

УДК 619:612.49:636.2

DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.345

СОСТОЯНИЕ ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ У ТЕЛЯТ С БРОНХОПНЕВМОНИЕЙ

Жуков М.С.-к. вет. н., старший научный сотрудник (ORCID 0000-0002-9317-7344), Алевин Ю.Н. -д. вет. н., главный научный сотрудник (ORCID 0000-0003-0666-7722), Хохлова Н.А.- к. вет. н., старший научный сотрудник (ORCID 0000-0001-6861-2554)
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Ключевые слова: телята, респираторные болезни, назальный секрет, локальный иммунитет.

Keywords: calves, respiratory diseases, nasal secretions, local immunity.



РЕФЕРАТ

Респираторные болезни широко распространены среди крупного рогатого скота и составляют значительную долю причин выбытия в молочном и мясном скотоводстве. Несмотря на то, что для борьбы с респираторными болезнями разрабатываются и внедряются новые вакцины, которые создают гуморальный иммунитет к основным специфическим возбудителям респираторных болезней, проблема сохраняется. Тем самым можно предположить, что значительная доля респираторных заболеваний вызывается условно-патогенной микрофлорой. Ранее проведенные исследования показали, что у телят под воздействием неблагоприятных факторов микроклимата происходит миграция микрофлоры верхних дыхательных путей в низлежащие отделы респираторного тракта, в результате чего развивалась бронхопневмония. Проведено исследование показателей локального иммунитета у здоровых и больных бронхопневмонией телят. В исследовании были задействованы 8 телят голштинской породы в возрасте 4-5 месяцев, которые были разделены на 2 группы. Группа 1 (контроль, n = 3) – клинически здоровые телята, группа 2 (опыт, n = 5) – телята с диагнозом бронхопневмония. Для оценки локальной защиты респираторного тракта у телят собирали образцы назального секрета. В нем определяли уровень лизоцима, муцина, щелочной фосфатазы, общего белка, IgM, IgA и IgG. Исследование неспецифических факторов защиты слизистой оболочки респираторного тракта показало снижение уровня лизоцима на 27,4% ($p < 0,01$), а также возрастание муцина на 76,4% и щелочной фосфатазы в 2,3 раза по сравнению с показателями здоровых телят. Вместе с этим при развитии пневмонии происходило увеличение уровня иммуноглобулинов М и А в 2,5 раза ($p < 0,05$). Таким образом, проведенные исследования показали, что при бронхопневмонии в значительной степени активизируются барьерные функции респираторного тракта. В назальной слизи больных телят увеличивается уровень секреторных иммуноглобулинов А и М, активизируется выработка щелочной фосфатазы и муцина.

ВВЕДЕНИЕ

Респираторные болезни широко распространены среди крупного рогатого скота и составляют значительную долю причин выбытия в молочном и мясном скотоводстве. Эта проблема часто возни-

кает в возрасте от 1 до 6 месяцев [4, 7, 8]. Несмотря на то, что для борьбы с респираторными болезнями разрабатываются и внедряются новые вакцины, которые создают гуморальный иммунитет к основным специфическим возбудителям респираторных болезней, проблема сохраняется. Тем самым можно предположить, что значительная доля респираторных заболеваний вызывается условно-патогенной микрофлорой. Ранее проведенные исследования показали, что у телят под воздействием неблагоприятных факторов микроклимата происходит миграция микрофлоры верхних дыхательных путей в низлежащие отделы респираторного тракта, в результате чего развивалась бронхопневмония. Проведено исследование показателей локального иммунитета у здоровых и больных бронхопневмонией телят. В исследовании были задействованы 8 телят голштинской породы в возрасте 4-5 месяцев, которые были разделены на 2 группы. Группа 1 (контроль, n = 3) – клинически здоровые телята, группа 2 (опыт, n = 5) – телята с диагнозом бронхопневмония. Для оценки локальной защиты респираторного тракта у телят собирали образцы назального секрета. В нем определяли уровень лизоцима, муцина, щелочной фосфатазы, общего белка, IgM, IgA и IgG. Исследование неспецифических факторов защиты слизистой оболочки респираторного тракта показало снижение уровня лизоцима на 27,4% ($p < 0,01$), а также возрастание муцина на 76,4% и щелочной фосфатазы в 2,3 раза по сравнению с показателями здоровых телят. Вместе с этим при развитии пневмонии происходило увеличение уровня иммуноглобулинов М и А в 2,5 раза ($p < 0,05$). Таким образом, проведенные исследования показали, что при бронхопневмонии в значительной степени активизируются барьерные функции респираторного тракта. В назальной слизи больных телят увеличивается уровень секреторных иммуноглобулинов А и М, активизируется выработка щелочной фосфатазы и муцина.

