

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Гулюкин М.И., Капустина О.В., Ездакова И.Ю., Вальциферова С.В., Степанова Т.В., Аноятбеков М.

ВЫЯВЛЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ КЛАССОВ G И M К ВИРУСУ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В СЫВОРОТКАХ КРОВИ

ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» Минобрнауки России. 109428, г. Москва, Россия

Введение. Лейкоз крупного рогатого скота (КРС) – широко распространённая во всём мире инфекция, возбудитель которой – вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) по структурному строению и функциональным особенностям схож с вирусом Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1 и HTLV-2) и рассматривается как актуальная медико-социальная проблема. Изучение иммунного ответа у экспериментально инфицированных телят на ранней стадии развития болезни, синтеза специфических антител классов G (IgG) и M (IgM), диагностической информативности выявления IgM при лейкозе КРС актуально и определяет цель данного исследования.

Материал и методы. Образцы крови и сыворотки крови КРС: животных, экспериментально инфицированных ВЛКРС, больных лейкозом КРС; контрольные отрицательные; специфические к гетерологичным возбудителям болезней КРС. Непрямой и сэндвич-вариант твердофазного иммуноферментного анализа (ТФ ИФА); коммерческие наборы ТФ ИФА (IDEXX, США; ООО «Хема», ФКП Курская биофабрика фирма «БИОК», Россия) для выявления специфических IgG и IgM к ВЛКРС, в реакции иммунодиффузии в агаровом геле (РИД).

Результаты. Гуморальный иммунный ответ развивается вскоре после инфицирования – к 1–8-й неделе. IgM выявляются начиная с 3-х суток, а IgG – с 7-х суток после заражения. Обнаружено до 97% совпадений положительных результатов в РИД и непрямом варианте ТФ ИФА на основе моноклональных антител к IgM КРС.

Обсуждение. Динамика синтеза антител классов M и G к гликопротеину gp51 ВЛКРС имеет дозозависимый волнообразный характер, согласуется с уровнями повышения/снижения абсолютного и относительного количества лейкоцитов/лимфоцитов крови инфицированных телят.

Выводы. Сывороточные специфические IgM обнаружены начиная с 3-х суток после инфицирования ВЛКРС. Раннее выявление IgM в сыворотке крови КРС может быть использовано как дополнительный тест для выявления больных животных.

Ключевые слова: крупный рогатый скот; лейкоз крупного рогатого скота; вирус лейкоза крупного рогатого скота; специфические антитела классов G и M; моноклональные антитела к IgM ^{крупного рогатого скота}; лимфоцитоз; лимфосаркома

Для цитирования: Гулюкин М. И., Капустина О.В., Ездакова И.Ю., Вальциферова С.В., Степанова Т.В., Аноятбеков М. Выявление специфических антител классов G и M к вирусу лейкоза крупного рогатого скота в сыворотках крови. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(4):173-177. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-4-173-177>

Информация об авторах:

Гулюкин М.И., <https://orcid.org/0000-0002-7489-6175>
 Капустина О.В., <https://orcid.org/0000-0002-7382-8656>
 Ездакова И.Ю., <https://orcid.org/0000-0002-8467-4920>
 Вальциферова С.В., <https://orcid.org/0000-0002-5731-8955>
 Степанова Т.В., <https://orcid.org/0000-0001-9092-8045>
 Аноятбеков М., <https://orcid.org/0000-0002-0180-0574>

Для корреспонденции: Гулюкин Михаил Иванович, д-р вет. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, руководитель научного направления ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, 109428, г. Москва. E-mail: admin@viev.ru

Gulyukin M.I., Kapustina O.V., Ezdakova I.Yu., Valtsiferova S.V., Stepanova T.V., Anoyatbekov M.

DETECTION OF SPECIFIC ANTIBODIES OF CLASSES G AND M TO BOVINE LEUKEMIA VIRUS IN THE BLOOD SERUM

Federal Scientific Centre VIEV, Moscow, 109428, Russian Federation

Introduction. Bovine leukemia is a widespread infection worldwide, the causative agent of which is the bovine leukemia virus (BLV) in structural structure and functional features similar to human T-cell leukemia virus (HTLV-1 and HTLV-2) and it is considered as an actual medical and social problem. The study of the immune response in experimentally infected calves at an early stage of the disease development, synthesis of specific antibodies of classes G and M (IgG and IgM), diagnostic informativeness of detection of IgM in cattle leukemia is relevant and determines the purpose of this study.

