

Р.В. Петров, Ю.В. Лобойко, О.В. Збожинська. – К.: ДІА, 2013. – 36 с. 2. Биологические препараты и химические вещества в аквакультуре / О.Н. Давыдов, А.В. Абрамов, Л.Я. Куровская, [и др.]. – К.: Логос, 2009. – 307 с. 3. Влияние препарата "Авесстим" на резистентность курчат-бройлеров А.В. Березовский, Г.А. Фотина <http://www.inenbiol.com/ntb/ntb7.html> - 2012. 4. Давыдов О.Н. Болезни пресноводных рыб / О.Н. Давыдов, Ю.Д. Темниханов. – К.: "Ветинформ", 2003. – 544 с. 5. Давыдов О.Н. Патология крови рыб / О.Н. Давыдов, Ю.Д. Темниханов, Л.Я. Куровская – К., 2005. – 210 с. 6. Иммуноморфология и функциональные процессы при экспериментальном инфицировании бактерий *Aeromonas hydrophila* / Хомякова Т.И., Макарова О.В., Козловский Ю.Е., Хомяков Ю.Н. // Актуальные проблемы транслаторной медицины - № 1 (15), - 2009. – С. 59-63. 7. Лобойко Ю.В. З'ясування ефективності комплексного застосування "Бровермектин-грануляту"™ та імуномодулятора "Авесстим"™ за лернеозної інвазії коропа та їх впливу на організм риб / Ю.В. Лобойко, А.В. Березовський, В.В. Стилель, В.В. Парченко – "Ветеринарна біотехнологія" Бюлетень №22, 2013 – С. 338-344. 8. Супотницький М.В. Микроорганізми, токсини та епідемії / М.В. Супотницький – М.: Вузівська книга, 2000. – 376 с. 9. Collier D.N. Cutaneous infections from coastal and marine bacteria / D.N. Collier // *Dermatol. Ther.* – 2002. – 15:19. 10. Fernandes C.F. Growth of inoculated psychrotrophic pathogens on refrigerated fillets of aquacultured rainbow trout and channel catfish. / Fernandes C.F., Flick G.J., Thomas T.B. // *J. Food Protect.*, 61, 1998. – P. 313–317. 11. Isonhood J.H. *Aeromonas* species in foods / Isonhood J.H., Drake M. // *J. Food Protect.*, 65, 2002. – P. 575–582. 12. Kirov S.M. Investigation of the role of type IV *Aeromonas pilus* (Tap) in the pathogenesis of *Aeromonas* gastrointestinal infection. / Kirov S.M., Barnett T.C., Pepe C.M., Strom M.S., Albert M.J. // *Infect. Immun.*, 68, 2000. – P. 4040–4048. 13. Lehane L. Topically acquired bacterial zoonoses from fish: a review. / Lehane L., Rawlin G.T. // *Med. J. Australia*, 173, 2000. – P. 256–259. 14. Llopis F. Epidemiological and clinical characteristics of bacteraemia caused by *Aeromonas* spp. as compared with *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* / Llopis F. Grau I., Tubau F.E. // *Scand J. Infect Dis.* - 2004. - 36:335/341. 15. Pogorelova N.P. Bacteria of the genus *Aeromonas* as the causative agents of saprophytic infection (in Russian). / Pogorelova N.P., Zhuravleva L.A., Ibragimov F.K.H., Iushchenko G.V. // *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, 4, 1995. - P. 9–12.

Статья передана в печать 15.04.2015 г.

УДК 619:579.873.21

ИММУНОПРЕЦИПИТАЦИЯ ОБЩЕРОДОВЫХ АНТИГЕНОВ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФИЛЬТРАТА MYCOBACTERIUM BOVIS ИММУНОГЛОБУЛИНАМИ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ОЧИЩЕННОГО АЛЛЕРГЕНА НА МОРСКИХ СВИНКАХ

Притыченко А.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Изучена возможность иммунопреципитации общеродовых антигенов культурального фильтрата *Mycobacterium bovis* иммуноглобулинами и стандартизация очищенного аллергена на морских свинках. Наиболее оптимальным методом стандартизации ОСА является его титрование на морских свинках, зараженных МБТ и НТМБ в сравнении с туберкулином. Оптимальным признается то разведение препарата, которое вызывает интенсивные реакции (не менее 10 мм) у животных, инфицированных МБТ и не вызывает их у зараженных НТМБ (папулы не более 5 мм).

Possibility of the immunoprecipitation of antigens to *Mycobacterium* genus of a cultural filtrate of *Mycobacterium bovis* by immunoglobulins and standardization of the purified allergen on guinea pigs are studied. The most optimum method of PSA standardization is titration on the guinea pigs infected with MBT and NTMB in comparison with the tuberculin. That titration of the tuberculin which causes intensive reactions (a papule is not less than 10 mm) on animals infected with MBT and does not cause the reactions (a papule is not more than 5 mm) on animals infected with NTMB admits optimum option.

Ключевые слова: туберкулин, *Mycobacterium bovis*, аллерген, иммунопреципитация, стандартизация аллергенов, морские свинки.

Keywords: tuberculin, *Mycobacterium bovis*, allergen, immunoprecipitation, standardization of allergens, guinea pigs.

