

Лысенко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор¹
Власенко В.В., доктор биологических наук, профессор²
Красникова Е.Л., научный сотрудник¹
Лемиш А.П., кандидат ветеринарных наук¹
Аксенчик М.А., аспирант¹
Притыченко А.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент¹

¹ РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск

² Винницкий национальный аграрный университет, г. Винница

ВИРУС БЫЧЬЕГО ЛЕЙКОЗА – ВИРУСОПОДОБНАЯ ФОРМА МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА?

Резюме

Из культуральной жидкости клеток почки эмбриона овцы, инфицированных вирусом бычьего лейкоза (FLK-BLV), сывороток крови, гомогенатов лимфатических узлов лейкозных коров и крови человека, больного саркомой, профильтрованных через стерилизующие фильтры (0,22 μ m), удалось выделить идентичные культуры микобактерий туберкулеза с дефектной клеточной стенкой, что позволяет предположить, что то, что считают вирусом бычьего лейкоза, может быть вирусоподобной формой микобактерий туберкулеза.

Summary

From FLK-BLV, the sera, lymph nodes of leukemic cows and blood of the person sick with sarcoma filtered through the sterilizing filters (0.22 μ m) it was succeeded isolated the identical cultures of cell wall deficient mycobacteria that allows to assume that what is considered a bovine leukemia virus may be virus-like form of mycobacteria tuberculosis.

Поступила в редакцию 19.12.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

В XX веке из опухолей и крови людей, больных лейкозом, были выделены частично кислотоустойчивые (КУ) культуры – предположительно микобактерии туберкулеза (МБТ) с дефектной клеточной стенкой (cell wall deficient – CWD) [1–6]. Исследования последних десятилетий подтверждают возможную связь туберкулезной инфекции и онкогенеза. В опухолях обнаружены CWD (L-) формы МБТ и их ДНК, в том числе интегрированная в геном хозяина [7–15]. Однако латентная туберкулезная инфекция и развитие опухоли могут протекать одновременно, поэтому изучение опухолевых клеток, культивируемых *in vitro*, может объективнее прояснить связь онкогенеза с туберкулезной инфекцией [16, 17]. При исследовании культуральной жидкости клеток почки эмбриона овцы, инфици-

рованных вирусом бычьего лейкоза (FLK-BLV), применяющейся как диагностикум для РИД (Аг FLK-BLV), были обнаружены типичные микобактерии и выделены CWD МБТ. Изоляты вызывали у морских свинок образование антител, реагировавших с Аг FLK-BLV. Такие же антитела появлялись у свинок и после введения гомогенатов органов животных, зараженных изолятами CWD МБТ из Аг FLK-BLV. Эти результаты позволили предположить, что то, что считается вирусом бычьего лейкоза (BLV), может быть вирусоподобной формой МБТ [17], способной культивироваться на культурах клеток и реверсировать в бактериальные формы.

Цель работы – обнаружение и изучение вирусоподобных форм МБТ в FLK-BLV, в крови и в лимфатических узлах коров, инфицированных BLV.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали:

- антиген для диагностики бычьего лейкоза в реакции иммунодиффузии (РИД), серия НС (Аг FLK-BLV) ТМ РБ, 2004 г.);
- 6 сывороток крови коров (РИД+, ИФА+), инфицированных вирусом бычьего лейкоза (BLV) (консервированы азидом натрия и хранившиеся при -20°C), в том числе: коровы-донора положительной контрольной сыворотки для РИД (ПКС BLV+), коров № 1, 7, 9, 13, телок № 52, 74;
- предлопаточные лимфатические узлы 2 коров К1, К2 (BLV+, РИД+, ИФА+);
- CWD МБТ «D» – изолят из крови человека, больного саркомой.

Исследование Аг FLK-BLV. 2 мл лиофилизированного АгFLK-BLV серии НС растворили в 5 мл стимулятора роста MucCel DW с 0,15 % хлоргексидина [17–19] и профильтровали через фильтр Millex[®] GP 0,22 μm . 1,5 мл фильтрата прогрели 10 мин при 99°C . Фильтрат Аг FLK-BLV с. НС и прогретый фильтрат инкубировали 24 ч при 37°C и высевали (по 700 мкл) на чашки Петри с питательной средой MucCel DW [17–19].

Посев сывороток крови коров BLV+. По 1 мл сывороток смешивали с 3 мл стимулятора роста и фильтровали через фильтры Millex[®] GP 0,22 мкм. Фильтраты инкубировали 24 ч при 37°C и сеяли (по 0,3 мл) на пробирки со средой MucCel DW.

Посев проб лимфатических узлов коров BLV+. Лимфатические узлы гомогенизировали, центрифугировали при 500 g. Надосадочную жидкость центрифугировали при 3000 g 20 мин. Осадок суспендировали в 6%-ной щавелевой кислоте и центрифугировали 15 мин при 3000 g, надосадочную жидкость удаляли, осадок суспендировали в стимуляторе роста MucCel DW, инкубировали при 37°C 24 ч и высевали на пробирки со средой MucCel DW.

Инкубацию посевов во всех случаях вели при 37°C .

Окраска мазков. Мазки окрашивали по Kinyoun и дифференцирующим иммунопероксидазным (ДИП) методом, обес-

печивающим окраску типичных КУ микобактерий в красный, неокислостойчивых (НКУ) CWD МБТ – в коричневый (с оттенками), немикобактериальной микрофлоры – в синий цвет [20].

