

УДК 619:591.132.636.2

DOI 10.30914/2411-9687-2022-8-1-35-41

ЭКСПРЕСС-ИНДИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ, ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА, ПАРАГРИППА-3 КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Р. Р. Лартон, А. М. Алимов

*Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана,
г. Казань, Российская Федерация*

Аннотация. Введение. За последние годы среди крупного рогатого скота часто регистрируются патологии пищеварительной и респираторной систем. Ведущими этиологическими факторами респираторных заболеваний являются респираторно-синцитиальный вирус, вирус парагриппа и инфекционного ринотрахеита. Респираторные вирусные инфекции наносят большой экономический ущерб молочному скотоводству. Учитывая смешанное течение вирусных респираторных инфекций, особый интерес представляет разработка одновременной амплификации специфических фрагментов геномов возбудителей. **Цель:** одновременное выявление геномов возбудителей вирусной диареи, инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 методом ПЦР в режиме реального времени. **Материалы и методы.** Для исследований использовали культуры клеток почки эмбриона коровы (ПЭК), перевиваемую линию клеток почки крупного рогатого скота (NDBK), искусственно инфицированные вирусами, а также биоматериал. Для детекции геномов вирусов ВД, ИРТ и ПГ были отобраны наиболее консервативные участки геномов возбудителей: для возбудителя ИРТ в геноме HV фрагмент генома 4716–4846 пар оснований, ВД–84–204 пар оснований, ПГ–2820–2910 пар оснований. Для контроля амплификации в режиме Real-time (положительный контроль) был произведен дизайн и синтез концевых молекул плазмидной ДНК, содержащих амплифицируемые последовательности ДНК. **Результаты исследований, обсуждения.** Методом мультиплексной ПЦР в Real-time режиме проверяли различные биопробы от больных животных и патологического материала. Полученные результаты показали высокую специфичность и эффективность мультиплексной полимеразной цепной реакции для индикации и идентификации возбудителей. **Заключение.** Разработанный набор и режим полимеразной цепной реакции в реальном времени позволяет определить одновременно три разных генома возбудителей респираторных инфекций крупного рогатого скота.

Ключевые слова: вирусная диарея, индикация, крупный рогатый скот, парагрипп, ПЦР, ринотрахеит

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Лартон Р. Р., Алимов А. М. Экспресс-индикация возбудителей вирусной диареи, инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3 крупного рогатого скота // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». 2022. Т. 8. № 1. С. 35–41. DOI: <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2022-8-1-35-41>

EXPRESS INDICATION OF PATHOGENS OF VIRAL DIARRHEA, INFECTIOUS RHINOTRACHEITIS, PARAINFLUENZA-3 IN CATTLE

R. R. Larton, A. M. Alimov

Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, Kazan, Russian Federation

Abstract. Introduction. In recent years, pathologies of the digestive and respiratory systems have often been recorded among cattle. The leading etiological factors of respiratory diseases are respiratory syncytial virus, viruses of parainfluenza and infectious rhinotracheitis. Respiratory viral infections cause great economic damage to dairy cattle breeding. Considering the mixed course of viral respiratory infections, the development of simultaneous amplification of pathogen genomes specific fragments is of particular interest. **Purpose.** Simultaneous detection of genomes of pathogens of viral diarrhea, infectious rhinotracheitis and parainfluenza-3 by PCR in real time. **Materials and methods.** In this study, cultures of bovine embryonic kidney cells (BEK), bovine kidney cell line (NDBK) artificially infected with viruses, as well as biomaterial were used. For the detection of the genomes of the VD, IRT, and PI viruses, the most conservative sections of the viral genomes were selected: the genome fragment with the length of 4716–4846 bp in the HV genome for IRT agent, genome fragment with the length of 84–204 bp for VD agent, and genome fragment with the length of 2820–2910 bp for PI agent. To control amplification

in Real-time mode (positive control), the design and synthesis of terminal plasmid DNA molecules containing amplifiable DNA sequences was performed. **Research results, discussion.** Samples from sick animals and pathological material were tested using the multiplex PCR in Real-time mode. The results obtained showed the high specificity and efficiency of the multiplex polymerase chain reaction for the indication and identification of pathogens. **Conclusion.** The developed set and mode of Real-time polymerase chain reaction allowed us to determine simultaneously 3 different genomes of causative agents of respiratory infections in cattle.

