

- [Vaccine to prevent cattle respiratory diseases] / K.P.Yurov, YU.D.Karavaev, Z.F.Zudilina [et al.] (the USSR).-№4804352, applied on 09.02.90, published on 21.03.93.
8. Patent 2090210 RF, IPC 6 A 61 K 39/265, S 12 N 5/06, 7/00. Sposob izgotovleniya inaktivirovannoy kulturalnoy vaksiny protiv infektsionnogo rinotraheita krupnogo rogatogo skota [The method of producing inactivated culture vaccine against infectious bovine rhinotracheitis] / N.I.Zakutskiy, V.I.Zhesterev, I.F.Vishnyakov, S.G.Yurkov - №.93056756/13, applied on 21.12.1993; published on 20.09.97.
9. Patent 2059415 RF, IPC 6 A 61 K 39/265, Inaktivirovannaya vakcina protiv infektsionnogo rinotraheita krupnogo rogatogo skota [Inactivated vaccine against infectious bovine rhinotracheitis] / K.P.Yurov, P.N.Shcherbakov, A.S.Vecherkin, A.F.Shulyak - № 92011555/13, applied on 11.12.1992, published on 10.05.96.
10. Patent 2221040 RF, IPC 7 A 61 K 39/265, S 12 N 7/00, Shtamm "VNIZZH" virusa infektsionnogo rinotraheita krupnogo rogatogo skota dlya izgotovleniya vaksiny i diagnosticheskikh preparatov [Using the "ARRIAH" strain of infectious bovine rhinotracheitis for production of vaccine and diagnostic drugs] / V.A.Mishchenko, A.A.Gusev, O.I.Getmanskoy, N.V.Koropova, Y.E.Ruchnov, YU.A.Kostyrkin - № 2002117391/13, applied on 28.06.2002., published on 10.01.2004.
11. Vaccination with a modified-live bovine viral diarrhea virus (BVDV) type 1a vaccine completely protected calves against challenge with BVDV type 1b strains /Wenzhi Xue// Intervet Schering Plough Animal Health, 35500 W 91st Street, De Soto, KS 66018, USA Vaccine 29:70-6. 2010
12. Systematic review and meta-analysis of the effectiveness of commercially available vaccines against bovine herpesvirus, bovine viral diarrhea virus, bovine respiratory syncytial virus, and parainfluenza type 3 virus for mitigation of bovine respiratory disease complex in cattle / E. Miles et al.// Journal of the American Veterinary Medical Association. 2015, Vol. 246, N1. - P. 126-142.
13. Grinin, A.S. Ochistka, kontsentririrovaniye i fraktsionirovaniye virusov zhivotnykh [Purification, concentration, and fractionation of animal viruses] /A.S.Grinin, I.N.Titov. - Moscow: Kolos, 1971. - 240p.
14. Spravochnik po boleznyam s/h zhivotnykh [A reference book on farm animal diseases]. - Moscow: Urozhay, 1990. -352p.

УДК 619.616.98+543.544.943.3

ВЫЯВЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В СУХИХ ОБРАЗЦАХ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ПОРИСТЫХ МЕМБРАННЫХ НОСИТЕЛЯХ НОВОГО ФОРМАТА

¹С. О. Белецкий – соискатель; ¹И. Г. Каримуллина – кандидат биологических наук, ст. научный сотрудник; ¹А. Ф. Авзалова – кандидат ветеринарных наук, ст. научный сотрудник; ¹М. А. Ефимова – доктор биологических наук, зав. лабораторией; ¹А. Н. Чернов – доктор биологических наук, зам. директора; ²Н. Ю. Саушкин – аспирант; ²Ж. В. Самсонова – кандидат химических наук, ст. научный сотрудник; ³А. П. Осипов – кандидат химических наук, ст. научный сотрудник; ³С. Э. Кондаков – доктор фармакологических наук, вед. научный сотрудник.