раторных болезней, проблема сохраняется. Тем самым можно предположить, что значительная доля респираторных заболеваний вызывается условно-патогенной микрофлорой. Ранее проведенные исследования показали, что у телят под воздействием неблагоприятных факторов микроклимата происходит миграция микрофлоры верхних дыхательных путей в низлежащие отделы респираторного тракта, в результате чего развивалась бронхопневмония [13]. Большинство таких случаев объясняется снижением резистентности и иммунного статуса организма животных [11]. В связи с этим большинство научных исследований сосредоточено на изучении иммунного статуса посредством изучения показателей специфических и неспецифических факторов защиты в крови животных [9, 12]. При этом недостаточно внимания уделяется изучению факторов иммунной защиты респираторного тракта, которые представляют собой первую линию защиты организма. Она также состоит из адаптивного иммунитета и неспецифических факторов защиты. Однако в литературе эти механизмы защиты не были достаточно освещены у телят с бронхопневмонией. Изучение состояния барьерной функции слизистых оболочек позволит охарактеризовать показатели локальной защиты респираторного тракта телят и установить его функциональное состояние при респираторной патологии. С этой целью было проведено сравнительное исследование содержания иммунокомпетентных веществ в назальном секрете у здоровых и больных бронхопневмонией телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании были задействованы 8 телят голштинской породы в возрасте 4-5 месяцев. Ранее в возрасте 90 дней все телята были привиты вакциной Bovishield Gold FP 5 L5 (Zoetis, LLC. USA) в соответствии с инструкцией по её применению. Животные были разделены на 2 группы. Группа 1 (контроль, n = 3) – клинически здоровые телята, группа 2 (опыт, n = 5) – телята с диагнозом бронхопнев-

мония. Диагноз ставили на основании клинико-инструментального обследования, которое включало в себя оценку общего состояния, аппетита, частоты дыхания, частоты сердечных сокращений, температуры тела, цвета слизистой оболочки носа, наличия и характеристик выделений из носа и кашля, а также проведения аускультации грудной клетки. Для установления этиологии заболевания, проводилось взятие образцов биоматериала с поверхности слизистой оболочки вентрального носового прохода. Сбор образцов производился с помощью стерильных ватных тампонов (стерильный ватный тампон в полипропиленовой пробирке с завинчивающейся крышкой, размер 75 × 12 мм в диаметре; HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Индия). После сбора образец помещали в сухую стерильную одноразовую пробирку, содержащую 800 мкл физиологического раствора. Затем биологический материал был доставлен внутри термоконтейнера в лабораторию микробиологии и молекулярно-генетического анализа в течение 2 часов после сбора. Микробиологические исследования проводились с использованием традиционных методов, коммерческих питательных сред, тест-систем и диагностических наборов. Морфологические и тинкториальные характеристики выделенных бактерий анализировали в мазке под световым микроскопом. Культуральные свойства выделенных бактерий оценивали путем анализа характера роста бактерий в обычных, специальных и дифференциально-диагностических средах. Микроорганизмы были идентифицированы с использованием руководства Берджи [14].

Для проведения оценки локальной защиты респираторного тракта с помощью стерильного тампона из поролона с фиксирующей нитью собирали образцы назального секрета. При этом тампон имел вид цилиндра, диаметр которого составлял 12-15 мм и длина 50-60 мм. Придерживая за фиксирующую нить, тампон вводился в носовой проход на глубину 4-5 см, после нескольких циклов дыхания и массажа мягких тканей носа он

Таблица 1

Неспецифические факторы защиты респираторного тракта и реологические показатели слизи

Показатель	Группа	Mean	Minimum	Maximum	SD	SE	P-уровень
Лизоцим, мкг/мл	1	0,186	0,175	0,200	0,012767	0,007371	0,025348
	2	0,135	0,112	0,165	0,019705	0,008812	
ЩФ, Е/л	1	939,7	915,0	964,0	24,50170	14,14606	0,025348
	2	2177,2	1732,0	2566,0	340,8162	152,4176	
Муцин, г/л	1	1,033	0,930	1,180	0,130512	0,075351	0,025348
	2	1,822	1,704	1,922	0,101554	0,045416	
Вязкость, м ² /с*10 ⁻⁶	1	1,190	1,177	1,204	0,013503	0,007796	0,025348
	2	1,355	1,310	1,400	0,035606	0,015924	
Адгезия, г/см ²	1	1,022	1,010	1,031	0,010817	0,006245	0,025348
	2	1,148	1,138	1,161	0,010831	0,004844	

