

УДК 636.22:619:616-07

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

<sup>1,2</sup>Алмежанова М.Д., <sup>1</sup>Шораева К.А., <sup>1</sup>Мухами Н.Н., <sup>1</sup>Бурашев Е.Д.,

<sup>2</sup>Туменбаева Н.Т., <sup>1</sup>Закарья К.Д., <sup>1</sup>Султанкулова К.Т.

<sup>1</sup>«Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»

Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан,

Гвардейский, e-mail: meirima\_89@mail.ru;

<sup>2</sup>Таразский государственный университет имени М.Х. Дулати, Тараз

Нодулярный дерматит крупного рогатого скота (НД КРС) представляет собой особую экономическую проблему для промышленного животноводства в большинстве стран мира. По данным МЭБ, НД КРС внесен в перечень болезней, методы диагностики и профилактики которых регламентируются стандартами Всемирной организации здравоохранения животных. Диагностика НД с применением молекулярно-генетических методов позволит обнаружить вирус даже тогда, когда его концентрация очень мала, т.е. на самых ранних стадиях заболевания. В настоящее время наиболее известным и достоверным методом диагностики заболеваний крупного рогатого скота является экспериментальный метод молекулярной биологии – полимеразная цепная реакция (ПЦР). Высокая специфичность ПЦР определяется тем, что в искомом материале выявляется единственный специфический фрагмент ДНК лишь для данного возбудителя. Также данный метод характеризуется высокой чувствительностью, которая дает возможность обнаружить индивидуальные фрагменты вирусных нуклеиновых кислот. Одной из наиболее важных задач для ранней диагностики заболевания является разработка диагностических тест-систем на основе метода ПЦР. Разработка ПЦР тест-систем позволит не только обеспечить своевременной диагностикой заболевания, но и продвинет страну-производителя на новый, более высокий технологический уровень. В статье описывается молекулярная диагностика вируса НД КРС при помощи тест-системы для выявления вируса нодулярного дерматита методом ПЦР, при разработке которой были использованы современные методы вирусологии и молекулярной биологии. Диагностическая ПЦР тест-система эффективна для применения в ветеринарии для выявления вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота.

**Ключевые слова:** нодулярный дерматит, крупный рогатый скот, полимеразная цепная реакция, тест-система, диагностика, разработка, молекулярная биология

## MOLECULAR DIAGNOSIS OF CATTLE LUMPY SKIN DISEASE

<sup>1,2</sup>Almezhanova M.D., <sup>1</sup>Shoraeva K.A., <sup>1</sup>Mukhami N.N., <sup>1</sup>Burashev E.D.,

<sup>2</sup>Tumenbaeva N.T., <sup>1</sup>Zakarya K.D., <sup>1</sup>Sultankulova K.T.

<sup>1</sup>«Research Institute for Biological Safety Problems» Committee of Science Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Gvardeyskiy, e-mail: meirima\_89@mail.ru;

<sup>2</sup>Taraz State University named after M.Kh. Dulati, Taraz

Lumpy skin disease (LSD) of cattle is a particular economic problem for livestock production in most countries of the world. According to the OIE, LSD is included in the list of diseases, diagnostic and prophylactic methods, which are regulated by the World Organization of Animal Health standards. LSD diagnosis using molecular and genetic methods will detect the virus even when its concentration is very low, i.e. in the beginning stages of the disease. Currently, the most famous and reliable method for the diagnosing cattle diseases is the experimental method of molecular biology – polymerase chain reaction (PCR). The high specificity of PCR is determined by the fact that a unique, specific DNA fragment is detected in the test material only for a given pathogen. Also, this method is characterized by high sensitivity, which makes it possible to detect individual fragments of viral nucleic acids. One of the most meaningful tasks for the disease early diagnosis is the development of diagnostic PCR test-systems. The development of PCR test-systems will not only provide timely diagnosis of the disease, but also advance the manufacturing country to a new higher technological level. The article describes the molecular diagnostics of LSD virus using a test-system for LSD virus detecting by PCR, in the development of which were used modern methods of virology and molecular biology. The diagnostic PCR test-system is effective for use in veterinary medicine to detect the cattle LSD virus.