Keywords: viral diarrhea, indication, cattle, parainfluenza, PCR, infectious rhinotracheitis

The authors declare no conflict of interests.

For citation: Larton R. R., Alimov A. M. Express indication of pathogens of viral diarrhea, infectious rhinotracheitis, parainfluenza-3 in cattle. *Vestnik of the Mari State University. Chapter "Agriculture. Economics"*, 2022, vol. 8, no. 1, pp. 35–41. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2022-8-1-35-41>

Введение

За последние годы среди крупного рогатого скота часто регистрируются патологии пищеварительной и респираторной систем. Ведущими этиологическими факторами респираторных заболеваний являются респираторно-синцитиальный вирус, вирус парагриппа, инфекционного ринотрахеита [2; 3]. Респираторные вирусные инфекции наносят большой экономический ущерб молочному скотоводству вследствие аборт, мертворождений, снижения продуктивности, нарушений воспроизводства и падежа молодняка.

Вирусная диарея крупного рогатого скота (ВД) – инфекционная контагиозная болезнь, характеризующаяся разнообразной клинической картиной, в основном воспалениями и язвами слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, диареей, лихорадкой, поражениями репродуктивной системы, возбудителем которой является РНК-содержащий вирус рода Pestivirus [7].

Инфекционный ринотрахеит (ИРТ) – контагиозная вирусная остропротекающая болезнь, характеризующаяся поражением органов дыхания, возбудителем которой является ДНК-содержащий вирус семейства герпесвирусов [4].

Парагрипп (ПГ-3) – острая контагиозная вирусная болезнь телят, главным образом, характеризующаяся поражением органов дыхания, возбудителем которой является РНК-содержащий вирус семейства парамиксовирусов. Часто имеет место смешанное течение этих инфекций [5; 10]. Для успешной борьбы с указанными инфекциями важное значение имеет своевременная диагностика, которая основана на клинико-эпизоотологических, патоморфологических и лабораторных исследованиях [6].

Однако лабораторные исследования, основанные на использовании культур клеток, серологических реакциях, достаточно трудоемки и длительны [8]. Наиболее быстрыми и эффективными являются молекулярно-генетические методы, которые находятся на стадии разработки и лабораторной апробации [1].

Учитывая смешанное течение вирусных респираторных инфекций, особый интерес представляет разработка одновременной амплификации специфических фрагментов геномов возбудителей [9]. Нами ранее проводились исследования по разработке мультиплексной ПЦР для индикации возбудителей ВД, ИРТ и ПГ.

С учетом изложенного целью настоящей работы явилась оценка эффективности созданной нами мультиплексной ПЦР для индикации и идентификации возбудителей ВД, ИРТ и ПГ в биологических пробах.

Цель: одновременное выявление геномов возбудителей вирусной диареи, инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 методом ПЦР в режиме реального времени.

Материалы и методы

Для исследований использовали культуры клеток почки эмбриона коровы (ПЭК), перевиваемую линию клеток почки крупного рогатого скота (NDBK), искусственно инфицированные вирусами, а также носовые и влагалищные истечения от больных животных, патологический материал от абортированных плодов и павших телят.

Перевиваемую линию клеток выращивали в монослое во флаконах и в питательной среде DMEM (HgClone, США) с добавлением 10 %

эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота. Монослой клеток промывали раствором Хэнкса и заражали вирусной суспензией и инкубировали в течение 1 часа при 37 °С. Затем удаляли инокулят, вносили среду DMEM с 1 % эмбриональной сывороткой крови крупного рогатого скота и инкубировали при 37 °С в течение 5–6 суток. После этого их использовали в работе или замораживали при –20 °С. Для последующих анализов носовые и влагалитные истечения получали ватными тампонами или смывом раствором Хэнкса и хранили в морозильнике.

