


Оригинальная статья / Original article  
УДК. 619:616.98:579.871.1:636.2  
DOI: 10.18470/1992-1098-2019-3-111-117

## Оценка методов очистки коринебактериозного аллергена с определением концентраций и его экспериментальное применение

Магомед О. Баратов<sup>1</sup> , Зайдин М. Джамбулатов<sup>2</sup>, Омар П. Сакидибиров<sup>2</sup>, Бадрутдин М.-С. Гаджиев<sup>2</sup>, Гульнара А. Джабарова<sup>2</sup>, Раиса М. Абдурагимова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>«Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт», филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан», Махачкала, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный аграрный университет имени М. М. Джамбулатова», Махачкала, Россия

### Контактное лицо

Магомед О. Баратов, лаборатория инфекционной патологии ФГБНУ «Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт», филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан»; 367000 Россия, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88.

Тел. +79285010948

Email [alama500@rambler.ru](mailto:alama500@rambler.ru)

ORCID <https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>

### Формат цитирования

Баратов М.О., Джамбулатов З.М., Сакидибиров О.П., Гаджиев Б.М.-С., Джабарова Г.А., Абдурагимова Р.М. Оценка методов очистки коринебактериозного аллергена с определением концентраций и его экспериментальное применение // Юг России: экология, развитие. 2019. Т.14, N3. С.111-117. DOI: 10.18470/1992-1098-2019-3-111-117

Получена 18 февраля 2019 г.

Прошла рецензирование 26 марта 2019 г.

Принята 15 апреля 2019 г.

### Резюме

**Цель.** Поиск результативного метода получения бактериального белка и определения оптимальной концентрации для выявления типоспецифичности.

**Материал и методы.** На примере референта штамма *C. xerosis* N 1911, выращенного на усовершенствованной нами питательной среде, изучены методы осаждения белка хлористым натрием, сернокислым аммонием, гексаметафосфатом натрия, трихлоруксусной кислотой и полиэтиленгликолем. Пороговую чувствительность аллергена в 6 разведениях определяли на 24 морских свинках, зараженных коринебактериями. Биологическую активность изучали на зараженных культурами М. БЦЖ – *M. avium*, *C. xerosis* N 1911, *C. ulcerans* N 675, *C. bovis*, морских свинках в количестве 36 голов и на 3 кроликах, зараженных *Corynebacterium xerosis*.

**Результаты.** Проведено сравнительное испытание 5 методов осаждения белка. При использовании в качестве осадителя сернокислого аммония сравнительно высокие результаты удалось получить при концентрации соли 30% и рН не ниже 5,8. Более значительное осаждение белка происходило в изоэлектрической точке NaCl при рН 3,9. Отмечены незначительные осаждающие свойства трихлоруксусной кислоты, отсутствие таковых у полиэтиленгликоля и выпадения незначительного осадка гексаметафосфатом натрия. Установлена пороговая чувствительность (0,00005 мг в 0,1 мл) и единица действия аллергена (0,0003 мг). Выявлено наличие интенсивности кожной реакции на гомологичный заражению сенситин.


**Заключение.** Полученные данные выявляют оптимальный способ осаждения белка, единицу действия коринебактериозного аллергена и расширяют представления о механизмах возникновения сенсibilизации макроорганизма к туберкулину.

### Ключевые слова

ППД-туберкулин, коринебактериозный сенситин, аллерген, осаждение, чувствительность, специфичность, концентрация.

©2019 Авторы. Юг России: экология, развитие. Это статья открытого доступа в соответствии с условиями Creative Commons Attribution License, которая разрешает использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии правильного цитирования оригинальной работы.

# Assessment of methods of purification of corynebacterium allergen with definition of concentration and its experimental application

Magomed O. Baratov<sup>1</sup> , Zaydin M. Dzhambulatov<sup>2</sup>, Omar P. Sakidibirov<sup>2</sup>, Badrutdin M-S. Gadzhiyev<sup>2</sup>, Gulnara A. Dzhabarova<sup>2</sup> and Raisa M. Abduragimova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Branch of Caspian Zonal Research Veterinary Institute, Federal Agrarian Scientific Centre of the Republic of Dagestan, Makhachkala, Russia

<sup>2</sup>M.M. Dzhambulatov Dagestan State Agricultural University, Makhachkala, Russia