извлекался и помещался в стерильный контейнер. В течение 6-8 часов от момента сбора, образцы муконазального секрета подвергали гомогенизации и в дальнейшем проводили исследования. Для определения активности лизоцима использовали нефелометрический метод, основанный на высокой чувствительности к лизоциму *Mucosoccus lysodeicticus* [6]. Содержание муцина оценивали спектрофотометрическим методом, в основе которого лежит определение разницы концентрации белка в исходном материале и супернатанте, образовавшемся после его осаждения кислотой [10]. На биохимическом анализаторе (Hitachi-902, Япония) исследовали активность щелочной фосфатазы методом, принцип которого заключается в фиксации скорости гидролиза п-нитрофенилфосфата (pNPP) щелочной фосфатазой до п-нитрофенола (pNP) в присутствии ионов магния и диэтанолamina в качестве акцептора фосфата при pH 9,8. Оптическая плотность образованного pNP измерялась при 405 нм и она была прямо пропорциональна активности щелочной фосфатазы в образце (Randox Laboratories Ltd, UK). Количество общего белка определяли биуретовым методом (Набор реагентов TP L 500

S, ERBA Lachema, Чехия), а γ -глобулины с помощью диск-электрофореза в полиакриламидном геле, который проводили с использованием прибора фирмы «Реанал» (модель-69, Венгрия). Для разделения белков использовали 7,5% полиакриламидный гель, электродный буфер трис-глициновый (pH 8,3), а в качестве индикатора электрофоретического движения использовался краситель бромфеноловый синий. Электрофорез проводили при температуре +4°C в течение 45 минут при силе тока 4 мА на одну трубку. Идентификацию фракций проводили с помощью набора рекомбинантных высокоочищенных белков с известной молекулярной массой в диапазоне от 20 до 1200 кДа (Native Mark Unstained Protein Standard, Bio-Rad Laboratories, Inc, США). Электрофореграммы окрашивали раствором Кумасси G250 и обесцвечивали фон смесью этанола, уксусной кислоты и дистиллированной воды в соотношении (10:1:30), а затем сканировали и анализировали с использованием пакета программ «GelAnalyzer, версия 19,1» (Media Cybernetics, L.P.).

Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica v6.1.

Рассчитывали среднюю арифметическую (Mean), минимум (minimum), максимум (maximum), ошибку средней (SE) и среднеквадратическое отклонение (SD), достоверность разницы оценивали по U-критерию Манна — Уитни. Достоверным считали значения $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При обследовании телят из группы 1 было установлено, что они клинически здоровы, в то время как у телят из группы 2 наблюдалось депрессивное состояние, слизисто-гнойные выделения из носа, слезотечение, продуктивный кашель, одышка и температура $39,7 \pm 0,38^\circ\text{C}$. Во время проведения аускультации грудной клетки прослушивались мелкопузырчатые хрипы. Частота дыхательных движений и сердечных сокращений составляла $45,2 \pm 5,93$ дд/мин и $101,0 \pm 8,12$ уд/мин соответственно. Исследование назальной слизи методом полимеразной цепной реакции показало отсутствие генома микоплазмы и вирусов: парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи и аденовируса. Однако бактериологические исследования выявили наличие грамотрицательных (*E. coli*, *Enter. aerogenes* и *Past. multocida*) и грамположительных (*Ent. faecium*, *Ent. faecalis*) бактерий. Таким образом, был поставлен диагноз бронхопневмония бактериальной этиологии.