¹ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань (420075, Казань, Научный городок-2, тел. +7(843) 239-53-20, e-mail: vnivi@mail.ru).

²Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, г. Москва (119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 11, тел. +7(495) 939-16-71, e-mail: dekanat@chem.msu.ru).

³Национальный исследовательский технологический университет "МИСИС", г. Москва (119991, Москва, Ленинский проспект, д. 6, тел. +7(499) 237-22-22, e-mail: chernikova@misis.ru).

В животноводческих хозяйствах Российской Федерации, по данным отечественных авторов вирусами герпеса инфицировано от 17% до 43% животных. Важным этапом контроля и искоренения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота является лабораторная диагностика путем выявления антител в сыворотках крови вакцинированных, инфицированных и переболевших животных, а также вирусного антигена. В случае отдаленного расположения специализированных лабораторий хранение и доставка большого количества отобранных для анализа жидких образцов может представлять определенную проблему. Отбор, транспортировка и анализ образцов биологических жидкостей в виде сухих пятен помогает решить эти проблемы минимальными средствами. Цель данной работы – изучить возможность применения технологии получения биологических жидкостей в виде сухих пятен на новом формате пористых мембранных носителей для пробоподготовки и анализа сывороток крови крупного рогатого скота при определении титра антител к вирусу инфекционного ринотрахеита. **Материалы и методы.** В работе использовали приготовленные стандартным методом сыворотки крови крупного рогатого скота и образцы сухих пятен сыворотки крови, нанесенные на опытные образцы карточек с мембранными носителями. Сыворотки крови в жидком виде и сухие образцы, элюированные с мембранного носителя карто-

чек, сравнивали по результатам реакции иммуноферментного анализа. **Результаты исследований.** При определении титра антител в 32 исследуемых образцах сывороток крови, элюированных с мембранных носителей, рассчитанный коэффициент связывания антигена, титры антител и интерпретация результатов статистически достоверно не отличались от таковых при исследовании аналогичных нативных образцов. **Заключение.** Полное совпадение результатов анализа жидких и сухих образцов сывороток подтверждает, что использование технологии сухих пятен для выявления антител к вирусу инфекционного ринотрахеита в сухих пятнах сыворотки крови крупного рогатого скота позволяет осуществлять отбор материала в условиях животноводческих комплексов и доставку образцов биоматериала для последующего исследования их на инфекционные заболевания методом иммуноферментного анализа безхолдовой цепи и потери качества лабораторной диагностики.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: герпесвирус, ИФА, СПК, пробоподготовка, коэффициент связывания антигена.

Среди вирусных заболеваний крупного рогатого скота (КРС) герпесвирусная-1 инфекция (или инфекционный ринотрахеит, ИРТ) занимает особое место в связи с многообразием клинических форм, тяжестью течения болезни и способностью вируса к латентному персистированию в организме клинически здоровых животных. Заболевание молодняка КРС ИРТ приводит к значительным экономическим потерям за счет падежа, вынужденного убоя и снижения привесов, а также нарушений репродуктивных функций при дальнейшей эксплуатации. Заболевание ИРТ подвержены также и взрослый скот, у которого нередко проявляется генитальная форма болезни, влекущая за собой бесплодие у коров, недополучение приплода, значительное снижение продуктивности и племенной ценности [1,2]. Известно, что герпесвирус типа 1 является депрессантом иммунной системы и способствует развитию болезней у животных [3].

Основную роль в диагностике герпесвируса типа 1 играют лабораторные методы, которые включают обнаружение антигенов вируса ИРТ в пробах патологического материала с помощью ИИФ (реакция иммунофлуоресценции) и ПЦР (полимеразная цепная реакция), выделение вируса в культуре клеток и его идентификацию, обнаружение и выявление прироста специфических антител в парных пробах сыворотки крови животных в РДП (реакция диффузионной преципитации), РВН (реакция вирусной нейтрализации), РНГА (реакция непрямой гемагглютинации), РТГА (реакция торможения гемагглютинации) и ИФА [4,5].