Микроскопию проводили на микроскопе Olympus B51X.

В работе использовали кроличьи **антисыворотки** к: CWD-изолятам «D» из крови человека, больного саркомой, из Аг FLK-BLV с. 30 (IsAGVL 30) [17] и «Brain 2» (Br 2) из мозга козы с губкообразными изменениями [19]. Антисыворотки были тестированы с использованием набора Id-dex M. bovis АВ на наличие антител к антигенам МБТ MPB 70 и MPB 83.

Для приготовления **антигенов-соникатов** бактериальную массу изолятов отмывали 0,5%-ным фенолом и дезинтегрировали на Bandelin Sonopuls 2400.

Антигенный состав изучали в реакции иммунодиффузии (РИД) и в перекрестном иммуноэлектрофорезе с промежуточным гелем (ПИЭФ ПГ) (А.П. Лысенко, 1994).

Для электрофореза в 12 % ПААГ-ДСН (Laemmli, 1970) и **иммуноблоттинга** соникаты CWD МБТ прогревали 5 мин при 99°C в 2х буфере для нанесения. Для иммуноблоттинга использовали сыворотку крови BLV+ коровы (1:20), адсорбированную смесью стафилококков, стрептококков, кишечной палочки и пастерелл, конъюгат анти-IgG крупного рогатого скота «Sigma» и субстратную смесь ДАБ.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Изоляты (0,2–0,5 мг/мл) прогревали 5 мин (95°C) в лизирующем буфере. ДНК выделяли на колонках с сорбентом (ИБОХ НАН Беларуси). Амплификацию проводили на C1000[™] ThermoCycler (BioRad) с праймерами 16S RNA Mycobacteria, MPB 70, MPB 64 («Праймтех»). Электрофорез амплификатов проводили в 2%-ном агарозе, результаты учитывали на Molecular Imager GelDoc[™] XR+ (BioRad).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В посевах фильтрата и гретого фильтрата Аг FLK-BLV с. НС через 1–2 суток

стали заметны мелкие стекловидные колонии. Стимулятором роста с поверхности среды были сделаны смывы, которые были пересеяны (по 300 мкл) на пробирки со средой MucCel DW. Через 1–2 суток на среде стали заметны стекловидные коло-

нии (рисунок 1А), которые при пересеве давали рост крупных колоний (рисунок 1С). Рост часто активизировался и в пробирках, из которых делали пересев, хорошо видимые колонии вырастали по ходу петли (рисунок 1В).

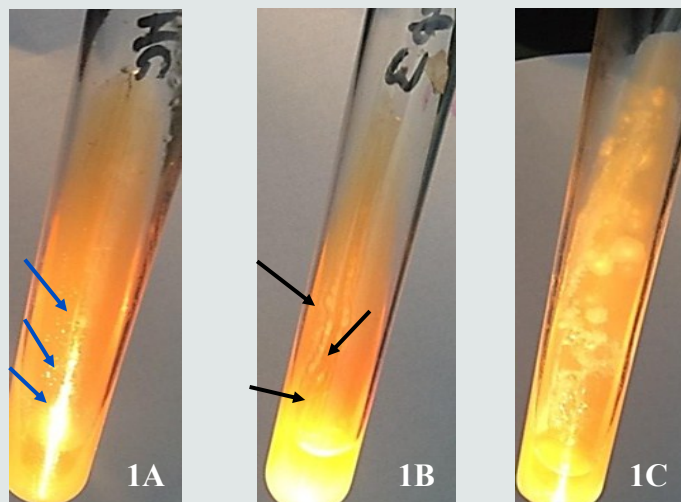


Рисунок 1. 1А – стекловидные колонии в посеве фильтрата Аг FLK-BLV с. НС; 1В – рост хорошо заметных колоний по ходу петли после пересева фильтрата Аг FLK-BLV с. НС, прогретого при 99 °С; 1С – рост крупных колоний в III пересеве фильтрата Аг FLK-BLV с. НС, прогретого при 99 °С

В первичном росте стекловидных колоний (рисунок 1А) часто встречались не-кислотоустойчивые (НКУ) протопласты, из которых прорастали нитевидные формы

(рисунки 2А, 2В, 2С), в некоторых из них были заметны прозрачные гранулы (рисунок 2D).

