распад эпителиальных клеток слизистой оболочки и инфильтрация ее стенки лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками и нейтрофилами (черные стрелки). Окраска гематоксилин-эозин. х 200.

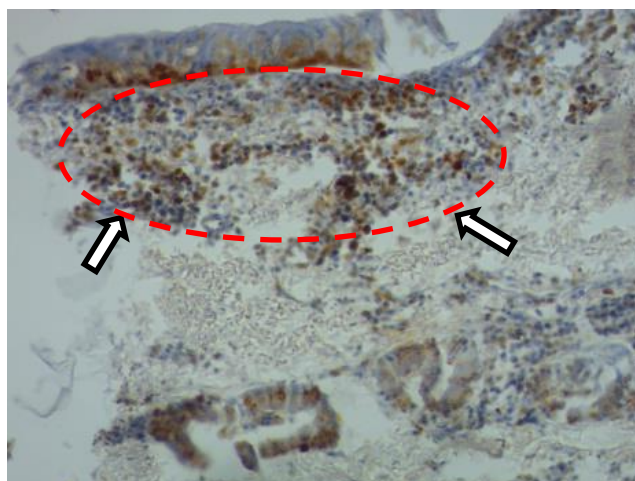
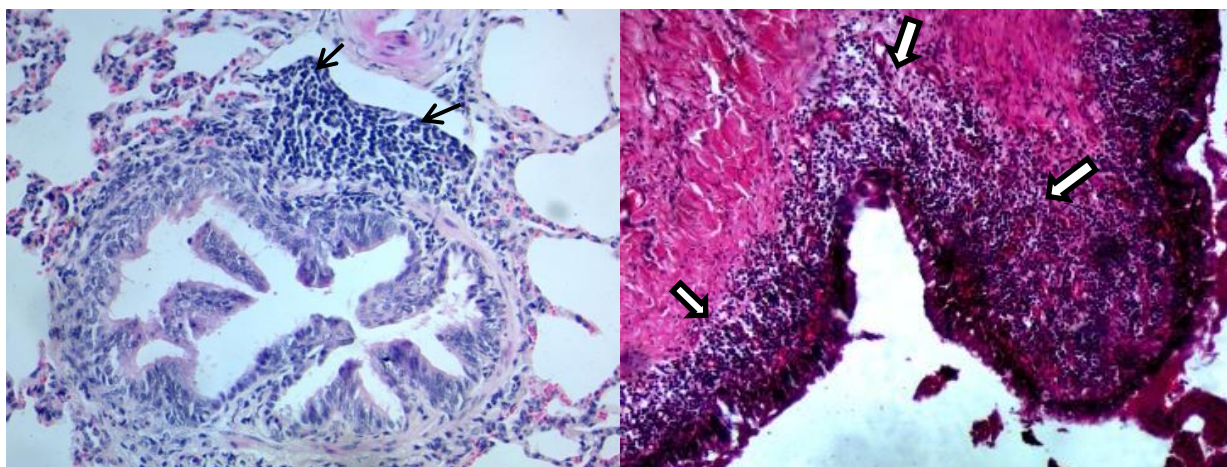


Рис.3.33. ИРТ. Гистосрез трахеи теленка. Гистосрезы трахеи. Активная пролиферация лимфобластов (внутри овального круга, указаны белыми

стрелками) в центре лимфоидной ткани, ассоциированной с трахеей в подслизистой основе трахеи. (РАР метод, анти PCNA). x 200.

Иммуноморфологические реакции в бронхиальной системе и в альвеолах. БАЛТ гиперплазирована (Рис. 3.34 Б). Перибронхиолярная ткань инфильтрирована плазматическими клетками, макрофагами, лимфоцитами и нейтрофилами. Отмечается распад стенок бронхиол с замещением их соединительной тканью (Рис. 3.34Б).

Отмечается активная пролиферация лимфобластов (Рис. 3.35).



А

Б

Рис.3.34. А. Контрольная группа. Гистосрез легкого клинически здорового телянка. Слизистая оболочка бронха без каких-либо изменений. Четко видно БАЛТ, которая находится в состоянии относительного покоя (стрелки). Окраска гематоксилин-эозин. x 200.

Б. ИРТ. Легкие телянка. Гиперплазия (активное состояние) БАЛТ (белые стрелки). Распад и фиброз стенок бронхов и брохиол. Окраска гематоксилин-эозин. x 200.

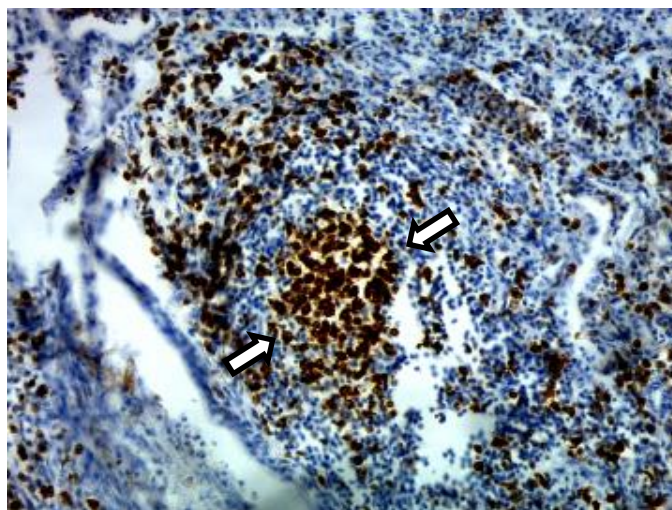


Рис.3.35. ИРТ. Гистосрез легких теленка. Активная пролиферация лимфобластов в светлом центре БАЛТ (белые стрелки). (РАР метод, анти PCNA). x 200.

В просвете альвеол содержатся слущенные альвеолоциты, макрофаги, нейтрофилы и безструктурная некротическая масса (Рис. 3.36 Б). В другом участке паренхимы легкого отмечается распад альвеолоцитов и фиброз паренхимы. Эти участки сильно инфильтрированы макрофагами, нейтрофилами, лимфоцитами и плазматическими клетками (Рис. 3.37).

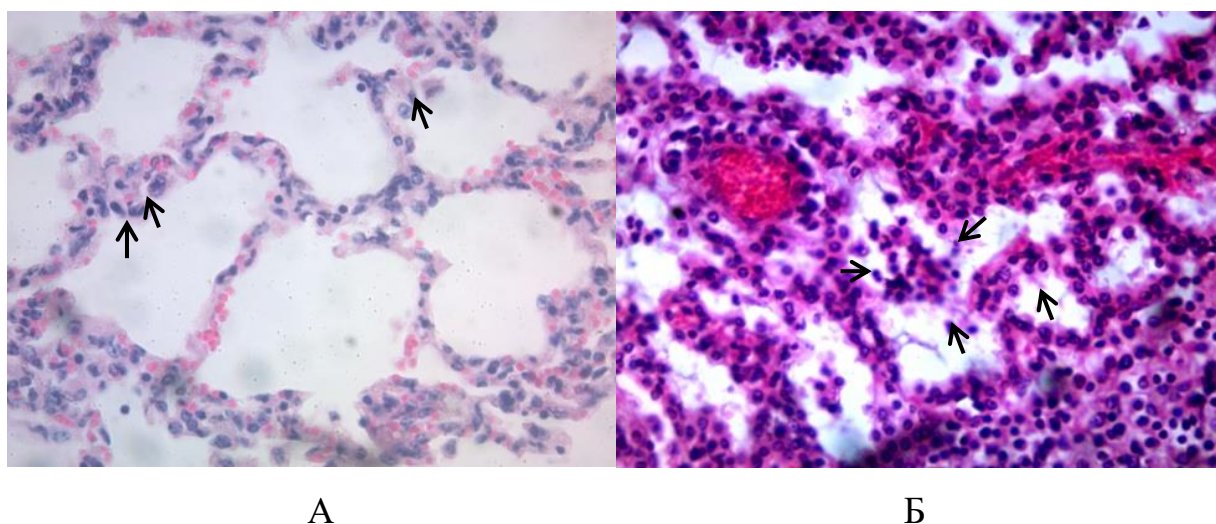


Рис.3.36. А. Контрольная группа. Гистосрез легких клинически здорового теленка. Полости альвеол свободны и имеют единичные макрофаги (стрелки), а

в стенке альвеол содержатся альвеолоциты, макрофаги и малые лимфоциты. Окраска гематоксилин-эозин. x 200.