## Principal contact

Magomed O. Baratov, Laboratory of Infectious Pathology, Branch of Caspian Zonal Research Veterinary Institute, Federal Agrarian Scientific Centre of the Republic of Dagestan; 88 Dakhadaev St, Makhachkala, Russia 367000.  
Tel. +79285010948  
Email [alama500@rambler.ru](mailto:alama500@rambler.ru)  
ORCID <https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>

## How to cite this article

Baratov M.O., Dzhambulatov Z.M., Sakidibirov O.P., Gadzhiyev B.M-S., Dzhabarova G.A., Abduragimova R.M. Assessment of methods of purification of corynebacterium allergen with definition of concentration and its experimental application. *South of Russia: ecology, development*. 2019, vol. 14, no. 3, pp. 111-117. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2019-3-111-117

Received 18 February 2019

Revised 26 March 2019

Accepted 15 April 2019

## Abstract

**Aim:** Search for an effective method for obtaining bacterial protein and determining the optimal concentration for identification of specific types.

**Material and Methods.** Using the example of a *C. xerosis* N 1911 reference strain grown on a nutrient medium improved by us, methods were investigated of protein precipitation with sodium chloride, ammonium sulphate, sodium hexametaphosphate, trichloroacetic acid and polyethylene glycol. The threshold sensitivity of the allergen in six different cultures was determined in tests on 24 guinea pigs infected with corynebacteria. Biological activity was studied in cultures from 36 guinea pigs infected with *M. BCG* (*Bacillus Calmette–Guérin* vaccine), *M. avium*, *C. xerosis* N 1911, *C. ulcerans* N 675 and *C. bovis*, as well as 3 rabbits infected with *Corynebacterium xerosis*.

**Results.** Comparative testing of five protein precipitation methods was carried out. When using ammonium sulphate as a precipitant relatively high results were obtained at a salt concentration of 30% and a pH of at least 5.8. More significant protein precipitation occurred at the isoelectric point of sodium chloride at pH 3.9. It was noted that trichloroacetic acid and sodium hexametaphosphate had insignificant precipitating properties while there was none with polyethylene glycol. The threshold sensitivity (0.00005 mg in 0.1 ml) and allergen unit of action (0.0003 mg) were established. Intensity of skin reaction to sensitin homologous to infection was detected.

**Conclusions.** The data obtained revealed the optimal method of protein precipitation, the unit of action of the corynebacterium allergens, and expanded the understanding of the mechanisms of the sensitization of the macro-organism to tuberculin.

## Key Words

PPD-tuberculin, corynebacterium sensitin, allergen, precipitation, sensitivity, specificity, concentration.

**ВВЕДЕНИЕ**

Практическая ветеринария испытывает определенные трудности при дифференциальной диагностике туберкулеза в симультанной пробе с КАМ по многочисленным причинам, в числе которых большое количество животных, остающихся в стадах с неопределенными результатами, поэтому часто приходится дублировать и подтверждать результаты другими методами, зачастую растягивая сроки подтверждения диагноза до 5-6 месяцев [1; 2].

Существенно затрудняют и сдерживают диагностику и многочисленные причины, способствующие сенсибилизации организма животных к ППД-туберкулину и отсутствие единого дифференцирующего метода [3-5].

В литературе имеются данные о способности микобактериоподобных микроорганизмов сенсибилизировать макроорганизм к туберкулину, в частности, коринебактериями [6-8]. Однако методы очистки активного белка и механизмы определения единицы активности препарата изучены недостаточно [9].

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Аллергические исследования лабораторных животных проводили в соответствии с «Наставлением по применению туберкулинов для млекопитающих и птиц, 2006 год». В эксперименте *in vitro* использовали культуру *Corynebacterium xerosis* (штамм N1911), выращенную на усовершенствованной нами питательной среде Сатона.

Бактериальную массу (двухмесячную) автоклавировали (для разрушения и выхода белка) при 1,5 атм. в течение 30 мин., фильтровали, центрифугировали и осаждали белок.

Осаждение белка проводили хлористым натрием, сернокислым аммонием, гексаметафосфатом

натрия, трихлоруксусной кислотой и полиэтиленгликолем, используя в этих целях известные методики [10; 11].

Из исходного раствора 10%-ной концентрации готовили 6 разведений белка (0,00005; 0,0001; 0,0002; 0,0003; 0,0004 и 0,0005 мг в 0,1 мл). Пороговую чувствительность и специфичность изучали на 24 зараженных коринебактериями морских свинок. Заражение производили подкожно, введением 10 мкг влажной культуры во взвеси в физиологическом растворе.