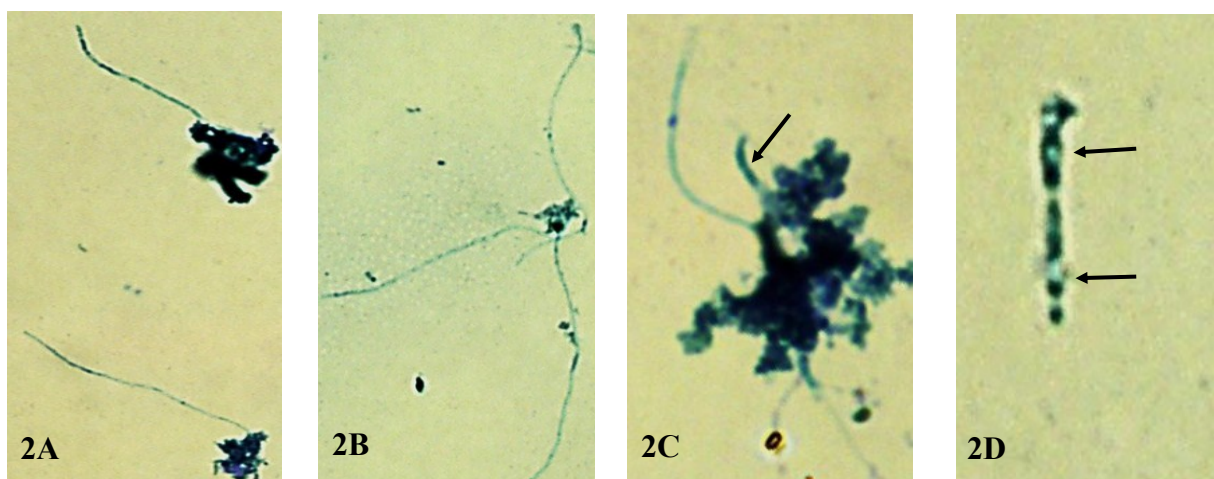


Рисунок 2. – Первичный рост в посевах фильтрата Аг FLK-BLV с. НС. 2А – фильтрат и 2В – фильтрат, прогретый при 99 °С, прорастание нитевидных форм из протопластов; 2С – фильтрат, прорастание нитевидных форм из протопластов (стрелка – формирование палочковидной формы); 2D – фильтрат, прогретый при 99 °С, увеличенный фрагмент нитевидной формы, содержащий гранулы (стрелки), Kinyoun, 10x100

Нитевидные формы, исчезающие при последующих пересевах, образовывали палочковидные, в том числе характерные биполярные веретеноподобные формы (рисунки 3В, 3С), а также коккоиды (рисунок 4В). В двух случаях (рисунок 3А) в мазках посева фильтрата Аг FLK-BLV с. НС в протопласте обнаружены КУ палочки.

Изоляты из фильтратов Аг FLK-BLV явно относились к CWD МБТ. Они реагировали при ДИП окраске с антителами к *M. bovis*, специфически окрашиваясь в коричневый цвет (рисунок 4), и давали положительную ПЦР с праймерами 16s RNA (*Mycobacterium*).

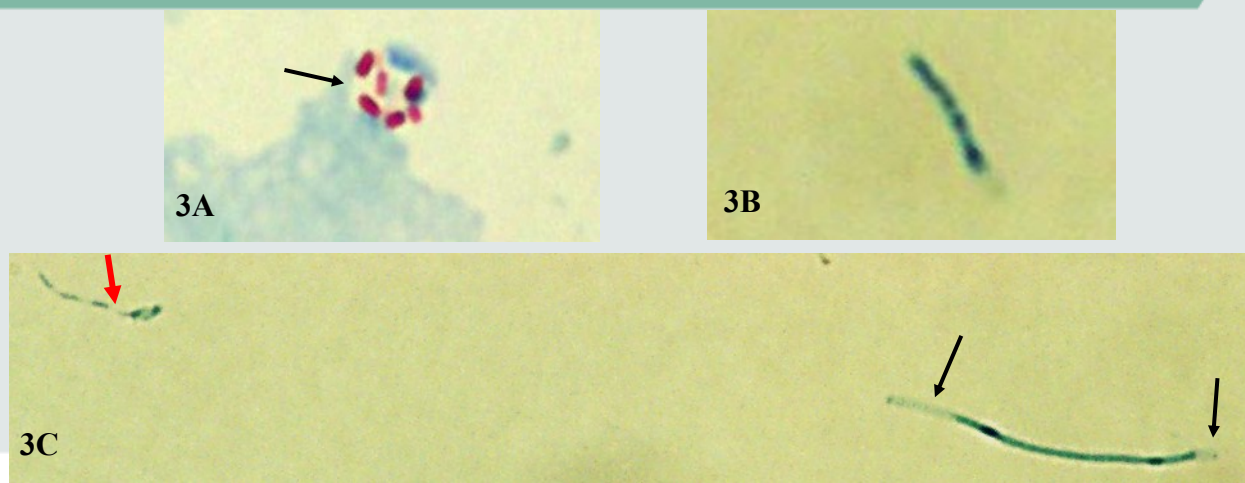


Рисунок 3. – Первичный рост в посевах фильтрата Аг FLK-BLV с. НС.
3А – фильтрат, образование протопластом красных (кислотоустойчивых палочек – стрелка); 3В, 3С – фильтрат, прогретый при 99 °С, 3В – палочковидный фрагмент нитевидной формы; 3С – образование нитевидной формой веретеноподобной клетки (красная стрелка), образование нитевидной формой 2 палочковидных «пустых» форм (черные стрелки), Kinyoun, 10x100