Б. ИРТ. Гистосрез легких телянка. Стенки альвеол выстланы альвеолоцитами кубической формы и в просвете альвеол содержатся слущенные альвеолоциты, макрофаги, нейтрофилы и безструктурная некротическая масса (черные стрелки). Окраска гематоксилин-эозин. x 200.

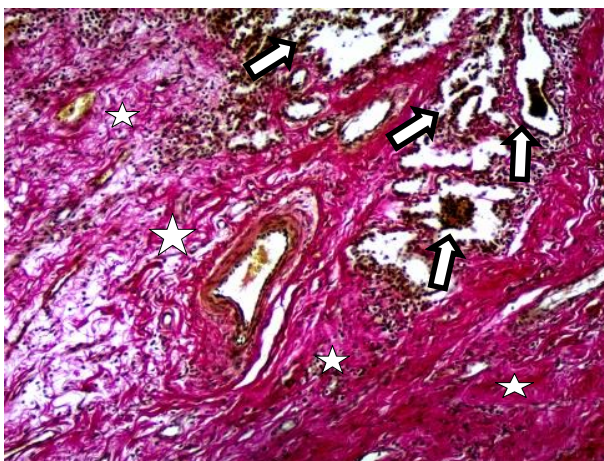


Рис.3.37. Распад альвеол и бронхиол (белые стрелки) и разрастание соединительной ткани в паренхиме легкого (звездочки). Окраска по Ван Гизону. x 400.

Иммунорфологические реакции в регионарных лимфатических узлах легких. В регионарных лимфатических узлах краевой синус расширен и содержит лимфоциты, макрофаги, плазматические клетки, нейтрофилы и эозинофильно окрашенную бесструктурную массу с преобладанием нейтрофилов. В В- зоне количество и размер лимфоидных фолликулов увеличены. Четко видны лимфоидные фолликулы со светлыми центрами и без светлых центров (Рис. 3.38 Б).

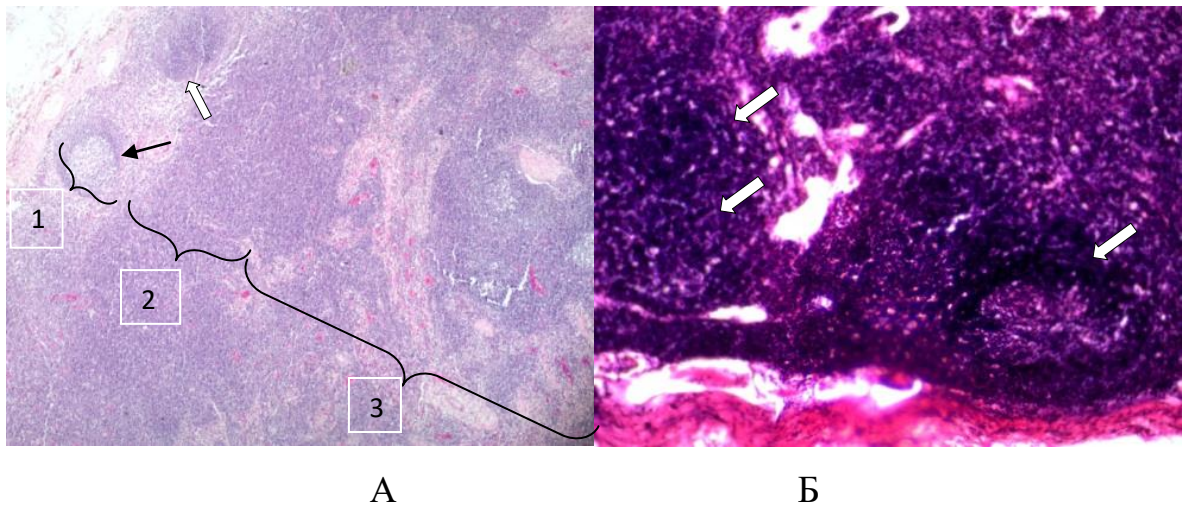


Рис.3.38. А. Контрольная группа. Гистосрез лимфатического узла телянка. 1. В-зависимая зона. Видны лимфоидные фолликулы со светлым центром (черная стрелка) и без светлого центра (белые стрелки). 2. Паракортикальная (Т-зависимая) зона. 3. Мозговое вещество. Окраска гематоксилином и эозином. х 40.

Б. ИРТ. Лимфатический узел телянка. Серозно-гнойный лимфаденит с гиперплазией В –зависимой и Т-зависимой зон регионарного лимфатического узла. Видны увеличенные лимфоидные фолликулы (белые стрелки). Окраска гематоксилин-эозином. х 100.

Светлые центры лимфоидных фолликулов расширены, в большом количестве содержат лимфоциты и бластные клетки (Рис. 3.39). В Т-зависимой зоне содержится в большом количестве лимфоциты и нейтрофилы. Мозговое вещество расширено, в его синусах и тяжах содержатся в большом количестве нейтрофилы, затем лимфоциты, плазматические клетки и макрофаги.

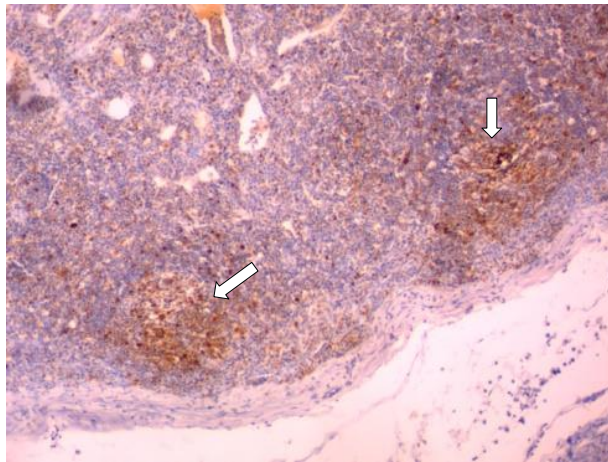
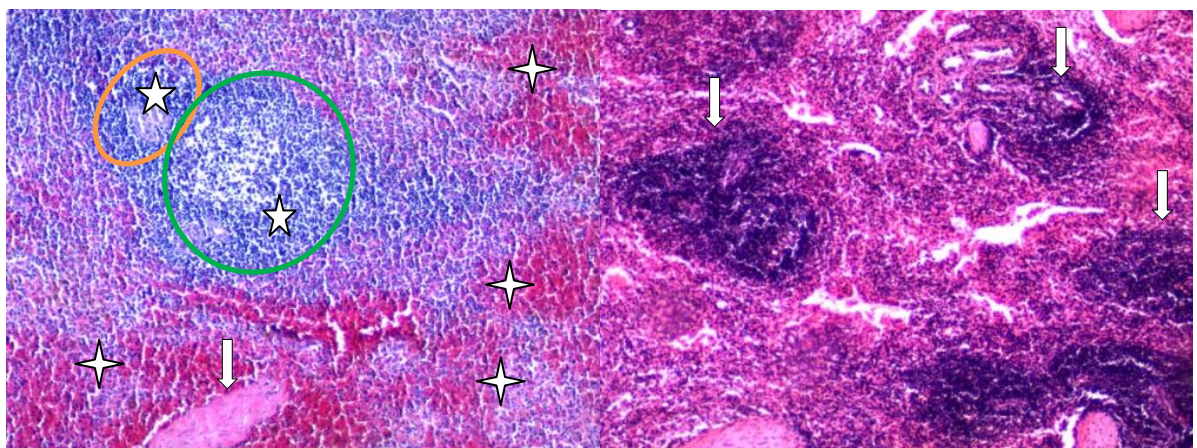


Рис.3.39. ИРТ. Гистосрез регионарного лимфатического узла теленка. Активная пролиферация лимфобластов в светлом центре лимфодных фолликулов (В-зависимая зона) (белые стрелки). (РАР метод, анти PCNA). х 100.

Анализ полученных данных показывает об активной функции В - зоны и Т-зоны регионарных лимфоузлов, что свидетельствует об образовании гуморальной и клеточной иммунной реакции при ИРТ. А также наличие в большом количестве нейтрофилов свидетельствует об серозно-гнойном воспалении регионарных лимфатических узлов.

Иммуноморфологические реакции в селезенке. Гистологически в белой пульпе селезенки четко видно Т-зависимые зоны в виде скопления лимфоцитов вокруг сосудов (Рис. 3.40 Б), тогда как в В-зависимых зонах четко не выражены лимфоидные фолликулы, их мантийные и маргинальные зоны, отсутствуют у них светлые центры.



