

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ

С. И. Логинов, доктор биологических наук, доцент

Новосибирский государственный аграрный
университет, Новосибирск, Россия
E-mail: logsi-nsk2@yandex.ru

Ключевые слова: лейкоз крупного рогатого скота, серологическая диагностика, иммуноферментный анализ, реакция иммунодиффузии

Реферат. *Цель работы – проанализировать эффективность использования иммуноферментного анализа в диагностике лейкоза крупного рогатого скота при проведении оздоровительных мероприятий в неблагополучных по этой болезни животноводческих предприятиях. Представлены показатели инфицированности крупного рогатого скота вирусом лейкоза на 6 фермах сельскохозяйственных предприятий Томской области. Для серологической диагностики использовали реакцию иммунодиффузии и иммуноферментный анализ. Установлено, что при проведении оздоровительных мероприятий в неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота предприятиях использование иммуноферментного анализа для серологической диагностики болезни позволяет выявить большее количество серопозитивных животных по сравнению с низкочувствительной реакцией иммунодиффузии. При снижении инфицированности стада до единичных случаев выявления инфицированных вирусом лейкоза животных на заключительных стадиях оздоровления предприятия увеличивается количество дополнительно выявленных иммуноферментным анализом серопозитивных животных. В завершающий период оздоровления стада повышается количество животных с низким уровнем антител к вирусу лейкоза, недоступным для выявления реакцией иммунодиффузии. Использование дорогостоящего и трудоёмкого в постановке иммуноферментного анализа для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота целесообразно на заключительных стадиях оздоровления предприятия. Это позволяет установить животных с низким уровнем антител к вирусу лейкоза, ускорить получение отрицательного результата серологического исследования всего стада и исключить повторные вспышки инфицирования животных данным вирусом в оздоровленном предприятии.*

ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF THE USE OF ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY FOR THE DIAGNOSIS OF LEUKEMIA IN CATTLE DURING HEALTH-IMPROVING ACTIVITIES

S.I. Loginov Doctor of Biological Sc., Associate Professor

Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Key words: cattle leukemia, serological diagnostics, enzyme-linked immunosorbent assay, immunodiffusion reaction.

Abstract. *The aim of the work is to analyze the efficiency of using enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of cattle leukemia when carrying out health-improving measures in livestock*

enterprises that are unfavorable for this disease. Indicators of infection of cattle with leukemia virus on 6 farms of agricultural enterprises of the Tomsk region are presented. For serological diagnostics, the immunodiffusion reaction and enzyme immunoassay were used. It has been established that while carrying out health-improving measures in enterprises unfavorable for leukemia in cattle, the use of enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of the disease enabled to identify a greater number of seropositive animals in comparison with a low-sensitivity immunodiffusion reaction. With a decrease in the herd infection rate to single cases of detection of animals infected with the leukemia virus at the final stages of rehabilitation of the enterprise, the number of additional seropositive animals detected by enzyme immunoassay increases. In the final period of herd recovery, the number of animals with a low level of antibodies to the leukemia virus, inaccessible to detection by immunodiffusion, increases. The use of an expensive and labor-consuming delivery of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies to the cattle leukemia virus is advisable at the final stages of an enterprise's recovery. This enables to identify animals with a low level of antibodies to the leukemia virus, to speed up the negative result of a serological test of the entire herd and to exclude repeated outbreaks of infection of animals with this virus in a rehabilitated enterprise.

Заболеваемость лейкозом крупного рогатого скота в течение последних десятилетий продолжает удерживать первое место по удельному весу среди инфекционных болезней этого вида животных в Российской Федерации [1–7]. В некоторых регионах страны проводят оздоровительные мероприятия по лейкозу крупного рогатого скота в масштабе всего субъекта Российской Федерации, в других регионах оздоровительная работа сосредоточена на отдельных предприятиях по выращиванию животных [8–10], но в целом оздоровление отечественного животноводства ещё далеко от своего завершения.

Все хронические инфекционные болезни сельскохозяйственных животных, включая лейкоз крупного рогатого скота, характеризуются длительным инкубационным периодом, латентным течением и стертой клинической картиной на первых стадиях заболевания [11–14]. Следовательно, эффективность оздоровительных мероприятий в неблагополучных пунктах напрямую зависит от своевременности проведения, объёмов и качества диагностических исследований на хронические инфекционные болезни.