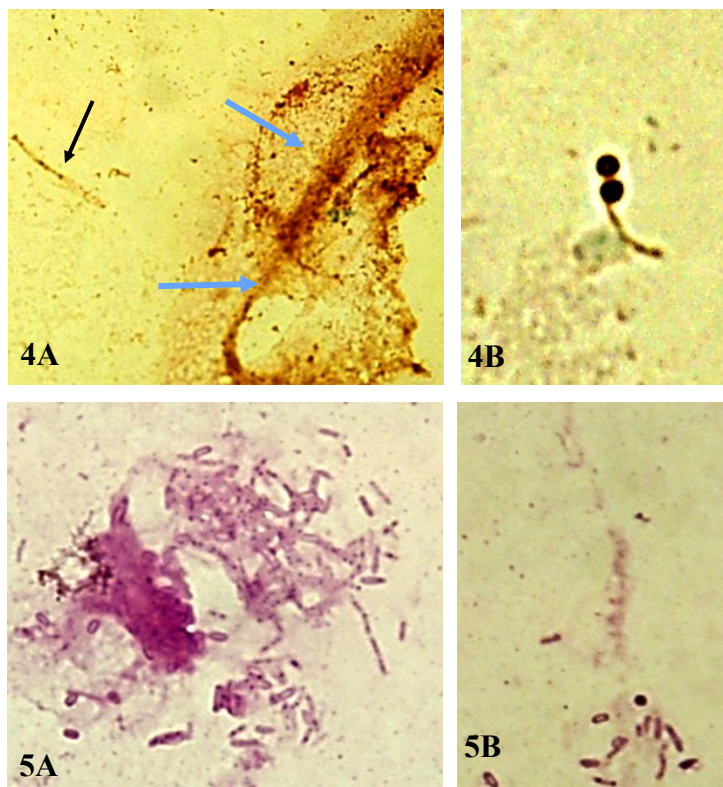


Рисунок 4. – Рост фильтрата Аг FLK-BLV, прогретого при 99 °С.
4А – специфически окрашенная «сеть-протопласт» (голубые стрелки) и длинная зернистая палочка, от которой почкуется биполярная «пустая» палочка; 4В – образование нитевидной формой двух коккоидов. ДИП окраска, 10x100

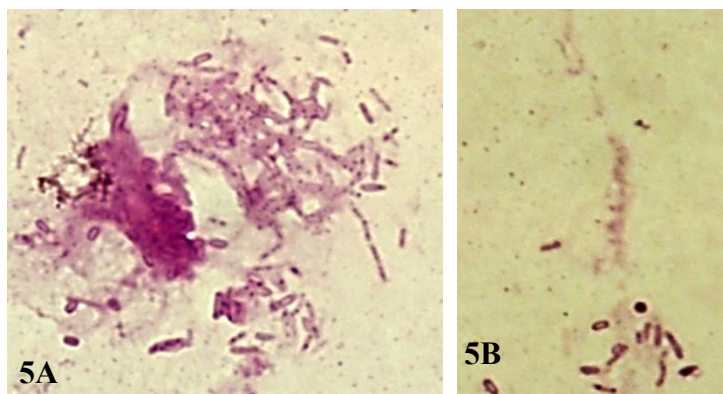


Рисунок 5. – Первичный рост в посевах фильтрата сыворотки крови телки № 52. 5А – образование палочковидных форм протопластом; 5В – образование палочковидных форм. ДИП окраска, 10x100

В посевах фильтрованных сывороток крови коров и телок единичные очень мелкие стекловидные колонии появились через 1–3 суток инкубации. При последующих «слепых» пересевах количество стекловидных колоний увеличивалось, но интенсивный рост в посевах сывороток коров ПКС BLV, № 1, № 7, телок № 52 и № 74 начался соответственно после 3, 5, 5, 1 и 7 «слепых» пересевов.

В первичном росте фильтратов сывороток крови почти не встречались протопласты с нитевидными формами, хотя можно было заметить, что образование клеток могло начинаться из своеобразной «сети» (рисунок 5). При дальнейших пересевах изолятов из фильтрованных сыворо-

ток отмечался рост полиморфных культур с типичной для CWD МБТ морфологией (таблица 1).

В ПЦР изоляты из сывороток крови коров, «инфицированных BLV», давали положительную реакцию с праймерами 16s RNA (принадлежность к роду *Mycobacterium*) и с праймерами MPB 70 и MPB 64, что подтверждало, что изоляты – измененные МБТ (рисунок 6).

Из гомогенатов предлопаточных лимфатических узлов 2 коров BLV+ на среде *MycCel DW* были выделены полиморфные культуры с типичной для CWD МБТ морфологией (таблица 1), дававшие положительную ПЦР с праймерами 16s RNA (*Mycobacterium*) (рисунок 7).

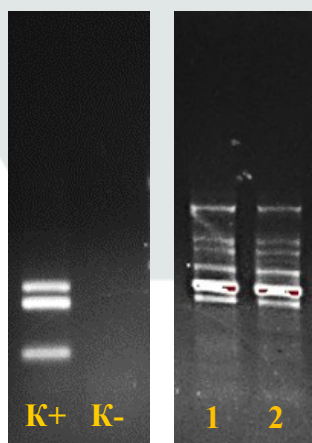


Рисунок 6. – Результат амплификации ДНК изолятов с праймерами 16s RNA, MPB 70, MPB 64.
K+, K- – позитивный и негативный контроли;
– изолят из фильтрата сыворотки крови телки BLV+ № 52; 2 – изолят из фильтрата сыворотки крови коровы-донора положительной сыворотки BLV+ (стрелки показывают положение слабого амплификата с праймерами MPB 64)