Исследование неспецифических факторов защиты слизистой оболочки показало снижение уровня лизоцима на 27,4% ($p < 0,01$) у телят с бронхопневмонией. Лизоцим является универсальным фактором защиты макроорганизма, направленным на разрушение пептидогликана преимущественно грамположительных бактерий, но оказывающий антимикробный эффект (при повышении проницаемости наружной мембраны и липополисахарида) и на грамотрицательные микроорганизмы [2]. В литературных источниках встречаются данные, как о повышении уровня лизоцима, так и о его понижении у телят с бронхопневмонией [11]. В нашем случае снижение уровня лизоцима

вероятнее всего связано с возбудителями, участвующими в развитии бронхопневмонии. Известно, что большое количество микроорганизмов «манипулируют» механизмами неспецифического иммунитета. Так ряд кишечных бактерий выделяют продукты, включая токсины, которые изменяют процесс представления молекул антигена молекулами МНС класса II и оказывают множественное ингибирующее действие на ряд функций макрофага [2].

Вместе с этим также отмечено увеличение уровня муцина на 76,4% и щелочной фосфатазы в 2,3 раза по сравнению с показателями здоровых телят (табл. 1). Сообщается, что щелочная фосфатаза обладает способностью дефосфорилировать липополисахариды грамотрицательных бактерий, тем самым снижая их токсические эффекты [16]. Помимо этого, ЦФ участвует в метаболизме АТФ, опосредуя превращение АТФ через АДФ в АМФ и превращая АМФ в аденозин, который в свою очередь отвечает за частоту биения ресничек мерцательного эпителия и секрецию муцина бокаловидными клетками [15].

Муцины, в свою очередь, образуют слой слизи, защищающий эпителий от воздействия повреждающих факторов [5]. Это достигается за счёт большого количества связей, в частности S – S связей, водородных связей и сил Ван дер Ваальса. Благодаря этому назальная слизь имеет решетчатую структуру, обладает вязкостью и эластичностью. Однако обратной стороной увеличения секреции муцинов является, увеличение вязкости слизи, что снижает скорость мукоцилиарного транспорта и самоочищение респираторного тракта [3]. Так в результате проведенных нами исследований было установлено увеличение вязкости и адгезии слизи на 13,9 и 12,3% соответственно, что подтверждает ранее проведенные нами исследования [1]. Вероятнее всего в результате снижения скорости мукоцилиарного транспорта патогенны задерживаются в респираторном тракте и начинают активно размножаться, а продукты их жизнедея-

ятельности провоцируют развития воспалительной реакции.

Протеомный анализ назальной слизи показал, что у телят больных бронхопневмонией достоверно увеличивается уровень общего белка на 61,6% ($p < 0,05$) по сравнению с показателями здоровых (табл. 2).

При этом 39,7-46,2% из выделяемых белков являлись γ -глобулинами, уровень которых был больше в 2,1 раза у больных телят ($p < 0,01$). При электрофоретическом разделении назальной слизи выделялось 3 фракции γ -глобулинов, которые имели молекулярную массу 150-170, 350 и 900 кДа. На основании имеющихся молекулярных масс белки были идентифицированы, как иммуноглобулин G (150-170 кДа), иммуноглобулин A (350 кДа) и иммуноглобулин M (900 кДа). Анализ фракционной структуры γ -иммуноглобулинов у здоровых и больных телят показал отсутствие достоверной разницы. Однако вместе с этим было установлено, что в результате развития пневмонии происходит увеличение уровня иммуноглобулина M и A в 2,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем здоровых телят. Также наблюдалось увеличение уровня иммуноглобулина G на 74,2%, однако эти данные оказались недостоверными ($p > 0,05$). Полученные результаты указывают на то, что у больных пневмонией телят активизируется продукция секреторного иммуноглобулина M и A в назальном секрете, что согласуется с полученными ранее данными Mohd Faizal Ghazali [17]. Секреторный иммуноглобулин A (sIgA) – это первая линия защиты против бактериальных и вирусных антигенов на слизистых оболочках, а IgM является первым иммуноглобулином, который секретируется после введения антигена. Вместе sIgA и sIgM предупреждают адгезию патогенных микроорганизмов и колонизацию ими слизистой оболочки, а также инактивируют энтеротоксин, активируют фагоцитоз и комплемент по альтернативному пути.

ВЫВОДЫ

Таким образом, проведенные исследо-

вания показали, что при бронхопневмонии в значительной степени активизируются барьерные функции респираторного тракта. В назальной слизи больных телят увеличивается уровень секреторных иммуноглобулинов A и M, активизируется выработка щелочной фосфатазы и муцина.