Material and methods. Samples of blood and serum of cattle: animals experimentally infected with VLCRS, patients with cattle leukemia; control negative; specific to heterologous pathogens of cattle diseases. Indirect and sandwich variant enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); commercial ELISA kits (IDEXX, USA; Hema LLC, FKP Kursk Biofactory Firm BIOK, Russia) for the detection of specific IgG and IgM for BLV in the agar gel immunodiffusion reaction (RID).

Results. The humoral immune response develops shortly after infection — by 1–8 weeks. IgM are detected starting from the 3rd day, and IgG from the 7th day after infection. Up to 97% of coincidence of positive results in RID and indirect variant of TF ELISA based on monoclonal antibodies to cattle IgM (IgM_{bovine}) were found.

Discussion. The dynamics of the synthesis of antibodies of classes M and G to the glycoprotein gp 51 BLV has a dose-dependent wave-like character, is consistent with the levels of increase / decrease in the absolute and relative number of leukocytes / blood lymphocytes of infected calves.

Findings. Serum specific IgM was detected starting 3 days after infection with BLV. Early detection of IgM in serum of cattle can be used as an additional test for the detection of sick animals.

Keywords: cattle; cattle leukemia; cattle leukemia virus; specific antibodies of classes G and M; monoclonal antibodies to IgM_{bovine}; lymphocytosis; lymphosarcoma.

For citation: Gulyukin M. I., Kapustina O. V., Ezdakova I. Yu., Valtsiferova S. V., Stepanova T. V., Anoyatbekov M. Detection of specific antibodies of classes G and M to bovine leukemia virus in the blood serum. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2019; 64(4): 173-177. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-4-173-177>

For correspondent: Mikhail I. Gulyukin, Dr. Sci., Professor, Honored Scientist, Academician of the Russian Academy of Sciences, Federal Scientific Centre VIEV (FSC VIEV), Moscow, 109428, Russian Federation. E-mail: admin@viev.ru

Information about authors:

Gulyukin M. I., <https://orcid.org/0000-0002-7489-6175>

Kapustina, O. V., <https://orcid.org/0000-0002-7382-8656>

Ezdakova, I. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8467-4920>

Valtsiferova, S. V., <https://orcid.org/0000-0002-5731-8955>

Stepanova T. V., <https://orcid.org/0000-0001-9092-8045>

Anoyatbekov M., <https://orcid.org/0000-0002-0180-0574>

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 14 June 2019

Accepted 10 October 2019

Введение

Среди инфекционных болезней животных лейкоз крупного рогатого скота (КРС) представляет одну из наиболее сложных и до конца не решённых проблем ветеринарной медицины, требующих научно обоснованного практического решения [1, 2]. Лейкозы животных диагностируются практически во всём мире. Вирус лейкоза КРС (ВЛКРС) вызывает пожизненную инфекцию, которая может протекать как в асимптоматической форме, так и в форме персистентного лимфоцитоза и лимфосаркомы, особенно среди животных молочного направления продуктивности. Около 60% инфицированных ВЛКРС животных не имеют клинических признаков, у 30% развивается стойкий лимфоцитоз, а оставшиеся 10% погибают вследствие лимфосаркомы [3, 4]. После опубликования серий работ о близком генетическом и антигенном родстве ВЛКРС с вирусом Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1 и HTLV-2) [5], а также о роли ВЛКРС как потенциального предрасполагающего фактора при раке молочной железы у женщин [6–8] вопросы диагностики, профилактики и искоренения лейкоза КРС приобретают особую актуальность.

Раннее и своевременное выявление инфицированных животных, развивающейся инфекции, в том числе онкологической стадии болезни, – один из ключевых моментов диагностики и профилактики лейкоза среди поголовья КРС [3, 8, 9]. Согласно рекомендациям Международного эпизоотического бюро (МЭБ), методами серодиагностики лейкоза КРС являются реакция иммунодиффузии в агаровом геле (РИД) и метод иммуноферментного анализа (ИФА) [4].