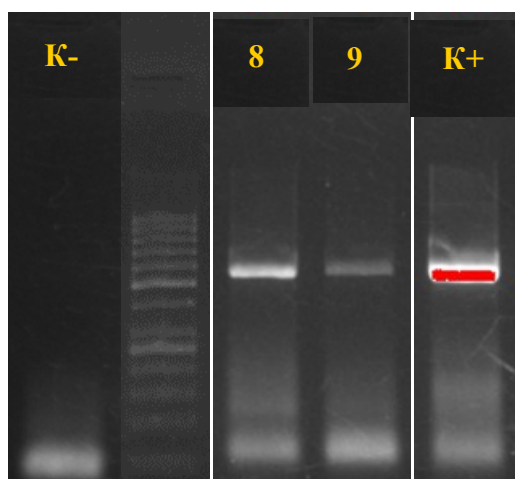
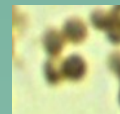
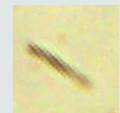
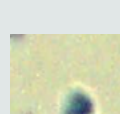
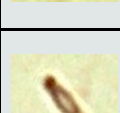
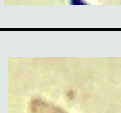
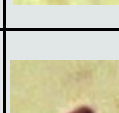
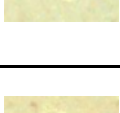
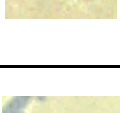
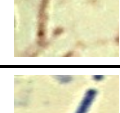
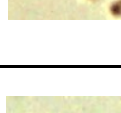
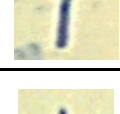
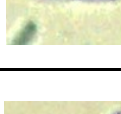
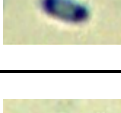
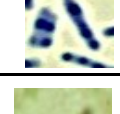
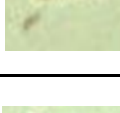
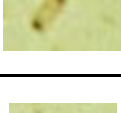
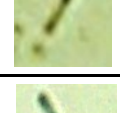
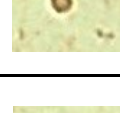
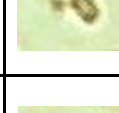


Рисунок 7. – Результат амплификации с праймерами 16s RNA ДНК изолятов из предлопаточных узлов 2 коров (8 – K1, 9 – K2) BLV+, K+, K- – позитивный и негативный контроли

Изоляты из Ag FLK-BLV, из сывороток крови и лимфатических узлов животных BLV+ были полиморфны, но состояли из клеток одинаковой морфологии. В таблице 1 представлено 8 основных форм, обнаруженных в одном мазке каждого изоля-

та в 1–3 полях зрения микроскопа. Доля клеток каждой формы не была постоянной и менялась в зависимости от частоты и сроков пересева. Поэтому в момент исследования в некоторых изолятах определенные формы не были обнаружены (таблица 1).

Таблица 1. – Типы клеток изолятов CWD МБТ из FLK-BLV, крови человека, больного саркомой, сывороток крови коров и гомогенатов лимфатических узлов BLV+ коров

Изоляты	1	2	3	4	5	6	7	8
«D» из крови человека, больного саркомой								
«D» из крови человека, больного саркомой		–	–					
Из фильтрата сыворотки коровы-донора ПКС BLV+								
Из фильтрата сыворотки телки BLV+ № 52								
Из фильтрата сыворотки коровы BLV+ № 1							–	
Из фильтрата сыворотки коровы BLV+ № 7							–	
Из фильтрата сыворотки телки BLV+ № 74					–		–	–
Из лимфатического узла коровы BLV+K1						–		
Из лимфатического узла коровы BLV+K2								

Антигенный состав изолятов изучали с антисыворотками к CWD МБТ: «D» из крови человека, больного саркомой, из Ag FLK-BLV с. 30 и «Br 2» из мозга козы [17, 19]. Интересно, что эти антисыворотки содержали в высоких титрах антитела к видо-

специфическим антигенам *M. bovis* MPB 70 и MPB 83 (рисунок 8).

В РИД с антисыворотками к CWD МБТ изоляты из фильтратов Ag FLK-BLV, сывороток и лимфатических узлов BLV+ крупного рогатого скота демонстрировали

практически полную иммунохимическую идентичность как между собой, так и с изолятами, на которые были получены антисыворотки (рисунок 9). Некоторые различия были связаны с концентрацией антигенов или с «минорными» антигенами, которые обнаруживались при использовании более

чувствительных методов. На рисунке 10 А представлено сравнение антигенного состава изолята из сыворотки коровы-донора ПКС BLV+ и изолята «Br 2» в РИД. Как видно, все преципитаты плавно сливаются друг с другом.

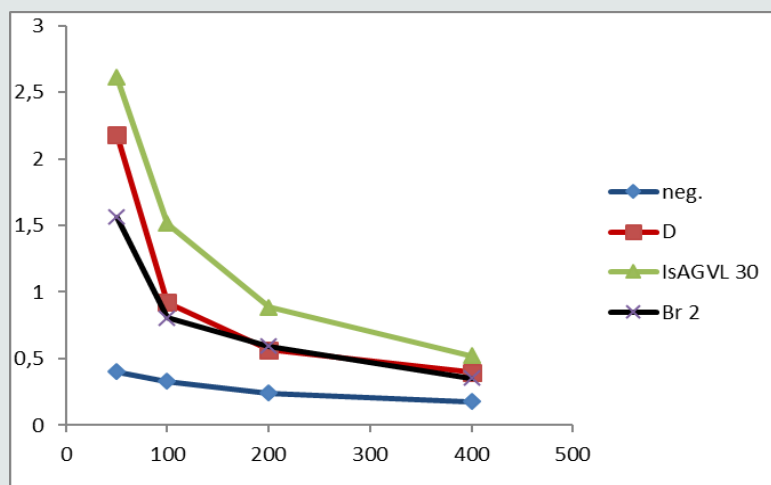


Рисунок 8. – ИФА антисывороток к CWD-изолятам «D», АГВЛ с. 30 (IsAGVL 30) и «Brain 2» (Br 2) с набором Iddex *M. bovis* AB (использован конъюгат анти-IgG кролика Sigma). Шкала абсцисс – разведение антисывороток, ординат – оптическая плотность при 450 нм