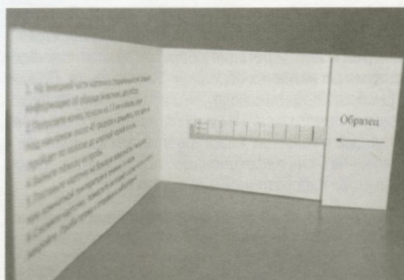
Используемые в ветеринарии современные методы диагностических исследований, а также проведение контроля качества проведенной вакцинации требуют наличия определенных реагентов (антигенов инфекционных возбудителей, моноклональных антивидовых антител и др.) и дорогостоящего оборудования, недоступных большинству диагностических лабораторий. В таких ситуациях возникает необходимость замораживания, хранения и транспортировки различных биологических субстанций в научные лаборатории для проведения необходимых исследований и архивирования образцов.

Для решения указанных задач, в последнее время начинает применяться новый для ветеринарии метод отбора, хранения и транспортировки проб биоматериала в виде сухих пятен на бумажных носителях. Технология сухих пятен крови (СПК, от англоязычного термина

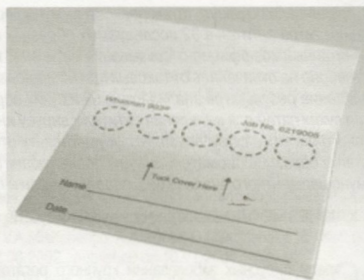
DriedBloodSpots или DBS), заключается в нанесении пятна крови на лист из высокочистой целлюлозы в виде специальной карточки, ее высушивании и транспортировке в лабораторию, где производится смыв материала с носителя и проведение соответствующего анализа [6]. Основным назначением технологии СПК является осуществление пробоподготовки крови (или других биологических жидкостей) для получения сухих образцов в виде пятен на пористой бумаге и пересылки их в диагностическую лабораторию для проведения последующего анализа одним из стандартных методов. За рубежом технология СПК широко применяется для диагностических целей в основном в медицинской практике и для проведения доклинических испытаний новых фармацевтических препаратов на животных [7]. В России указанная технология используется только в медицине для неонатального скрининга.

Учитывая то, что пятна крови в специализированных импортных СПК карточках наносятся строго в определенные места, данная технология не получила своего распространения в ветеринарии, т.к. отбор биоматериала в таком формате в полевых условиях затруднен (рис. 1б). В настоящее время в РФ ведутся работы по изучению использования новых типов материалов и новых форматов мембранных карточек, позволяющих реализовать эффективное впитывание биологической жидкости пористым мембранным материалом за счет капиллярного эффекта, равномерно распространить его по рабочей поверхности и обеспечить сохранность высохшего биологического материала при транспортировке. Предложенный нами ранее новый формат пористых мембранных носителей в виде узких маркированных полосок облегчает забор жидкого биоматериала и поэтому может быть востребован в ветеринарной лабораторной диагностике, в отличие от карточек импортного производства (рис. 1а). В ветеринарии ведутся единичные исследования по анализу биологических жидкостей в виде сухих пятен при диагностике инфекционных заболеваний животных и птицы [5,8].

Цель данной работы – изучить возможность применения технологии получения биологических жидкостей в виде сухих пятен на новом формате пористых мембранных носителей для пробоподготовки и анализа сывороток крови КРС при определении титра антител к вирусу ИРТ.



(а)



(б)

Рис. 1 Образец карточки для отбора биологического образца Российского производства (а) в сравнении с карточкой Whatman 903 зарубежного производства (б).

Материалы и методы. В работе использовали приготовленные стандартным методом сыворотки крови КРС из неблагополучных по герпесвирусной инфекции хозяйств Республики Татарстан.

