



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-2-149-153>
УДК 619:616.98:578.828.11:637.07:573.6.086.83:57.083.3

Применение иммуноферментного анализа в послеубойной диагностике лейкоза крупного рогатого скота

А. Р. Мустафаев, М. О. Баратов

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» (Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»), ул. Дахадаева, 88, г. Махачкала, 367000, Республика Дагестан, Россия

РЕЗЮМЕ

Послеубойный диагноз на энзоотический лейкоз крупного рогатого скота ставится на основании результатов исследований биологического материала, полученного от вынужденно убитых или павших животных, выполненных патоморфологическим, гистологическим и молекулярно-генетическим методами, обладающими рядом недостатков. В статье описываются результаты послеубойного диагностического исследования на лейкоз крупного рогатого скота с применением иммуноферментного анализа. Для этого с различных частей туш и органов было отобрано 83 пробы смывов, из них 71 проба – от прижизненно не исследованных животных, а 12 проб (контрольные образцы) – от прижизненно серонегативных в реакции иммунодиффузии к вирусу лейкоза особей. Для взятия проб были использованы стерильные скальпели, вата, пробирки с колпачком объемом 5 мл. С помощью тампонов из стерильной ваты из надрезов туш и органов послеубойных животных производили взятие смывов, которые помещали в одноразовые пробирки. В пробирки со смывами в зависимости от размера тампона добавляли от 0,1 до 0,2 мл дистиллированной воды (или изотонического раствора – 0,85%-го раствора NaCl), оставляли на 1,5–2,0 ч при комнатной температуре (22–26 °C) и периодически встряхивали. Полученный однородный субстрат использовали для проведения иммуноферментного анализа в соответствии с инструкцией по применению набора для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота. В результате проведенных лабораторных исследований 71 пробы смывов в 6 (8,5%) из них были выявлены специфические антитела к антигену gp51 вируса лейкоза, при этом при исследовании данных проб в реакции иммунодиффузии антитела выявили только в 3 (4,2%) пробах. Все 12 контрольных образцов от прижизненно серонегативных животных при постановке иммуноферментного анализа дали отрицательный результат. Таким образом, данный серологический метод может применяться в послеубойной диагностике лейкоза крупного рогатого скота наряду с общепринятыми методами.

Ключевые слова: энзоотический лейкоз крупного рогатого скота, послеубойная диагностика, иммуноферментный анализ, смывы с туш и органов, специфические антитела, антиген gp51 вируса лейкоза крупного рогатого скота

Благодарности: Работа выполнена в соответствии с государственным заданием FNMN-2024-0016 «Внедрить эффективную комплексную систему борьбы с наиболее распространенными социально значимыми болезнями сельскохозяйственных животных, туберкулезом, лейкозом и бруцеллезом, в условиях Прикаспийского региона, на основе усовершенствованных способов диагностики» (регистрационный номер 122022400166-0).

Для цитирования: Мустафаев А. Р., Баратов М. О. Применение иммуноферментного анализа в послеубойной диагностике лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (2): 149–153. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-2-149-153>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Мустафаев Аркиф Рамазанович, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», ул. Дахадаева, 88, г. Махачкала, 367000, Республика Дагестан, Россия, e-mail: mustafayev_arkif@mail.ru

Enzyme-linked immunosorbent assay for post-slaughter diagnosis of bovine leukosis

Arkif R. Mustafayev, Magomed O. Baratov

Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 88 Dakhadaeva str., Makhachkala 367000, Republic of Dagestan, Russia

ABSTRACT

Postmortem diagnosis of enzootic bovine leukosis is made on the basis of the results of tests of biological materials from emergently slaughtered or fallen animals using pathomorphological, histological and molecular genetic methods that have some disadvantages. Results of post-slaughter diagnostic tests for bovine leukosis with enzyme-linked immunosorbent assay are described in the paper. For this purpose, 83 swabs were collected from different carcass parts including 71 swabs from carcasses of the animals that were not pre-slaughter tested and 12 samples from the carcasses of the animals that were pre-slaughter tested with immunodiffusion assay and found bovine leukemia virus-seronegative (control samples). Sterile scalpels, cotton wool, 5 mL tubes with caps were used for swab collection. The samples were taken from incisions in carcasses and internal organs of slaughtered animals with sterile cotton-wool swabs and placed in single-use tubes.