В последнее время исследования механизмов формирования иммунного ответа привели к рассмотрению иммуноглобулинов класса М (IgM) в качестве потенциального диагностического и терапевтического агента [10, 11]. Естественные IgM открывают новую область диагностики и терапии неопластических болезней [12]. Известно, что IgM являются первыми антителами, синтезируемыми в ответ на чужеродный антиген. Эти иммуноглобулины синтезируются двумя субпопуляциями В-клеток: В1 и В2. Мишенями для

ВЛКРС являются CD5⁺ В1-клетки, экспрессирующие IgM, поэтому В1-клетки первично инфицированных животных будут синтезировать специфические IgM в первые сутки после заражения [13, 14]. В этих клетках не происходит переключение изотипа на иммуноглобулины класса G (IgG).

Клинических исследований диагностической информативности выявления IgM при инфекционных болезнях животных, в частности при лейкозе КРС, в научной литературе существенно меньше, чем исследований, касающихся IgG. Этот факт объясняется более ранней разработкой технологии получения моноклональных антител (МКА) к IgG и проблемами, связанными с разработкой высокочувствительных лабораторных технологий выделения и определения IgM.

В связи с вышеизложенным очевидно, что изучение динамики синтеза IgM и выявление их в сыворотке крови КРС, инфицированного ВЛКРС, актуально и представляет большой практический интерес.

Целью данного исследования было изучение динамики синтеза специфических сывороточных IgG и IgM на ранней стадии развития болезни у телят, экспериментально инфицированных ВЛКРС.

Материал и методы

Эксперимент проводили на телятах чёрно-пёстрой голштинизированной породы ($n=11$) в возрасте 5–8 мес. Животные были разделены на 3 группы: интактные животные (контроль; $n=3$) и 2 опытные группы (в каждой по 4 животных), экспериментально инфицированные внутривенно полевым изолятом ВЛКРС: 1-я группа – по 2 см³/голову; 2-я группа – по 5 см³/голову цельной крови коровы-донора, больной лейкозом КРС (серологически, гематологически, ИФА- и ПЦР-положительной).

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755).

В эксперименте использовали образцы сыворотки

крови КРС, полученные от экспериментально инфицированных животных; сыворотки крови КРС, больного лейкозом (гематологически- и ПЦР-положительные); контрольные отрицательные сыворотки крови КРС, специфические к гетерологичным возбудителям болезней КРС (вирусной диареи КРС, инфекционного ринотрахеита КРС, парагриппа-3). Объём каждого образца сыворотки составлял не менее 1,0 мл. Аликвоты всех сывороток (по 0,2 мл) до использования хранили при температуре -20°C .

Антитела к ВЛКРС выявляли в лаборатории лейкологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН с помощью РИД, используя набор ФКП Курская биофабрика фирма «БИОК» (Россия).

Изотип продуцируемых антител к ВЛКРС определяли в непрямом и сэндвич-вариантах твердофазного иммуноферментного анализа (ТФ ИФА) на основе МКА к IgM и IgG. Учёт и интерпретацию результатов реакции осуществляли на фотометре микропланшетного формата Thermo Scientific Multiskan FC при длине волны 450 нм.

Для выявления общего пула IgM в сыворотках крови КРС использовали разработанный сэндвич-вариант ТФ ИФА на основе неконкурирующих МКА к эпитопам IgM – МКА клона C2 и пероксидазного конъюгата МКА клона G9. Сыворотку считали положительной, если её оптическая плотность (ОП_{450}) в 2,1 раза и более превышала таковую отрицательной контрольной сыворотки. Выявляемые значения ОП_{450} прямо пропорциональны концентрации антител в исследуемой пробе.

Для выявления специфических IgG и IgM к ВЛКРС в сыворотках крови КРС использовали коммерческие наборы ТФ ИФА (IDEXX, США; ООО «Хема», Россия), согласно инструкциям производителя.

Статистическая обработка цифровых данных, полученных в результате экспериментальных исследований, выполнена с использованием стандартных программ и включала подсчёт средних арифметических (M), стандартных ошибок (m) и стандартных отклонений (σ). Уровень значимости вариационных рядов оценивали с использованием параметрического t -критерия Стьюдента.

Результаты

Известно, что специфические антитела к поверхностным антигенам (gp51) вырабатываются раньше, чем к внутренним структурным белкам ВЛКРС [15, 16]. В связи с этим была изучена динамика синтеза специфических IgG и IgM к gp51 ВЛКРС на начальной стадии развития первичной инфекции у телят, экспериментально инфицированных ВЛКРС.