Для получения образцов сухих пятен сыворотки крови КРС наносили на опытные образцы карточек с мембранными носителями (ООО "Иммуновед", Москва), предназначенных для отбора, транспортировки, хранения и анализа биологических жидкостей. Карточки с сыворотками высушивали на воздухе при комнатной температуре в течение 2 ч и маркировали образцы согласно инструкции.

Сыворотки крови в жидком виде и сухие образцы, элюированные с мембранного носителя карточек, сравнивали по результатам реакции в ИФА. Перед проведением ИФА часть мембранной полоски размером 0,5x0,5 см отрезали по маркировке, переносили в чистую пробирку и элюировали образец сыворотки с мембраны в 1,5 мл буфера для разведения образца, входящего в состав набора, в течение 15-20 минут. В работе использовали набор для выявления антител к вирусу ИРТ КРС иммуноферментным методом «ИРТ-СЕРОТЕСТ» (ООО «Ветбиохим», г. Москва). Набор рассчитан на проведение на одном планшете одновременного анализа 46 исследуемых проб сыворотки крови (в 2-х повторях) и двух контрольных проб (в 2-х повторях). Компонента набора допускает возможность дробного использования компонентов для

проведения нескольких серий анализов по мере поступления биоматериала.

Применяемый в данном наборе вариант ИФА основан на взаимодействии иммобилизованного на поверхности лунок вируса ИРТ КРС (BHV1) со специфическими антителами из исследуемой пробы сыворотки и последующем выявлении полученного иммунного комплекса конъюгатом антивидовых антител к IgG КРС с пероксидазой хрена. При добавлении субстратного раствора в лунках планшета происходит ферментативное окисление хромогена пероксидом водорода и развивается окраска, интенсивность которой прямо пропорциональна количеству антител в определяемой пробе.

Для определения титра антител в исследуемых образцах рассчитывали коэффициент связывания антигена (Ксв) сывороточными антителами по формуле путем сравнения с аналогичными средними результатами измерения оптической плотности (A450), полученных из двух повторов опытной пробы (ОП_{ср}), и положительного контроля К^{*}_{ср}:

$$K_{св} = (A_{450} \text{ ОП}_{ср}) / (A_{450} \text{ К}^*_{ср}) \times 100$$

Интерпретацию результатов в терминах «+» – результат положительный; «-» – результат отрицательный проводили с использованием предлагаемой производителем тест-системы таблицы (табл. 1):

Таблица 1

Схема интерпретации результатов

Значение K _{св}	Титр антител
< 15%	Проба отрицательная
16% - 25%	1/100 проба сомнительная
26% - 40%	1/200 проба положительная
41% - 60%	1/400 положительная
61% - 90%	1/800 положительная
91% - 100%	1/1600 положительная
> 100%	>1/3200 положительная

При статистической обработке результатов учитывали уровень совпадения значений $ОП_{ср}$, $K_{св}$, интерпретации результатов исследования элюированных с мембранных носителей образцов с таковыми нативных сывороток крови.

Результаты исследований. Анализ результатов, полученных сравнением данных для нативной сыворотки и смывой по исследуемой технологии с использованием сухих пятен сыворотки крови КРС, показал высокую аналитическую надежность данных (таблица 2). Все положительные и отрицательные образцы были интерпретированы одинаково с использованием как нативных, так и сухих образцов сыворотки крови. Причем для анализа использовали положительные образцы в широком диапазоне титров: от слабоположительных (титр 1/200-1/400) и среднеположительных (титр 1/800-1/1600) до сильно положительных (титр >1/3200). В среднем значение зарегистрированной оптической плотности для элюированных образцов было несколько ниже таковой для нативных образцов, при этом уровень совпадения $ОП_{ср}$ с результатами, полученными с нативными образцами, составил $94 \pm 1\%$ для отрицательных и $86 \pm 9\%$ для положительных проб сывороток крови. Значение $K_{св}$ для элюированных образцов варьировало от 63 до 101% по сравнению со значениями, полученными