А

Б

Рис.3.40. А. Контрольная группа. Гистосрез селезенки телянка. Белая (5-конечные звезды) и красная (4-конечные звезды) пульпа, трабекула селезенки (белые стрелки). Овальным кругом желтого цвета указана Т-зависимая (периартериальная) зона, кругом зеленого цвета В-зависимая (лимфоидные фолликулы) зона белой пульпы. х 100.

Б. ИРТ. Гистосрез селезенки телянка. Гиперплазия Т-зависимой зоны белой пульпы селезенки (белые стрелки). В-зависимые зоны белой пульпы неактивны. Окраска гематоксилин-эозином. х 100.

В Т-зависимой зоне отмечается пролиферация лимфобластов (Рис. 3.41), в В-зависимой зоне только в единичных фолликулах отмечается слабая пролиферация лимфобластов. В красной пульпе отмечается наличие эритроцитов, лимфоцитов, макрофагов, плазматических клеток, нейтрофилов и бластных клеток.

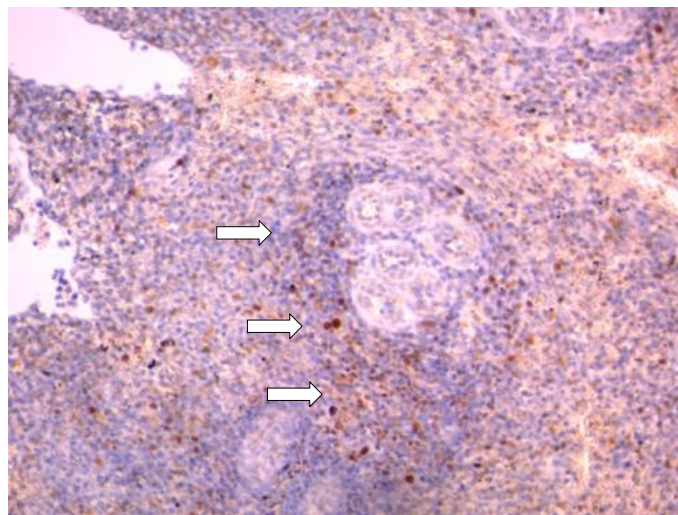


Рис.3.41. ИРТ. Гистосрез селезенки телянка. Активная пролиферация лимфобластов в Т-зависимой зоне белой пульпы (белые стрелки). (РАР метод, анти PCNA). х 100.

Результаты исследования селезенки показывают, что в селезенке более активном состоянии находится Т-зависимая зона, которая отвечает за развитие в организме клеточной иммунной реакции.

Таким образом, при респираторной форме ИРТ у телят в регионарных лимфатических узлах происходит активизация как В-зависимой, так и Т-зависимых зон, а в селезенке Т-зависимой зоны. Кроме этого, в регионарных лимфатических узлах отмечается серозно-гнойное воспаление.

В заключении следует отметить, что на внедрение вируса ИРТ и на те патологические изменения в трахее, бронхиальной системе и в паренхиме легких, вызываемый данным вирусом, происходит гиперплазия лимфоидной ткани, ассоциированной с трахеей, бронхиальной системой легких, регионарных лимфатических узлов и селезенки для активной выработки гуморальной и клеточной иммунной реакции, которая в конечном счете проявляется интенсивной инфильтрацией очагов поражений лимфоцитами, макрофагами, плазматическими клетками и завершается фиброзом очагов поражений, а при осложнении серозно-гнойным воспалением трахеи и легких.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние годы животноводческим хозяйствам большой экономической ущерб наносят респираторные заболевания телят. Поэтому в настоящее время перед ветеринарной наукой стоит задача, которую требуется решить. Данная проблема приносит значительные экономические ущербы для хозяйств кто занимается разведением КРС. После заболевания с ИРТ молодняки в значительной мере отстают в весе и породных показателей в племенных хозяйствах страны. Кроме этого заболевшие племенные животные теряют племенные статусы в связи хроническим течением этого заболевания. В племенных хозяйствах страны при заболевании этой инфекцией фермеры вынуждены отправить своих животных на зобои, чтобы очистить племенное стадо от вирусоносителей. Тем самым племенные хозяйства претерпевают самые большие затраты чем остальные хозяйства. Поэтому для племенных хозяйств крайне важно своевременная дифференциальная диагностика от

других респираторных заболеваний для своевременного принятия решений, ликвидации источников заражения и принятия своевременной организации карантинных мер.

Многолетняя отечественная и зарубежная практика свидетельствует, что успех в профилактической и оздоровительной работе применительно к массовым заболеваниям с ИРТ КРС во многом зависит от правильности понимания их сущности, научной обоснованности и профилактики. Одним из самых эффективных мер профилактики этой болезни является вакцинация. Однако вакцинация животных оставляет следы иммунитета не отличимые от заболевших животных. Особенно это касается племенных животных. Обычно при покупке племенных животных проверяют их на несколько болезней, в том числе и на ИРТ. Проверка на заразные болезни в основном осуществляется с применением ИФА, и вакцинированные животные показывают равные результаты с переболевшими. Поэтому племенные хозяйства избегают от вакцинации молодняка применяя другие меры предотвращения ИРТ. Естественно в таких случаях повышается риск заражения вирусом, чем вакцинированные животные.

Кыргызский научно-исследовательский институт ветеринарии им. А. Дуйшеева ежегодно проводит мониторинг респираторных и других заболеваний КРС по нашей стране. И одной из часто встречающихся заболеваний оказался ИРТ. В этой связи нами было решено провести эпидемиологический серомониторинг поголовья КРС в Чуйской области, где имеются основные племенные и крупные фермерские хозяйства по разведению потенциально уязвимого скота. Для проведения мониторинга мы выбрали те животные, которые подозревались на ИРТ или переболели им. Из числа исследованных животных с помощью ИФА выделены вирусспецифические антитела против ИРТ (около 43 %). Этот показатель довольно высокий и оставляет за собой вопрос об усилении профилактических и карантинных мероприятий в этой области.

После установления широкого распространения в хозяйствах мы решили выделить изолят для дальнейшего изучения вируса и использования их для различных целей научного исследования полевого штамма, циркулирующего на территории Кыргызской Республики. Однако выделение чистого изолята вируса ИРТ является довольно сложной задачей так как обычно ИРТ встречается в смешанном виде с другими вирусными заболеваниями особенно с вирусной диареей, аденовирусом или парагриппом-3 КРС и др. Для решения этой задачи мы использовали ПЦР диагностику и выбирали для изоляции вируса тех животных, чьи результаты давали отрицательные на другие смежные заболевания. После многочисленных опытов нам удалось получить чистый штамм вируса ИРТ на перевиваемой культуре клеток MDBK.

Во время исследования ИРТ нам встречались довольно большой процент летальных случаев молодняка КРС до 7 месячного возраста. Поэтому также решили изучить гистологические и патоморфологические изменения в пораженных органах больного молодняка КРС при ИРТ. В ходе наших исследований клинически заболевание характеризовались подострым и хроническим течением, поражением органов дыхания, пищеварения и конъюнктивитом. Совокупность вышеприведенных данных не оставляет сомнений в том, что этиологический фактор респираторных заболеваний в хозяйствах имеет инфекционную природу, в частности вирусную.

Проникновение вируса ИРТ в верхние дыхательные пути и в легкие крупного рогатого скота и телят сопровождается клиническими и патологическими (макроскопическими и гистологическими) изменениями.

В условиях нашей республики при ИРТ отмечаются следующие клинические признаки: кашель, истечение из носа, из глаз, повышение температуры тела, покраснение носогубного зеркальца, затрудненное дыхание, угнетенное состояние. Больные телята стояли на месте или лежали. Отмечалось снижение аппетита и истощение.

Клинические признаки ИРТ описаны и другими исследователями и наши данные согласуются с их данными при респираторной форме ИРТ.

В зависимости от стадии развития ИРТ, его клинические признаки как таковые могут отсутствовать или проявляться умеренно и весьма ярко. Если заболевание переходит в тяжелую форму, тогда у теленка отмечается повышенная температура, снижение продуктивности, респираторные расстройства, аборт на всех стадиях стельности (чаще после 4-го месяца), многократные и безрезультатные осеменения, нервные явления и даже гибель животных [Масюк Д.Н. и др., 2016; Шилова Е.Н. и др., 2011; Curtis R.A. и др., 1966].

