

УДК 578:579:636.2:619.9

О.Й. ГРИНЕВИЧ, докт. мед. наук, директор
 І.Г. МАРКОВИЧ, канд. мед. наук, заст. директора
 Г.А. ЗАВІРЮХА, канд. сільгосп. наук, пров. наук. співробітник
 І.В. ПОЛІЩУК, мол. наук. співробітник
 І.Д. ЛУКАШ, мол. наук. співробітник
 К.В. АФАНАСЬЄВА, лаборант

З.О. ЯЦУК, лаборант
 К.М. МАКАРУК, фахівець з біотехнологій
 В.В. СЛУПСЬКА, мол. наук. співробітник
 К.В. ЯВОРСЬКА, мол. наук. співробітник
 Л.В. БАЛАБУХА, лікар вет. медицини
 ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій», Київ



ВИКОРИСТАННЯ РІЗНИХ МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ З МЕТОЮ ВИВЧЕННЯ ІНФЕКЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ НА ПРИКЛАДІ ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Проаналізовано динаміку захворюваності ВРХ на лейкоз, проведено оцінку ефективності різних методів дослідження інфекційного процесу.

Ензоотичний лейкоз великої рогатої худоби (лейкоз ВРХ) – злякисне хронічне захворювання вірусної етіології, яке вражає кровотворну систему, супроводжується неконтрольованим розмноженням незрілих клітин крові, дифузною інфільтрацією органів і тканин і формуванням злякисних пухлин у різних частинах тіла [1, 2, 6–8].

Перший випадок лейкомії (лейкозу) в тварин описав у Німеччині в 1858 р. А. Лейзерінг, який виявив у хворого коня значно збільшену селезінку, що містила переважно білі кров'яні тільця. Наприкінці ХІХ ст. подібну хворобу було описано у ВРХ, свиней, собак, котів, овець, кіз, курей. Результатом майже 100-річного дослідження з вивчення етіології лейкозу стало відкриття в 1969 р. групою дослідників на чолі з Міллером вірусу лейкозу великої рогатої худоби (ВЛ ВРХ) [1, 2, 6, 7].

Сьогодні лейкоз ВРХ діагностують практично повсюди – особливо він поширений у США, країнах Центральної Європи, Данії, Швеції, на Близькому Сході, в Африці й Австралії. У країнах колишнього СРСР виникнення лейкозу пов'язують з увезенням з Німеччини в 1940 і 1945–1947 рр. племінної чорно-рабобої худоби.

Збудником лейкозу ВРХ є онкогенний РНК-вірус з родини ретровірусів, який має близьку генетичну й антигенну спорідненість з вірусом Т-клітинного лейкозу людини типів 1 і 2 та Т-клітинного лейкозу мавп. Провідною ознакою всіх представ-

ників цієї родини є існування зворотної транскрипції в життєвому циклі цих вірусів, тобто здатності синтезувати ДНК на матриці РНК завдяки вірусному ферменту ревертазі. До складу підродини *Oncornavirinae* відносять три роди, які диференціюють на підставі морфології віріонів: віруси типів С, В і D. Віруси типу С поділяють на два підродини: віруси типу С ссавців і ВЛ ВРХ [1, 2, 6, 7].

Для лейкозів характерний тривалий латентний період (від трьох тижнів до 2–6 років). Клінічні прояви залежать від особливостей органів, залучених у патологічний процес [1, 6, 7].

Хвороба має три послідовні стадії розвитку: інкубаційну, коли тварина заражена збудником, але антитіла в неї відповідними методами дослідження ще не виявляють; продромальну – з моменту виявлення позитивної на лейкоз серологічної реакції до появи перших клінічних ознак; клінічну – після виявлення гематологічних або клінічних ознак хвороби [7, 8].

Лейкоз тварин становить потенційну небезпеку для генофонду племінної молочної худоби, яка за відсутності планомірної боротьби має тенденцію до подальшого зростання. Економічний збиток від лейкозу чималий. Це втрати через вибракування інфікованих і хворих тварин, утилізації туш з патологічними змінами, здачу на м'ясо молодняку від хворих корів і витрати на проведення оздоровчих заходів.

Слід зазначити, що в Україні зі зменшенням поголів'я худоби та введенням оздоровчих заходів спостерігається зниження показників захворюваності на лейкоз. Якщо в 2006 р. було виявлено 104 неблагополучних щодо цієї хвороби господарства й 48 477 хворих тварин, у 2007 р. – відповідно 134 і 44 001, то вже в 2008 р. – 52 і 22 390; 2009 р. – 14 і 8629, 2010 р. – 9 і 3790 і в 2011 р. лише 14 неблагополучних господарств і 3036 хворих тварин. Причини – зменшення поголів'я худоби, зниження обсягів дослідження, а також використання недостатньо ефективних діагностичних методів.