Сенситивность животных к туберкулину изучали на морских свинках (n=36), зараженных культурой М. БЦЖ, *M. avium*, *C. xerosis* N 1911, *C. ulcerans* N675, *C. bovis* (6 в контроле), а также на зараженных *Corynebacterium xerosis* кроликах (n=3). В работе были использованы штаммы коринебактерии (*C. ulcerans* N675, *C. bovis*) полученные от 5 голов крупного рогатого скота в хозяйстве предгорной части Дагестана, у которых предварительно проводили бактериологический анализ микробного пейзажа по стандартной методике. Изолированные микроорганизмы идентифицировали по морфологическим, культуральным, биохимическим и хемотоксономическим признакам с использованием тест систем CORIGE test MTC – KD [12].

**ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

С каждым из испытываемых реагентов подбирали оптимальные режимы осаждения белка. При этом определяли влияние концентрации и способа добавления осадителя, температуры и рН на активность полученного белка [13].

В ходе использования в качестве осадителя сернокислого аммония прибавили сухую мелко протертую соль к центрифугату культуры. Реакцию (рН) центрифугата подводили от 5,2 до 6,4, с интервалом 0,2 ед. (табл. 1).

**Таблица 1.** Режимы испытания сернокислого аммония для осаждения белка  
**Table 1.**  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  test modes for protein precipitation

рН	Концентрация соли в центрифугате (в %)					
	Concentration of salt in centrifuge (in %)					
	10	20	30	40	45	50
5,2	-	-	-	-	-	±
5,4	-	±	±	+	+	+
5,6	±	±	+	+	+	+
5,8	+	+	+	+	+	+
6,0	+	+	+	+	+	+
6,2	+	+	+	+	+	+
6,4	+	+	+	+	+	+

Через несколько минут после добавления соли на поверхности центрифугата образовалась пленка, которую собирали и очищали от остатков соли. Относительно высокие результаты получили при концентрации соли – 30% и рН не ниже 5,8.

Значительное осаждение белка происходило в изоэлектрической точке NaCl при рН 3,9. Изучение оптимальных режимов проводили при параметрах рН 3,9 до 4,5 в концентрации NaCl – 5, 10, 15, 20, 25 и 30% (табл. 2).

Полученный осадок отделяли центрифугированием и растворяли в дистиллированной воде. Пробы, полученные при 5, 10, 25 и 30%-ной концентрации NaCl и осажденные при рН=4,3 и выше, в работе не использовали. При концентрации соли в центрифугате 25 и 30% не-

растворенная часть ее вместе с белком образовывала плохо разбиваемый осадок.

В опыте с трихлоруксусной кислотой (ТХУ) 20%-ный раствор добавляли в предварительно охлажденные центрифугаты с рН=3,2. Затем выдерживали при температуре 4°C – 30 минут. Концентрации выше 20% приводили к денатурации белка. Выход в этом случае получался очень низкий и поэтому данный способ осаждения в дальнейших исследованиях не применяли.

Для определения осаждающей белок способности гексаметафосфата Na (ГМФ) центрифугаты предварительно охлаждали до 6-10°C и добавляли 0,1-0,4% соли. Затем двунормальной соляной кислотой доводили рН до 3,0; 3,2; 3,5; 3,9; 4,2; 4,5 и 5,0, как указано в таблице 3.

**Таблица 2.** Режимы испытания NaCl для осаждения белка  
**Table 2.** Test modes of NaCl for protein precipitation

рН	Концентрация NaCl в центрифугате (в %) / Concentration of NaCl in centrifuge (in %)					
	5	10	15	20	25	30
3,5	+	++	++	+++	+++	+++
3,7	+	++	+++	+++	+++	+++
3,9	+	++	+++	+++	+++	+++
4,1	+	++	+++	+++	+++	+++
4,3	+	+	++	++	+++	+++
4,5	+ -	+	++	+	++	++

**Таблица 3.** Режимы испытания ГМФ Na для осаждения белка  
**Table 3.** Test modes of sodium hexametaphosphate for protein precipitation

рН	Концентрация ГМФ Na в центрифугате (в %) Concentration of sodium hexametaphosphate in centrifuge (in %)			
	0,1	0,2	0,3	0,4
3,0	-	±	±	±
3,2	-	±	±	+
3,5	-	+	+	++
3,9	-	±	+	++
4,2	-	±	+	+
4,5	-	+	+	+

По результатам исследования наблюдали выпадения незначительного осадка.