На рисунках 1 и 2 показано, что у животных контрольной группы до 65 сут после инокуляции (п/и; срок наблюдения) специфические IgG и IgM к gp51 ВЛКРС не выявлены. У всех инфицированных животных развился специфический гуморальный ответ на ВЛКРС. Результаты изучения динамики продукции специфических антител на начальной стадии развития инфекции показали дозозависимый характер их синтеза.

Также установлен волнообразный (перемежающийся)

характер синтеза IgM (см. рис. 1). Начальный фоновый уровень IgM не превышал 40 международных единиц (ЕУ) ТФ ИФА. Диагностически значимый уровень IgM обнаружен начиная с 3-х суток п/и во 2-й опытной группе. К 5–7-м суткам специфические антитела обнаружены в обеих опытных группах, что соответствует повышению относительного количества В-лимфоцитов фенотипа sIgM^+ и CD5^+ (до 98,7–100% sIgM^+ и 46% CD5^+ ; в контрольной группе – 17,3% sIgM^+ ; 22,1% CD5^+). Кроме того, во 2-й группе животных в период до 7 сут п/и выявлены более высокие относительное количество и процент специфических IgM. Хотя на 7-е сутки отмечено снижение относительного количества IgM во 2-й группе, процент IgM к gp51 ВЛКРС в обеих группах по отношению к общему пулу IgM максимальный: 97/97 и 89/86 в 1-й и 2-й группах, соответственно. К 14-м суткам продукция IgM к gp51 снижается в обеих группах, а к 21-м суткам повышается. В дальнейшем животные оставались IgM-серопозитивными на диагностически детектируемом уровне в течение 65 сут (срок наблюдения), причём уровень IgM к gp51 в 1-й группе незначительно превышал таковой у животных 2-й группы (79/75 – 21 сут; 72/67 – 28 сут; 65/62 – 65 сут).

Как видно из представленных на рис. 2 данных, синтез специфических IgG на начальной стадии развития инфекции также является дозозависимым. IgG к gp51 удалось выявить на диагностически значимом уровне у животных 2-й группы начиная с 7-х суток п/и, что соответствует повышению относительного количества



Рис. 1. Выявление специфических IgM к gp51 ВЛКРС в сыворотке крови экспериментально инфицированных телят.

По оси абсцисс – сроки (сутки) отбора проб сывороток у интактных (контрольная группа) и инфицированных (1-я и 2-я группы) телят. По оси ординат – относительное количество специфических IgM к gp51 ВЛКРС в международных единицах твердофазного иммуноферментного анализа (ЕУ ТФ ИФА).



Рис. 2. Выявление специфических IgG к gp51 ВЛКРС в сыворотке крови экспериментально инфицированных телят. По оси абсцисс – сроки (сутки) отбора проб сывороток у интактных (контрольная группа) и инфицированных (1-я и 2-я группы) телят. По оси ординат – относительное количество специфических антител класса G к gp51 ВЛКРС в международных единицах твердофазного иммуноферментного анализа (ЕУ ТФ ИФА).

В-лимфоцитов (98,7% sIgM⁺, в контрольной группе – 17,3%). Начиная с 14-х суток, п/и специфические IgG выявляли в обеих группах. Однако до 21-х суток п/и их уровень во 2-й группе был выше: 102/65; после 21-х суток – 188/114. Пик накопления IgG приходился на 28 суток п/и с последующим снижением антителогенеза к 65-м суткам (срок наблюдения). В этот период также отмечено незначительное превышение уровня IgG у животных 1-й группы по сравнению с показателем 2-й группы. На 21-е сутки п/и обнаружено повышение относительного количества лимфоцитов от числа лейкоцитов 80,5% (2-я группа), 83,5% (1-я группа) против 62–63% на 14-е сутки п/и. Однако во 2-й группе, абсолютное количество лимфоцитов оставалось на уровне фона (7,1 тыс. кл/мкл), а в 1-й группе увеличилось в 2 раза – 14,5 тыс. кл/мкл. На 28-е сутки п/и относительное количество лимфоцитов сохранялось на уровне 21-х суток (80–84%), тогда как абсолютное количество лимфоцитов увеличилось в 1-й группе в 1,8 раза, а во 2-й – в 2,1 раза и составило 26,4 тыс. кл/мкл. Следует отметить, что с 28-х по 65-е сутки (до конца срока наблюдения) уровень IgG в 1-й группе был выше.