**Keywords:** lumpy skin disease, cattle, polymerase chain reaction, test-system, diagnosis, development, molecular biology

Нодулярный дерматит крупного рогатого скота (НД КРС) – высококонтагиозное, инфекционное, сопровождающееся сыпью, иногда смертельное заболевание КРС. Вирус НД относится к группе *Neethling* рода *Capripoxvirus* семейства *Poxviridae*. Вирус НД близкородственен к вирусам оспы овец

и оспы коз. Морфологически вирионы вируса *Neethling* схожи с вирусом оспы овец, имеют округлую форму с двойной оболочкой и плотной сердцевинной. Вирионы размером 320–260 нм [1–4].

Нодулярный дерматит крупного рогатого скота имеет острую, подострую или скры-

тую форму. Тяжесть заболевания модифицируется соответственно от особенностей штамма каприпоксвируса, также от вида и рода восприимчивых животных [5].

НД КРС необходимо дифференцировать от папулезного стоматита КРС (*Parapoxvirus*), параоспы (*Parapoxvirus*), оспы и чумы КРС, кожной формы туберкулеза, гиподерматоза, онхоцеркоза, демодеккоза, крапивницы, дерматофилеза, укусов клещей и насекомых [6].

Нодулярный дерматит является очень серьезной болезнью, требующей особого внимания и контроля со стороны ветеринарных служб. Несет реальную угрозу для отрасли животноводства: уменьшение поголовья, объемов продукции животноводства, эффективности воспроизведения, а также угроза качеству генетических ресурсов; запрет на производство, переработку и экспорт продукции животноводства [7, 8]. В связи с этим возникает задача о необходимости регулярного контроля за ростом эпизоотической ситуации в странах для своевременного предупреждения появляющихся вспышек заболеваний или минимизировании ущерба [9, 10].

Нодулярный дерматит согласно ранее существовавшей классификации инфекционных болезней входил в перечень особо опасных заболеваний крупного рогатого скота. На сегодняшний день болезнь введена в список МЭБ, в связи с этим заболевание КРС данной болезнью подлежит непременно нотификации [11, 12].

Нодулярный дерматит впервые распространился на территории Южной и Восточной Африки в таких странах, как Зимбабве, ЮАР, Мозамбик, Гвинея, Ботсвана и Северной Африки – Оман, Бахрейн, Египет, Кувейт. Далее в 1960-е гг. вспышки нодулярного дерматита были зарегистрированы в Израиле, Палестине и Ливане. Немного спустя болезнь настигла такие страны, как Саудовская Аравия, Турция, Греция, Иордания и Сирия [13, 14].

В 2013–2014 гг. болезнь регистрировалась в Израиле, Ливане, Иордании, Палестине, Ираке и Египте. В этот же период Турция нотифицировала в МЭБ 325 вспышек болезни [7, 9]. Согласно данным государственных служб по ветеринарии в 2014 г. заболевание КРС нодулярным дерматитом было выявлено на территории Турции – более 200 очагов, 32 очагов в Ливане, по 16 в Азербайджане и Ираке, и по 6 очагов в Иране и Египте [11].

Впервые вспышки НД КРС были зарегистрированы в 2016 г. в Атырауской области Республики Казахстан [2].

Распространение вируса НД КРС в стране требует применения высокочувствитель-

ных диагностических экспресс-методов, которые позволят в довольно короткие сроки подтверждать диагноз с целью применения мер для предупреждения и борьбы с данным заболеванием.

Для диагностики разработаны такие методы, как классическая ПЦР [15, 16], а также и количественная ПЦР в режиме реального времени [17, 18], которые по сравнению с другими методами, такими, как электронная микроскопия, вирусовыделение и ИФА, имеют явное преимущество по доступности, чувствительности и специфичности [19].

Систематическая и своевременная диагностика послужит основой для эффективных оздоровительных мероприятий. Тем самым поможет быстрой локализации возникшего эпизоотического очага и предупреждению дальнейшему распространению болезни.

Для лабораторной диагностики отбирают биоптаты кожи, стабилизированную ЭДТА кровь, мазки со слизистых оболочек, сыворотку крови, которую транспортируют с соблюдением «холодной цепочки». Серологические методы исследования (реакция нейтрализации, иммунофлюоресцентный анализ антител, иммунопероксидазный монослойный анализ, ИФА) удлиняет срок диагностики НД, поэтому применяют молекулярно-генетические методы – ПЦР, ПЦР в режиме реального времени, видоспецифическую ПЦР (вирус нодулярного дерматита, вирус оспы овец, вирус оспы коз) [20, 21].