© Мустафаев А. Р., Баратов М. О., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

Distilled water (or isotonic solution – 0.85% NaCl) was added to the tubes with samples, 0.1 to 0.2 mL per tube depending on the sample size, and the tubes were left at room temperature (22–26 °C) for 1.5–2.0 hours and regularly shaken. Resulting homogeneous substrate was used for enzyme-linked immunosorbent assay carried out in accordance with the instructions for the test-kit for detection of antibodies against bovine leukemia virus. Specific antibodies to bovine leukemia virus gp51 antigen were detected in 6 (8.5%) out of 71 swabs subjected to the laboratory tests. Therewith, the antibodies were detected only in 3 swabs (4.2%) when the swabs were tested with immunodiffusion assay. All 12 control samples from animals that were pre-slaughter tested and found seronegative were negative when tested with enzyme-linked immunosorbent assay. Therefore, the above-said serological method can be used for post-slaughter diagnosis of bovine leukosis together with conventional methods.

Keywords: enzootic bovine leukosis, post-slaughter diagnosis, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), swabs from carcasses and internal organs, specific antibodies, gp51 antigen of bovine leukemia virus

Acknowledgements: The work was performed under governmental programme FNMN-2024-0016 "Implementation of effective complex system for control of the most common socially-significant livestock diseases, tuberculosis, leukosis and brucellosis, in the Caspian region based on improved diagnostic methods" (registration number 122022400166-0).

For citation: Mustafayev A. R., Baratov M. O. Enzyme-linked immunosorbent assay for post-slaughter diagnosis of bovine leukosis. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (2): 149–153. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-2-149-153>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Arkif R. Mustafayev, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 88 Dakhadaeva str., Makhachkala 367000, Republic of Dagestan, Russia, e-mail: mustafayev_arkif@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота (ЭЛКРС) имеет широкое распространение во многих странах мира, в том числе и в Российской Федерации. Источником возбудителя являются инфицированные вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) животные на всех стадиях болезни [1, 2, 3]. Особенностью заболевания является то, что в организме животного оно протекает в основном в хронической форме, без клинических симптомов и характеризуется безудержным ростом неопластических клеток крови, которые путем малигнизации и пролиферации поражают практически все органы животного [4, 5, 6]. От начала попадания ВЛКРС в организм животного до проявления клинической картины лейкоза проходит несколько стадий:

- 1) инкубационный период (длится от 8 до 20 дней);
- 2) бессимптомное вирусоносительство (серопозитивные животные);
- 3) гематологическая (меняется состав форменных элементов крови);
- 4) клиническая (опухолевая).

На всех стадиях (кроме инкубационного периода) в организме животного вырабатываются антитела к антигену ВЛКРС, что прижизненно диагностируется существующими серологическими методами: реакция иммунодиффузии (РИД), иммуноферментный анализ (ИФА) и др. Помимо серологических, в прижизненной диагностике ЭЛКРС существуют и другие методы: клинический, цитоморфологический, гематологический, биопроба на животных (в основном на овцах) и др. [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13]. Также в условиях лаборатории применяется полимеразная цепная реакция (ПЦР) [14, 15].

Послеубойный диагноз на ЭЛКРС ставится на основании результатов исследований биологического материала, полученного от вынужденно убитых или павших животных, выполненных патоморфологическим,