При создании тест-системы для индикации геномов возбудителей предварительно были проанализированы последовательности нуклеотидов

из ресурса национального центра биологической информатизации (NCBI, BLAST, Программы Vector NTI 9.1.0), а также собственный банк геномов возбудителей (от 7 до 14 изолятов).

Для детекции геномов вирусов ВД, ИРТ и ПГ были отобраны наиболее консервативные участки геномов возбудителей: для возбудителя ИРТ в геноме NV фрагмент генома 4716–4846 пар оснований, ВД – 84–204 пар оснований, ПГ – 2820–2910 пар оснований. Для контроля амплификации в режиме Real-time (положительный контроль) был произведен дизайн и синтез концевых молекул плазмидной ДНК, содержащих амплифицируемые последовательности ДНК. Последовательности нуклеотидов, используемых праймеров и зондов приведены в таблице 1.

Таблица 1 / Table 1

Нуклеотидные последовательности праймеров и зондов / Nucleotide sequences of primers and probes

Название / Title	Последовательность 5' → 3' / Sequence 5' → 3'
BPG1F	ttccaagaatccatgattgatagt
BPG1R	aacaataagaaaaacttaggattaacgga
BPG1P	Fam-atgtcagggccgatgagatgagatgcatg-BHQ1
BPG2F	cagaaggcgattacattattacaga
BPG2R	tcttcgatgcagatccgcatt
BPG2P	Fam-cattgccacacacaaactcttctgtcttg-BHQ1
BVD1F	cgaaggccgaaaaggccta
BVD1R	cgaaccactgacgactaccctg
BVD1P	R6G-agtggtagttcgttgatggctgaag-BHQ2
BVD2F	agcggcggagcatgtgat
BVD2R	cacacaggccacaagggacg
BVD2P	CY5-cgatgcaacgcaagaaccttacctggg-BHQ3
BHV1F	ctgtcccgtgcgtgtagac
BHV1R	cccacgctcaaggcatc
BHV1P	CY5-tagcggctcatggcctcggcg-BHQ3
BHV2F	aggctgtcggcaggacga
BHV2R	tgccgctccccgtgac
BHV2P	CY5-ccaaacacgtaggcgcggcag-BHQ3
BkapF	ctggcaggcacagtattgaca
BkapR	attactaccaacagaaccagttgcac
BkapP	CY5-ttgaagaattggcagggtgacctaactg-BHQ3

Реакционная смесь в расчете на 1 пробирку была следующей: dNTP – (по 0,25 мкмоль каждого) 1,5 мкл; 10^x ПЦП буфер – 1,5 мкл;

ДНК-полимераза – 0,5 мкл; MgCl₂–1,5 мкл; dd H₂O – 3,5; флуоресцентный зонд (тип Taq Man), 10 пкмоль/мкл – 0,5 мкл; смесь праймеров,

10 пкмоль – 0,5 мкл; MMLV ревертаза – 0,2 мкл; образец искомой нуклеиновой кислоты – 5 мкл. Общий объем реакционной смеси – 25 мкл.

Режим амплификации: 1) 37 °С – 30 минут; 2) 95 °С – 5 минут; 3) 95 °С – 5 секунд; 4) 56 °С – 30 секунд, далее 40 циклов – 95 °С – 5 секунд, 56 °С – 30 секунд; 95 °С – 5 секунд.

Соотношения количества олигонуклеотидных затравок для амплификации ДНК-матриц вирусов, определенные в предварительных опытах, приведены в таблице 2.

Исследуемые образцы проб патологического материала (лимфоузлы, селезенка и культуры клеток) гомогенизировали в гомогенизаторе

MPW-302 или путем растирания с добавлением физиологического раствора хлорида натрия. Гомогенат отстаивали в течение 3–5 минут и надосадочную жидкость использовали для выделения нуклеиновых кислот.

Для выделения нуклеиновых кислот вирусов использовали набор «Рибо-сорб» или «Рибо-преп» (Интерлабсервис, Россия) в соответствии с инструкцией по их применению. Для индикации искомого генома в указанную реакционную смесь вводили соответствующую пробу в объеме 5 мкл.