Также при исследовании мазков крови и выделенных лимфоцитов крови от инфицированных телят отмечено изменение морфологии лимфоцитов: появление на 21–28-е сутки п/и аномальных клеток Ридера и теней Боткина–Гумпрехта, количество которых увеличивалось к 65-м суткам (срок наблюдения).

Обсуждение

IgM вырабатываются при первичном инфицировании, в острый период инфекции или при активизации

хронической инфекции, а затем постепенно исчезают [17]. Согласно данным литературы, антитела к ВЛКРС могут быть обнаружены через 3–16 нед после заражения [3, 8, 15, 18, 19].

Однако проведенные нами исследования проб сывороток крови телят, экспериментально инфицированных ВЛКРС, на наличие IgG и IgM показали, что гуморальный иммунный ответ развивается вскоре после заражения (1-я неделя п/и) и является дозозависимым. В начальный период после заражения характер синтеза специфических IgG- и IgM-антител к ВЛКРС отличается. Пик накопления IgM к gp51 начальной стадии развития болезни приходился на 5–7-е сутки п/и, тогда как IgG к gp51 у клинически нормальных экспериментально инфицированных телят на 28-е сутки п/и. Следует отметить обнаружение IgM к gp51 ВЛКРС у клинически нормальных экспериментально инфицированных телят на начальной стадии развития болезни с 3–5-го дня по 8-ю неделю п/и.

Результаты исследования иммунного ответа на заражение телят ВЛКРС показали, что динамика синтеза IgG и IgM к gp51 носит перемежающийся (волнообразный) характер, ассоциирована с уровнями повышения/снижения абсолютного и относительного количества лейкоцитов/лимфоцитов в крови инфицированных. По данным N.A. Gillet и соавт., данный процесс соответствует прерывистому периодическому всплеску репликации вируса в лимфоидных тканях, отличных от периферической крови с клиренсом вновь инфицированных клеток [20].

Максимальная продукция IgM, обнаруженная на 5–7-е сутки п/и, соответствует высокому уровню абсолютного количества лимфоцитов. К этому времени увеличивались интенсивность и плотность экспрессии рецепторов sIgM⁺ и CD5⁺ на В-лимфоцитах, особенно во 2-й группе. Тенденция к повышению/снижению продукции IgG и IgM отмечена в некоторых работах [3, 19] и подтверждается в наших исследованиях. Снижение продукции IgM соответствовало снижению экспрессии sIgM⁺ и CD5⁺ на В-лимфоцитах и изменению морфологии выделенных лимфоцитов крови инфицированных телят. Так, к 65-м суткам п/и, особенно у телят 2-й группы, отмечали снижение экспрессии рецепторов sIgM⁺ и CD5⁺ на В-лимфоцитах, появление В-лимфоцитов с цитоплазматической локализацией IgM, гибель 85% лимфоцитов, появление на 21–28-е сутки п/и аномальных клеток Ридера и теней Боткина–Гумпрехта, что согласуется с данными D. Wu и др. (1996) [13], J. Naessens (1997) [21], A.N. Khvastunova и др. (2015) [22], И.Ю. Ездаковой (2018) [23].

Установлено, что на 28-е сутки п/и (в данном опыте – время выявления специфических антител в РИД) при уровне специфических IgG в сыворотке инфицированных телят >60 ЕУ ИФА выявляется до 97% совпадений положительных результатов в РИД и ИФА.

Выводы

1. Изучение иммунного ответа в ранние сроки после экспериментального заражения телят показало, что к 1–8-й неделям появляются признаки развития инфек-

ции, в том числе антивирусный гуморальный иммунный ответ. Динамика синтеза IgG и IgM к gp51 ВЛКРС носит перемежающийся (волнообразный) характер, согласуется с уровнями повышения/снижения абсолютного и относительного количества лейкоцитов/лимфоцитов в крови инфицированных телят и соответствует прерывистому периодическому всплеску репликации вируса с клиренсом вновь инфицированных клеток.