гистологическим и молекулярно-генетическим (ПЦР) методами. При проведении патоморфологического исследования туш и органов вынужденно убитых или павших животных при наличии патологического процесса выявляют лейкозные (опухолевые) разрастания, увеличение лимфатических узлов, изменения величины внутренних органов и консистенции их ткани. При различных формах вирусного лейкоза крупного рогатого скота наблюдаются свои патологические изменения в органах и различных системах организма. Например, при лимфоидной, недифференцированной и миелоидной формах заболевания лимфатические узлы увеличены, на разрезе они серо-белого цвета, сочные и саловидные, также бывает увеличена в размере селезенка. При миелоидной форме лейкоза пульпа селезенки красно-малинового цвета, ткань органа рыхлой консистенции с кровоизлияниями. При гематосаркоме (в частности, лимфогранулематозе) селезенка бывает увеличена примерно у 50% животных. При любых формах лейкоза крупного рогатого скота отмечают очаговые (диффузные) разрастания серо-розового или серо-белого цвета в органах (почках, печени, скелетной мускулатуре и др.) в случае их поражения. При неполной картине патоморфологических изменений проводятся гистологические исследования, для этого готовят срезы кусочков органов (костного мозга, селезенки, лимфатических узлов и др.) и тканей мышц (соединительной, мышечной и др.) убойного животного по предусмотренной методике. Основными недостатками патоморфологического и гистологического методов является то, что с их помощью невозможно выявить серопозитивных к ВЛКРС животных на ранней стадии, а для проведения гистологических исследований и последующей послеубойной постановки диагноза на лейкоз крупного рогатого скота требуется определенное время (3–4 сут), что может повлиять на качество исследуемого мяса и субпродуктов [16, 17].

Большое значение в послеубойной диагностике имеет молекулярно-генетический метод. ПЦР применяют при неполной патолого-анатомической картине, которая затрудняет постановку диагноза. Данный метод позволяет выявить в тканях органов и мышцах животного ДНК провируса ВЛКРС, который встроен в геном клетки хозяина. В то же время ПЦР имеет ряд недостатков: высокая стоимость исследований, необходимость соблюдать температурные параметры внешней среды, неспецифические реакции и др.

В исследованиях, проведенных ранее, был применен серологический способ послеубойной диагностики лейкоза крупного рогатого скота. С помощью РИД выявлялись антитела к антигену ВЛКРС в мышечно-тканевой жидкости (в плазме и лимфе), полученной из туш и субпродуктов послеубойных животных [18, 19]. Несмотря на существенные преимущества предложенного метода послеубойной диагностики (низкая стоимость набора, легкость в постановке реакции и т. д.), он имеет немало недостатков. К ним относятся: сроки постановки РИД (учет реакции проводится только через 48 ч), низкая чувствительность реакции, вероятность получения сомнительных результатов реакции (возникновение перекрестных реакций) [20].

Исходя из вышеизложенного, была поставлена цель: применение нового метода (способа) послеубойной диагностики лейкоза крупного рогатого скота с использованием иммуноферментного анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основным материалом для проведения исследований на лейкоз крупного рогатого скота послужили пробы с туш и субпродуктов убойных животных (83 шт.), отобранных на Махачкалинском универсальном рынке № 2. На основании ветеринарных справок (из ветеринарного участка) 12 гол. из числа исследованных после убоя животных были прижизненно серонегативными к ВЛКРС, а 71 гол. прижизненно не исследовали на лейкоз крупного рогатого скота с применением РИД, ИФА и т. д.

Для диагностических исследований с различных частей туш и органов отбирались смывы. Для взятия проб были использованы стерильные скальпели, вата, пробирки с колпачком объемом 5 мл. Из стерильной ваты делались маленькие тампоны, с помощью которых из надрезов туш и органов послеубойных животных производили взятие смывов. Затем полученные тампоны со смывами помещали в одноразовые пробирки, в обязательном порядке промаркированные, и готовили сопроводительные документы для транспортировки, где указывали время и место взятия пробы, дату, номер и другую информацию. В исследовательской лаборатории в пробирки со смывами в зависимости от размера тампона добавляли от 0,1 до 0,2 мл дистиллированной воды (или изотонического раствора – 0,85%-го раствора NaCl), оставляли на 1,5–2,0 ч при комнатной температуре (22–26 °С) и периодически встряхивали. Полученный однородный субстрат из пробирки использовали для проведения ИФА в соответствии с инструкцией по применению набора для выявления антител к ВЛКРС (ООО «Ветбиохим», Россия).

Взятие смывов с туш и внутренних органов (субпродуктов) послеубойных животных проводилось согласно приказу Минсельхоза России от 28.04.2022 № 269

«Об утверждении Ветеринарных правил убоя животных и Ветеринарных правил назначения и проведения ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и продуктов убоя (промысла) животных, предназначенных для переработки и (или) реализации»¹, а серологические исследования – согласно «Методическим указаниям по диагностике лейкоза крупного рогатого скота», утвержденным Департаментом ветеринарии МСХ РФ 23.08.2000 № 1372/2130².