Амплификацию нуклеиновых кислот проводили с использованием прибора «Bio-Rad» (США).

Таблица 2 / Table 2

Количество олигонуклеотидных затравок в мультиплексной реакции /
Number of oligonucleotide primers in the multiplex reaction

Наименование возбудителя инфекции / Name of the infectious agent	Праймеры, мкл / Primers, μ l		Зонд, мкл / Probe, μ l
	Прямой / Straight	Обратный / Back	
Вирус диареи	0,2	0,2	0,3
Вирус парагриппа	0,3	0,3	0,4
Вирус ИРТ	0,3	0,3	0,4

Результаты исследований, обсуждения

При определении специфичности амплификации с использованием созданных праймеров и зондов установили, что отобранные праймеры, зонды и режим ПЦР обеспечивают одновременное выявление геномов возбудите-

лей вирусной диареи, ИРТ и ПГ-3 в реальном времени. Каждому патогенному агенту соответствовала индивидуальная флуоресцентная метка.

Результаты одного из опытов приведены на рисунке 1.

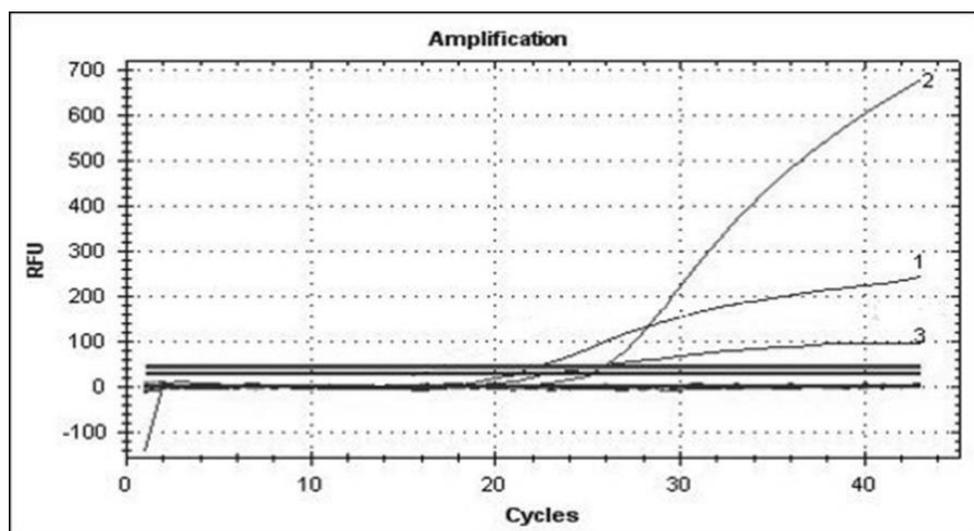


Рис. 1. Амплификационные графики при мультиплексной ПЦР: 1 – ДНК с фрагментами генома вируса ПГ-3; 2 – ДНК вируса ИРТ; 3 – плазмидная ДНК с фрагментом генома вируса диареи / Fig. 1. Amplification graphs with multiplex PCR: 1 – DNA with fragments of the parainfluenza-3 virus genome; 2 – infectious rhinotracheitis virus DNA; 3 – plasmid DNA with a fragment of the diarrhea virus genome

Методом мультиплексной ПЦР в Real-time-режиме проверяли искусственно инфицированные вирусами культуры клеток, а также биопробы от больных животных и патологического материала.

Результаты тестирования образцов инфицированных культур клеток обобщены в таблице 3.

Как следует из полученных данных, все искусственно инфицированные вирусами культуры

клеток дали положительные результаты только с соответствующими праймерами и зондами искомым вирусом, а с пробами неинфицированных культур клеток реакция не проходила. Это свидетельствует о специфичности и эффективности созданного набора и режима мультиплексной амплификации вирусных геномов. Результаты исследований по индикации генов возбудителей приведены в таблице 4.