2. Специфические IgM к ВЛКРС обнаружены в сыворотках крови экспериментально инфицированных ВЛКРС телят начиная с 3-х суток п/и. На 28-е сутки п/и обнаружено до 97% совпадений положительных результатов в РИД и непрямом варианте ТФ ИФА на основе МКА к IgM_{КРС}.

3. Раннее обнаружение специфических IgM в сыворотке крови КРС может быть использовано как дополнительный тест для выявления животных, инфицированных ВЛКРС.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 2, 4-6, 9, 11-15, 18, 20-22 см. REFERENCES)

3. Гулюкин М.И., Валихов А.Ф., Нахмансон В.М., Иванова Л.А., Грек К.П., Лопунов С.В. Особенности инфекционного процесса, индуцированного вирусом лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринарный Консультант*. 2008; (19): 7-9.
7. Климов Е.А., Косовский Г.Ю. К вопросу о возможности заражения человека вирусом лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринарная медицина*. 2012; (2): 9-10.
8. Двоглазов Н. Г., Храмов В.В., Агаркова Т.А., Осипова Н.А. Сравнительный анализ применения ИФА и РИД при диагностике лейкоза крупного рогатого скота. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2015; (1): 89-93.
10. Ездакова И.Ю., Еремина М.А., Попова Е.В. Мониторинг состояния иммунитета у быков-производителей молочных и мясных пород. *Российская сельскохозяйственная наука*. 2016; (1): 42-4.
16. Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Глазко Т.Т., Донник И.М. Клеточные и Надклеточные уровни взаимодействия ретровирусов с хозяином на примере вируса бычьего лейкоза. Сообщение I. Проникновение в клетку и интеграция в геном хозяина. *Сельскохозяйственная биология*. 2018; (53)6: 1093-106. Doi: <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2018.6.1093rus>
17. Герловский Д.О. Прикладные аспекты иммунологии: Курс лекций. Минск; 2016.
19. Жижонкова А.В., Гугушвили Н.Н., Инюкина Т.А., Инюкин А.Ф., Лапшанков С.Г., Лысенко А.А. Состояние гуморального иммунитета при лейкозе. В кн.: «Научное обеспечение агропромышленного комплекса»: Материалы X Всероссийской конференции молодых ученых. Краснодар; 2017: 187-8.
23. Ездакова И.Ю., Капустина О.В. Определение В-клеток в крови крупного рогатого скота методом иммунопероксидазного окрашивания. *Российская сельскохозяйственная наука*. 2018; (3): 40-3.

REFERENCES

1. Bartlett P.C., Sordillo L.M., Byrem T.M., Norby B., Grooms D.L., Swenson C.L., et al. Options for the control of bovine leukemia virus in dairy cattle. *Am. Vet. Med. Assoc.* 2014; 244(8): 914-22. Doi: <https://doi.org/10.2460/javma.244.8.914>
2. Panel E.A. Scientific opinion on enzootic bovine leukosis. *EFSA Journal*. 2015; 13(7): 4188.
3. Gulyukin M.I., Valikhov A.F., Nakhmanson V.M., Ivanova L.A., Grek K.P., Lopunov S.V. Features of the infectious process induced by cattle leukemia virus. *Veterinarnyy Konsultant*. 2008; (19): 7-9. (in Russian)
4. World Animal Health Information Database. OIE. Enzootic bovine leukosis. Available at: <https://www.oie.int/en/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>