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании методом ИФА 71 пробы, полученной от прижизненно не исследованного на лейкоз крупного рогатого скота, в 75 лунок стрипованного планшета (96-луночная микропанель с адсорбированным в лунках специфическим антигеном gp51 ВЛКРС) вносили по 100 мкл буфера для разведения образцов. В 4 из 75 лунок добавили по 4 мкл контрольных сывороток (K⁺ и K⁻) в 2 повторах, а в остальные (71 лунка) – также по 4 мкл испытуемого однородного субстрата (смыв с тканевой жидкостью, диффундированной дистиллированной водой), после чего содержимое лунок тщательно перемешивали, планшет накрывали липкой пленкой и инкубировали в течение 1 ч в термостате при температуре 37 °С. После часа инкубации планшет 3 раза промывали заранее подготовленным рабочим фосфатно-солевым буферным раствором, содержащим твин-20, доверху заполняя лунки вручную (по 300 мкл на лунку). После этого находящуюся жидкость в лунках удаляли, а планшет подсушивали постукиванием по сложенной в несколько слоев фильтровальной бумаге. В дальнейшем в лунки микропанели вносили по 100 мкл раствора конъюгата (моноклональные антитела к IgG крупного рогатого скота, меченные пероксидазой), накрывали липкой пленкой и инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 1 ч. Затем лунки микропанели промывали 3 раза фосфатно-солевым буферным раствором с твин-20 (по 300 мкл на лунку) и подсушивали планшет постукиванием по сложенной фильтровальной бумаге. После этого в лунки вносили по 100 мкл раствора тетраметилбензидаина, содержащего перекись водорода, и выдерживали 10 мин в темном месте при комнатной температуре (22 °С). Останавливали реакцию путем добавления в каждую лунку по 50 мкл стоп-раствора (1 N H₂SO₄). Учет результатов ИФА проводили посредством измерения оптической плотности на спектрофотометре при длине волны 450 нм.

Итоговую оценку результатов анализа производили, определяя среднее значение оптической плотности (ОП) отрицательного и положительного контролей. Относительное содержание антител к ВЛКРС, выраженное в международных ИФА-единицах (ЕУ), в отрицательном контроле (K⁻) и испытуемых образцах вычисляли по формуле:

$$EU = \frac{ОП \text{ (испытуемая проба)}}{ОП \text{ (положительный контроль)}} \times 100.$$

В результате проведенных лабораторных исследований 71 пробы однородного субстрата (смыва) с применением ИФА в 6 (8,5%) из них были выявлены специфические антитела к антигену gp51 ВЛКРС.

¹ <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/404684483>

² <https://docs.cntd.ru/document/1200118749>

Таблица

Послеубойная диагностика лейкоза крупного рогатого скота с применением ИФА и РИД

Table

Post-slaughter diagnosis of bovine leukosis with ELISA and immunodiffusion assay

Диагностика ЭЛКРС с применением серологических методов	Количество проб	Выявлены специфические антитела к антигену ВЛКРС	Не выявлены специфические антитела к антигену ВЛКРС
Прижизненно исследования на лейкоз крупного рогатого скота не проводились			
Исследовано в РИД	71	3 (4,2%)	68 (95,8%)
Исследовано в ИФА		6 (8,5%)	65 (91,5%)
Прижизненно РИД-отрицательные животные			
Исследовано в ИФА после убоя	12	0	12 (100%)

Аналогичным образом анализировали 12 проб с туш и субпродуктов убойных животных, прижизненно серонегативных к ВЛКРС при исследовании в РИД (контрольные образцы). Все пробы в ИФА дали отрицательный результат.

На следующем этапе провели сравнительный анализ исследованных в ИФА образцов (71 проба) методом РИД, в результате чего в 3 (4,2%) пробах (смывах) были выявлены антитела к антигену ВЛКРС. В таблице отражены результаты послеубойной диагностики лейкоза крупного рогатого скота с применением РИД и ИФА, которые демонстрируют, что иммуноферментный анализ обладает большей чувствительностью по сравнению с реакцией иммунодиффузии.