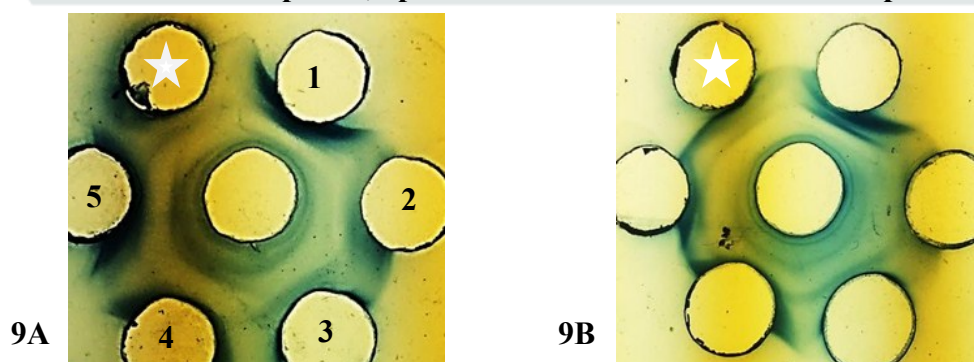


Рисунок 9. – РИД антисывороток (в центральных лунках) 9А – к изоляту «D»; 9В – к изоляту из AgFLK-BLV с. 30. В периферических лунках – антигены (соникаты), гомологичные антисыворотке: 9А – CWD МБТ «D», 9В – изолят CWD МБТ из Ag FLK-BLV с. 30 [17]; в остальных лунках – симметрично соникаты изолятов: 1 – из гретого фильтрата Ag FLK-BLV с. Н; 2 – из сыворотки коровы № 1; 3 – из сыворотки коровы № 7; 4 – из сыворотки телки № 52; 5 – из сыворотки коровы-донора ПКС BLV+

Исследование этих препаратов в ПИЭФ ПГ (рисунок 10 В) подтвердило почти полное антигенное родство изолята из сыворотки коровы-донора ПКС BLV+ и изолята Br 2 (образование интенсивных «базовых» преципитатов). Сравнение в РИД с антисыворотками к изоляту из Ag FLK-BLV с. НС и к изоляту из Ag FLK-BLV с. 30, со-

никата изолята из Ag FLK-BLV с. НС и Ag FLK-BLV (антиген для диагностики лейкоза) показало наличие у них по меньшей мере 2 иммунохимически идентичных антигенов (рисунок 11). Более того, в РИД с сывороткой BLV+ коровы соникаты изолятов из фильтратов сывороток BLV+ коров образовывали линию преципитации, идентич-

ную с линией антигена FLK-BLV для диагностики лейкоза (рисунок 12). Так же и в иммуноблоттинге изоляты из фильтратов сывороток коров BLV+ давали до 6 фрак-

ций с сывороткой коровы BLV+, совпадавших по молекулярной массе с фракциями коммерческого антигена FLK-BLV (рисунок 13).

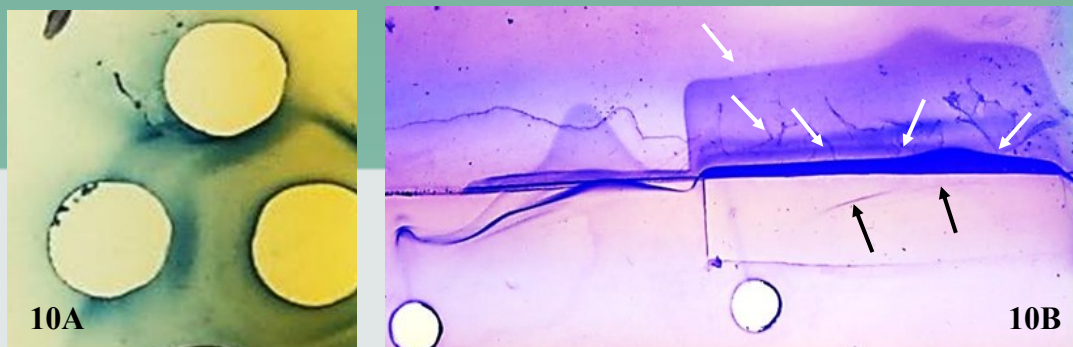


Рисунок 10. – РИД (12А) и ПИЭФ ПГ (10В) CWD изолятов Br 2 и из сыворотки коровы ПКС BLV+. 10А – соникат изолята из сыворотки коровы ПКС BLV+ (левая лунка), соникат изолята Br 2 (верхняя лунка), антисыворотка к CWD изоляту Br 2 (правая лунка); 10В – в лунках по 65 мкл сониката Br 2, в промежуточном геле 100 мкл сониката изолята из ПКС BLV+, в геле второго направления антисыворотка к CWD Br 2 (41 мкл на 1 мл агарозы). Белые стрелки – базовые преципитаты общих антигенов, черные – преципитаты «минорных» антигенов, отсутствующие у изолята ПКС BLV+