Мета роботи – вивчення поширеності збудника лейкозу серед ВРХ, виявлення тварин, хворих на лейкоз, порівняння ефективності різних діагностичних методів.

Об'єкт і предмет дослідження – захворювання ВРХ на лейкоз, вірус лейкозу та різні методи його дослідження, зокрема за допомогою РІД, ІФА та ПЛР.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Як матеріал для дослідження використовували кров дорослих тварин і молодняку.

Було застосовано:

– серологічний метод діагностики, заснований на виявленні в сироватці крові тварин за допомогою реакції імунодифузії (РІД) антитіл до одного з двох структурних білків ВЛ ВРХ (gp24 та p51);

– метод імуноферментного аналізу (ІФА), що ґрунтується на взаємодії



антигену (АГ) і антитіла (АТ) з використанням різних варіантів мічення одного з компонентів;

– метод ПЛР, в основі якого – багаторазове вибіркове копіювання певної ділянки ДНК за допомогою ферментів у штучних умовах (*in vitro*). Також вивчали гематологічну картину крові ВРХ.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З метою виявлення поширеності лейкозу науковці ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій» обстежили 461 гол. ВРХ.

Діагностували ВЛ ВРХ декількома методами, зокрема ПЛР, який добре себе зарекомендував завдяки високій чутливості, специфічності та швидкості виконання.

Забір крові робили 7 лютого – 19 квітня 2012 р. відповідно до методик проведення досліджень – у стерильні вакуумні пробірки з 3% розчином ЕДТА з розрахунку 10:1 та без нього (VACUTEST®, Італія). Матеріал dopravляли в лабораторію й досліджували в день відбору, дотримуючись відповідного температурного режиму.

Методом РІД досліджено 460 зразків (99,8%), ІФА – 451 (97,8%) та ПЛР – 458 зразків (99,3%). Частина зразків не вивчали через гемоліз доставленого матеріалу тощо.

Паралельно з проведенням серологічних досліджень і ПЛР було вивчено гематологічну картину крові. Результати гематологічних досліджень оцінювали за так званим лейкозним ключем. У здорових тварин залежно від віку верхня межа кількості лейкоцитів може варіювати від 10 000 до 13 000 в 1 мм³ крові. Якщо кількість лейкоцитів в обстежуваній тварини не перевищує цих показників – результат дослідження на лейкоз вважають негативним, якщо вище цієї кількості, то продовжують дослідження (визначають лейкоцитарну формулу) [4].

На аналізаторі Animal blood counter ABC VET (модель Horiba ABX, Франція) ми проводили дослідження крові за такими показниками: кількість лейкоци-

тів, еритроцитів, гемоглобіну, тромбоцитів, показники гематокриту тощо. Було використано набір тест-систем ABX Vetpack ABC (Франція).

Отримані дані порівнювали із загальноприйнятими показниками, які характеризують стадії лейкозної інфекції:

– під час передлейкозної стадії у заражених ВЛ ВРХ тварин виявляють відносний лейкоцитоз (до 14 тис./мкл, або $14 \times 10^9/\text{л}$) за рахунок лімфоїдних клітин, характерних для підозрілих щодо захворювання за лейкозним ключем. Інші патологічні зміни відсутні;

– початкова стадія характеризується відсутністю клінічних ознак хвороби, але є зміни кількісного й якісного складу крові. Число лейкоцитів може становити від 15 до 40 тис./мкл ($15\text{--}40 \times 10^9/\text{л}$), а серед лімфоцитів переважають юні та середні клітини. Гематологічна картина може багато років залишатися стабільною;

– при розгорнутій стадії лейкозного процесу відзначають лейкемічну картину крові, коли кількість лейкоцитів у 1 мкл крові сягає 40 тис. і більше (понад $40 \times 10^9/\text{л}$), збільшення в лейкоцитарній формулі числа молодих, недиференційованих клітин (частка таких клітин може досягати 5%). Тривалість цієї стадії – від кількох місяців до 1–3 років;

– термінальна стадія лейкозу характеризується подальшим розвитком патологічного процесу і більш виразним проявом клінічних ознак. Кількість лейкоцитів у крові іноді знижується, при цьому переважають їх патологічні форми [4, 7].