Осажденный 0,3 и 0,4 граммами гексаметафосфата Na белок, при температуре (4°C), обладал хорошими растворимыми в дистиллированной воде свойствами. Следовательно, оптимальные условия в этом случае были установлены при рН 3,5-3,9 и количестве соли – 0,4 г при 4°C.

Полиэтиленгликоль (ПЭГ) с мол. весом 6000 (рН 7,9) традиционно используемый для концентрации вирусного белка, не обладал осаждающей активностью и

при снижении рН 2-х нормальным NaCl до 3,5 при 4°C.

В каждом полученном растворе белка определяли аминный азот и подводили его концентрацию до уровня содержания в ППД-туберкулине. Готовые препараты стерилизовали, пропуская их через фильтр Зейтца.

Активность сенситинов определяли на 3 зараженных *Corynebacterium xerosis* кроликах. Было исследовано 6 различных серий белка, полученных разными способами. Каждого кролика исследовали в политесте (табл. 4).

**Таблица 4.** Активность сенситинов в аллергической пробе на зараженных кроликах  
**Table 4.** Sensitin activity in allergic tests on infected rabbits

Сенситин из: Sensitin from:	Осадитель Precipitator	рН среды pH medium	Концентрация соли (в %) Salt concentration (in %)	Интенсивность реакции (в мм <sup>2</sup> ) Intensity of reaction (mm <sup>2</sup> )
<i>Corynebacterium xerosis</i>	Сернокислый аммоний (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5,8	30	146
		6,0	30	180
	NaCl	3,9	20	250
		4,1	15	190
	ГМФ hexametaphosphate	3,5	0,2 г	145
		3,9	0,2 г	130

Как показывают данные таблицы, высокой чувствительностью обладает сенситин, полученный методом осаждения белка NaCl при 20%-ной концентрации и рН – 3,9.

Все тестируемые дозы (6 видов концентрации в 0,1 мл) испытывали на морских свинках (n = 24), зараженных коринебактериями. На каждую серию брали 4 животных, исследования проводили на 28 день заражения (табл. 5).

Исследования выявили пороговую чувствительность аллергена 0,00005 мг в 0,1 мл раствора, далее чувствительность увеличивалась до содержания белка

0,0003 мг и в последующем чувствительность не зависела от концентрации. Таким образом, за единицу действия коринебактериозного аллергена, согласно полученным результатам, определена – 0,0003 мг в 0,1 мл раствора.

Состояние повышенной чувствительности на аллерген (ППД-туберкулин) изучали на лабораторных животных (n=36), зараженных культурой М. БЦЖ, *M. avium*, *M. scrofulaceum*, *C. xerosis* N1911, *C. ulcerans* N675, *C. bovis*, (6 в контроле) через каждые 30 дней в течение 3 месяцев (табл. 6).

**Таблица 5.** Интенсивность кожной реакции у морских свинок на гомологичный заражению аллерген  
**Table 5.** The intensity of skin reaction in guinea pigs to homologous allergen infection

Содержание белка в аллергене (мг в 0,1 мл) Protein content in allergen (mg in 0.1 ml)	<i>Corynebacterium xerosis</i> N1911	
	Интенсивность, мм <sup>2</sup> Intensity, mm <sup>2</sup>	M ± m
0,00005	---	0,17 ± 0,15
	0,7	
	---	
0,0001	---	3,62 ± 2,97
	5,2	
	---	
	9,3	
	---	
0,0002	20,4	25,25 ± 2,50
	28,2	
	22,1	
	30,3	
	87,1	
	69,3	
0,0003	82,4	79,10 ± 3,87
	77,6	
	82,2	
	56,4	
	61,3	
0,0004	68,7	67,15 ± 4,55
	66,5	
	48,4	
	60,1	
	51,9	
0,0005	60,1	56,72 ± 3,27
	48,4	
	60,1	

**Таблица 6.** Показатели гиперчувствительности замедленного типа в различные интервалы времени  
**Table 6.** Indices of delayed hypersensitivity at various time intervals