Таким образом, метод ИФА позволяет выявлять специфические антитела, содержащиеся в тканевой жидкости (в плазме и лимфе), к антигену gp51 ВЛКРС, что упрощает и может ускорить послеубойную диагностику лейкоза крупного рогатого скота.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных послеубойных исследований проб (смывов) с туш и субпродуктов животных на выявление антител к антигену ВЛКРС, содержащихся в тканевой жидкости (в плазме и лимфе), лейкоз крупного рогатого скота методом ИФА был диагностирован в 6 (8,5%) случаях из 71, а с помощью РИД – в 3 (4,2%) случаях из 71. Контрольными образцами служили 12 проб смывов, отобранных с туш и органов животных, прижизненно РИД-отрицательных к ВЛКРС, которые в послеубойной диагностике с применением ИФА также дали отрицательный результат.

Таким образом, проведенные послеубойные исследования с применением ИФА показали, что данная тест-система применима в диагностике лейкоза крупного рогатого скота наряду с общепринятыми методами (патолого-анатомическим, гистологическим и др.) [21].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Донник И. М., Гулюкин М. И., Бусол В. А., Коваленко Л. В., Коваленко А. М. Лейкоз крупного рогатого скота – диагностика, оздоровление, антропоонозный потенциал (история вопроса) (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2021; 56 (2): 230–244. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.230rus>
- Донник И., Петропавловский М. Лейкоз крупного рогатого скота: современный подход. *Животноводство России*. 2022; (3): 32–34. <https://doi.org/10.25701/ZZR.2022.03.03.011>
- Гулюкин М. И., Барабанов И. И., Иванова Л. А., Степанова Т. В., Козырева Н. Г., Симонян Г. А. и др. Мониторинг эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в товарных и племенных

хозяйствах Российской Федерации за 2014 и 2015 годы. *Ветеринария и кормление*. 2016; (4): 5–41. <https://elibrary.ru/wfzoz>

- Gillet N., Florin A., Boxus M., Burteau C., Nigro A., Vandermeers F., et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology*. 2007; 4:18. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-4-18>

- Симонян Г. А. Дифференциальная диагностика различных форм гемобластозов. *Ветеринария*. 2013; (9): 21–25. <https://elibrary.ru/rbwctn>

- Донник И. М., Пономарева О. И., Кривонос Р. А., Лысенко А. А., Кощаев А. Г., Черных О. Ю. и др. Ликвидация лейкоза крупного рогатого скота в условиях промышленного производства. *Ветеринария Кубани*. 2021; (2): 3–8. <https://elibrary.ru/bycjpo>

- 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. *Veterinary Microbiology*. 2001; 83 (3): 235–248. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00420-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00420-5)

- Zamora-Avila D. E., Zapata-Benavides P., Cedillo-Rosales S., Avalos-Ramírez R., Zarate-Ramos J. J., Riojas-Valdés V., et al. Serological detection of bovine leukemia virus in slaughterhouse workers from San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. *African Journal of Microbiology Research*. 2013; 7 (24): 3042–3048. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.424>

- Meas S., Seto J., Sugimoto C., Bakhsh M., Riaz M., Sato T., et al. Infection of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in water buffalo and cattle populations in Pakistan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2000; 62 (3): 329–331. <https://doi.org/10.1292/jvms.62.329>

- Макаров В. В., Лозовой Д. А. Эпизоотологические особенности современного лейкоза крупного рогатого скота. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2020; (1): 53–58. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2020/1/53-58>

- 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. *Journal of Virological Methods*. 2002; 104 (1): 33–39. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(02\)00040-X](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00040-X)

- Klintevall K., Näslund K., Svedlund G., Hajdu L., Linde N., Klingeborn B. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine leukaemia virus in milk and serum. *Journal of Virological Methods*. 1991; 33 (3): 319–333. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(91\)90032-U](https://doi.org/10.1016/0166-0934(91)90032-U)