Результати аналізу гематологічних показників крові дають підставу припустити, що серед обстеженого поголів'я ВРХ здоровими можна вважати 244 тварини, початкову стадію лейкозу виявлено в 91 тварини, розгорнуту – в 3 (лейкоцитоз дорівнює відповідно 41,8; 48,4 та $51 \times 10^9/\text{л}$). Для більш повної картини потрібне додаткове вивчення лейкоцитарної формули, зокрема встановлення абсолютного числа лімфоцитів в 1 мкл крові, оскільки велика кількість лейкоцитів не завжди свідчить про лей-

коз. Наприклад, у тварин з лейкоцитозом більше $40 \times 10^9/\text{л}$ не було виділено вірус чи підтверджено наявність інфекційного процесу жодним із застосованих методів. При лейкоцитозі від $30\text{--}40 \times 10^9/\text{л}$ в одному зразку було підтверджено наявність ДНК вірусу лейкозу й отримано позитивний результат в ІФА, ще в одному – лише позитивний результат в ІФА.

Загалом гематологічно було досліджено 346 зразків крові ВРХ, лейкоцити в кількості до $4 \times 10^9/\text{л}$ було виявлено в (3,2 ± 0,9)% зразків крові; $4\text{--}9 \times 10^9/\text{л}$ – в (24,6 ± 2,3)%; $10\text{--}14 \times 10^9/\text{л}$ – в (45,1 ± 2,7)%; $15\text{--}30 \times 10^9/\text{л}$ – в (25,1 ± 2,3)%; $30\text{--}40 \times 10^9/\text{л}$ – в (1,2 ± 0,6)%; понад $40 \times 10^9/\text{л}$ – в (0,9 ± 0,5)%. 115 зразків крові були непридатними для дослідження через гемоліз (25,2%).

Слід зазначити, що первинний діагноз «лейкоз» у господарстві ставлять на підставі епізоотологічних, клініко-гематологічних, серологічних і патолого-анатомічних даних з обов'язковим проведенням гістологічного дослідження.

Тварину вважають хворою на лейкоз за наявності одного з таких показників: клінічні прояви хвороби; позитивні результати гематологічних досліджень; виявлення в померлої тварини характерних патолого-анатомічних змін; встановлення позитивного результату гістологічного дослідження патологічного матеріалу в разі загибелі (забою) тварини.

За ступенем важливості ці показники неоднорідні, оскільки клінічні ознаки з'являються переважно в розпал хвороби, а тому в діагностиці захворювання мають лише допоміжне значення.

Як було сказано вище, провідним методом дослідження, який сьогодні використовують установи ветеринарної медицини для діагностики лейкозу, є РІД. Його особливістю є те, що специфічні антитіла виявляються в РІД через 3–16 тижнів після інфікування тварин ВЛ ВРХ, тобто значно раніше, ніж гематологічні зміни, і зберігаються до кінця життя. РІД-позитивних тварин вважають інфікованими ВЛ ВРХ [3, 5, 9–11], а тварин з гематологічними

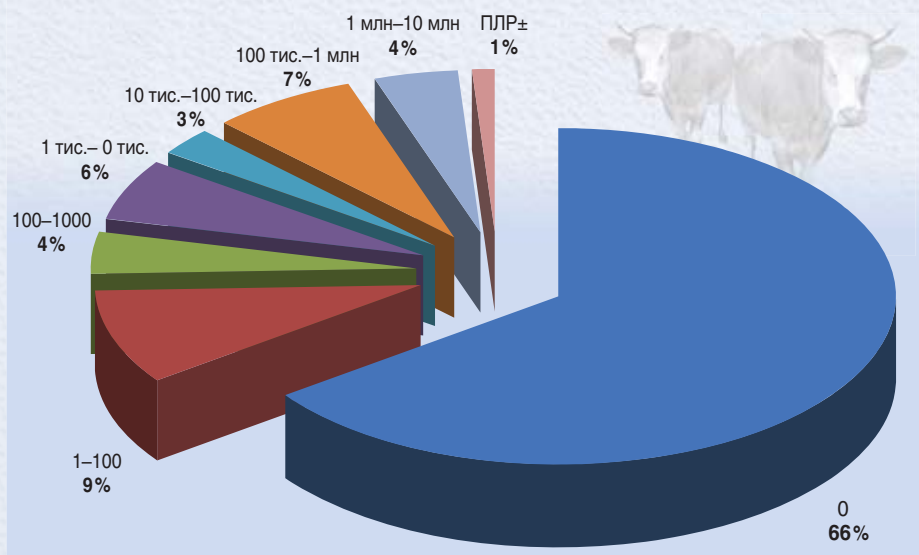
змiнами в картинi кровi або з клiнiчними ознаками – хворими на лейкоз.