На современном этапе ПЦР-диагностика является самой общераспространенной и динамично прогрессирующей технологией. Интерес специалистов к методу ПЦР, на основе многократного реплицирования специфического участка нуклеотидной последовательности, катализируемое ДНК-полимеразой, возросло, когда практика показала, что разработанные иммуноферментные методы обнаружения специфических антител часто дают ложноположительные результаты. Также методы, основанные на выявлении вирусных белков с помощью специфических антител, не всегда срабатывают из-за высокой антигенной изменчивости вирусов и возможности перекрестных реакций с некоторыми клеточными белками. Кроме того, использование разных видов диагностики на основе иммунной химии – серологического анализа, твердофазного иммуноферментного анализа (ТФИФА), реакцией непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) и т.д. – не всегда приводит к удовлетворительным результатам. Таким образом, необходимость совершенствования диагностических методов приводит к обращению к молекулярно-биоло-

гическим методам, в первую очередь ПЦР. Из года в год на рынке биопрепаратов появляется множество новых диагностических ПЦР тест-систем, которые предназначены как для обнаружения нуклеотидных последовательностей различных микроорганизмов – возбудителей заболеваний, так и для генетического исследования. Шаг за шагом снижается цена ПЦР-анализа, что способствует все более широкому использованию метода в диагностических учреждениях.

Применение метода ПЦР и различных его модификаций для диагностики инфекционных заболеваний обладает множествами преимуществами, такими как прямая детерминация ДНК возбудителя, высокоспецифичность, высокочувствительность, универсальность проведения процедуры, простота и удобство проведения анализа, скорость проведения анализа. Преимущества делают ПЦР незаменимой при диагностике персистирующих вирусных инфекций, для которых характерны низкие концентрации вируса в тканях и биологических жидкостях организма в латентный период заболевания [22].

Тяжелые случаи НД распознаются легко, так как они сопровождаются весьма характерными симптомами. Однако требуется лабораторное подтверждение с помощью ПЦР на начальных стадиях инфекции и при легких формах заболевания, таким образом можно быстро и уверенно определить заболевание.

По данным зарубежных авторов, поврежденные участки кожи, слизистых оболочек или подкожной клетчатки применяются для выделения вируса НД КРС. Вместе с пораженными тканями исследуются носовые истечения, истечения из пораженных глаз и слюна. При лабораторной диагностике НД КРС проводят выделение вируса в культуре клеток. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) применяется для выявления генома вируса в патологическом материале. С использованием данного метода выявляют не только геном возбудителя НД КРС, также дифференцируют его от близкородственных вирусов оспы овец и коз. Метод электронной микроскопии является экспрессным методом обнаружения вируса НД КРС и его распознаванию от других патогенов [23].

*Диагностика лабораторная.* Идентификация агента:

– Образцы для выделения вируса и обнаружения антигена с использованием метода ИФА следует брать в течение первой недели появления симптомов, до того, как появятся нейтрализующие антитела. Образцы для ПЦР можно собирать по истечении этого времени.

– У живых животных образцы биопсии узлов кожи или лимфатических узлов могут использоваться для ПЦР, выделения вирусов и обнаружения антигенов.

– Вирус НД можно выделить из образцов крови (собранных в гепарин или ЭДТА) во время ранней, вирусемической стадии заболевания.

– Образцы пораженных органов, включая ткани, должны быть представлены для гистопатологии.

– Образцы тканей и крови для выделения вируса и обнаружения антигена должны быть охлаждены и отправлены в лабораторию на льду. Если образцы будут отправлены на большие расстояния без охлаждения, следует собрать крупные кусочки ткани, а среда должна содержать 10% глицерина; центральная часть образца может использоваться для выделения вируса [24].

В связи с появлением заболевания в Республике Казахстан возникла острая необходимость иметь высокоэффективные диагностические биопрепараты, которые позволили бы идентифицировать возбудителя нодулярного дерматита КРС. Такого рода случай требует непрерывных поисков штаммов, пригодных для производства диагностических средств нодулярного дерматита КРС.