№ гр. No gr.	Заражающая культура Infecting culture	Интенсивность реакций (мм <sup>2</sup> ) через Intensity of reactions (mm <sup>2</sup> ) in:					
		30 дней 30 days		60 дней 60 days		90 дней 90 days	
		Туберкулин Tuberculin	Коринебактери- озный сенситин <i>Corynebacterium</i> <i>sensitin</i>	Туберкулин Tuberculin	Коринебактери- озный сенситин <i>Corynebacterium</i> <i>sensitin</i>	Туберкулин Tuberculin	Коринебактери- озный сенситин <i>Corynebacterium</i> <i>sensitin</i>
1	М.БЦЖ M.BCG	125,3±26,5	72,4±15,2	135,1(-)	68,6(-)	136,3±23,5	24,3(-)
2	<i>M. avium</i>	109,5(-)	98,7±17,7	136,3±24,1	73,7±22,3	123,4(-)	-
3	<i>C. xerosis</i> №1911	114,4±32,7	112,8±23,5	72,3(-)	62,5±24,2	-	56,8±12,9
4	<i>C. ulcerans</i> №675	65,7±11,4	76,3±12,9	59,4±32,7	70,9±15,3	28,5±22,2	33,7±5,2
5	<i>C. bovis</i>	49,9±10,3	88,9±22,5	36,9(-)	60,8-15,6	33,1±11,9	88,4±16,3
6	Контроль Control	-	-	-	-	-	-

*Примечание:* (-) – единично реагировали  
*Note:* (-) responded individually

Анализ интенсивности реагирования в исследуемых интервалах времени показывает, что у инфицированных морских свинок напряженность иммунитета длительный на гомологичный аллерген.

Из предположенных многочисленных способов очистки и концентрации активного белка, не многие нашли широкое применение, в связи с чем назрела

необходимость выявления наиболее значимого.

Проведенные сравнительные испытание позволили, констатировать неспособность одних предложенных методов осаждать белок и выявить слабые стороны других. Результаты согласуются с данными других исследователей, установивших, способность трихлоруксусной кислоты (ТХУ) изменять структуру белка. Выска-

зывалось предположение, что наряду с общими закономерностями выявляются и индивидуальные особенности полиэтиленгликоля, зависящие от ряда факторов. Наши данные соответствуют этому определению, нам не удалось осадить белок даже при низких значениях рН.

В целом, на основании полученных данных можно утверждать, что наиболее результативным является способ осаждения белков хлористым Na. Этот способ имеет и другие преимущества, заключающиеся в том, что нет необходимости дополнительной очистки, и освобождения белка от остатков соли диализом.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что изучаемые культуры способны вызвать перекрестную сенсибилизацию организма животных к туберкулину и коринебактериозному аллергену. По литературным данным, подавляющее число культур микобактериоподобных микроорганизмов, в том числе и коринебактерии, имеют общие антигенные детерминанты, определяющие генетическое родство их с микобактериями, что является косвенным свидетельством о потенциальной возможности их сенсибилизировать макроорганизм к туберкулину.

Так, в эксперименте на 30 день все зараженные морские свинки реагировали с высокой интенсивностью на изучаемые аллергены, причем, генетическое сходство определяло интенсивность реакции. Чем выше однородность антигенных детерминант, тем достовернее нарастание показателей интенсивности.

Проведенный анализ через 60 дней выявил повышение чувствительности на туберкулин у морских свинок, зараженных микобактериями и снижение реакций у остальных животных. На коринебактериозный аллерген наблюдали заметное снижение интенсивности во всех группах.

На третьем этапе исследования высокая чувствительность к коринебактериозному аллергену сохранилась у морских свинок, зараженных коринебактериями, тогда как в группах, зараженных микобактериями, реакции выпали. Зараженные микобактериями с высокой интенсивностью реагировали на туберкулин.

Контрольные животные не реагировали на аллергены на протяжении опыта.

В целом полученные результаты свидетельствуют о достаточно высокой иммунологической активности созданного аллергена, что подтверждается активизацией клеточного иммунитета. Тем не менее, требуется дальнейшие исследования на большем количестве животных для расширенной оценки Т-клеточного звена иммунитета.