Таблица 3 / Table 3

**Тестирование искусственно инфицированных культур клеток мультиплексной ПЦР /
Testing artificially infected cell cultures by multiplex PCR**

№ п/п	Объекты / Objects	Количество проб / Number of samples	Результаты / Results		
			ИРТ / infectious rhinotracheitis	ВД / viral diarrhea	ПГ-3 / parain- fluenza-3
1	Культура клеток ПЭК, инфицированные вирусом ИРТ	10	10	-	-
2	Культуры клеток ПЭК, инфицированные вирусом ВД	10	-	10	-
3	Культуры клеток ПЭК, инфицированные вирусом ПГ-3	12	-	-	12
4	Культуры клеток NDBK, инфицированные вирусом ИРТ	5	5	-	-
5	Культуры клеток NDBK, инфицированные вирусом ВД	5	-	5	-
6	Культуры клеток NDBK, инфицированные вирусом ПГ-3	6	-	-	6
7	Культуры клеток ПЭК (контроль)	3	-	-	-
8	Культуры клеток NDBK (контроль)	3	-	-	-
Всего		54	15	15	18

Таблица 4 / Table 4

**Индикация геномов возбудителей в биопробах /
Indication of pathogen genomes in bioassays**

№ п/п	Объекты / Objects	Количество проб / Number of samples	Результаты / Results		
			ИРТ / infec- tious rhinotra- cheitis	ВД / viral diar- rhea	ПГ-3 / parain- fluenza-3
1	Носовые истечения от больных телят	25	10	7	9
2	Влагалищные истечения от коров	17	9	3	-
3	Патологические материалы абортрованного плода:				
	– легкие	9	5	2	2
	– средостенные лимфатические узлы	12	5	-	3
	– мезентериальные лимфатические узлы	12	7	2	3
Всего		75	36	14	17

При исследовании носовых истечений от больных респираторной клиникой телят 40 % проб дали положительную реакцию к ИРТ, 28 % – к ВД и 36 % – к ПГ-3. При этом в трех пробах регистрировали положительные реакции как на ИРТ, так и на ПГ-3. При исследовании влагалищных истечений коров после родов и отдельных больных животных 64,3 % дали положительную реакцию к ИРТ и 1,8 % – к ВД.

В тканях легких от абортированных плодов 55,5 % случаев обнаруживались геном вируса ИРТ и 22,2 % ВД и ПГ-3. При этом возбудители ИРТ и ПГ выявлялись одновременно в 22,2 % случаях.

В пробах средостенных лимфатических узлов геном вируса ИРТ выявлен у 41,7 % и у 25 % проб обнаружили геном вируса ПГ-3.

При исследовании мезентериальных лимфатических узлов от абортированных плодов вирус ИРТ обнаружен в 58,3 % случаях, ПГ-3 – 25,5 %, ВД – 16,7 %. Сочетанное присутствие вируса ИРТ и ПГ-3 было в 25 % проб.

ВД – 16,7 %. Сочетанное присутствие вируса ИРТ и ПГ-3 было в 25 % проб.

Заключение

Полученные результаты показали высокую специфичность и эффективность мультиплексной ПЦР для индикации и идентификации возбудителей. В следующей серии опытов проводили индикацию геномов искомым вирусам в биологических пробах и патологических материалах. Разработанный набор и режим полимеразной цепной реакции в реальном времени позволяет определить одновременно три разных генома возбудителей респираторных инфекций крупного рогатого скота в течение 2–3 часов с учетом пробоподготовки.

Исследованиями биопроб от больных животных и патологического материала установлено смешанное течение инфекций, что необходимо учитывать при диагностике и проведении мероприятий по борьбе с ними.

1. Gueriche A., Galiullin A. K., Gumerov V. G., Karimullina I. G., Shaeva A. Y. The etiological role of the parainfluenza-3 virus in the respiratory pathology of young cattle // BIO Web of Conferences. 2020. Vol. 17. No. 80. Pp. 1–5. DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20201700080>

2. Hou P., Wang H., Zhao G., He C., He H. Rapid detection of infectious bovine Rhinotracheitis virus using recombinase polymerase amplification assays // BMC Veterinary Research. 2017. Vol. 13. No. 386. Pp. 1–9. URL: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-017-1284-0> (дата обращения: 13.01.2022).