На сегодняшний день в казахстанском рынке биопрепаратов отсутствуют диагностические наборы и тест-системы для выявления НД КРС. В основном в рамках Государственного заказа закупаются импортными тест-системами для диагностики нодулярного дерматита.

Диагностические тест-системы зарубежных производителей выделяются своей дороговизной, что является проблематичным для животноводческих хозяйств страны. Тем самым стоит задача обеспечить животноводческий сектор Казахстана качественной и эффективной диагностической тест-системой в необходимом объеме и по доступным ценам.

В связи с обостренной ситуацией по нодулярному дерматиту в Казахстане, Республиканское государственное предприятие «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках НТП: «Ветеринарная безопасность территории Республики Казахстан: эпизоотологический мониторинг, испытание, внедрение и коммерциализация средств специфической профилактики и диагностики особо опасных инфекционных заболеваний» (2018–2020 гг.) при финансировании Министерства сельского хозяйства Республики



Казахстан разработала и внедрила в производство «Тест-систему для лабораторной диагностики нодулярного дерматита методом ПЦР», которая является конкурентоспособной зарубежным аналогам по параметрам чувствительности, специфичности, также доступности, что немаловажно для сельского хозяйства Казахстана.

В результате работ [25], проведенных авторами, была подобрана и синтезирована пара олигонуклеотидных праймеров: LSDV-2-f и LSDV-2-r. При постановке ПЦР олигонуклеотидные праймеры LSDV-2-f и LSDV-2-r с рабочей концентрацией 20 пмоль обладали более высокой специфичностью при выявлении вируса нодулярного дерматита КРС. Праймеры были использованы для амплификации фрагмента гена GPCR, кодирующего хемокиновый рецептор генома вируса нодулярного дерматита КРС. Ген GPCR считается одним из основных молекулярных биомаркеров для дифференциальной диагностики каприпоксвирусов: оспы овец, оспы коз и НД КРС. Конструированные праймеры были использованы при создании отечественной ПЦР тест-системы.

Тест-система для диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), применяется для выявления ДНК нодулярного дерматита крупного рогатого скота в пробах патологического материала (фрагменты тканей (пораженная кожа) и органов, цельная кровь, мазки со слизистых ротоглотки).

При диагностике заболевания с использованием тест-системы материалы с подозрением на нодулярный дерматит исследуются поэтапно методами молекулярной биологии – подготовка проб, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофоретический анализ продуктов амплификации ДНК в агарозном геле в строгом соответствии с инструкцией производителя.

В состав тест-системы для диагностики НД КРС методом ПЦР входят три набора, включая контрольные пробы. Тест-система рассчитана на проведение 55 анализов:

- набор № 1 для выделения ДНК;
- набор № 2 для проведения ПЦР-амплификации участка ДНК;
- набор № 3 для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле.

Результат диагностирования заболевания тест-системой методом ПЦР считается положительным, если в продукте реакции обнаруживается фрагмент ДНК вируса НД КРС размером 347 п.о.

В результате проведения производственного испытания тест-системы всего

было исследовано 196 проб вирусного и патологического материала от больных и здоровых животных, доставленные из разных хозяйств. Из них 174 (88,78%) проб показали положительный результат, соответствующий к ПЦР фрагменту в области 347 п.о. Тогда как образцы, выделенные от здоровых животных в количестве 22 (11,22%), оказались отрицательными. Тем самым результат испытаний указывает на высокую эффективность тест-системы.

Согласно рекомендациям МЭБ для диагностики нодулярного дерматита применяются такие виды метода ПЦР, как классическая, так и в режиме реального времени. Стоит отметить, что предложенные и рекомендованные МЭБ методы выявляют также ДНК вирусов оспы овец и оспы коз [8]. По сведениям зарубежных авторов, существуют видоспецифичные методы ПЦР, которые могут дифференцировать вирусы НД, оспы овец и оспы коз [26].

### Заключение

Таким образом, важно отметить, что на сегодняшний день самый востребованный и современный метод ПЦР считается надежным, чувствительным и специфичным для выявления вируса нодулярного дерматита в пробах от крупного рогатого скота. Специфичность метода ПЦР для лабораторной диагностики нодулярного дерматита КРС экспериментально проверена с ДНК представителями каприпоксвирусов (оспы овец и коз). Высокая специфичность данного метода обусловлена тем, что во всех случаях был получен отрицательный результат. Важно отметить, при постановке метода ПЦР были выявлены только ДНК полевых изолятов вируса нодулярного дерматита, тогда как результаты матрицы ДНК вирусов оспы овец, оспы коз и оспы верблюдов были отрицательными. В ходе экспериментов установлено, что метод ПЦР для лабораторной диагностики нодулярного дерматита КРС характеризовался высокой аналитической чувствительностью до 1 пг ДНК вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота [26].