В ветеринарной лабораторной практике для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота используют два метода – реакцию иммунодиффузии (РИД) и иммуноферментный анализ (ИФА). Эти серологические реакции имеют принципи-

альные различия не только в самой методике постановки и механизмах выявления антител в сыворотке крови, но и в результативности анализа. Реакция иммунодиффузии для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота характеризуется высокой специфичностью, простотой постановки реакции, умеренной стоимостью исследований, но при этом отличается достаточно низкой чувствительностью. Иммуноферментный анализ для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота характеризуется высокой чувствительностью, более трудоёмкой постановкой реакции, высокой стоимостью диагностических наборов и используемого оборудования, но при этом специфичность метода составляет менее 100%. В случае ИФА определенная доля положительных результатов является ложноположительной. Таким образом, каждый из применяемых методов серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота имеет как положительные, так и отрицательные стороны в результативности исследований и в их технологичности, включая стоимость.

Цель работы – проанализировать эффективность использования иммуноферментного анализа в диагностике лейкоза крупного рогатого скота при проведении оздоровительных мероприятий в неблагополучных по этой болезни животноводческих предприятиях.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объект исследований – динамика показателей инфицированности крупного рогатого скота вирусом лейкоза при проведении оздоровительных мероприятий в неблагополучных по этой болезни сельскохозяйственных предприятиях.

Производственные опыты проведены в течение многолетних периодов оздоровления предприятий Томской области от лейкоза крупного рогатого скота. Представлены показатели инфицированности крупного рогатого скота вирусом лейкоза в следующих сельскохозяйственных предприятиях:

1. Кудринская ферма СПК «Нелюбино» Томского района.
2. Дубровская ферма АО «Дубровское» Кожевниковского района.
3. Уртамская ферма СХПК «Весна» Кожевниковского района.
4. Терсалгайская ферма АО «Дубровское» Кожевниковского района.
5. Вороновская ферма ООО «Вороновское» Кожевниковского района.
6. Калтайская ферма АОЗТ «Калтай» Томского района.

В настоящее время представленные предприятия являются благополучными по лейкозу крупного рогатого скота, исключение составляет АОЗТ «Калтай» Томского района, которое ликвидировано по экономическим причинам. На заключительных этапах оздоровления предприятий для серологической диагностики лейкоза у взрослых животных (коров, быков-производителей) одновременно применяли реакцию иммунодиффузии и иммуноферментный анализ. Представленные сведения по инфицированности крупного рогатого скота вирусом лейкоза относятся к промежутку 2000–2006 гг.

Инфицирование коров вирусом лейкоза крупного рогатого скота установлено по результатам серологических исследований сыворотки крови животных в реакции иммунодиффузии и иммуноферментным анализом, выполненными согласно Методическим

указаниям по диагностике лейкоза крупного рогатого скота [15].

Для постановки реакции иммунодиффузии использовали набор для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота производства ФКП «Курская биофабрика – фирма БИОК».

Для постановки иммуноферментного анализа использовали набор для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) методом иммуноферментного анализа (производства НПО НАРВАК), утвержденный Департаментом ветеринарии МСХ РФ в порядке широких производственных испытаний (№ 13–5–02/0351 от 28.02.2002).

При расчёте эпизоотологических показателей по лейкозу крупного рогатого скота использовали методические рекомендации по эпизоотологическому анализу [16]. За показатель инфицированности стада принимали отношение количества серопозитивных в ИФА животных к количеству исследованных, выраженное в процентах.