При вскрытии павших от ИРТ телят в органах нами обнаружены следующие макроскопические изменения: ларингит, фарингит, трахеит, катарально-гнойная, интерстициальная, фибринозная, и смешанная бронхопневмонии, гиперплазия подчелюстных, заглочных, бронхиальных и средостенных лимфоузлов, отек легких, в некоторых случаях плеврит.

В литературных источниках отмечается следующие макроскопические изменения в органах. По данным Curtis R. A., и др., 1966 поражения гортани, глотки и трахеи варьируют от генерализованной гиперемии до некроза с образованием псевдодифтериеальной мембраны на поверхности эпителия. Слизь присутствует в трахее и бронхах. Темно-красные пятна в легких наблюдались у трех телят, но у двух телят апикальная и сердечная доли были темно-красными и консолидированными, что согласуется с данными наших исследований.

Кроме этого, на слизистой оболочке рубца, сетки и книжки присутствуют многочисленные мягкие беловатые узелки. У трех из пяти обследованных телят в паренхиме печени были разбросаны множественные беловатые точечные очаги некроза (Curtis R.A., и др., 1966).

В исследовании Yamini et al. сообщалось, что у абортированных плодов из-за ИРТ развиваются поражения сердца в виде миокардита [Anderson M.L., 2007)]. В большинстве случаев (42,10%) наблюдались поражения миокардита и некроз, что указывает на то, что, вероятно, агент ИРТ может вызвать такие поражения.

В исследованиях Farhang Sasani (2013) поражение головного мозга включали с колликвационным мультифокальным некрозом и подменингеальное кровоизлияние и поражения в виде энцефалита и некроза. По данным Yamini B. Et al (2002) и Jubb K. (2007) в случае поражения почек отмечались нефрит и некроз почек.

Anderson M. L., 2007, Jubb K. и др., 2007 и Yamini B. и др., 2002 при ИРТ отмечали поражение печени в виде небольших некротических очагов и гепатита.

В кишечнике микроскопические поражения содержали некротические очаги с небольшой клеточной инфильтрацией, гиперемией и дилатацией и имели прозрачный слой фибринозного экссудата на серозной поверхности (Jubb K.,2007). По результатам исследований, проведенный Farhang Sasani и др. (2013) энтерит выявлен в 10 случаях (100%).

Поскольку нами исследованы только респираторная форма ИРТ у телят, нами не подвергнуты гистологическому исследованию органы сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, печень, почка и головной мозг.

Safarpoordehkordi (2013) установил, что поражение пневмонией являются наиболее частыми формами у абортированных плодов [Safarpoordehkordi F.И др., 2013]. У них была зарегистрирована интерстициальная бронхопневмония. Нами также не исследовано генитальная форма ИРТ, которая сопровождается абортom плодов.

В зависимости от способа передачи возбудителя болезнь может поражать различные органы, но с преимущественным поражением верхних дыхательных путей, половых органов и чаще проявляется пневмонией, абортom, энцефалитом, кератоконъюнктивитом у телят [Askermann M.И др., 1990].

Нами установлено, что гистологически в трахее отмечается катаральный и катарально-гнойный трахеит, в пораженных легких серозная, серозно-гнойная, фибринозно-некротическая и интерстициальная бронхопневмония.

Исследованиями Farhang Sasani и др. (2013) установлено 6 случаев (28,57 %) интерстициальной лимфоцитарной пневмонии, 5 случаев (23,8 %) бронхопневмонии, 8 случаев (38,9 %) тяжелого интерстициального отека. Эти 6 случаев интерстициальной пневмонии были связаны с ВНУ-1.

Safarpoordehkordi (2013) установил у абортированных плодов интерстициальную бронхопневмонию. Гистологически бронхоальвеолярные пространства заполнялись многочисленными нейтрофилами и макрофагами. Из этого следует отметить, что наиболее значимыми причинами интерстициальной пневмонии являются ИРТ и парагрипп 3.

При гистологическом исследовании ИРТ у коров и у молодняка установлено серозно-нейтрофильная пневмония и катаральный бронхит. В легких у 17-ти из 19-ти исследованных телят у 2-х установили серозную, у 15-ти – серозно-нейтрофильную, у 2-х – серозно-геморрагическую пневмонию. У 9-ти телят были выявлены катарально-гнойный и серозно-гнойный бронхит и у 9-ти – эмфизема [Беляева Е.В. и др., 2018].

Наши данные полученные при гистологическом исследовании подтверждают данные Farhang Sasani и др. (2013), Safarpoordehkordi (2013) и Беляевой Е.В. и др. (2018).

Результаты проведенного нами гистологического исследования не согласуются с сообщениями научных литературных источников [Dungworth D. и др., 1993; Caswell J.И др., 2007]. Dungworth D. и др., 1993 сообщают интересные данные о том, что ИРТ может протекать без изменений в верхних дыхательных путях и конъюнктиве. В нашем исследовании такие факты не обнаружены.

При ИРТ макроскопически в лимфоидных органах, как подчелюстные, заглочные, бронхиальные и средостенные лимфатические узлы, и селезенка отмечено их увеличение.

Нашими исследованиями доказано активное участие трахее-ассоциированной лимфоидной ткани в патогенезе ИРТ, которое морфологически выражаются увеличением ее размера за счет количества лимфоцитов, плазматических клеток, иммунобластов в центре лимфоидной

ткани (гиперплазия), увеличением площади контакта лимфоидной ткани со слизистой оболочкой трахеи и инфильтрацией слизистой оболочки и желез трахеи лимфоцитами, плазматическими клетками и макрофагами.

Также установлено активное участие бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани в патогенезе ИРТ, которое морфологически выражается увеличением ее размера и количества за счет лимфоцитов, плазматических клеток, иммунобластов в светлом центре лимфофолликулов лимфоидной ткани (гиперплазия) и инфильтрацией стенок бронхиальной системы и полости альвеол лимфоцитами, плазматическими клетками и макрофагами.

В литературных источниках указано, что в регионарных лимфатических узлах при ИРТ развиваются, в одних случаях, серозный и серозно-некротический лимфадениты, в других случаях, фолликулярная гиперплазия средостенных и бронхиальных лимфатических узлов, а при прогрессировании болезни регионарные лимфатические узлы атрофировались, которые патогистологически сопровождалось уменьшением числа лимфоидных фолликулов и истончением паракортикальной зоны, т.е. атрофия В- и Т-зависимых зон [Беляева Е.В. и др., 2018].

В нашем исследовании в регионарных лимфатических узлах при ИРТ отмечались одновременно 2 процесса, первое, гиперплазия В- зависимых (лимфофолликулов) и Т-зависимых (паракортикальной) зон, второе серозно-гнойное воспаление. Морфологически гиперплазия В- зависимых зон выражается увеличением количества лимфоидных фолликулов, лимфобластов в их светлом центре, плазматических клеток как в корковом, так и мозговом веществе лимфатических узлов, а Т- зависимых зон выражается увеличением количества лимфобластов и Т-лимфоцитов в паракортикальной зоне, затем и в мозговом веществе лимфатических узлов. Далее образованные плазматические клетки и Т-лимфоциты из регионарных лимфатических узлов мигрируют в очаги воспаления, формируя там гуморальную и клеточную иммунную реакцию. Результаты наших исследований подтверждают данные Беляевой Е.В. и др., 2018 о фолликулярной гиперплазии и серозной и серозно-

некротическом воспалении регионарных лимфатических узлов.

В литературе также указано, что в селезенке при ИРТ происходит некроз, опустошение или атрофия лимфоидной ткани [Anderson M.L., 2007; Jubb K. и др., 2007]. В нашем исследовании в селезенке не выявлены некроз и атрофия лимфоидной ткани, а установлена гиперплазия Т-зависимой зоны белой пульпы селезенки. Результаты наших исследований не совпадают с результатами исследований Anderson M. L., 2007; Jubb K. и др., 2007.

Возможно, это связано с тем, что они, как и Беляева Е.В. и др. (2018), исследовали ИРТ при прогрессировании болезни, которые сопровождаются некрозом и атрофией (иммунодефицитом) как регионарных лимфатических узлов (Беляева Е.В. и др., 2018) и селезенки, как периферические органы иммуногенеза.

В заключении следует отметить, что на внедрение вируса ИРТ и на те патологические изменения в трахее, бронхиальной системе и в паренхиме легких, вызываемый данным вирусом, происходит гиперплазия лимфоидной ткани, ассоциированной с трахеей, бронхиальной системой легких, регионарных лимфатических узлов и селезенки для активной выработки гуморальной и клеточной иммунной реакции, которые в конечном счете проявляется интенсивной инфильтрацией очагов поражений лимфоцитами, макрофагами, плазматическими клетками и завершается фиброзом очагов поражений, а при осложнении серозно-гнойным воспалением трахеи и легких.