Применение ПЦР-метода в лабораторной диагностике нодулярного дерматита способствует своевременному предупреждению распространению заболевания.

Метод полимеразной цепной реакции для диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота рекомендуется для применения в профильных лабораториях и ветеринарных учреждениях, проводящих диагностические исследования болезней животных.

*Работа выполнена в рамках ПЦФ: «Ветеринарная безопасность территории Республики Казахстан: эпизоотологический мониторинг, испытание, внедрение и коммерциализация средств специфической профилактики и диагностики особо опасных инфекционных заболеваний» (ИРН BR06249226) при финансировании Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан.*

### Список литературы

1. Salib F.A., Osman A.H. Incidence of lumpy skin disease among Egyptian cattle in Giza Governorate. Egypt. Vet World. 2011. no. 4. P. 162–167.
2. Мищенко А.В., Мищенко В.А., Шевкопляс В.Н., Джаилиди Г.А., Дресвянникова С.Г., Черных О.Ю., Кононов А.В., Акбаев Р.М. Экологические особенности нодулярного дерматита крупного рогатого скота // Ветеринария Кубани. 2017. № 5. С. 22.
3. Scientific opinion on lumpy skin disease. EFSA Journal. 2015. Vol. 13 (1). P. 3986.
4. Семакина В.П., Жильцова М.В., Саввин А.В., Акимова Т.П. Распространение заразного узелкового дерматита (Нодулярного дерматита) крупного рогатого скота в мире // Ветеринария сегодня. 2017. № 3 (22). С. 13.
5. Mohammed Body K., Pal Singh M., Hammad Husain, Abdulmajeed Al-Rawahi, Mahir Al-Maawali, Khalisa Al-Lamki, Saif Al-Habsy. Clinico-Histopathological Findings and PCR Based Diagnosis of Lumpy Skin Disease in the Sultanate of Oman Pakistan. Veterinary Journal. 2012. Vol. 32. P. 1–5.
6. Приказ Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 28 декабря 2004 года № 759 «Об утверждении Ветеринарных правил осуществления мероприятий по профилактике и ликвидации инфекционных заболеваний животных». Зарегистрирован Министерством юстиции Республики Казахстан 11 января 2005 года № 3341. Утратил силу приказом Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 17 января 2012 года № 10–1/18 [Электронный ресурс]. URL: <http://adilet.zan.kz/rus/docs/V040003341>. (дата обращения: 21.01.2020).
7. Beard P.M. Lumpy skin disease: a direct threat to Europe. Vet. Ec. 2016. Vol. 28. P. 557–558. DOI: 10.1136/vt.12800.
8. Пестова Я.Е., Аргюхова Е.Е., Кострова Е.Е., Шумилова И.Н., Кононов А.В., Спрыгин А.В. Разработка ПЦР в режиме реального времени для выявления полевых изолятов вируса заразного узелкового дерматита в пробах от крупного рогатого скота // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53 (2). С. 422–429.
9. Рекомендации по борьбе с нодулярным дерматитом крупного рогатого скота в Республике Казахстан // Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан Товарищество с ограниченной ответственностью «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт» (ТОО «КазНИВИ»). Алматы, 2017.
10. Мищенко А.В., Мищенко В.А., Шевкопляс В.Н., Джаилиди Г.А., Дресвянникова С.Г., Черных О.Ю., Кононов А.В., Акбаев Р.М. Проблема нодулярного дерматита крупного рогатого скота // Сборник научных трудов международной учебно-методической и научно-практической конференции (Москва, 13–14 ноября 2015 г.). М.: МВА имени К.И. Скрябина, 2015. С. 215.
11. Кодекс здоровья наземных животных МЭБ. Гл. 1.2. Критерии включения болезней, инфекций и инфестаций в список МЭБ. Париж, 2014. Т. 1. 23 изд. С. 5.
12. Официальный сайт Международного эпизоотического бюро (МЭБ). URL: <http://www.oie.int/eng/info> (дата обращения: 21.01.2020).