Статистическую обработку полученных данных с вычислением коэффициента корреляции и оценку его достоверности проводили по общепринятым методикам [17] с использованием программы Microsoft Office Excel 2013.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные сельскохозяйственные предприятия расположены на юге Томской области в Томском и Кожевниковском районах с достаточно развитым для Сибирского региона животноводством. Основным видом деятельности предприятий являлось разведение молочного крупного рогатого скота, производство сырого молока. Во время оздоровительной работы по лейкозу поголовье коров на оздоравливаемых фермах было стабильно и в среднем составляло 270–350 голов. Исключение составляла Дубровская ферма АО «Дубровское», в которой по завершению оздоровления поголовье увеличилось до 650 коров за счёт перегруппировки скота

между отделениями предприятия. Другим исключением являлась ликвидация по экономическим причинам Калтайской фермы АОЗТ «Калтай» к концу оздоровления предприятия. Молочная продуктивность коров, в частности на Дубровской и Кудринской фермах, к концу оздоровления предприятий увеличилась до 5397 и 6653 кг молока на корову с 3472 и 4226 кг соответственно.

В начальном периоде оздоровления представленные сельскохозяйственные предприятия характеризовались неблагоприятной обстановкой по лейкозу крупного рогатого скота. Инфицированность коров варьировала от 30–50% на Кудринской, Дубровской, Терсалгайской и Калтайской фермах до 60–70% на Уртамской и Вороновской. В первые годы оздоровительной работы гематологическими исследованиями выявляли до 8% боль-

ных лейкозом коров в инфицированных вирусом лейкоза гуртах.

В соответствии с п. 5.3 и 5.4 Правил по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота [18], основными направлениями оздоровительной работы являлись:

- 1) выбраковка коров, больных лейкозом, на гематологической стадии болезни;
- 2) разделение стада на гурты из инфицированных вирусом лейкоза коров и свободных от вируса лейкоза коров;
- 3) мероприятия по выращиванию свободного от вируса лейкоза молодняка;
- 4) замена инфицированного поголовья коров на группы первотёлок, свободные от вируса лейкоза.

В табл. 1 представлены результаты серологических исследований взрослого крупного рогатого скота (коров, быков-произво-

Таблица 1

Результаты серологического исследования в РИД и ИФА на лейкоз взрослого поголовья крупного рогатого скота оздоравливаемых ферм

The results of a serological study in RID and ELISA for leukemia of an adult livestock of cattle of healed farms

Год	Месяц *	Кол-во исследованных животных, гол.	Выявлено серопозитивных животных в РИД		Выявлено серопозитивных животных в ИФА		Дополнительно выявлено серопозитивных животных в ИФА	
			гол.	%	гол.	%	гол. **	% ***
Дубровская ферма АО «Дубровское»								
1	1, 4, 10	1244	25	2,0	31	2,5	6	19,4
2	1, 4, 8, 10	2059	9	0,4	17	0,8	8	47,1
3	2, 4, 8, 11	1925	1	0,1	5	0,3	4	80,0
Кудринская ферма СПК «Нелюбино»								
1	1, 4, 10	956	4	0,4	8	0,8	4	50,0
2	2, 4, 11	1008	1	0,1	4	0,4	3	75,0
3	2, 5, 11	997	2	0,2	9	0,9	7	77,8
Уртамская ферма СХПК «Весна»								
1	1, 4, 8, 10	1026	11	1,1	27	2,6	16	59,3
2	2, 4, 8, 11	1341	12	0,9	23	1,7	11	47,8
Терсалгайская ферма АО «Дубровское»								
1	4, 11	401	1	0,2	5	1,2	4	80,0
Вороновская ферма ООО «Вороновское»								
1	8, 10	570	45	7,9	66	11,6	21	31,8
Калтайская ферма АОЗТ «Калтай»								
1	10	326	13	4,0	34	10,4	21	61,8

*1 – янв., 2 – фев. и т.д.

**Количество дополнительно выявленных серопозитивных животных в ИФА представлено разницей между количеством серопозитивных в ИФА и количеством серопозитивных в РИД.

***Процент дополнительно выявленных серопозитивных животных в ИФА представлен как отношение между количеством дополнительно выявленных серопозитивных животных в ИФА и общим количеством серопозитивных животных в ИФА.

* 1 - Jan, 2 - Feb etc.

** The number of additionally detected seropositive animals in ELISA is represented by the difference between the number of seropositive animals in ELISA and the number of seropositive animals in RID.

*** The percentage of additionally detected seropositive animals in ELISA is presented as the ratio between the number of additionally detected seropositive animals in ELISA and the total number of seropositive animals in ELISA.