Рисунок 11. – РИД: Аг FLK-BLV с. НС (нижняя левая лунка), Аг ВЛКРС (FLK-BLV с. НС) (нижняя правая лунка), антисыворотки к изоляту из Аг FLK-BLV с. 30 (верхняя левая лунка) и к изоляту из Аг FLK-BLVс. НС. Стрелками показаны преципитаты иммунохимически идентичных антигенов

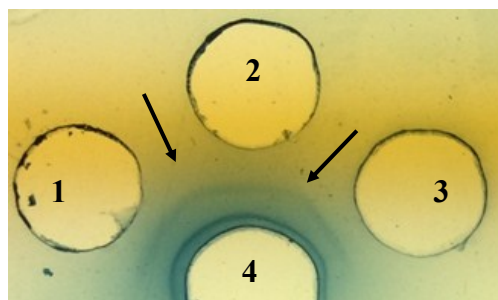


Рисунок 12. – РИД коммерческого Аг FLK-BLV (1), сониката изолята из фильтрата сыворотки ПКС BLV+ (2), сониката изолята из фильтрата сыворотки телки № 52 (3) с сывороткой крови BLV+ коровы (4). Плавное слияние преципитатов указывает на иммунохимическую идентичность антигенов

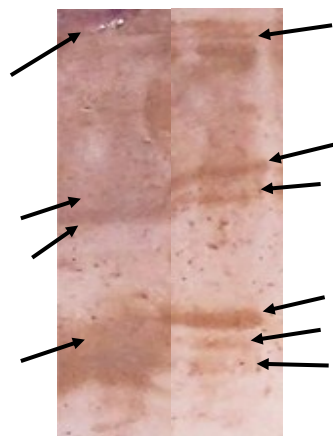


Рисунок 13. – Электрофорез в 12 % ПААГ и иммуноблоттинг коммерческого антигена FLK-BLV (слева) и изолята из фильтрата сыворотки крови коровы-донора ПКС BLV+ (справа) с сывороткой крови BLV+ коровы (1:20), адсорбированной смесью инактивированной бактериальной массы стафилококков, стрептококков, кишечной палочки, пастерелл

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружение клеток микобактерий и выделение CWD МБТ из культуральной жидкости клеток почки эмбриона овцы, инфицированных вирусом бычьего лейкоза (Ag FLK-BLV), позволило сделать парадоксальное предположение, что BLV – вирусоподобная форма МБТ [17]. FLK-BLV культивируют более 40 лет [21], но никто не исследовал ее на наличие клеток типичных микобактерий. Существование некислоустойчивых (CWD) форм МБТ считали спорным, кроме того, не было надежных способов их выделения и идентификации. Соответственно, не изучался их антигенный состав и антигенное родство с Ag FLK-BLV. Хотя определенная антигенная общность МБТ и BLV все же была обнаружена [22, 23]. Также было замечено, что введение туберкулина коровам влияет на результаты диагностики лейкоза, поэтому не рекомендовалось брать кровь у коров для исследования в РИД после туберкулинизации.

Для доказательства присутствия в FLK-BLV вирусоподобной формы МБТ Ag FLK-BLV был подвергнут фильтрации через стерилизующие фильтры 0,22 μm , через которые могут проходить только вирусы и фильтрующиеся формы бактерий. Фильтрат и его вариант, прогретый 10 мин при 99 °С, дали рост на среде МусСел DW одинаковых бактериальных форм. В настоящее время убедительно доказано образование в популяциях микобактерий клеток диаметром меньше 0,2 мкм, а также возможность получения роста CWD *M. bovis* (BCG) при посеве фильтратов [24, 25].

Световая микроскопия не позволяла увидеть фильтрующиеся формы, но после посева были обнаружены подобия протопластов, из которых вырастали нитеобраз-

ные формы, в свою очередь, образывавшие типичные для CWD МБТ клетки. Возможно, это объясняет стимулирующую роль «слепых» пассажей, при которых происходит перемешивание и объединение мельчайших форм, дававших начало протопластам.

Важно, что CWD МБТ удалось выделить из фильтратов всех 6 исследованных сывороток крови и 4 проб лимфатических узлов BLV+ коров. Изоляты состояли из идентичных по морфологии 8 основных типов клеток, которые были похожи на типы клеток изолята из крови человека, больного саркомой. Их идентичность была подтверждена при изучении антигенного состава, который был типичным для CWD *M. bovis*.

В значительной степени полученные результаты согласно постулатам Коха-Пастера-Генле позволяли считать вирусоподобные формы CWD МБТ онкогенами:

- они присутствовали в крови и лимфоузлах больных животных и человека и, что главное, в культуре инфицированных клеток FLK-BLV;

- чистые культуры были выделены из фильтратов крови и гомогенатов органов больных особей, в том числе от морских свинок, которым вводили гомогенаты органов зараженных животных [17].

Что касается экспериментального воспроизведения патологии, то воспроизведение онкогенеза затруднительно из-за длительного инкубационного периода. Тем не менее было установлено, что заражение морских свинок изолятами из FLK-BLV воспроизводило иммунный ответ, наблюдаемый при лейкозе: регистрировался синтез антител, реагирующих с gp 51 и p24 BLV [17].