3. Hou P, Zhao G, Wang H, He H Prevalence of bovine viral diarrhoea virus in dairy cattle herds in eastern China // Tropical Animal Health and Production. 2018. Vol. 51. No. 4. Pp. 791–798. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11250-018-1751-z> (дата обращения: 10.01.2022).

4. Lucente M. S., Lanave G., Gargano P., Larocca V., Losurdo M., Ciambro L., Marino P. A., Parisi A., Casalnuovo F., Buonavoglia C., Elia G. Evidence for Circulation of Bovine Viral Diarrhoea Virus Type 2c in Ruminants in Southern Italy // Transbound Emerging Diseases, 2017. Vol. 64. No. 6. Pp. 1935–1944. DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.1259>

5. Piniot B., Garcia S., Minviel J. J., Raboisson D. Epidemiological factors and mitigation measures influencing production losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection: A meta-analysis // Transbound Emerging Diseases. 2019. Vol. 66. No. 6. Pp. 2426–2439. DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.13300>

6. Silveira S., Falkenberg S. M., Dassanayake R. P., Walz P. H., Ridpath J. F., Canal C. W., Neill J. D. In vitro method to evaluate virus competition between BVDV-1 and BVDV-2 strains using the PrimeFlow RNA assay // Virology. 2019. Vol. 536. No. 28. Pp. 101–109. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.07.029>

7. Walz P. H., Chamorro M. F., Falkenberg S. M., Passler T., Meer F., Woolums A. R. Bovine viral diarrhoea virus: An updated American College of Veterinary Internal Medicine consensus statement with focus on virus biology, hosts, immunosuppression, and vaccination // Journal of Veterinary Internal Medicine. 2020. Vol. 34. No. 5. Pp. 1690–1706. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.15816>

8. Zinnatov F. F., Zinnatova F. F., Volkov A. H., Akhmetov T. M., Alimov A. M., Yakupov T. R., Hairullin D. D., Safina N. Y. Studying the association of polymorphic variants of LEP, TG5, CSN3, LGB genes with signs of dairy productivity of cattle // International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 2020. Vol. 11. No. 2. Pp. 1428–1432. URL: <https://www.semanticscholar.org/paper/Studying-the-association-of-polymorphic-variants-of-Zinnatov-Zinnatova/aef7abbbf17046c49390869a31a05c04a8d1fb65> (дата обращения: 10.01.2022).

9. Zinnatov F. F., Zinnatova F. F., Akhmetov T. M., Volkov R. A., Hairullin D. D., Bikhantaev I. T., Valieva E. A., Smolentsev S. Yu. Identification of relationship of polymorphic variants of lactoferrin gene (LTF) in cows with milk production indicators depending on their lineage // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2020. Vol. 548. No. 4. Pp. 20–38. URL: <https://dSPACE.kpfu.ru/xmliui/handle/net/161272> (дата обращения: 09.01.2022).

10. Woolums A. R., Ames T. R., Baker J. C. The bromcopneumonias (respiratory disease complex of cattle, sheep and dogs) // Large animal internal medicine / Ed. B. P. Smith. 4th ed., St. Louis, Missouri : Mosby/Elsevier, 2009. Pp. 602–643.

Статья поступила в редакцию 18.01.2022 г.; одобрена после рецензирования 15.02.2022 г.; принята к публикации 02.03.2022 г.

Об авторах

Лартон Ростислав Рустамович

аспирант, Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана (420029 Российская Федерация, г. Казань, Сибирский тракт, д. 35), ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4383-1632>, rostislavlarton@gmail.com

Алимов Азат Миргасимович

доктор ветеринарных наук, профессор кафедры биохимии, физики и математики, Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана (420029 Российская Федерация, г. Казань, Сибирский тракт, д. 35), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7392-881X>, azat36alimov@mail.com