- Байсеитов С. Т., Новикова Н. Н., Власенко В. С., Красиков А. П. Сравнительная оценка диагностической эффективности РИД, ИФА и РНИФ при лейкозе крупного рогатого скота. *Вестник Омского ГАУ*. 2020; (1): 97–102. <https://elibrary.ru/itrusm>

- Yu C., Wang X., Zhou Y., Wang Y., Zhang X., Zheng Y. Genotyping bovine leukemia virus in dairy cattle of Heilongjiang, northeastern China. *BMC Veterinary Research*. 2019; 15 (1):179. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1863-3>

- Nekoei S., Hafshejani T. T., Doosti A., Khamesipour F. Molecular detection of bovine leukemia virus in peripheral blood of Iranian cattle, camel and sheep. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2015; 18 (4): 703–707. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2015-0091>

- Симонян Г. А. Гематосаркомы – опухолевые формы проявления гемобластозов. *Ветеринария*. 2014; (5): 21–27. <https://elibrary.ru/skoksj>

- Симонян Г. А., Хисамутдинов Ф. Ф. Ветеринарная гематология. М.: Колос, 1995. 256 с.

- Мустафаев А. Р. Применение реакции иммунодиффузии как один из способов послеубойной диагностики лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (1): 49–52. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-1-49-52>

- Мустафаев А. Р. Способ послеубойной диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Патент № 2744706 Российская Федерация,

МПК G01N 33/53 (2006.01), G01N 33/531 (2006.01). ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан». № 2020103451. Заявл. 27.01.2020. Оpubл. 15.03.2021. Бюл. № 8.

20. Мустафаев А. Р., Баратов М. О. Сравнительные аспекты диагностики лейкоза крупного рогатого скота при применении реакции иммунодиффузии и иммуноферментного анализа. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 52–56. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-1-52-56>

21. Мустафаев А. Р. Ускоренный способ послеубойной диагностики лейкоза крупного рогатого скота с применением иммуноферментного анализа. Патент № 2803893 Российская Федерация, МПК G01N 33/53 (2006.01), G01N 1/28 (2006.01). ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан». № 2022134850. Заявл. 27.12.2022. Оpubл. 21.09.2023. Бюл. № 27.

REFERENCES

- Donnik I. M., Gulyukin M. I., Busol V. A., Kovalenko L. V., Kovalenko A. M. Bovine leukemia virus infection – diagnostics, eradication, and anthropozoonotic potential (background) (review). *Agricultural Biology*. 2021; 56 (2): 230–244. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.230eng>
- Donnik I., Petropavlovsky M. Cattle leukosis: modern approach. *Animal Husbandry of Russia*. 2022; (3): 32–34. <https://doi.org/10.25701/ZZR.2022.03.03.011> (in Russ.)
- Gulyukin M. I., Barabanov I. I., Ivanova L. A., Stepanova T. V., Kozireva N. G., Simonian G. A., et al. Monitoring of epidemiologic situation with bovine leukemia in production and breeding herds of Russian Federation in 2014–2015. *Veterinaria i kormlenie*. 2016; (4): 5–41. <https://elibrary.ru/wfzoz> (in Russ.)
- Gillet N., Florins A., Boxus M., Burteau C., Nigro A., Vandermeers F., et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology*. 2007; 4:18. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-4-18>
- Simonyan G. A. Differential diagnostics of hemoblastosis forms. *Veterinariya*. 2013; (9): 21–25. <https://elibrary.ru/rbwctn> (in Russ.)
- Donnik I. M., Ponomareva O. I., Krivonos R. A., Lysenko A. A., Koshchayev A. G., Chernykh O. Yu., et al. Elimination of bovine leukemia in industrial production conditions. *Veterinaria Kubani*. 2021; (2): 3–8. <https://elibrary.ru/bycjpo> (in Russ.)
- 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. *Veterinary Microbiology*. 2001; 83 (3): 235–248. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00420-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00420-5)
- Zamora-Avila D. E., Zapata-Benavides P., Cedillo-Rosales S., Avalos-Ramírez R., Zarate-Ramos J. J., Riojas-Valdés V., et al. Serological detection of bovine leukemia virus in slaughterhouse workers from San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. *African Journal of Microbiology Research*. 2013; 7 (24): 3042–3048. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.424>
- Meas S., Seto J., Sugimoto C., Bakhsh M., Riaz M., Sato T., et al. Infection of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in water

buffalo and cattle populations in Pakistan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2000; 62 (3): 329–331. <https://doi.org/10.1292/jvms.62.329>

10. Makarov V. V., Lozovoy D. A. Epizootological features of modern cattle leukemia. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2020; (1): 53–58. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2020/1/53-58> (in Russ.)