STATE OF LOCAL IMMUNITY OF RESPIRATORY ORGANS IN CALVES WITH BRONCHOPNEUMONIA. Zhukov M.S., Cand. of Vet. Sciences, Senior Scientific Associate (ORCID 0000-0002-9317-7344), Alekhin Yu.N., Doc. of Vet. Sciences, Chief Scientific Associate (ORCID 0000-0003-0666-7722), Khokhlova N.A., Cand. of Vet. Sciences, Senior Scientific Associate (ORCID 0000-0001-6861-2554), FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Voronezh, Russian Federation

ABSTRACT

Respiratory diseases are widespread among cattle and represent a significant proportion of the causes of abandonment in dairy and beef cattle. Despite the fact that new vaccines are being developed and introduced to combat respiratory diseases, which create humoral immunity to the main specific pathogens of respiratory diseases, the problem persists. Thus, it can be assumed that a significant proportion of respiratory diseases is caused by opportunistic microflora. Previous studies have shown that in calves under the influence of adverse microclimate factors, the microflora of the upper respiratory tract migrates to the underlying parts of the respiratory tract, resulting in bronchopneumonia. The study of local immunity indicators in healthy calves and calves with bronchopneumonia was realized. The study involved 8 Holstein calves aged 4-5 months, which were divided into 2 groups. Group 1 (control, $n = 3$) - clinically healthy calves, group 2 (experiment, $n = 5$) - calves with bronchopneumonia. Nasal secretions were collected from calves to assess local protection of the respiratory tract. The level of lysozyme, mucin, alkaline phosphatase, total protein, IgM, IgA and IgG was determined in it. The study of nonspecific factors

Таблица 2

Состояние локального иммунитета респираторного тракта телят больных бронхопневмонией

Показатель	Группа	Mean	Minimum	Maximum	SD	SE	P-уровень
Общий белок, г/л	1	5,57	4,80	6,71	1,007323	0,581578	0,025348
	2	9,0	6,80	11,20	1,600000	0,715542	
γ-глобулины, г/л	1	1,81	1,42	2,10	0,350856	0,202567	0,025348
	2	3,82	3,14	4,48	0,517349	0,231366	
γ-глобулины, %	1	33,8	21,2	40,4	10,93034	6,310632	0,179713
	2	42,8	39,7	46,2	3,173723	3,173723	
IgM, г/л	1	0,45	0,29	0,59	0,150997	0,087178	0,025348
	2	1,11	1,01	1,31	0,119164	0,053292	
IgM, %	1	24,6	20,4	30,9	5,575243	3,218868	0,179713
	2	29,3	25,1	32,8	2,96614	1,326499	
IgA, г/л	1	0,44	0,35	0,51	0,080829	0,046667	0,025348
	2	1,09	0,55	1,53	0,407578	0,182275	
IgA, %	1	24,2	21,4	26,7	2,668957	1,540923	0,368228
	2	28,7	13,9	41,8	10,42184	4,678675	
IgG, г/л	1	0,93	0,79	1,18	0,219621	0,126798	0,052633
	2	1,62	0,94	2,3	0,563400	0,251960	
IgG, %	1	51,4	42,4	56,2	7,800000	4,503332	0,296718
	2	42,0	26,9	58,1	12,26144	5,483484	

protecting the mucous membrane of the respiratory tract showed a decrease in the level of lysozyme by 27.4% ($p < 0.01$), as well as an increase in mucin by 76.4% and alkaline phosphatase - by 2.3 times compared with healthy calves. At the same time, with the development of pneumonia, there was an increase in the level of immunoglobulins M and A by 2.5 times ($p < 0.05$). Thus, the conducted studies have shown that in case of bronchopneumonia, the barrier functions of the respiratory tract are activated to a large extent. In the nasal mucus of sick calves, the level of secretory immunoglobulins A and M increases, the production of alkaline phosphatase and mucin is activated.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Алехин Ю.Н. Сравнительная оценка состава секрета верхних и нижних дыхательных путей у клинически здоровых и больных бронхопневмонией телят / Ю.Н. Алехин, М.С. Жуков, И.Ф. Клементьева, В.И. Моргунова // Ученые записки УО ВГАВМ. – 2018. – Т. 54. – №4. – С. 3-6.
2.Андрющенко С.В. Молекулярные меха-

низмы взаимодействия бактерий с лизоцимом и их роль микросимбиозе / С.В. Андрющенко, Н.Б. Перунова, О.В. Бухарин // Успехи современной биологии. – 2015. – Т. 135. – №5. – С. 453-446.
3.Артемяева-Карелова А.В. Реологические показатели назального секрета / А.В. Артемяева-Карелова // Вестник оториноларингологии. – 2014. – №3. – С. 76-79.
4.Жуков М.С. Причины выбытия молодняка крупного рогатого скота на предприятиях молочного и мясного направления / М.С. Жуков // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка. Материалы Международной научно-практической конференции. – 2018. – С. 17-21.
5.Золотова Н.А. Структурная и функциональная характеристика муцинов / Н.А. Золотова // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2014. – №1. – С. 66-72.
6.Каграманова К.А. Сравнительная характеристика методов определения активности лизоцима / К.А. Каграманова, З.В.