В литературе встречаются научные сообщения о наличии и отсутствии внутриядерных телец-включений при ИРТ. В эпителии рубца у телят были обнаружены ацидофильные внутриядерные тельца-включения (Curtis R.A. и др., 1966). Тельца-включения не были обнаружены в ткани печени и надпочечников (Curtis R.A. и др., 1966). По данным Caswell J. и др., (2007) внутриядерные тельца-включения при ИРТ обнаруживаются именно в эпителии бронхов и альвеол.

Внутриядерные тельца-включения могут быть обнаружены в эпителиальных клетках дыхательных путей на ранних стадиях инфекционного заболевания (Gu X.,2008).

При ИРТ у коров и у молодняка установлено наличие в ядрах эпителиальных клеток слизистой оболочки бронхов ацидофильных внутриядерных телец-включений (Беляева Е.В.,2018).

В нашем случае нами исследовано патоморфологические изменения в органах при ИРТ у телят с хроническим течением, поэтому нам не удалось обнаружить внутриядерных телец – включений в эпителии бронхов и альвеол.

Основываясь на данные вышеуказанных исследований можно прийти к заключению, что те изменения, обнаруженные нами в нашем исследовании характерно респираторной форме ИРТ с хроническим течением.

ВЫВОДЫ

1. При исследовании животных вовремя заболевания и переболевших с респираторными синдромами болезни молодняка КРС с помощью ИФА установлено, что до 43 % животных были обнаружены антиела против ИРТ.
2. Выделен и адаптированы полевой штамм ИРТ КРС в перевиваемой культуре клеток MDBK.
3. При патологоанатомическом и гистологическом изучении в органах-мишенях заболевших телят дыхательной системы установлен катарально-гнойный ларингит, фарингит, трахеит, гиперплазия подчелюстных, заглочных, бронхиальных и средостенных лимфоузлов, бронхопневмония, в отдельных случаях отек легких и плеврит.
4. При изучении гистологических изменений трахеи, легких, ТАЛТ, БАЛТ установлено гиперплазия ТАЛТ, БАЛТ, В- и Т-зависимых зон регионарных лимфатических узлов и Т-зависимой зоны белой пульпы

селезенки и интенсивная инфильтрация очагов поражений в трахее и легких лимфоцитами, плазматическими клетками и макрофагами.

5. При изучении иммуноморфологических реакций ТАЛТ, БАЛТ установлено, что у телят пораженные органы (трахея, легкие селезенки) интенсивно инфильтрированы лимфоцитами, макрофагами, плазматическими клетками как результат гиперплазии лимфоидной ткани, ассоциированной с трахеей, бронхиальной системой легких и соответствующих зон регионарных лимфатических узлов легких и селезенки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Материалы исследования требуют широкого внедрения и применения в деятельности государственной и частной ветеринарной службы, ветеринарных лабораториях, убойных пунктах при диагностике и дифференциальной диагностике ИРТ и при изучении его распространенности среди животных;
2. Материалы диссертации внедрены в учебный процесс и используются при чтении лекции и проведении лабораторно-практических занятий по гистологии по темам «Гистологическое строение легких», «Гистологическое строение лимфоидных тканей и органов», по вирусологии по темам «Герпесвирусы», «Вирусные инфекционные болезни крупного рогатого скота» и по патологической анатомии «Патоморфологические изменения при вирусных инфекционных болезнях крупного рогатого скота и их диагностика».
3. В КНАУ им. К.И. Скрябина созданы базы данных по ИРТ у крупного рогатого скота и телят (данные по возбудителю и распространенности ИРТ среди крупного рогатого скота, патологический материал, гистологические препараты, электронные версии макроскопических и гистологических рисунков).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Аликаев, В.А. Болезни дыхательной системы / В.А. Аликаев. // Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных / И.Г. Шарабрин, В.А. Аликаев, Л.Г. Замарин и соавт. – 6-е изд. испр. и доп. – М., 1986. – С. 441-447.
2. Апатенко, В.М. Аспекты решения проблемы ассоциированных инфекций животных / В.М. Апатенко, А.Я. Пустовар, И.И. Белнонь // Материалы учредительной конференции Международной ассоциации паразитологов. – Витебск, 1999. – С. 9-10.
3. Асанова, Э. И. Морфофункциональное состояние лимфоидных органов и тканей у яков [Текст]: дисс... канд. биол. наук: 06.02.01/ Э.И.Асанова. -Б., 2011. - 27 с.
4. Барышников, П.И. Ветеринарная вирусология: учебное пособие / П.И. Барышников // Барнаул: изд-во АГАУ, 2006. – 113 с.
5. Беляева Е.В. Патологогистологические изменения при инфекционном ринотрахеите крупного рогатого скота / Е.В. Беляева, А.А. Кудряшов, В.И. Балабанова. - Текст: непосредственный // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. Институт ветеринарной биологии. - 2018. 1(37). – С. 50-55.
6. Бессарабов, Б.Ф. Инфекционные болезни животных / Б.Ф. Бессарабов, А.А. Вашутин, Е.С. Воронин и соавт.; под. ред. А.А. Сидорчука. – М: Колос , 2007. – 671 с.
7. Бурдов, Г.Н. Вирусные инфекции крупного рогатого скота / Г.Н. Бурдов, Е.И. Марасинская, Ю.Г. Крысенко // Ветеринарный врач. – 2001. – № 3. – С.38-39.
8. Гаффаров, Х.З. Этиопатогенез и клинико-эпизоотологические аспекты некоторых вирусных инфекций у импортного поголовья крупного рогатого скота / Х.З. Гаффаров, В.Г. Гумеров, М.А. Ефимова, А.И.

- Яруллин, Р.Г.Ахметсафин // Актуальные проблемы здоровья скота, завозимого в Россию в рамках нацпроекта «Развитие агропромышленного комплекса», материалы международной конференции. – Казань, 2008. – С. 47-54
9. Гаффаров, Х.З. Этиопатогенез и клинико-эпизоотологические аспекты некоторых вирусных инфекций у импортного поголовья крупного рогатого скота / Х.З. Гаффаров, В.Г. Гумеров, М.А. Ефимова, А.И. Яруллин, Р.Г., Глотов, А.Г. Инфекционный ринотрахеит у быков производителей / А.Г. Глотов, А.В. Нефедченко // Аграрная Россия. – 2001. – № 3. – С. 30-33.
- 10.Глотов, А.Г. Этиология бронхопневмоний крупного рогатого скота на молочных комплексах / А.Г. Глотов, Т.И. Глотова, О.В. Семенова, К.В. Войтова // Ветеринария, 2014. – № 4. – С.7-11.
- 11.Глотов, А.Г. Инфекционный ринотрахеит у быков производителей / А.Г. Глотов, А.В. Нефедченко // Аграрная Россия. – 2001. – № 3. – С. 30-33.
- 12.Горбань, Н.И. Вирусные респираторные болезни животных / Н.И. Горбань – Киев: Урожай. – 1981. – 64 с.
- 13.Емельяненко, П.А. Иммунная система жвачных / П.А. Емельяненко // Пробл. вет. иммунологии – М., 1985. – С. 40-46.
- 14.Закутский, Н.И. Герпесвирусные болезни животных / Н.И. Закутский // Владимир: "Фолиаш", 2003. – 282 с.
- 15.Закутский, Н.И. Герпесвирусные инфекции крупного рогатого скота / Н.И. Закутский, В.И. Жестеров, И.Ю. Хухоров, А.Г. Кушнир, Н.А. Лагуткин // Владимир - Покров: Фолиант, 2003. – С. 37-85.
- 16.Зудилина З. Ф. Выделение и идентификация двух штаммов вируса инфекционного ринотрахеита [Текст] / З. Ф. Зудилина, Н. Н. Крюков, Г. А. Надточей // Бюллетень Всесоюзного ордена Ленина института экспериментальной ветеринарии, 1971. М., -Вып. 11. -С. 29—30.