Сумарно методом РІД iнфекцiйний процес лейкозу ВРХ було пiдтверджено в $(4,1 \pm 0,9)\%$ досліджених зразкiв, зокрема в розведеннi 1:2 – в 5 випадках, 1:4 – в 1 випадку (26,3 i 5,2% вiдповiдно).

Паралельно з РІД дослідження проводили за методом непрямого iмунферментного аналізу (ІФА), тобто в досліджуваних зразках визначали (на фотометрi Sunrise, Salzburg, Austria) антитiла (АТ) до ВЛ ВРХ. Було використано тест-систему DIA-BLV-Ab («Диапроф-Мед», Україна), призначену для аналізу сироваток кровi й молока. За результатами досліджень 94 зразки мiстили АТ до ВЛ ВРХ, що становить $(20,9 \pm 1,9)\%$.

При масовому скринiнгу в лабораторнiй діагностицi ВЛ ВРХ найширше використовують РІД та ІФА. Однак цi методи дослідження мають низку недолiкiв: для них характернi недостатньо висока специфiчнiсть i чутливiсть; неможливо виявити вiрус лейкозу в молодих тварин, якi народилися вiд серопозитивних корiв, протягом 6–12 мiсяцiв пiсля народження; позитивний результат можливий при накопиченнi в організмі тварин значної кiлькостi вiрусiв лейкозу тощо. В той же час цi РІД-негативнi тварини можуть бути джерелом поширення iнфекцiї [3, 11, 12].

Саме для виявлення iнфiкованих тварин на бiльш раннiх стадiях iнфекцiйного процесу ми використали полiмеразну ланцюгову реакцiю (ПЛР), яка була вiдкрита Карi Муллiсом у 1983 р. i характеризується швидкiстю, високою чутливiстю i специфiчнiстю, що дає змогу виявляти мiкроорганізми, присутнi в дуже низьких концентрацiях (1–10 збудникiв у пробi). При цьому ДНК iнфекцiйних агентiв може бути досить ефективно екстрагована з будь-якої біологічної рiдини чи тканини, а також iз проб об'єктiв навколишнього середовища (грунту, води тощо) i харчових продуктiв. ПЛР дозволяє iдентифікувати вiруснi захворювання, зокрема тi, що обумовлюють лейкоз ВРХ. Використовуючи праймери, специфiчнi для певного вiрусу, ПЛР мо-



Питома вага зразкiв кровi з рiзною кiлькiстю виявлених копiй НК в 1 мл кровi залежно вiд кiлькостi лейкоцитiв

же успішно ампліфікувати ДНК i виявити присутнiсть у ньому вiрусу. Оскільки метод ПЛР дуже чутливий, його можна застосовувати невдовзі пiсля iнфiкування (вiд кiлькох днiв до кiлькох мiсяцiв чи навіть рокiв) до появи фактичних симптомiв. Спецiалiсти ветеринарної i гуманної медицини також можуть використовувати методи кiлькiсної оцiнки ДНК для визначення кiлькостi вiрусу («вiрусного навантаження») в організмі досліджуваного [5, 9, 10, 13].

Принцип методу полягає в ампліфікацiї специфiчної дiлянки ДНК вiрусу лейкозу ВРХ (послiдовностi, iнтегрованiй у ДНК лейкоцитiв ВРХ) за рахунок багаторазового повторення циклiв денатурацiї ДНК в досліджуванiй пробi, вiдпаду специфiчних олігонуклеотидних затравок (праймерiв) i зондiв, що мiгяться флуоресцентними барвниками, i синтезу ланцюгiв комплекменту ДНК за допомогою ферменту Таq-полiмерази.

Тест-систему «ЛЕЙКОЗ», яка була використана для виявлення ВЛ ВРХ методом полiмеразної ланцюгової реакцiї, виготовлено в Росiї (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва). Вона випускається в двох варіантах, зокрема ми використовували варіант FRT – для виявлення ДНК вiрусу лейкозу ВРХ (*bovine leukosis virus*) у біологічному матеріалі методом ПЛР

з гiбридизацiйно-флуоресцентною детекцiєю в режимi «реального часу».