- Ермольева // Антибиотики. – 1966. – Т. 11. – № 10. – С. 9117-9119.
- 7.Наеф Х. Эффективность гентаминосе-
леферона при терапии респираторных
болезней телят / Х. Наеф, Л.В. Ческидова,
А.О. Пономарёв, Г.Г. Чусова,
В.И.Моргунова, А.А. Вели // Ветеринар-
ный фармакологический вестник. – 2020.
– №1 (10). – С. 70-77. DOI: 10.17238/
issn2541-8203.2020.1.70
- 8.Петрова О.Г. Распространение респираторных заболеваний у крупного рогатого скота и наносимый экономический ущерб / О.Г.Петрова, А.Д. Алексеев // Аграрное образование и наука. – 2015. – №1. – С. 10.
- 9.Сисягин П.Н. Иммунологический статус телят при респираторных болезнях и способов его коррекции / П.Н. Сисягин, Г.Р. Реджепова, Е.П. Сисягина, Д.М. Никулин, Ю.Б. Юлдашов // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2011. – №1 (20). – С. 62-66.
- 10.Стрелец Е.В. Способ количественного определения муцина: пат. № 2250465 Рос. Федерация: МПК G01N33/52 / Е.В. Стрелец, Е.Н. Егорова; заявитель и правообладатель ГОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России. - № 2004117343/15; заявл. 07.06.2004; опубл. 20.04.2005. Бюл. № 11.
- 11.Топурия Л.Ю. Недостаточность иммунной системы и её коррекция при бронхопневмонии телят / Л.Ю. Топурия // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2006. – №1 (9). – С. 87-89.
- 12.Шахов А.Г. Влияние иммунного статуса на возникновение и развитие респираторных болезней у телят в условиях специализированных хозяйств / А.Г. Шахов, Д.В. Федосов, Л.Ю. Сашнина, Ю.Н. Масьянов, Ю.Н. Алехин, И.Р. Сидельникова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2012. – №3 (15). – С. 19-25.
- 13.Alekhin, Yu.N. Peculiarities of microbioscenes in the upper and lower respiratory tract of clinically healthy calves and the calves with bronchopneumonia / Yu.N. Alekhin, M.S. Zhukov, O.A. Manzhurina, V.I. Morgunova // *Ciência e Agrotecnologia*. – 2021. – Vol. 45. – e012621. DOI: 10.1590/1413-7054202145012621.
- 14.Bergey D.H. Bergey's manual of systematic bacteriology // D.H. Bergey, N.R. Krieg, J.G. Holt. Baltimore, MD : Williams & Wilkins, 1989. – 2648 pp.
- 15.Ecto 5'-Nucleotidase and Nonspecific Alkaline Phosphatase / M. Picher, L.H. Burch, A.J. Hirsh, J. Spychala, R.C. Boucher // *The journal of biological chemistry*. – 2003. – Vol. 278 (15). – P. 13468-13479. DOI:10.1074/jbc.M300569200.
- 16.Ghazali M.F. Alkaline phosphatase in nasal secretion of cattle: biochemical and molecular characterization / M.F. Ghazali, H.H. Koh-Tan, M. McLaughlin, P. Montague, N.N. Jonsson, P.D. Eckersall // *BMC Veterinary Research*. – 2014. – Vol. 10. – P. 204. DOI: 10.1186/s12917-014-0204-9.
- 17.Ghazali M.F. Biochemical and proteomic investigation of bovine nasal secretion: Doctor of Philosophy. – Glasgow, 2014. – 326 pp.