- 17.Иванов, В.С. Вспышка инфекционного ринотрахеита у племенного скота после транспортировки / В.С. Иванов, З.Ф. Зудилина, Г.А. Надточий, Н.Н. Крюков // Бюл. ВИЭВ. – 1972. – Вып. 108. – С. 103-104
- 18.Иванов, В.С. Изучение условий хранения вируса ИРТ, репродуцированного в монослое перевиваемых клеток ПТ-80 на микроносителях / В.С. Иванов, О.В. Майджи // Тр. ВИЭВ Всерос. НИИ экспериментальной ветеринарии – Москва, 2003. – Т. 73. – С.173-175
19. Иванов В.С., Силаев С. А., Пинюкова Л.С., Майджи О.В., Козменко З.А., Лютикова Л.И. Культивирование вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в суспензии эксплантатов.// Тез. докл. II Всес.конф. Научные основы технологии промышленного производства ветеринарных биологических препаратов,М., 1981, с.21-22.
- 20.Иванов, А.В. Этиопатогенез респираторно-генитальных инфекций крупного рогатого скота, проблемы и перспективы их диагностики, профилактики и борьбы с ними / А.В. Иванов, Х.З. Гаффаров // Ветеринарный врач, 2008. – № 4. – С. 2-7.
- 21.Иргашев, А.Ш. Морфофункциональное состояние опухолевого роста и органов иммунной системы при легочномаденоматозе овец [Текст]: Монография / А.Ш.Иргашев. – Б., 2001. – 116 с.
- 22.Касиева, Г.К. Иммуногистохимическое выявление клеток в органах и тканях иммунной системы крупного рогатого скота [Текст]: дисс... канд. биол. наук: 06.02.01/ Г.К. Касиева. -Б., 2015. - 21 с.
- 23.Клестова, З.С. Здоров'я продуктивних тварин як реалізіція їх генетического статуса / З.С. Клестова // Вет. мед. Україні. – 1998. – № 5. – С. 34- 35.
- 24.Корочкин, Р.Б. Курс лекций по предмету «Частная вирусология»: учебно-методическое пособие / Р.Б. Корочкин, А.А. Гласкович // Витебск: ВГАВМ, 2008. – С.12-13.

25. 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 соавт. // Труды ФГУ «ВНИИЗЖ». – Владимир, 2007. – С. 171-183.
26. Красиков, А. Лечение коров при пустулезном вульвовагините, ассоциированном с другими инфекционными болезнями / А. Красиков, Н. Водопьянова // Ветеринария сельскохозяйственных животных, 2009. – № 1. – С.23-26
27. Крюков, Н.Н. Инфекционный ринотрахеит-пустулезный вульвовагинит крупного рогатого скота / Н.Н. Крюков // Итоги науки и техники. Животноводство и ветеринария. – М., 1980. – Т. 13. – С. 32-113.
28. Крюков, Н.Н. Инфекционный ринотрахеит-пустулезный вульвовагинит крупного рогатого скота / Н.Н. Крюков // Тр. ВИЭВ. – 1970. – Т. 37. – С. 164-194
29. Крюков Н. Н., Семенихин А. Л. Реакция непрямой гемагглютинации при лабораторной диагностике инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. Бюллетень Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии. М., 1970, вып. 8, с. 48—52.
30. Кузнецов, Д.П. Тест-системы для детекции вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота / Д.П. Кузнецов, А.Я. Самуйленко, В.И. Белоусов // Ветеринария, 2002. - № 10. – С. 26-28.
31. Марковская, С.А. Распространение респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота в сельскохозяйственных предприятиях Свердловской области / Марковская С.А., Хаматов М.Ф., Салтыкова В.А // Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней животных и птиц: материалы Международной на-учно-практической конференции. – Екатеринбург, 2008. – С. 332-335.

32. Масюк Д.Н., Коляда С.Г., Кокарев А.В. Лабораторная диагностика и контроль профилактики инфекционного ринотрахеита или инфекционного пустулезного вульвовагинита крупного рогатого скота // Корма и факты. 2016. № 10 (74). С. 38–41.
33. Мищенко, В.А. Вакцинация новорожденных телят против ИРТ и ПГЗ / В.А. Мищенко, Ю.А. Костыркин, Н.А. Яременко и соавт. // Ветеринария, 2003. – № 7. – С. 19-22.
34. Мищенко, В.А. Особенности вакцинопрофилактики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота / В.А. Мищенко, В.В. Лисицын, Ю.Е. Костыркин, Ю.Е. Ручнов, О.И. Гетманский // Материалы международной научной конференции, посвященной 45-летию «ВНИИНЗЖ» (30- 31 октября 2003г.) «Актуальные проблемы инфекционной патологии животных», Владимир, 2003. – С. 82-84.
35. Мищенко, В.А. Особенности массовых ассоциированных респираторных заболеваний взрослого КРС / В.А. Мищенко // Ветеринария Кубани, 2011. – № 3. – С. 13-15.
36. Мищенко В.А., Джаилиди Г.А., Черных О.Ю. и др. Проблема борьбы и профилактики инфекционного ринотрахеита - инфекционного пустулезного вульвовагинита крупного рогатого скота. Ветеринария Кубани. 2012; 6: 3 – 6.
37. Нургазиев Р. З. Жаныбарлардын вирустук ыландары. - Бишкек, 2011. - С. 274-275.
38. Нургазиев Р.З. Микробиология и эпизоотология / К.А. Абдыкеримов // Бишкек-2012, 433 с.
39. Петрова, О. Г. Иммунопрофилактика инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота среди быков-производителей с применением иммуномодуляторов / О.Г. Петрова, Е.В. Печура, Т.П. Бурнадзе // Практик, 2006. – № 3. – С. 69-72.
40. Петров Р.В., 1987- Иммунология., С-416

- 41.Петрова, О.Г. Комплексная программа по оздоровлению хозяйств от смешанных вирусно-бактериальных инфекций крупного рогатого скота / О.Г. Петрова, И.М. Донник, И.А. Шкуратова и соавт. // Екатеринбург. – 2006. – 20 с.
- 42.Петрова, О.Г. Острые респираторные заболевания крупного рогатого скота / О.Г. Петрова, И.А. Рубинский // Авторское: Екатеринбург, 2012. – С. 10- 32.
- 43.Петрова, О.Г. Острые респираторные вирусные инфекции крупного рогатого скота в племенных хозяйствах Среднего Урала и оптимизация системы противоэпизоотических мероприятий / О.Г. Петрова // автореф. дис. ... док. вет. наук. – Москва. – 2002. – 47 с
- 44.Петрова, О.Г. Роль латентно инфицированных быков-производителей в эпизоотологии ИРТ КРС / О.Г. Петрова, А.Т. Татарчук, Е.Ю. Кушнир, М.Ф. Хаматов // Сб. науч. трудов. «Научные основы профилактики и лечения болезней животных», Екатеринбург. – 2005. – С. 291-296
- 45.Петрова, О.Г. Эпизоотологическое и экономическое значение острых респираторных заболеваний крупного рогатого скота и проблемы профилактики в современных условиях промышленного производства / О.Г. Петрова, С.А. Марковская // Аграрный вестник Урала, 2013. – № 3(109). – С. 27-29.
- 46.Пруцаков, С.В. Совершенствование специфической профилактики и лечения респираторных болезней телят: автореф. дис.... канд. вет. наук: 16.00.03. / Пруцаков С.В. – Ставрополь, 2000. – 24 с.
- 47.Салтыкова, В.А. Генитальная форма инфекционного ринотрахеита КРС в сельскохозяйственных предприятиях Свердловской области / В.А. Салтыкова. О.Г. Петрова // Диагностика, лечение и профилактика болезней животных в условиях Сибири и Урала, материалы конференций. – Омск, 2008. – С. 224-228.