11. 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. *Journal of Virological Methods*. 2002; 104 (1): 33–39. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(02\)00040-X](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00040-X)

12. Klintevall K., Näslund K., Svedlund G., Hajdu L., Linde N., Klingeborn B. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine leukaemia virus in milk and serum. *Journal of Virological Methods*. 1991; 33 (3): 319–333. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(91\)90032-U](https://doi.org/10.1016/0166-0934(91)90032-U)

13. Bajseitov S. T., Novikova N. N., Vlasenko V. S., Krasikov A. P. Comparative evaluation of diagnostic efficiency of immunodiffusion reaction (IDR), ELISA and indirect reaction of immunofluorescence (IIR) for cattle leukemia. *Vestnik of Omsk SAU*. 2020; (1): 97–102. <https://elibrary.ru/itrusm> (in Russ.)

14. Yu C., Wang X., Zhou Y., Wang Y., Zhang X., Zheng Y. Genotyping bovine leukemia virus in dairy cattle of Heilongjiang, northeastern China. *BMC Veterinary Research*. 2019; 15 (1):179. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1863-3>

15. Nekoei S., Hafshejani T. T., Doosti A., Khamesipour F. Molecular detection of bovine leukemia virus in peripheral blood of Iranian cattle, camel and sheep. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2015; 18 (4): 703–707. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2015-0091>

16. Simonyan G. A. Hematosarcoma is the neoplastic form of the hemoblastosis. *Veterinariya*. 2014; (5): 21–27. <https://elibrary.ru/skksj> (in Russ.)

17. Simonyan G. A., Khisamutdinov F. F. *Veterinary Hematology*. Moscow: Kolos, 1995. 256 p. (in Russ.)

18. Mustafayev A. R. Immunodiffusion assay as a method of bovine leucosis post-mortem diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (1): 49–52. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-1-49-52>

19. Mustafayev A. R. Method of post-mortem diagnosis of bovine leukemia. Patent No. 2744706 Russian Federation, Int. G01N 33/53 (2006.01), G01N 33/531 (2006.01). Dagestan Agriculture Science Center. No. 2020103451. Date of filing: 27.01.2020. Date of publication: 15.03.2021. Bull. No. 8. (in Russ.)

20. Mustafayev A. R., Baratov M. O. Comparative assessment of immunodiffusion and enzyme-linked immunosorbent assay used for bovine leucosis diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 52–56. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-1-52-56>

21. Mustafayev A. R. Accelerated method for post-mortem diagnosis of bovine leukemia using enzyme immunoassay. Patent No. № 2803893 Russian Federation, Int. G01N 33/53 (2006.01), G01N 1/28 (2006.01). Dagestan Agriculture Science Center. No. 2022134850. Date of filing: 27.12.2022. Date of publication: 21.09.2023. Bull. No. 27. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 27.11.2023

Поступила после рецензирования / Revised 19.02.2024

Принята к публикации / Accepted 15.04.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мустафаев Аркиф Рамазанович, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5142-8360>, e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru

Баратов Магомед Омарович, д-р вет. наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>, e-mail: alama500@rambler.ru

Arkiif R. Mustafayev, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5142-8360>, e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru

Magomed O. Baratov, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Head of Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>, e-mail: alama500@rambler.ru

Вклад авторов: Мустафаев А. Р. – отбор проб биологического материала, проведение серологических исследований, подготовка статьи; Баратов М. О. – сбор литературных данных по тематике исследования, подготовка статьи.

Contribution: Mustafayev A. R. – collection of biological material samples, performing of serological tests, paper text preparation; Baratov M. O. – searching for relevant literature data, paper text preparation.