ЛИТЕРАТУРА

1. Glover, T. *The bacteriology of cancer. Canada Lancet Pract.*, 1930; 75: 92–11.
2. Mazet, G. *Etude Bacteriologique sur la Maladie d' Hodgkin. Montpellier Med.*, Juillet-Aout, 1941; pp. 1–6.
3. Livingston, V., Allen, R. *Presence of consistently recurring invasive mycobacterial forms in tumor cells. Microscop Soc Bull*, 1948; 2:5–18.
4. Wuerthele-Caspe, V. *Mycobacterial forms observed in tumors. J. Am. Med. Womens Assoc.* 1949; 4, p. 135–141.

5. Diller, I., Donnelly, A., Fisher, M. Isolation of pleomorphic, acid fast organisms from several strains of mice. *Cancer Research*, 1967; 27, 1, p. 1402–1408.
6. Seibert, F., Feldmann, F., Davis, R., Richmond, I. Morphological, biological, and immunological studies on isolates from tumors and leukemic bloods. *Ann N Y Acad Sci.* 1970; Oct 30;174 (2):690–728.
7. Mattman, L. *Cell Wall Deficient Forms* (Ed 2). Boca Raton: CRC Press; 1993.
8. Wang, A., Xie, J. Infection of mycobacterium tuberculosis in lung cancer. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi* 1998, Sep 15;1, (2):92–4.
9. Guliang, H., Tefu, L. Mycobacterium tuberculosis L-forms. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 1999, 10, p. 129–133.
10. Xie, J., Wang, A., Zhang, X. Isolation of acid fast bacillus L forms from carcinoma of Lung. *J. Bengbu Med. College*, 1999–03.
11. Song Lan-ying, Yan Wen-sheng, Zhao Tong. Detection of Mycobacterium tuberculosis in lung cancer tissue by indirect in situ nested PCR. *J. First Military Med. Univers*; 2002–11.
12. Zhang Shu-jie, Zhang Guang-ling [et al.]. Detection of Mycobacterium tuberculosis L forms infection in tissue of lung carcinoma. *Chin. J. Public Health*, 2009–11.
13. Tian Yan Sheng, Cui Xing Kun, Hao Tong [et al.]. Study on the relationship between Mycobacterium tuberculosis L infection and lung cancer. *Tumor* 2009, 29, 11, p. 1085–1089.
14. Tian Yan-sheng, Cui Xing-kun, Zhang Wei [et al.]. Detection of Mycobacterium tuberculosis L forms and MPB 64 gene in breast cancer tissues. *J. of Practical Medicine*; 2013–15.
15. Yansheng Tian, Tong Hao, Bin Cao [et al.]. Clinical End-Points Associated with Mycobacterium tuberculosis and Lung Cancer: Implications into Host-Pathogen Interaction and Coevolution. *Bio Med Research Intern. Vol.* 2015 (2015).
16. Alexander-Jackson, E. Ultraviolet spectrographic microscope studies of Rous sarcoma virus cultured in cell-free medium. *Ann N Y Acad Sci.* 1970 Oct 30;174 (2):765
17. Lysenko, A.P., Broxmeyer, L., Vlasenko, V.V., Krasochko, P.A., Lemish, A.P., Krasnikova, E.L. Further Evidence for Cancer as a Cell-wall-deficient Mycobacterial Disease. *Journal of Molecular Pathological Epidemiology*. – 2016. – Vol. 1. – № 18. – p. 2–12.
18. Lysenko A.P., Vlasenko V.V., Broxmeyer L. et al. The tuberculin skin test: how safe is safe? The tuberculin contains unknown forms capable of reverting to cell-wall-deficient mycobacteria. *Clinical and Experimental Medical Sciences*. 2014, 1. 2. – № 1–2. – p. 55–73.
19. Lysenko, A.P., Broxmeyer, L., Vlasenko, V., Krasochko, P.A., Lemish, A.P., Krasnikova, E.L. CWD Tuberculosis Found in Spongiform Disease Formerly Attributed to Prions: Its Implication towards Mad Cow Disease, Scrapie and Alzheimer's. *Journal of Molecular Pathological Epidemiology*. – 2017. – Vol. 3. – № 33. – p. 1–13.
20. Выявление микобактерий туберкулеза в тканях с помощью дифференцирующей иммунопероксидазной окраски / А. П. Лысенко [и др.] // *Туберкулез и болезни легких*. – 2014. – № 10. – С. 55–58.
21. Van der Maaten M., Miller J. Replication of bovine leukemia virus in monolayer cell cultures. *Bibl. Haemat.* 1976, 43. – p. 360–362.
22. Лысенко, А.П. О возможных антигенных взаимосвязях ВЛКРС и микобактерий / А.П. Лысенко, А.Г. Дрогун, С.А. Шуринова // *Зооантропонозные болезни, меры профилактики и борьбы: материалы Междунар. науч.-практ. конф.* – Гродно, 1997. – С. 62–64.
23. Изучение влияния инфицирования атипичными микобактериями на проявление РИД у крупного рогатого скота, зараженного вирусом лейкоза / А.П. Лысенко [и др.] // *Ветеринарная наука – производству: научные труды*. – 1998. – Вып. 33. – С. 56–64.
24. Markova, N., Slavchev, G., Michalova, L. Filterable forms and L-forms of Mycobacterium bovis BCG: impact for live vaccine features. *Hum Vaccin immunother.* – 2012 Jun; 8(6):759–64.
25. Slavchev, G., Michailova, L., Markova, N. Stress-induced L-forms of M. bovis: challenge to survivability. *New Microbiologica*. – 2013, 36. – p. 157–166.