48. Самуйленко, А.Я. Иммуноферментный анализ в ветеринарной медицине. / А.Я. Самуйленко, Д.П. Кузнецов, С.В. Кузнецова // Ветеринария. – 2001. – №12. – С. 20-23.
49. Сапин, М.Р. Иммунные структуры пищеварительной системы [Текст] / М.Р.Сапин. –М.: Медицина, 1987. – 218 с.
50. Сапожкова, О.А. Ультраструктура кортикальных клеток надпочечников телят при транспортном стрессе / О.А. Сапожкова, С.М. Сулейманов, И.С. Толкачев и соавт. // Диагностика, патогенез, патоморфология и профилактика болезней сельскохозяйственных животных. – Воронеж, 1993. – С. 127.
51. Сергеев, В.А. Вирусы и вирусные вакцины / В.А. Сергеев, Е.А. Непоклонов, Т.И. Алипер // М.: Библионика, 2007. – 524 с.
52. Сергеев, В.А. Репродукция и выращивание вирусов животных / В.А. Сергеев // М.: Колос, 1976. – 303 с
53. Строганова, И.Я. Закономерности распространения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в Восточной Сибири / И.Я. Строганова // Вестник КрасГАУ. – 2011. – № 6. – С.118-120.
54. Сюрин, В.Н. Ветеринарная вирусология. 2-е изд., перераб. и доп. / В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина // М.: Агропромиздат, 1991. – С. 362.
55. Сюрин, В.Н. Диагностика вирусных болезней животных / В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина // М.: Агропромиздат, 1991. – 528 с.
56. Тихомирова, Л.М. Т- и В- розеткообразующиеся лимфоциты в периферической крови и активность лизоцима у телят, больных бронхопневмонией / Л.М. Тихомирова // Новое в диагностике, лечении и профилактике болезней молодняка сельскохозяйственных животных: Межвед. сб. науч. тр. – М., 1991. – С. 48-51.
57. Толубаева М.Т. Эпизоотическая ситуация по возбудителям респираторных заболеваний в хозяйствах Чуйской области. Вестник

- НГАУ (новосибирский государственный аграрный университет).
2015;(4):142-146.
- 58.Третьяков, А.Д. Состояние и организация мер борьбы с незаразными болезнями сельскохозяйственных животных / А.Д. Третьяков // Науч. тр. ВАСХНИЛ. – М., 1987. – С. 3-12.
- 59.Фомина, Н.М. Возрастная морфология лимфоидных органов у крупного рогатого скота в зависимости от различной степени двигательной активности [Текст]: автореферат дис... канд. биол. наук: 16.00.02 / Н.М.Фомина. – М., 1990. – 20 с.
- 60.Хлыстунов А.Г. Болезни молодняка (этиология, диагностика, профилактика и меры борьбы) / А.Г. Хлыстунов // Красноярск: Изд-во ФГБОУ ВО «КГАУ», 2015. – 47 с.
- 61.Шахов, А.Г. Влияние иммунного статуса на возникновение и развитие респираторных болезней у телят в условиях специализированных хозяйств / А.Г. Шахов, Д.В. Федосов, Ю.Н. Масьянов и соавт. // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – № 3. – 2012. – С. 25-28.
- 62.Шилова, Е.Н. Клинические проявления инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в племенных организациях Уральского региона / Е.Н. Шилова, И.М. Донник, М.В. Ряпосова // Аграрный вестник Урала, 2011. – № 6 (85). – С. 24-25.
- 63.Юров, К.П. Распространение инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи – болезни слизистых в различных регионах России / К.П. Юров, А.Ф. Шуляк, О.Г. Петрова, О.В. Майджи // Тр. ВИЭВ – М. – 2003. - Т. 73. – С. 22- 25.
- 64.Юров, К.П. Инфекционный ринотрахеит, инфекционный пустулезный вульвавагинит (ИРТ-ИПВ) / К.П. Юров, А.Ф. Шуляк // Ветеринария, 2009. – № 1. – С. 21-23.
- 65.Abinanti P. R. &Plumer G.J. The isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from cattle affected with conjunctivitis [Text] / P. R.

- Abinanti, & G.J. Plumer// Observation on the experimental infection. *Am. J. Vet. Res.*, 86, 1961.13-17p.
66. Abril C., Engels M., Liman A., Hilbe M., Albini S., Franchini M., Suter M., Ackermann M. (2004). Both viral and host factors contribute to neurovirulence of bovine herpesviruses 1 and 5 in interferon receptor-deficient mice. *J. Virol.*, 78, 3644–3653.
67. Ackermann M. Round table on infectious bovine rhinotracheitis infectious pustularvulvovaginitis virus infection diagnosis and control / M. Ackermann, S. Belak, V. Bitsch // *Veter. microbiol.* – 1990. – Vol. 23, N. 114. – P. 361–363.
68. Anderews, A.H. Respiratory disease / A.H. Andrews, R. Blowey, H. Boyd // *Bovine Medicine: Disease and Husbandry of Cattle* R. Eddy (eds). Blackwell Scientific Publications; Oxford: 2004. – pp. 286- 293.
69. Anderson M.L. Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology* 2007;68(3):474-86.
70. Anderson, M.L. Bronchus associated lymphoid tissue in the lungs of cattle: relationship to age [Text] / M. L. Andersen, P.F. Moore, D.M. Dungworth // *Res. Vet. Sci.* - 1986. - Vol.41. - P.211-220.
71. Babiuk L.A., L'Italien T.J., S. van Drunen littel-van den Hurk. Zamb T. P. Lawman M.J., Hughes G, A Gifford G // Protection of Cattle from Bovine Herpesvirus Type I (BHV-1) Infection by Immunization with Individual. *Viral Glycoproteins//VIROLOGY* 1987, 159, 57-66.
72. Baker, J. A., K. McEntee, and J. A. Gillespie. Effects of infectious bovine rhinotracheitis—*infectious pustularvulvovaginitis (IBR-IPV) virus* on newborn calves. *Cornell Vet.* 50: 156. 1960.
73. Bayraktaroglu.g., asti r.n.. Light and electron microscopic studies on Conjunctiva Associated Lymphoid Tissue (CALT) in cattle [Text] / A.G. Bayraktaroglu // *Revue Med. Vet.* – 2009. – Vol.160. – No5. – P.97-257.
74. Barret, T., Bird, P., Clegg, J. et al.; Mahy, B., ed. *Virusologiya. Metody.* Moscow: Mir Publ., 1988. 343 p.

75. Barone, R. Pharynx etoesophagi [Text] / R. Barone // Anatomie Comparee des Mammiferes Domestiques, Tome Troisieme: Splanchnologie. - Paris, 1997.- P.261.
76. Belknap E.B., Ciszewski D.K., Baker J.C. (1995). Experimental Respiratory Syncytial Virus Infection in Calves and Lambs. [Text] / E.B. Belknap, D.K. Ciszewski, J.C. Baker // J. Vet. Diagn. Invest., 7, 1995. 285-298p.
77. Berezin V. A., Zaides V. M, Artamonov A. F. et al. // Modification of infectious bovine rhinotracheitis virus in tissue culture and development of a vaccine. // Arch. ViroL—1985.—Vol. 8.—P. 281—300.
78. Brandtzaeg, P. Regional specialization in the mucosal immune system: What happens in the microcompartments? P. Brandtzaeg, S. Baekkevold, I. N. Farstad, et al. // Rev. Immunol. Today. - 1999. -Vol.20. -P.141-151.
79. Casteleyn, C. Larynx-associated lymphoid tissue (LALT) in young cattle [Text] / C. Casteleyn, P. Simoens, W. van den Broeck // Vet. Immunol. Immunopathol. - 2008. - Vol.124. - P. 394-397.
80. Caswell, J. Respiratory system. Infectious bovine rhinotracheitis / J. Caswell, K. Williams // In Jubb K., Kennedy P., Palmer N. Pathology of Domestic Animals. Fifth edition. Elsevier, Philadelphi. 2007. – Vol. 2. – pp. 594-596.
81. Cashwell J.L., Williams K. The respiratory system. [Text] / J.L., Cashwell, K. Williams // In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (eds.): Pathology of Domestic Animals, 5th ed. Maxie M.G. (eds). Saunders Elsevier, Edinburgh, UK, 2007. 594-622p.
82. Ceribasi A.O. Histopathologic, immunoperoxidase and immunofluorescent examinations on natural cattle pneumonia originated from Parainfluenza type 3, Respiratory Syncytial virus, Adenovirus type 3 and Herpesvirus type 1. [Text] / A.O. Ceribasi, M. Ozkaraca, H. Ozer, S. Ceribasi // Rev Med Vet. 165, 2014. 201–212 p.
83. Chow T. L., Molello J. A. & Owen N.V. Abortion experimentally induced in calves by infectious bovine rhinotracheitis virus. [Text] / T. L. Chow, J. A. Molello, & N.V. Owen // J. Am. Vet. Res., 144, 1964. 1005-1007p.