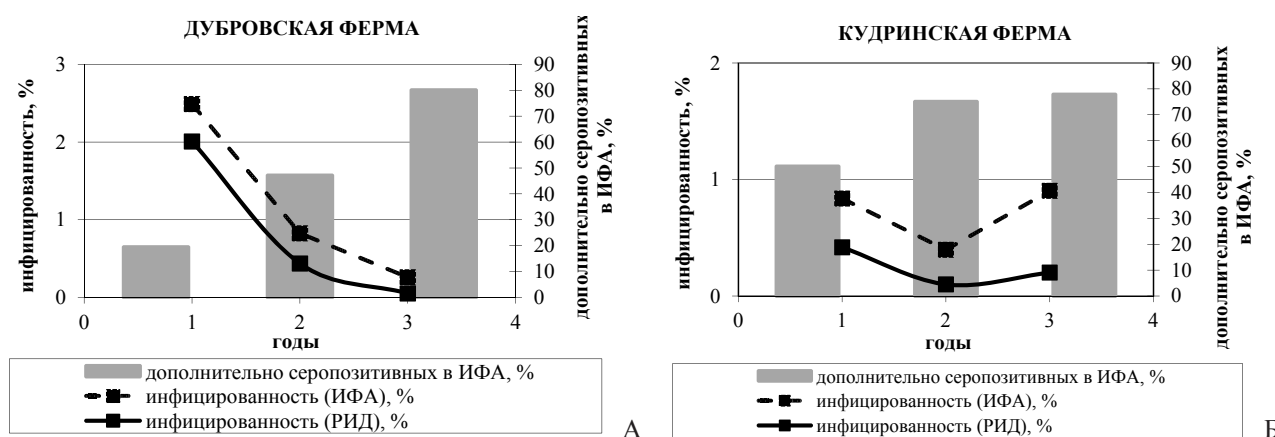
дителей) при одновременном использовании для выявления антител в сыворотке крови животных с помощью реакции иммунодиффузии и иммуноферментного анализа. По Дубровской и Кудринской фермам результаты исследований относятся к завершающему 3-летнему этапу оздоровления. По остальным четырём фермам представлены результаты исследований 1–2-летнего периода либо при завершении оздоровительной работы (Терсалгайская ферма), либо в близком к завершению периоде, когда животных исследовали одновременно в РИД и ИФА. В первых трёх фермах (Дубровской, Кудринской, Уртанской) серологические исследования проводили 3–4 раза в год, в Терсалгайской и Вороновской – 2 раза в год. В Калтайской ферме проведено однократное одновременное серологическое исследование на лейкоз в РИД и ИФА.

Благодаря высокой чувствительности иммуноферментным анализом всегда выявляли больше положительных проб сыворотки крови животных с антителами к вирусу лейкоза. Такая закономерность отмечена по всем фермам за все годы наблюдений. При этом все серопозитивные в ИФА животные были серопозитивными в РИД. Процент дополнительно выявленных ИФА положительных проб отличался в разные годы оздоровления при разной эпизоотической обстановке по лейкозу крупного рогатого скота.

По результатам 3-летнего наблюдения динамики инфицированности скота, исследованного в РИД и ИФА, в Дубровской ферме установлена закономерность увеличения количества дополнительно выявленных в ИФА серопозитивных животных по мере снижения инфицированности скота вирусом лейкоза, т. е. в заключительном периоде оздоровительной работы оставались животные с низкими титрами антител к вирусу лейкоза, которых можно было обнаружить только высокочувствительным методом иммуноферментного анализа.

При 3-летнем периоде наблюдений в Кудринской ферме эта закономерность подтверждена, но её динамика не настолько выразительна. Это связано с тем, что в данный период инфицированность взрослых животных вирусом лейкоза постоянно была менее 1%, и в ИФА стабильно выявляли большую долю животных с низкими титрами антител, устанавливаемыми только ИФА (дополнительно ИФА обнаруживали 50,0–77,8% серопозитивных животных).