ми для нативных образцов; при этом среднее значение $K_{св}$ составило $90 \pm 9\%$. Следует отметить, что для большинства исследованных образцов (19 из 32, т.е. 59%) значение $K_{св}$ для элюированных образцов варьировало в диапазоне от 90 до 100% по сравнению со значениями, полученными для нативных образцов, что свидетельствует о статистически достоверной идентичности данных. Уровень совпадения $K_{св}$ составил $97 \pm 1\%$ для образцов с отрицательной и $89 \pm 9\%$ для таковых с положительной интерпретацией результатов ИФА. Значения титров совпадали для всех образцов, кроме двух слабоположительных. В данном случае для нативных образцов расчетное значение титра составило 1/400, тогда как для элюированных – 1/200. Данное несовпадение результатов можно считать допустимым, поскольку полученные значения $K_{св}$ для данных образцов были близки к пограничным значениям при интерпретации результатов, а уровень совпадения интерпретации результатов ИФА составил 100% (таблицы 1 и 2).

Таким образом, приведенные в таблице 2 данные свидетельствуют о практически полном совпадении результатов исследования образцов 32 проб сывороток крови КРС, полученных общепринятым методом, и сывороток, десорбированных с мембранного носителя экспериментальной карточки.

Таблица 2

Результаты исследования проб сывороток крови КРС на наличие антител к вирусу ИРТ в ИФА, подготовленные двумя разными методами

Проба	Нативный образец				Элюированный образец			
	$ОП_{ср}$	$K_{св}$	Титр	Результат	$ОП_{ср}$	$K_{св}$	Титр	Результат
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0,130	14,8		–	0,122	14,4		–
2	0,127	14,5		–	0,119	14,1		–
3	0,114	13,0		–	0,109	12,9		–
4	0,119	13,6		–	0,110	13,0		–
5	0,109	12,4		–	0,102	12,0		–
6	0,314	35,8	1/200	+	0,254	30,1	1/200	+
7	0,270	30,8	1/200	+	0,234	27,7	1/200	+
8	0,335	38,2	1/200	+	0,309	36,6	1/200	+
9	0,299	34,1	1/200	+	0,243	28,8	1/200	+
10	0,382	43,6	1/400	+	0,341	40,4	1/200	+
11	0,377	43,0	1/400	+	0,288	34,1	1/200	+
12	0,507	57,9	1/400	+	0,427	50,6	1/400	+
13	0,686	78,4	1/800	+	0,665	78,8	1/800	+
14	0,647	73,9	1/800	+	0,617	73,1	1/800	+
15	0,618	70,6	1/800	+	0,530	62,8	1/800	+
16	0,627	71,6	1/800	+	0,566	67,1	1/800	+
17	0,693	79,2	1/800	+	0,618	73,3	1/800	+

1	2	3	4	5	6	7	8	9
18	0,916	104,6	≥1/3200	+	0,857	101,6	≥1/3200	+
19	1,232	140,8	≥1/3200	+	0,926	109,8	≥1/3200	+
20	1,139	130,1	≥1/3200	+	0,957	113,5	≥1/3200	+
21	1,286	146,9	≥1/3200	+	0,891	105,6	≥1/3200	+
22	0,989	113,0	≥1/3200	+	0,902	106,9	≥1/3200	+
23	1,012	115,6	≥1/3200	+	0,932	110,5	≥1/3200	+
24	0,985	112,5	≥1/3200	+	0,942	111,7	≥1/3200	+
25	1,394	159,3	≥1/3200	+	0,847	100,4	≥1/3200	+
26	1,048	119,7	≥1/3200	+	0,992	117,6	≥1/3200	+
27	0,957	109,3	≥1/3200	+	0,886	105,1	≥1/3200	+
28	1,054	129,4	≥1/3200	+	0,907	107,5	≥1/3200	+
29	0,847	96,8	1/1600	+	0,773	91,6	1/1600	+
30	0,727	83,0	1/800	+	0,662	78,5	1/800	+
31	1,275	145,7	≥1/3200	+	1,038	123,1	≥1/3200	+
32	1,530	174,8	≥1/3200	+	1,089	129,1	≥1/3200	+

Примечание: «+» – результат положительный, «-» – результат отрицательный.