84. Curtis, R. A., Van Dreumel A. A., Ditchfield J.: Infectious Bovine Rhinotracheitis-clinical, pathological and virological aspects. *CanVet J* 7: 161-168, 1966.
85. David, C. W. Cell Proliferation, Apoptosis, and B- and T-Lymphocytes in Peyer's Patches of the Ileum, in Thymus and in Lymph nodes of Preterm Calves, and in Full-Term Calves at Birth and on Day 5 of Life [Text] / C.W.David, J.Norman, H.M.Hammon et al. // *J. Dairy Sci.* – 2003. – Vol.86. – P.3321–3329.
86. Dungworth D., Jubb K., Kennedy P., Palmer N.. Infectious bovine rhinotracheitis // *Pathology of Domestic Animals*. 1993. V. 2. P. 556-557.
87. Durham, P.J.K. Exacerbation of experimental parvoviral enteritis in calves by coccidia and weaning stress / P.J.K. Durham, R.H. Johnson, R.J. Parker // *J. Res. Vet. Sci.* – 1985. – V.39. – № 1. – pp. 16-23.
88. Edwards S., White H., Newman R.H., Nixon P. A veterinary services scheme for the rapid Revue Méd. [Text] / S. Edwards, H.White, R.H. Newman, P.Nixon // *Vét.*, 165, 7-8, 2014. 201-212p.
89. FarhangSasani, Aida Vazirian, JavadJavanbakht, Mehdi Aghamohammad Hassan. Detection of infectious bovine rhinotracheitis in natural cases of bovine abortion by PCR and histopathology assays. *AmericanJournalofClinicalandExperimentalMedicine* 2013; 1(2): 35-39.
90. Frerichs, G.N. Safety and efficacy of live and inactivated IBR vaccines / G.N. Frerichs, S.B. Woods, M.M. Lucas, V.V. Sands // *Virology*, 1982. – Vol. 111. – № 6. – pp. 116-122.
91. Fulton R.W., Purdy C.W., Confer A.W., Saliki J.T., Loan R.W., Briggs R.E., Burge L.J. Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory disease: Interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. [Text] / R.W. Fulton, C.W.Purdy, A.W. Confer, J.T.Saliki, R.W. Loan, R.E. Briggs, L.J. Burge // *Can. J. Vet. Res.*, 64, 2000. 151-159p.

92. Gibbs EPJ, Reveyemamu MM. Bovine herpesviruses. part 1. Bovine herpesvirus-1. VetBull. 1977;47:317-343.
93. GuX. Infectious Bovine Rhinotracheitis. Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures / GuX., Kirkland P.D., Elizabeth // M.. 2008. P.3.3.
94. Hartwell, L. Introduction to cell cycle controls [Text] / L.Hartwell, ed. by C.Hutchison, D.M.Glover // Cell Cycle Cont. – 1995. – P.1-15.
95. Hughes J. P., Olander H.J, & Wada M. Keratoconjunctivitis associated with infectious bovine rhinotracheitis. [Text] / J. P. Hughes, H.J. Olander & M. Wada // Am. Vet. Med. Assoc, 145,1964. 32-39p.
96. Ide P.R., Thomson R.G., Ditchfield W.J.B. Experimental Adenovirus Infection in Calves. [Text] / P.R. Ide, R.G. Thomson, W.J.B.Ditchfield// Can. J. Comp. Med.,33,1969. 1-9p. Pathogenesis of naturally acquired bovine respiratory syncytial virus infection in calves: morphologic and serologic findings.// Am. J. Vet. Res., 1989, 50, 684-693.
97. Jubb K., Palmer S. Pathology of domestic animals, fifth edition, 2007, volume 1, pp:429-430 .
98. Kendrick, J.W. Placental reaction to the infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vulvovaginitis virus / J.W. Kendrick, L. Schneider, O.C. Straub // Amer. J. Vet. Res. – 1971. – Vol. 32. – pp. 1045-1051.
99. Kendrick J. W., Gillespie J. H. & McEntee K. Infectious pustular vulvovaginitis of cattle. [Text] / J. W. Kendrick, J. H. Gillespie, & K. McEntee // Cornell Vet., 48, 1958. 458- 495p.
100. Liebler-Tenorio, E. Malt structure and function in farm animals [Text] / E.Liebler-Tenorio, R.Pabst // Vet. Res. - 2006. - Vol.37. - P.257-280.
101. Mahajan V, Banga HS, Deka D, Filia G, Gupta A. Comparison of Diagnostic Tests for Diagnosis of Infectious Bovine Rhinotracheitis in Natural Cases of Bovine Abortion. J Comp Pathol. 2013 Jul 22; pii: S0021-9975(13)00083-2.

102. Majumder, S. Infectious Bovine Rhinotracheitis: An Indian Perspective / S. Majumder, M.A. Ramakrishnan, S. Nandi // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. – 2015. – № 4. – pp. 844-858.
103. Mattson D.E. Naturally occurring infection of calves with bovine adenovirus. [Text] / D.E. Mattson// Am. J. Vet. Res., 34, 1973. 623-629p.
104. Mayr, A. Pathogenese und Bekämpfung von Herpesinfektionen beim Nutztier / A. Mayr // tierarztl. Umsch. – 1988. – Bd. 43. – pp. 4-11.
105. Miller N.J. Infectious necrotic rhinotracheitis of cattle. [Text] / N.J. Miller // J. Am. Vet. Med. Assoc., 126, 1955. 463-467p.
106. Miller, N.J. Infectious necrotic rhinotracheitis of cattle / N.J. Miller // J. Amer. Vet. Med. Assoc. – 1955. – V. 126. – P. 463.
107. McKercher, D.G., 1959. Infectious Bovine Rhinotracheitis. Adv. Vet. Sci., 5: 299–328.
108. Molello JA, Chow TL, Owen N, Jensen R. Placental pathology. V. Placental lesions of cattle experimentally infected with infectious bovine rhinotracheitis virus. Am J VetRes 1966; 27: 907–915.
109. Muylkens, B. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis / B. Muylkens, J. Thiry, P. Kirten, F. Schynts, E. Thiry // Veterinary Research. – 2007. – № 38. – pp. 181-209.
110. Nettleton F., Herring J.A., Herring A.J. Evaluation of an immunofluorescent test for the rapid diagnosis of field infections of infectious bovine rhinotracheitis [Text] / F. Nettleton, J.A. Herring, A.J. Herring // Vet. Rec., 112, 1983. 298-300 p.
111. Owen NV, Chow TL, MolelloJA. Bovine fetal lesions experimentally produced by infectious bovine rhinotracheitis virus. Am J VetRes 1964;25:1617–1626.
112. Perino, L.J. A review of bovine respiratory disease vaccine field efficacy / L.J. Perino, B.D. Hunsaker // Bovine Practitioner – 1997. – Vol. 31. – pp. 59-63.

113. Roizman, B. The Replication of herpesviruses / B. Roizman, D. Furlong // *Comp. Virol.* – 1974. – Vol. 3. – pp. 229-403.
114. Rodger SM, Murray J, Underwood C, Buxton D. Microscopical lesions and antigen distribution in bovine fetal tissues and placentae following experimental infection with bovine herpesvirus-1 during pregnancy. *J Comp Pathol* 2007;137: 94–101.
115. Safarpoordehkordi F, Haghghi N, MomtazmH, rafsanjaniS, Momeni M. Conventional vs real-time pcr for detection of bovine herpes virus type 1 in aborted bovine, buffalo and camel fetuses. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 2013; 16(2):102 – 111.
116. Stevens, J.G., and Groman, N.B., 1963. Properties of infectious bovine rhinotracheitis virus in a quantitated virus-cell culture system. *Am. J. Vet. Res.*, 24: 1158–1163.
117. Straub, O.C. Experimentelle Infektion des Zentralnervensystems durch das Virus der bovinen Rhinotracheitis / O.C. Straub, H.O. Bohm // *Dtsch. Tierarztl. Wschr.* – 1965. – Bd. 72. – pp. 124-128.
118. Todd, J.D. Development of intranasal vaccination for the immunization of cattle against infectious bovine rhinotracheitis / J.D. Todd // *Canad. Vet. J.* – 1974. – Vol. 15. - № 9. – pp. 257-259.
119. Vanderrlassche, M. Diagnoza terapia a prevence infekcni pustulozni balanopostity u byku / M. Vanderrlassche, R. Bouters // *Veterinarstvi.* – 1969. – Vol. 19. - № 4. – P. 167.
120. Van Schaik, G. Introduction of BHV-1 on dairy farms. Risk assessment by cattle farmers and veterinarians / G. Van Schaik // *Tijdschr. Diergeneeskd.* – 1998. – Vol. 15. - № 123 (6). – pp. 180-183.
121. Zeedan, G. S. G. Serological and Molecular Identification of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Isolation and Adaptation in Embryonated Chicken Eggs / G. S. G. Zeedan¹, A. M. Abdalhamed , A. A. Ghazy, N. H. Ghoneim // *Journal of Antivirals & Antiretrovirals.* – 2018. – № 10 (2). – pp. 12-17

ПРИЛОЖЕНИЕ