На рисунке наглядно видна обратная зависимость рассматриваемых показателей, в особенности по динамике инфицированности в Дубровской ферме. Чем ниже инфицированность стада вирусом лейкоза, тем выше процент выявленных дополнительно в ИФА серопозитивных животных. В Кудринской ферме при инфицированности животных ме-



Динамика выявления в РИД и ИФА серопозитивных к вирусу лейкоза крупного рогатого скота животных в Дубровской (А) и Кудринской (Б) фермах

Dynamics of detection in RID and ELISA of cattle leukemia virus seropositive animals in Dubrovskaya (A) and Kudrinskaya (B) farms

нее 1% замечен постоянно высокий процент дополнительно выявленных ИФА серопозитивных животных.

Тенденция к увеличению количества дополнительно выявляемых серопозитивных животных в ИФА при снижении инфицированности стада по фермам с малым периодом наблюдения также прослеживается. Например, в Вороновской ферме далекой от завершающего этапа оздоровления, при инфицированности животных 11,6%, дополнительно в ИФА выявили 31,8% серопозитивных животных. А в Терсалгайской ферме на заключительном этапе оздоровления при инфицированности животных вирусом лейкоза 1,2% дополнительно в ИФА выявили 80,0% серопозитивных животных (см. табл. 1).

Расчёт корреляционной зависимости показал тенденцию к увеличению количества дополнительно выявленных ИФА серопозитивных животных при снижении инфицированности скота вирусом лейкоза на заключительных этапах оздоровления стада (табл. 2). Представленная зависимость является обратной, при этом сами коэффициенты корреляции недостоверны ($P > 0,05$), так как выборка по годам наблюдений и количеству ферм очень мала. Но наиболее выражено эта тенденция прослеживается в динамике оздоровления по Дубровской ферме. При сравнении показателей с учётом всех ферм за все годы наблюдений тенденция менее выражена, так как условия и сравниваемые периоды оздоровления разных ферм отличались между собой.

Представленные результаты сравнительного анализа выявляемости серопозитивных к вирусу лейкоза животных в РИД и ИФА обусловлены наличием определённого количества животных с низкими титрами антител на завершающих этапах оздоровления стада. Такие серопозитивные животные в РИД показывают отрицательную реакцию. Их можно выявить только с использованием высокочувствительного ИФА. На завершающем этапе оздоровительной работы удельный вес таких животных с низким уровнем антител среди серопозитивных к вирусу лейкоза возрастает.

Наличие животных с низким уровнем антител к вирусу лейкоза, не выявляемых в РИД, представляет особую опасность для оздоровляемого стада. Они являются скрытыми источниками возбудителя болезни. Кроме этого, на завершающем этапе оздоровительной работы они отсрочивают окончательную дату получения отрицательного результата серологического исследования всего поголовья и могут вызвать вспышки инфицированности вирусом лейкоза в стаде.

Практическая значимость исследований заключается в рекомендации использовать на заключительных этапах оздоровления стада от лейкоза крупного рогатого скота иммуноферментный анализ для серологических исследований. Именно на заключительном этапе оздоровительной работы оправданна высокая стоимость наборов ИФА для выявления антител к вирусу лейкоза и трудоёмкость выполнения. При проведении основного комплекса мероприятий по ликвидации лейкоза крупного рогатого скота при высоком и среднем

Таблица 2

Корреляционная зависимость между количеством дополнительно выявленных в ИФА серопозитивных к вирусу лейкоза животных и процентом серопозитивных животных, выявленных в РИД и ИФА
Correlation relationship between the number of animals additionally detected in ELISA and the percentage of seropositive animals detected in RID and ELISA

Наименование ферм (n – количество лет, число вариант)	Коэффициент корреляции между количеством дополнительно выявленных в ИФА серопозитивных к вирусу лейкоза животных и	
	процентом серопозитивных животных в РИД	процентом серопозитивных животных в ИФА
Дубровская ферма (n = 3)	–0,93	–0,95
Кудринская ферма (n = 3)	–0,92	–0,31
По всем фермам (n = 11)	–0,54	–0,38

уровне инфицированности скота достаточно использования реакции иммунодиффузии для серологической диагностики болезни.