Методом ПЛР було досліджено 458 зразкiв кровi ВРХ (99,3%). ДНК вiрусу лейкозу ВРХ виявлено в 140 тварин ($(30,6 \pm 2,2)\%$ усiх досліджених цим методом зразкiв кровi). Загалом усiма методами лейкозний процес пiдтверджено в 253 тварин. Збiг результатiв щодо пiдтвердження iнфекцiйного процесу лейкозу при використаннi рiзних методiв спостерігали в $(22,5 \pm 2,6)\%$ тварин, зокрема при дослідженнi за допомогою методiв ПЛР та ІФА – у $(17,8 \pm 2,4)\%$ тварин, методiв РІД, ПЛР та ІФА – в $(4,3 \pm 1,3)\%$; РІД та ПЛР – у 0,4% тварин.

Найефективнiшим виявився метод ПЛР – $(54,3 \pm 3,1)\%$ усiх пiдтверджених випадкiв та $(30,6 \pm 2,2)\%$ з числа зразкiв, досліджених за цим методом.

Усiма методами пiдтверджено лейкоз в 11 тварин. Цiкаво, що в деяких зразках кiлькiсть лейкоцитiв перебувала в межах норми для здорових тварин ($10\text{--}14 \times 10^9/\text{л}$ – 4 проби), лейкоцитоз на рiвнi $16,8\text{--}20,8 \times 10^9/\text{л}$ було виявлено в 5 тварин; 2 зразки не досліджувались через гемоліз.

Було зiставлено кiлькiсть нуклеїнових кислот (НК) ВЛ ВРХ з кiлькiстю лейкоцитiв для встановлення можливої залежностi мiж ними.

Слiд зазначити, що НК вiрусу лейкозу виявляли у тварин з рiзною кiлькiстю лейкоцитiв (див. рисунок).



Лейкоцити нижче норми ($\leq 4 \times 10^9/\text{л}$) було зареєстровано в 7 зразках, у 6 з них не було виявлено копій ВЛ ВРХ.

Лейкоцити в нормі ($4-12 \times 10^9/\text{л}$) було встановлено в 170 зразках, (68,2±3,6)% проб не показали наявності копій ВЛ ВРХ, у (22,2±3,4)% тварин виявлено до 100 копій вірусу й у (7,4±2,0)% – понад 1 млн копій. Загалом у (31,8±3,6)% зразків крові при такій кількості лейкоцитів було виявлено НК ВЛ ВРХ.

При лейкоцитозі вище норми ($\geq 12 \times 10^9/\text{л}$) зі 167 зразків крові методом ПЛР не було виділено вірусу лейкозу в (65,9±3,7)% випадків, з кількістю копій 1–100 було виявлено (24,6±3,3)% випадків і понад 1 млн – (12,2±2,5)%. Загалом ДНК провірусу лейкозу ВРХ було виявлено в (34,1±3,7)% зразків крові.

У зразках, які не вивчалися за гематологічними показниками, однак були досліджені за допомогою методу ПЛР, вірус лейкозу було виявлено в 24,6%±4,0 випадків.

Метод ПЛР дозволяє встановлювати початкову стадію інфікування тварин, при вірусному навантаженні менше 100 копій в 1 мл крові, тобто задовго до моменту, коли інфекцію можна діагностувати іншими методами. У (7,4±1,4)% тварин було виявлено ДНК провірусу лейкозу ВРХ при їх кількості до 100 копій; у (6,6±1,2)% – від 100 до 1000 копій. Від 1000 до 10 000 копій вірусу було встановлено в (6,6±1,2)% зразків, від 10 000 до 100 000 – у (2,6±0,7)% і від 100 000 до 1 млн – у (4,4±0,9)%.

Серед поголів'я ВРХ, обстеженого за допомогою методу ПЛР, переважали тварини з кількістю копій НК вірусу лейкозу 100–10 000 в 1 мл крові (67,1±3,9)%.

Отже, в боротьбі з лейкозом ВРХ основне значення має точність і своєчасність діагностики захворювання, оскільки від цього залежить ефективність профілактичних, лікувальних і протиепізоотичних заходів.

ВИСНОВКИ

1. Зміна гематологічних показників крові характерна для багатьох хвороб, тому при встановленні діагнозу на лей-

коз потрібно робити диференційну діагностику з низкою хронічних інфекційних хвороб ВРХ (актиномікозом, туберкульозом, паратуберкульозом, бруцельозом), а також деякими соматичними захворюваннями (гепатит, цироз, амілоїдна дистрофія, мастит, пневмонія, ретикулоперикардит, нефрит), які супроводжуються лейкозоподібними змінами.