Заключение. Таким образом, полученное в работе полное совпадение результатов анализа жидких и сухих образцов сывороток крови подтверждает, что использование технологии СПК для выявления антигенов к вирусу ИРТ в сухих пятнах сыворотки крови КРС позволяет осуществлять отбор материала в условиях животноводческих комплексов и доставку образцов биоматериала для последующего исследования их на инфекционные заболевания методом ИФА без холодильной цепи и потери качества лабораторной диагностики. В сравнительном эксперименте по выявлению антигена к вирусу ИРТ КРС методом ИФА было показано, что опытные образцы отечественных карточек

с мембранными носителями, предназначенные для отбора, транспортировки, хранения и анализа биологических жидкостей могут быть использованы для эпизоотологического мониторинга данного заболевания методом ИФА.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках реализации ФЦП "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы"; проект №RFMEFI57814X0010 (Соглашение номер 14.578.21.0010).

Литература

1. 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.
2. Кузнецов, Д.П. Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота: диагностика на основе современных методов биотехнологии. / Кузнецов Дмитрий Павлович // автореф. дис. докт. биол. наук: 03.00.02 - Шелково, 2002. – 49 с.
3. Мищенко, В.А. Проблема респираторной патологии новорожденных телят / В.А.Мищенко, А.В.Мищенко, О.Ю.Черных // Ветеринария Кубани. – 2013. - №6. – С.19-20.
4. Реджепова, Г.Р. Иммунодефициты при респираторных болезнях телят / Г.Р.Реджепова, П.Н.Сисягин., С.В.Вьюрин., Ю.Б.Юлдашев // Ветеринарная патология. – 2005. - № 4. - С. 122-125.
5. Самсонова, Ж.В. Выявление антигенов к возбудителям заболеваний вирусной этиологии в сухих пятнах сыворотки крови птицы / Ж.В.Самсонова, А.П.Осипов, С.Э.Кондаков[и др.] // Птицеводство. – 2014. - №9. – С.38-42.
6. Meesters R.J.W., Hoof G.P. State-of-the-art dried blood spot analysis: an overview of recent advances and future trends //Bioanalysis. – 2013. - 5(17).–P2187–2208.
7. Demirev, P.A. Dried blood spots: analysis and applications. Anal. Chem., 2013. – 85. – P.779–789.
8. Samsonova, J.V. Detection of bovine leukemia virus by the polymerase chain reaction in dried blood spots using a membrane system of a new format / J.V.Samsonova, A.S.Chadina, A.P.Osipov et al.// Moscow Univ. Chem. Bull., 2014. –69. – P.282-285.

DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS VIRUS IN DRIED SERUM SAMPLES ON THE POROUS MEMBRANE CARRIER OF A NEW FORMAT

¹Beletskiy S.O. – applicant; ¹Karimullina I.G. – Candidate of Biological Sciences; ¹Avzalova A.F. – Candidate of Veterinary Sciences; ¹Efimova M.A. – Doctor of Biology; ¹Chernov A.N. – Doctor of Biology; ²Saushkin N.Yu. – postgraduate; ²Samsonova J.V. – Candidate of Chemistry Sciences; ²Osipov A.P. – Candidate of Chemistry Sciences; ²Kondakov S.E. – Doctor of Pharmacological Sciences.

¹Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan (e-mail: nvni@mail.ru).

²M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow (e-mail: dekanat@chem.msu.ru).

³National University of Science and Technology "MISiS", Moscow (e-mail: chernikova@misis.ru).