REFERENCES

1. Alekhin Yu.N., Zhukov M.S., Klementyeva I.F., Morgunova V.I. Comparative assessment of the composition of the upper and lower respiratory tract secretion in clinically healthy and sick calves with bronchopneumonia [Ученые записки УО ВГАВМ]. 2018. - V. 54. - No. 4. - P. 3-6 (in Russ.)
2. Andryushchenko S.V., Perunova N.B., Bukharin O.V. Molecular mechanisms of bacteria interaction with lysozyme and their role in microsymbiosis [Успехи современной биологии]. 2015. - V. 135. - No. 5. - P. 453-446 (in Russ.)
3. Artemyeva-Karelova A.V. Rheological indicators of nasal secretion [Вестник оториноларингологии]. - 2014. - No. 3. - P. 76-79 (in Russ.)
4. Zhukov M.S. Reasons for culling young cattle at dairy and meat enterprises [Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка. Материалы Международной научно-практической конференции]. 2018. - P. 17-21 (in Russ.)
5. Zolotova N.A. Structural and functional characteristics of mucins [Клиническая и экспериментальная морфология]. 2014. - No. 1. - P. 66-72 (in Russ.)

6. Kagramanova K.A., Ermolyeva Z.V. Comparative characteristics of methods for determining lysozyme activity [Антибиотики]. 1966. - V. 11. - No. 10. - P. 9117-9119 (in Russ.)
7. Naef H., Cheskidova L.V., Ponomarev A.O., Chusova G.G., Morgunova V.I., Veli A.A. The efficacy of gentamino-seleferon at therapy of respiratory diseases in calves. Bulletin of Veterinary Pharmacology. - 2020. - No. 1 (10). - P. 70-77. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.1.70 (in Russ. & in Eng.)
8. Petrova O.G., Alekseev A.D. Spread of respiratory diseases in cattle and the economic damage caused [Аграрное образование и наука]. - 2015. - No. 1. - P. 10. (in Russ.)
9. Sisyagin P.N., Redzhepova G.R., Sisyagin E.P., Nikulin D.M., Yuldashov Yu.B. Immunological status of calves in case of respiratory diseases and methods for its correction [Аграрная наука Евро-Северо-Востока]. 2011. - No. 1 (20). - P. 62-66 (in Russ.)
10. Strelets E.V., Egorova E.N. Method of quantitative determination of mucin: Pat. No. 2250465 Rus. Federation: IPC G01N33/52, applicant and copyright holder SEI HPE Tver State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia. - No. 2004117343/15; appl. 07.06.2004; publ. 20.04.2005. Bull. No. 11 (in Russ.)
11. Topuriya L.Yu. Insufficiency of the immune system and its correction in case of bronchopneumonia in calves [Известия Оренбургского государственного аграрного университета]. - 2006. - No. 1 (9). - P. 87-89 (in Russ.)
12. Shakhov A.G., Fedosov D.V., Sashnina L.Yu., Masyanov Yu.N., Alekhin Yu.N., Sidelnikova I.R. Effect of immune status on the occurrence and development of respiratory diseases in calves at specialized farms [Актуальные вопросы ветеринарной биологии]. 2012. - No. 3 (15). - P. 19-25 (in Russ.)
13. Alekhin, Yu.N. Peculiarities of microbio-cenosis in the upper and lower respiratory tract of clinically healthy calves and the calves with bronchopneumonia / Yu.N. Alekhin, M.S. Zhukov, O.A. Manzhurina, V.I. Morgunova // *Ciência e Agrotecnologia*. - 2021. - Vol. 45. - e012621. DOI: 10.1590/1413-7054202145012621.
14. Bergey D.H. Bergey's manual of systematic bacteriology // D.H. Bergey, N.R. Krieg, J.G. Holt. Baltimore, MD : Williams & Wilkins, 1989. - 2648 pp.
15. Ecto 5'-Nucleotidase and Nonspecific Alkaline Phosphatase / M. Picher, L.H. Burch, A.J. Hirsh, J. Szychala, R.C. Boucher // *The journal of biological chemistry*. - 2003. - Vol. 278 (15). - P. 13468-13479. DOI:10.1074/jbc.M300569200.
16. Ghazali M.F. Alkaline phosphatase in nasal secretion of cattle: biochemical and molecular characterization / M.F. Ghazali, H.H. Koh-Tan, M. McLaughlin, P. Montague, N.N. Jonsson, P.D. Eckersall // *BMC Veterinary Research*. - 2014. - Vol. 10. - P. 204. DOI: 10.1186/s12917-014-0204-9.
17. Ghazali M.F. Biochemical and proteomic investigation of bovine nasal secretion: Doctor of Philosophy. - Glasgow, 2014. - 326 pp.