ВЫВОДЫ

1. При проведении оздоровительных мероприятий в неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота предприятиях использование иммуноферментного анализа для серологической диагностики болезни позволяет выявить большее количество серопозитивных животных по сравнению с низкочувствительной реакцией иммунодиффузии.

2. При снижении инфицированности стада до единичных случаев выявления инфицированных вирусом лейкоза животных на заключительных стадиях оздоровления предприятия увеличивается количество дополни-

тельно выявленных иммуноферментным анализом серопозитивных животных. В завершающий период оздоровления стада повышается количество животных с низким уровнем антител к вирусу лейкоза, недоступным для выявления реакцией иммунодиффузии.

3. Использование дорогостоящего и трудоёмкого в поставке иммуноферментного анализа для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота целесообразно на заключительных стадиях оздоровления предприятия. Это позволяет установить животных с низким уровнем антител к вирусу лейкоза, ускорить получение отрицательного результата серологического исследования всего стада и исключить повторные вспышки инфицирования животных вирусом лейкоза в оздоровленном предприятии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гулюкин М. И., Симонян Г. А., Ажиркова Н. А. Обзор эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота // Ветеринарная жизнь. – 2015. – № 6. – С. 1–6.
2. Генетический полиморфизм вируса лейкоза КРС на территории Российской Федерации / М. И. Гулюкин, Н. Г. Козырева, Л. А. Иванова [и др.] // Российская сельскохозяйственная наука. – 2016. – № 5. – С. 56–59.
3. Симонян Г. А. Лейкоз крупного рогатого скота. Причины возникновения и пути передачи возбудителя болезни. Часть 2 // Farm Animals. – 2016. – № 1 (11). – С. 26–28.
4. Козырева Н. Г., Гулюкин М. И. Распространение лейкоза крупного рогатого скота и генетические варианты возбудителя на территории животноводческих хозяйств Центрального федерального округа Российской Федерации // Ветеринария Кубани. – 2017. – № 6. – С. 4–9.
5. Мониторинг эпизоотической ситуации и применение молекулярно-генетической диагностики в оздоровительных мероприятиях при лейкозе КРС / Н. Г. Козырева, Л. А. Иванова, Т. В. Степанова, М. И. Гулюкин // Достижения науки и техники АПК. – 2014. – № 1. – С. 47–51.
6. Мустафаев А. Р., Гулюкин М. И., Гайдарбекова Х. М. Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Республике Дагестан // Ветеринария и кормление. – 2017. – № 5. – С. 25–27.
7. Matsumura K., Inoue E., Osawa Y. Molecular epidemiology of bovine leukemia virus associated with enzootic bovine leukosis in Japan // Virus Research. – 2011. – N 1. – P. 343–348.
8. К вопросу вакцинопрофилактики лейкоза крупного рогатого скота / И. М. Донник, А. М. Коваленко, М. И. Гулюкин [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2020. – № 1. – С. 3–6.
9. Валихов А. Ф. Лейкоз крупного рогатого скота: контроль и профилактика болезни // Молочная промышленность. – 2018. – № 9. – С. 74–77.
10. Абакин С. С., Суржикова Е. С., Оробец В. А. Оценка хозяйственно полезных качеств коров молочных пород, инфицированных вирусом лейкоза КРС в хозяйствах Ставропольского края // Вестник АПК Ставрополя. – 2017. – № 1 (25). – С. 63–66.
11. Изучение особенностей клинико-гематологического проявления лейкоза в зависимости от мутационных изменений в генотипе BLV / С. С. Абакин, Т. В. Красовская, Д. Г. Пономаренко [и др.] // Вестник АПК Ставрополя. – 2016. – № 1 (21). – С. 55–60.