According to the Russian references from 17% to 43% animals are infected with herpes virus in livestock farms of the Russian Federation. An important step in control and eradication of bovine rhinotracheitis is a laboratory diagnostics by detection of specific antibodies as well as the viral antigen in sera of vaccinated and infected animals. In the case of remote location of specialized laboratories the storage and delivery of a larger number of liquid samples collected for the analysis can be a problem. Sampling, transportation and analysis of liquid biological samples in the form of dry spots helps to solve these problems by minimal means. The aim of the work was to apply the technology dried biofluid spots using a new format of the porous membrane carrier for sample preparation and analysis of bovine blood serum for the antibodies against IBR virus. **Materials and methods:** native bovine serum samples and dried bovine serum spots applied onto prototype of a card with membrane carrier were used in the studies. Liquid sera and dried samples eluted from the membrane were analyzed using ELISA. **Results:** At titration of 32 serum samples eluted from membrane carriers, the calculated ratio of antigen binding, antibody titers and interpretation of results did not significantly differ from those of the native samples in the similar study. **Conclusion:** complete consistency of ELISA results in liquid and dried serum samples confirms that using dried spots technology enables the on-site biofluid sampling (livestock farms) and delivery of the samples for further investigation to detect antibodies against infectious bovine rhinotracheitis virus in dried serum spots avoiding the cold chain and loss of laboratory diagnostic quality.

KEYWORDS: herpes virus, ELISA, DBS, sample preparation, antigen binding coefficient.

References

1. Ivanov, A.V. Etiopatogenez respiratorno-genitalnyh infektsiy krupnogo rogatogo skota, problem i perspektivy ih diagnostiki, profilaktiki i borby s nimi [Etiopathogenesis of respiratory genital infections in cattle, problems and prospects of their diagnosis, prevention and control] / A.V.Ivanov, H.Z.Gaffarov // Veterinyr. – 2008. – Vol.4. – P.2-7
2. Kuznetsov, D.P. Infektsionnyy rinotracheit krupnogo rogatogo skota: diagnostika na osnove sovremennykh metodov biotekhnologii [Infectious bovine rhinotracheitis: diagnostics based on modern biotechnology methods] / Kuznetsov Dmitry Pavlovich // Doctor. Biol. Sciences thesis abstract: 03.00.02 – Schyolkovo, 2002. – 49 p.
3. Mischenko, V.A. Problema respiratornoy patologii novorozhdennykh telyat [The problem of respiratory disease of newborn calves] / V.A.Mishchenko [et al.] // Veterinariya Kubani. – 2013. – Vol.6. – P.19-20.
4. Rejepova, G.R. Immunodefitsity pri respiratornykh boleznyakh telyat [Immunodeficiencies in calves at respiratory diseases] / G.R.Rejepova[et al.] // Veterinarnaya Patologiya. – 2005. – Vol. 4. – P.122-125.
5. Samsonova, J.V. Vliyeniye antitel k vzbuditelyam zabolevaniy virusnoy etiologii v suhih pyatnakh syvorotki krovi pititsy [Detection of antibodies against viral pathogens in dried avian serum spots] / J.V.Samsonova[et al.] // Pitsevodstvo. – 2014. – Vol.9. – P.38-42.
6. State-of-the-art dried blood spot analysis: an overview of recent advances and future trends / R.J.W.Meesters, G.P.Hooff // Bioanalysis. – 2013. – 5(17). – P. 2187-2208.
7. Demirev, P.A. Dried blood spots: analysis and applications / P.A.Demirev // Anal. Chem., 2013. – 85. – P. 779-789.
8. Samsonova, J.V. Detection of bovine leukemia virus by the polymerase chain reaction in dried blood spots using a membrane system of a new format / J.V.Samsonova [et al.] // Moscow Univ. Chem. Bull., 2014. – 69. – P. 282-285.