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

1. Gueriche A., Galiullin A. K., Gumerov V. G., Karimullina I. G., Shaeva A. Y. The etiological role of the parainfluenza-3 virus in the respiratory pathology of young cattle. *BIO Web of Conferences*, 2020, vol. 17, no. 80, pp. 1–5. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20201700080>
2. Hou P., Wang H., Zhao G., He C., He H. Rapid detection of infectious bovine Rhinotracheitis virus using recombinase polymerase amplification assays. *BMC Veterinary Research*, 2017, vol. 13, no. 386, pp. 1–9. Available at: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-017-1284-0> (accessed 13.01.2022). (In Eng.).
3. Hou P., Zhao G., Wang H., He H. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus in dairy cattle herds in eastern China. *Tropical Animal Health and Production*, 2018, vol. 51, no. 4, pp. 791–798. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11250-018-1751-z> (accessed 10.01.2022). (In Eng.).
4. Lucente M. S., Lanave G., Gargano P., Larocca V., Losurdo M., Ciambro L., Marino P. A., Parisi A., Casalnuovo F., Buonavoglia C., Elia G. Evidence for Circulation of Bovine Viral Diarrhoea Virus Type 2c in Ruminants in Southern Italy. *Transbound Emerging Diseases*, 2017, vol. 64, no. 6, pp. 1935–1944. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.1259>
5. Pinior B., Garcia S., Minviel J. J., Raboisson D. Epidemiological factors and mitigation measures influencing production losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection: A meta-analysis. *Transbound Emerging Disease*, 2019, vol. 66, no. 6, pp. 2426–2439. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.13300>
6. Silveira S., Falkenberg S. M., Dassanayake R. P., Walz P. H., Ridpath J. F., Canal C. W., Neill J. D. In vitro method to evaluate virus competition between BVDV-1 and BVDV-2 strains using the PrimeFlow RNA assay. *Virology*, 2019, vol. 536, no. 28, pp. 101–109. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.07.029>
7. Walz P. H., Chamorro M. F., Falkenberg S. M., Passler T., Meer F., Woolums A. R. Bovine viral diarrhoea virus: An updated American College of Veterinary Internal Medicine consensus statement with focus on virus biology, hosts, immunosuppression, and vaccination. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2020, vol. 34, no. 5, pp. 1690–1706. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.15816>
8. Zinnatov F. F., Zinnatova F. F., Volkov A. H., Akhmetov T. M., Alimov A. M., Yakupov T. R., Hairullin D. D., Safina N. Y. Studying the association of polymorphic variants of LEP, TG5, CSN3, LGB genes with signs of dairy productivity of cattle. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 2020, vol. 11, no. 2, pp. 1428–1432. Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/Studying-the-association-of-polymorphic-variants-of-Zinnatov-Zinnatova/aef7abbbf17046c49390869a31a05c04a8d1fb65> (accessed: 10.01.2022). (In Eng.)
9. Zinnatov F. F., Zinnatova F. F., Akhmetov T. M., Volkov R. A., Hairullin D. D., Bikchantaev I. T., Valieva E.A., Smolentsev S. Yu. Identification of relationship of polymorphic variants of lactoferrin gene (LTF) in cows with milk production indicators depending on their lineage. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 2020, vol. 548, no. 4, pp. 20–38. Available at: <https://dspace.kpfu.ru/xmlui/handle/net/161272> (accessed: 09.01.2022). (In Eng.)
10. Woolums A. R., Ames T. R., Baker J. C. The bromcopneumonias (respiratory disease complex of cattle, sheep and dogs). *Large animal internal medicine*, ed. B. P. Smith, 4th ed., St. Louis, Missouri, Mosby/Elsevier, 2009, pp. 602–643.

The article was submitted 18.01.2022; approved after reviewing 15.02.2022; accepted for publication 02.03.2022.

About the authors

Rostislav R. Larton

Postgraduate Student, Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman (35 Sibirskiy tract St., Kazan 420029, Russian Federation), ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4383-1632>, rostislavlarton@gmail.com

Azat M. Alimov

Dr. Sci. (Veterinary), Professor of the Department of Biochemistry, Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman (35 Sibirskiy tract St., Kazan 420029, Russian Federation), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7392-881X>, azat36alimov@mail.com

All authors have read and approved the final manuscript.