12. *Выявление специфических антител классов G и M к вирусу лейкоза крупного рогатого скота в сыворотках крови* / М.И. Гулюкин, О.В. Капустина, И.Ю. Ездакова [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2019. – Т. 64, № 4. – С. 173–177.
13. *Симонян Г.А.* Дифференциальная диагностика различных форм гемобластозов // Ветеринария. – 2013. – № 9. – С. 21–25.
14. *Salvius V.M., Salvius R.M.* Algorithm of laboratory diagnosis of acute leukemia. // The secrets of agriculture. – 2013. – N 204. – P. 4–18.
15. *Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота* / Департамент ветеринарии Минсельхоза России. – М., 2000. – 34 с.
16. *Эпизоотологический анализ при лейкозе крупного рогатого скота: метод. рекомендации* / сост.: С.И. Логинов, В.В. Храпцов, С.Н. Магер [и др.]; Новосиб. гос. аграр. ун-т; Рос. акад. с.-х. наук. Сиб. рег. отд-ние; ИЭВСиДВ. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2013. – 26 с.
17. *Лакин Г.Ф.* Биометрия: учеб. пособие для биологических спец. вузов. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
18. *Правила по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота* // Собрание законодательства Российской Федерации. – 1998. – № 38. – Ст. 4808.

REFERENCES

1. Gulyukin M. I., Simonyan G. A., Azhirkova H. A., *Veterinarnaya zhizn*, 2015, No. 6, pp. 1–6. (In Russ.)
2. Gulyukin M. I., Kozyreva N. G., Ivanova L. A. [i dr.], *Rossiyskaya sel'skokhozyaystvennaya nauka*, 2016, No. 5, pp. 56–59. (In Russ.)
3. Simonyan G. A., *Farm Animals*, 2016, No. 1 (11), pp. 26–28.
4. Kozyreva N. G., Gulyukin M. I., *Veterinariya Kubani*, 2017, No. 6, pp. 4–9. (In Russ.)
5. Kozyreva N. G., Ivanova L. A., Stepanova T. V., Gulyukin M. I., *Dostizhenie nauki i tekhniki APK*, 2014, No. 1, pp. 47–51. (In Russ.)
6. Mustafaev A. R., Gulyukin M. I., Gaydarbekova Kh. M., *Veterinariya i kormlenie*, 2017, No. 5, pp. 25–27. (In Russ.)
7. Matsumura K., Inoue E., Osawa Y., Molecular epidemiology of bovine leukemia virus associated with enzootic bovine leukosis in Japan, *Virus Research*, 2011, No. 1, pp. 343–348.
8. Donnik I. M., Kovalenko A. M., Gulyukin M. I. [i dr.], *Veterinariya Kubani*, 2020, No. 1, pp. 3–6. (In Russ.)
9. Valikhov A. F., *Molochnaya promyshlennost*, 2018, No. 9, pp. 74–77. (In Russ.)
10. Abakin S. S., Surzhikova E. S., Orobets V. A., *Vestnik APK Stavropol'ya*, 2017, No. 1 (25), pp. 63–66. (In Russ.)
11. Abakin S. S., Krasovskaya T. V., Ponomarenko D. G. [i dr.], *Vestnik APK Stavropol'ya*, 2016, No. 1 (21), pp. 55–60. (In Russ.)
12. Gulyukin M. I., Kapustina O. V., Ezdakova I. Yu. [i dr.], *Voprosy virusologii*, 2019, T. 64, No. 4, pp. 173–177. (In Russ.)
13. Simonyan G. A., *Veterinariya*, 2013, No. 9, pp. 21–25. (In Russ.)
14. Salvius V. M., Salvius R. M., Algorithm of laboratory diagnosis of acute leukemia, *The secrets of agriculture*, 2013, No. 204, pp. 4–18.
15. *Metodicheskie ukazaniya po diagnostike leykoza krupnogo rogatogo skota* (Methodical instructions on diagnostics of bovine leukemia), Departament veterinarii Minsel'khoza Rossii, Moscow, 2000, 34 p.
16. Loginov S. I., Khramtsov V. V., Mager S. N. i soavt., *Epizootologicheskiy analiz pri leykoze krupnogo rogatogo skota* (The epizootologic analysis at bovine leukemia), Methodical recommendations,, Novosibirsk: Izd-vo NGAU, 2013, 26 p.
17. Lakin G. F. *Biometriya* (Biometria), Moscow: Vysshaya shkola, 1980, 293 p.
18. *Pravila po profilaktike i bor'be s leykozom krupnogo rogatogo skota* (Rules on preventive maintenance and struggle withbovine leukemia), 1998, No. 38, pp. 4808.