## ВЫВОДЫ

1. Наиболее чувствительным и результативным способом осаждения белка является метод с использованием хлористого Na. Данный способ исключает необходимость дополнительной очистки и освобождения белка от остатков соли диализом.
2. За единицу действия коринебактериозного аллергена, вызывающий кожную реакцию с наибольшей интенсивностью, определена концентрация 0,0003 мг в 0,1 мл раствора.
3. Микобактерии с коринебактериями имеют общие антигенные детерминанты обуславливающие перекрестную сенсибилизацию организма животных к туберкулину и коринебактериозному аллергену.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Безгин В.М., Козлов В.Е. Новые технологии производства диагностических препаратов для ветеринарной медицины // Ветеринарная медицина: М1жвщомчий тематичний науковий збірник. Харків. 2003. N 81. С. 41-45.
2. Лискова Е.А., Слина К.Н. Выделение микобактерий, нокардиоформных актиномицетов и коринебактерий из патологического материала // Сб. статей VII Международной научно-практической конференции «Научное обеспечение интенсивного развития животноводства и кормопроизводства», Тверь, 22-24 марта, 2016. С. 87-89.
3. Кресс В.М. Туберкулез в Российской Федерации – проблема государственной значимости // Вестник РАМН. 2000. N 12. С. 19-20.
4. Лискова Е.А., Слина К.Н., Блохин А.А. Выделение коринебактерий из объектов животноводческих помещений // Путь науки. 2015. N 12. С. 31-32.
5. Fortune S.M., Solache A., Jaeger A., Hill P.J., Belisle J.T., Bloom B.R., Rubin E.J., Ernst J.D. *Mycobacterium tuberculosis* Inhibits Macrophage Responses to IFN- $\gamma$  through Myeloid Differentiation Factor 88-Dependent and -Independent Mechanisms // J. Immunol. 2004. V. 172. N 10. P. 6272-6280. Doi: 10.4049/jimmunol.172.10.6272
6. Баратов М.О., Ахмедов М.М., Сакидибиров О.П. К выяснению причин неспецифических реакций на туберкулин // Ветеринарный врач. 2014. N 2. С. 24-27.
7. Нуратинов Р.А., Ургув К. Р., Баратов М.О. Кислотоустойчивые микроорганизмы - микобактерии, нокардии, родококки: химический состав, биологические свойства, антигенная структура // Проблемы туберкулеза. 2001. Т. 78. N 5. С. 54-57.
8. Amadori M., Lyaschenko K.P., Gennaro M.L., Pollock J.M., Zerbini I. Use of recombinant proteins in antibody tests for bovine tuberculosis // Vet. Microbiol., 2002. V. 85. Iss. 4. P. 379-389. Doi: 10.1016/s0378-1135(02)00005-6
9. Campos-Neto A., Rodrigues-Junior V., Pedral-Sampaio D.B., Netto E.M., Ovendale P.J., Coler R.N., Skeiky Y.A., Bardaró R., Reed S.G. Evaluation of DPPD, a single recombinant *Mycobacterium tuberculosis* protein as an alternative antigen for the Mantoux test // Tuberculosis (Edinb). 2001. V. 81. Iss. 5-6. P. 353-358. Doi: 10.1054/tube.2001.0311
10. Иванов М.М., Шаров А.Н., Беляев А.С. и др. Стандартизация сухого очищенного туберкулина // Труды ВГНКИ. 1972. Т. 18. С. 20-28.
11. Досон, Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. 543 с.
12. Меджидов М.М., Меджидова Ш.М., Омарова С.М. Микротест-системы в лабораторной диагностике инфекционных болезней. М.: Медицина, 2006. 67 с.
13. Козлов В.Е., Букова Н.К., Найманов А.Х. Оценка активности и специфичности коммерческих серий туберкулина (ППД) для млекопитающих отечественного и зарубежного производства // Ветеринарная патология. 2004. N 1-2(9). С. 82-85.

## REFERENCES

1. Bezgin V.M., Kozlov V.E. New technologies for the production of diagnostic products for veterinary medicine. Veterinarnaya meditsina [Veterinary medicine]. 2003, no. 81, pp. 41-45. (In Russian)
2. Liskov E.A., Slinina K.N. Vydelenie mikobakterii, nokardioformnykh aktinomitsvetov i korinebakterii iz patologicheskogo materiala [Isolation of mycobacteria, nocardioform actinomycetes and corynebacteria from pathological material]. *Sbornik statei VII Mezhdunarodnoi nauchno-*

*prakticheskoi konferentsii «Nauchnoe obespechenie intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva i kormoproizvodstva», Tver', 22-24 marta 2016* [Collection of articles of the VII International Scientific and Practical Conference "Scientific Support for the Intensive Development of Livestock and Feed Production", Tver, 22-24 March 2016]. Tver, 2016, pp. 87-89. (In Russian)