5. Aida Y., Murakami H., Takahashi M., Takeshima S.N. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. *Front. Microbiol.* 2013; 4: 328. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00328>
6. Olaya N., Corredor A., Gutierrez M.F. Bovine Leukemia: Zoonosis Associated with Breast Cancer in Humans? *J. Med. Surg. Pathol.* 2016; (1): 2-4.
7. Klimov E.A., Kosovskiy G.Yu. To the question of the possibility of human infection with the cattle leukemia virus. *Veterinarnaya meditsina*. 2012; (2): 9-10. (in Russian)
8. Dvoeglazov N. G., Khramtsov V.V., Agarkova T.A., Osipova N.A. A comparative analysis of the use of ELISA and RID in the diagnosis of cattle leukemia. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki*. 2015; (1): 89-93. (in Russian)
9. Trono K.G., Pérez-Filgueira D.M., Duffy S., Borca M.V., Carrillo C. Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: Comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. *Vet. Microbiol.* 2001; 83(3): 235-48. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00420-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00420-5)
10. Ezdakova I.Yu., Eremina M.A., Popova E.V. Monitoring the state of immunity in bulls producing dairy and meat breeds. *Rossiyskaya sel'skokhozyaystvennaya nauka*. 2016; (1): 42-4. (in Russian)
11. Mason D.Y., Cordell J.L., Tse A.G.D., van Dongen J.J., van Noesel C.J., Micklem K., et al. The IgM-associated protein mb-1 as a marker of normal and neoplastic B cells. *J. Immunol.* 1991; 147(11): 2474-82.
12. Barrett J. Antibody darts on target for acute myelogenous leukemia A. *Ann. Transl. Med.* 2017; 5(4): 80. Doi: <https://doi.org/10.21037/atm.2017.01.54>
13. Wu D., Takahashi K., Murakami K., Tani K., Koguchi A., Asahina M., et al. B-1a, B-1b and conventional B cell lymphoma from enzootic bovine leukosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1996; 55(1-3): 63-72. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(96\)05631-0](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(96)05631-0)
14. Baumgarth N. B1 cell heterogeneity and the regulation of natural and antigen induced IgM production. *Front. Immunol.* 2016; 7: 324. Doi: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00324>
15. Gutiérrez G., Alvarez I., Fondevila N., Politzki R., Lomónaco M., Rodríguez S., et al. Detection of bovine leukemia virus specific antibodies using recombinant p24-ELISA. *Vet. Microbiol.* 2009; 137(3-4): 224-34. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.01.022>
16. Glazko V.I., Kosovskii G.Yu., Glazko T.T., Donnik I.M. Cellular and extracellular levels of retrovirus-host interactions on the example of the bovine leukose virus. I. Cell penetration and integration into the host genome. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. 2018; (53)6: 1093-106. (in Russian) Doi: <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2018.6.1093eng>
17. Gerlovskiy D.O. *Applied Aspects of Immunology: Lecture Course [Prikladnye aspekty immunologii: Kurs lektiy]*. Minsk; 2016. (in Russian)
18. Choi K.Y., Liu R.B., Buehring G.C. Relative sensitivity and specificity of agar gel immunodiffusion, enzyme immunoassay, and immunoblotting for detection of anti-bovine leukemia virus antibodies in cattle. *J. Virol. Methods*. 2002; 104(1): 33-9. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(02\)00040-X](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00040-X)
19. Zhizhonkova A.V., Gugushvili N.N., Inyukina T.A., Inyukin A.F., Lapshankov S.G., Lysenko A.A. The state of humoral immunity in leukemia. In: «Scientific Support of the Agro-Industrial Complex»: Materials of the X All-Russian Conference of Young Scientists [«Nauchnoe obespechenie agropromyshlennogo kompleksa»: Materialy X Vserossiyskoy konferentsii molodykh uchenykh]. Krasnodar; 2017: 187-8. (in Russian)
20. Gillet N.A., Gutiérrez G., Rodríguez S.M., de Brogniez A., Renotte N., Alvarez I., et al. Massive Depletion of Bovine Leukemia Virus Proviral Clones Located in Genomic Transcriptionally Active Sites during Primary Infection. *PLoS Pathog.* 2013; 9(10): e1003687. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003687>
21. Naessens J. Surface Ig on B lymphocytes from cattle and sheep. *Int. Immunol.* 1997; 9(3): 349-54. Doi: <https://doi.org/10.1093/intimm/9.3.349>
22. Khvastunova A.N., Kuznetsova S.A., Al-Radi L.S., Vylegzhanina A.V., Zakirova A.O., Fedyanina O.S., et al. Anti-CD antibody microarray for human leukocyte morphology examination allows analyzing rare cell populations and suggesting preliminary diagnosis in leukemia. *Sci. Rep.* 2015; 5: 12573. Doi: <https://doi.org/10.1038/srep12573>
23. Ezdakova I.Yu., Kapustina O.V. Determination of b cells in the blood of cattle by immunoperoxidase staining. *Rossiyskaya sel'skokhozyaystvennaya nauka*. 2018; (3): 40-3. (in Russian)

Поступила 14.06.19

Принята в печать 10.10.19