2. Під час формування поголів'я у тваринницьких господарствах та селекційної роботи доцільно застосовувати різні методи дослідження ВРХ, зокрема ПЛР як один із високоспецифічних і чутливих методів, який дає змогу виявити тварин із групи ризику щодо лейкозу ВРХ.

3. При проведенні профілактичних, лікувальних і протиепізоотичних заходів, спрямованих на попередження виникнення лейкозу серед ВРХ, доцільно враховувати результати, отримані при використанні різних методів діагностики, зокрема ПЛР та ІФА.

СПИСОК

ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Алтухов М.М.** Короткий довідник ветеринарного лікаря / М.М. Алтухов. – М.: Агропромиздат, 1990. – 574 с.
2. **Бакулов І.А.** Епізоотологія с мікробіологією / І.А. Бакулов. – М.: Агропромиздат, 1987. – 415 с.
3. **Блоцька О.Ф.** Гармонізація до міжнародних рекомендацій методів контролю та оцінки показників якості діагностичних наборів для виявлення антитіл до вірусу лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії / О.Ф. Блоцька // Ел. ресурс: www.nbuv.gov.ua/portal/.../Blotzka.htm.
4. **Джупина С.І.** Епізоотический процесс и его контроль при факторных инфекционных болезнях. Ч. 2. – 2002 / С.І. Джупина // Эл. ресурс: http://med-books.info/veterinariya_727/diagnostika11960.html.
5. **Діагностика та профілактика лейкозу великої рогатої худоби** / [Л.І. Нагаєва, С.В. Аранчій, В.А. Синицин та ін.] // Бібліотека ветеринарної медицини. – К., 2003. – № 9–12. – 64 с.
6. **Довідник лікаря ветеринарної медицини** / П.І. Вербицький, П.П. Достоевський. – К.: Урожай, 2004. – 1280 с.

7. **Инфекционные болезни животных** / [Б.Ф. Бессарабов, А.А. Вашутин, Е.С. Воронин и др.; под ред. А.А. Сидорчука]. – М.: КолосС, 2007. – С. 311–318.
8. **Інструкція з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу** / Затверджено наказом Держ. комітету вет. медицини України від 21 грудня 2007 р. № 21.
9. **Ковалюк Н.В.** Молекулярно-биологические методы для оздоровления стад крупного рогатого скота от лейкоза / Н.В. Ковалюк // Ветеринария. – 2008. – № 2. – С. 22–26.
10. **Новак Н.Б.** Біотехнологічні аспекти генетичного вдосконалення показників молочної продуктивності великої рогатої худоби: дисертація ... канд. сільгосп. наук: 03.00.20 / Н.Б. Новак. – К., 2010. – 179 с.
11. **Порівняльна діагностика лейкозу великої рогатої худоби методами ІФА та РІД** / Б.Т. Стегній, Н.В. Явніков, В.І. Цимбал, Н.Я. Співак // Ветеринарна медицина: міжвідомч. темат. наук. зб. – Х., 2006. – Вип. 86. – С. 340–343.
12. **Терещенко О.В.** Метод імуноферментного аналізу та його використання у практиці / О.В. Терещенко, С.В. Рябінін // Міжвідомч. наук. темат. зб. «Птахівництво», № 63. – Ел. ресурс: www.avian.org.ua.
13. **Явніков Н.В.** Удосконалення діагностики лейкозу великої рогатої худоби: дисертація ... канд. вет. наук: 16.00.03 / Н.В. Явніков. – Харків, 2007. – 135 с.

Одержано 3.09.2012

Использование разных методов диагностики с целью изучения инфекционного процесса на примере лейкоза крупного рогатого скота. А.И. Гриневиц, И.Г. Маркович, А.А. Завирюха, И.В. Полищук, И.Д. Лукаш, К.В. Афанасьева, З.А. Яцук, Е.М. Макарук, В.В. Слупская, Е.В. Яворская, Л.В. Балабуха
Проанализирована динамика заболеваемости крупного рогатого скота лейкозом, проведена оценка эффективности разных методов исследования инфекционного процесса.

The use of different diagnostic methods to study the example of infectious trial cattle leukosis. O. Grynevych, I. Markovych, A. Zaviriuha, I. Polischuk, I. Lykash, K. Afanasieva, Z. Jatsuk, K. Makaruk, V. Slupskaya, K. Yavorskaya, L. Balabuha
The dynamics of the incidence of cattle leukemia, assessed the effectiveness of different methods of investigation of the infection. ○