3. Kress V.M. Tuberculosis in the Russian Federation is a problem of national importance. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk* [Annals of the Russian academy of medical sciences]. 2000, no. 12, pp. 19-20. (In Russian)

4. Liskova E.A., Slinina K.N., Blokhin A.A. Corynebacteria recovery from livestock house objects. *Put' nauki* [The Way of Science]. 2015, no. 12, pp. 31-32. (In Russian)

5. Fortune S.M., Solache A., Jaeger A., Hill P.J., Belisle J.T., Bloom B.R., Rubin E.J., Ernst J.D. *Mycobacterium tuberculosis* Inhibits Macrophage Responses to IFN- $\gamma$  through Myeloid Differentiation Factor 88-Dependent and -Independent Mechanisms. *J. Immunol.* 2004, vol. 172, no. 10, pp. 6272-6280. Doi: 10.4049/jimmunol.172.10.6272

6. Baratov M.O., Akhmedov M.M., Sakidibirov O.P. To clarify the causes of non-specific reactions to tuberculin. *Veterinarnyi vrach* [Veterinary Vrach journal]. 2014, no. 2, pp. 24-27. (In Russian)

7. Nuratinov P.A., Urguyev K.R., Baratov M.O. Acid-resistant microorganisms - mycobacteria, nocardias, rhodococci: chemical composition, biological properties, antigenic structure. *Problemy tuberkuleza* [Problems of Tuberculosis]. 2001, vol. 78, no. 5, pp. 54-57. (In Russian)

8. Amadori M., Lyaschenko K.P., Gennaro M.L., Pollock J.M., Zerbini I. Use of recombinant proteins in antibody tests for bovine tuberculosis. *Vet. Microbiol.*, 2002, vol. 85, iss. 4, pp. 379-389. Doi: 10.1016/s0378-1135(02)00005-6

9. Campos-Neto A., Rodrigues-Junior V., Pedral-Sampaio D.B., Netto E.M., Ovendale P.J., Coler R.N., Skeiky Y.A., Badaró R., Reed S.G. Evaluation of DPPD, a single recombinant *Mycobacterium tuberculosis* protein as an alternative antigen for the Mantoux test. *Tuberculosis (Edinb)*, 2001, vol. 81, iss. 5-6, pp. 353-358. Doi: 10.1054/tube.2001.0311

10. Ivanov M.M., Sharov A.N., Belyaev A.C. et al. [Standardization of dry purified tuberculin]. In: *Trudy VGNKI* [Proceedings of VGNKI]. 1972, V. 18, pp. 20-28. (In Russian)

11. Dawson, R., Elliot D., Elliot W., Jones K. *Spravochnik biokhimiya* [Handbook of Biochemists]. Moscow, Mir Publ., 1991, 543 p. (In Russian)

12. Medzhidov M.M., Medzhidova Sh.M., Omarova S.M. *Mikrotest-sistemy v laboratornoi diagnostike infektsionnykh boleznei* [Microtest systems in the laboratory diagnosis of infectious diseases]. Moscow, Meditsina Publ., 2006, 67 p. (In Russian)

13. Kozlov V.E., Bukova N.K., Naimanov A.Kh. Assessment of the activity and specificity of commercial series of tuberculin (PPD) for mammals of domestic and foreign production. *Veterinarnaya patologiya* [Veterinary Pathology]. 2004, no. 1-2 (9), pp. 82-85. (In Russian)

#### КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Магомед О. Баратов представил практический материал, проанализировал данные и написал рукопись. Омар П. Сакидибилов, Зайдин М. Джамбулатов написали рукопись. Бадрутдин М-С. Гаджиев, Гульнара А. Джабарова, Раиса М. Абдурегимова корректировали рукопись до подачи в редакцию. Все авторы в равной степени несут ответственность за плагиат, самоплагиат и другие неэтические проблемы.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Magomed O. Baratov directed experiments, analyzed data and wrote a manuscript. Omar P. Sakidibirov and Zaydin M. Dzhambulatov wrote the text. Badrutdin M-S. Gadzhiev, Gulnara A. Dzhabarova and Raisa M. Abduragimov corrected the text before submission to the Editor. All authors are equally responsible for plagiarism, self-plagiarism and other ethical transgressions.

#### NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors state that there is no conflict of interest.