13. Косарева О.А., Кукушкина М.С., Константинов А.В., Диев В.И., Старов С.К., Яснева Е.А., Басова Д.К. Нодулярный дерматит (бугорчатка), клинические признаки при экспериментальном заражении крупного рогатого скота // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. Владимир, 2010. Т. 8. С. 73–84.
14. Awad W.S., Ibrahim A.K., Mahran K. et al. Evaluation of different diagnostic methods for diagnosis of lumpy skin diseases in cows. Trop. Anim. Health. Prod. 2010. Vol. 42. P. 777–783.
15. Gerrit J.V., Nel L.H., Crowther J.R. Molecular Diagnostic PCR Handbook. IAEA. The Netherlands. 2005.
16. Tuppurainen E.R., Afonse C.L., Zsak L.Z., Kutish G.F., Rock D.L. The detection of lumpy skin disease virus in samples of experimentally infected cattle using different diagnostic techniques. Onder. J. Vet. Res. 2005. Vol. 72. P. 153–164.
17. Bowden T.R., Babiul S.L., Parkyn G.R., Copps J.S., Boyle D.B. Capripox virus tissue tropism and shedding: A quantitative study in experimentally infected sheep and goats. Virology. 2008. Vol. 371. P. 380–393.
18. Balinsky C.A., Delhon G., Smoliga G., Prarat M., French R.A., Geary S.J., Rock D.L., Rodriguez L.L. Rapid preclinical detection of sheep pox virus by a realtime PCR assay. J. Clin. Microbiol. 2008. Vol. 46. P. 438–442.
19. Awad W.S., Ibrahim A.K., Mahran K., Farrah K.M., Moniem MIA. Evaluation of different diagnostic methods for diagnosis of lumpy skin disease in cows. Trop Anim Health Prod. 2010. Vol. 42. P. 777–783.
20. Коновалов М.Г., Шевченко А.А. Профилактика нодулярного дерматита в Краснодарском крае // Перспективы производства продуктов питания нового поколения: материалы Всероссийской науч.-практич. конф. с международным участием, посвященной памяти Сапрыгина Г.П. (Омск, 13–14 марта 2017 года). Омск: Издательство Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2017. С. 15.
21. Енгашев С., Смирнов Д., Алиев М. Нодулярный дерматит крупного рогатого скота // Ветеринария. 2017. С. 26–27.
22. Султанкулова К.Т., Зайцев В.Л. Вирус оспы верблюдов: биологические свойства, структура генома и диагностика. Алматы, 2017. 154 с.
23. Закутский Н.И., Бальшев В.М., Юрков С.Г., Гузлова А.Г., Луницин А.В. Нодулярный дерматит крупного рогатого скота: характеристика возбудителя болезни, распространение, диагностика и меры борьбы (Обзор литературы) // Ветеринарный врач. 2016. № 4. С. 3–11.
24. OIE (World Organization for Animal Health) Lumpy skin disease, in: Manual diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees). Paris. 2016. Chapter 2.04.13. URL: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.04.13\\_LSD.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.13_LSD.pdf) (дата обращения: 21.01.2020).
25. Almezhanova M.D., Tlepov A.A., Shorayeva K.A., Burashev Ye.D., Mukhami N.N., Sultankulova K.T. Design of primers for diagnosing lumpy skin disease of cattle by PCR. Alfarabi Kazakh National University Eurasian Journal of Ecology. 2019. no. 2 (60). P. 84–91.
26. Туппурайнен Е., Александров Ц., Бельтран Алькрудо Д. Заразный узелковый дерматит // Руководство для ветеринаров, подготовленное: ФАО. 2017. Руководство по животноводству и охране здоровья животных № 20. Рим. Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций (ФАО). 56 с. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.fao.org/3/b-i7330r.pdf> (дата обращения: 21.01.2020).
27. Алмежанова М.Д., Шораева К.А., Шыныбекова Г.О., Червякова О.В., Султанкулова К.Т. Определение специфичности и чувствительности метода ПЦР для лабораторной диагностики нодулярного дерматита КРС // Вестник Государственного университета имени Шакарима города Семей. 2019. № 2 (86). С. 387–391.