Введение. Проблема туберкулеза крупного рогатого скота, по-прежнему остаётся актуальной. Для аллергической диагностики туберкулеза в Республике Беларусь, преимущественно, используют туберкулин очищенный для млекопитающих, производства ОАО «БелВитунифарм». Несмотря на благополучие по туберкулезу, которое обеспечивается проведением плановых массовых мероприятий, существует проблема видовой специфичности туберкулинов [7].

Основной проблемой туберкулино-диагностики считаются неспецифические (парааллергические) реакции [1]. Еще в 30-е годы прошлого века такие реакции начали связывать с инфицированием животных НТМБ, имеющих общие антигены с МБТ [8]. Однако, ранее использовавшийся ГОСТ 16739-88 оценки качества ППД туберкулина не предусматривал параметра видовой специфичности. Этот параметр рекомендован МЭБ [15].

В рамках традиционных технологий решить проблему существенного повышения специфичности туберкулинов не удалось. С середины XX века, были начаты исследования по выделению видоспецифичных антигенов МБТ [6, 11]. Однако лишь в последние годы XX столетия, благодаря прогрессу в области фракционирования и очистки макромолекул, были получены индивидуальные иммунохимически чистые микобактериальные антигены [4, 6, 10]. Несмотря на значительный вклад в этом направлении, ни один из очищенных физико-химическими методами антигенов МБТ не был внедрён в практику диагностики туберкулеза

[14], за исключением высокоактивных, но низкоспецифичных полисахаридных антигенов типа А60 [10]. Это касается и индивидуальных рекомбинантных антигенов и их коктейлей [9].

В направлении получения более специфичных туберкулинов интерес представляют исследования по групповому фракционированию антигенов МБТ. Впервые, R. Moulton, T. Ditz, S. Marcus (1972), фракционируя PPD-S на сефадексе G-200, установили, что основная часть туберкулино-активных веществ, дающих перекрестные реакции у морских свинок, зараженных *M. kansasii*, элюируются в I пике с массой молекул более 200 кДа [13]. Если для фракционирования использовали сефадекс G-150, специфичность высокомолекулярного пика была несколько выше за счет присутствия в нём молекул меньшего размера [5]. Таким образом, удалением высокомолекулярной фракции удавалось достоверно повысить специфичность целевого продукта, но получить строго специфичный препарат не удалось даже при использовании дополнительных этапов и сочетании методов очистки. Чешские, американские и шведские учёные пятькратно осаждали культуральный фильтрат *M. tuberculosis* H₃₇R_v CA, подвергали ультрафильтрации на мембранах 10 kDa, а полученные фракции разделяли в электрофорезе в 4,75%, 7% и 15% ПААГе. При испытании электрофоретических фракций, выделенных из ПААГ на морских свинках, заражённых *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. Intracellulargae*, было установлено, что такой сложный процесс фракционирования лишь незначительно повысил их молекулярную гомогенность и специфичность в сравнении с PPD-S [12].

Использование гель-фильтрации в промышленном получении туберкулина оказалось невозможным из-за малого объёма очищаемого материала и длительности процесса, но развитие техники ультрафильтрации, позволяющей разделять большие объёмы биологических жидкостей, сделало технологичным процесс группового фракционирования молекул по размерам [2].

В 1975 году Turcotte показал, что адсорбция протоплазматического экстракта *M. tuberculosis* антителами к *M. kansasii* на 55% снижает его туберкулиновую активность. При этом он теряет способность вызывать аллергическую реакцию у морских свинок, сенсibilизированных *M. kansasii* [16]. Hamman et al (1989) и А.П. Лысенко (1994), используя этот принцип, получили видоспецифичные аллергены [6], успешно испытанные на крупном рогатом скоте [3]. Однако, отсутствие в то время технологичных методов разделения макромолекул не позволило организовать массовое производство аллергенов с повышенной специфичностью.

Таким образом, существовавшие методы контроля туберкулина не предусматривают тест на уровень перекрестных реакций, а физико-химические методы очистки микобактериальных антигенов и использование рекомбинантных технологий не позволили получить перспективный коммерческий препарат для диагностики туберкулёза крупного рогатого скота. Наиболее перспективным является повышение специфичности туберкулина за счёт группового фракционирования и удаления высокомолекулярной фракции, а также биоспецифический метод удаления общеродовых антигенов.

Цель исследований - изучение возможностей иммунопреципитации общеродовых антигенов культурального фильтрата *Mycobacterium bovis* иммуноглобулинами и стандартизация очищенного аллергена на морских свинках.

Материал и методы исследований. Работа выполнена на кафедре микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ, в отделе зоонозов и разработки диагностических препаратов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

В работе использовали штаммы *M. bovis* № 8, *M. bovis* Vallee, *M. bovis* БЦЖ-1, а также штаммы *M. bovis* БЦЖ, *M. bovis* СР₂, *M. avium* 1603, *M. terrae* 15722 АТСС, *M. fortuitum* 342, *M. phlei* 1889, *M. tuberculosis* H₃₇R_v. Среды: Гельберга, Павловского, Сотона, Микофаст.

Для идентификации штаммов использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР), которую ставили по стандартному протоколу на амплификаторе Bio-Rad C1000 с праймерами IS1081, IS81, IS6110, ET (ИБОХ НАН Беларуси).

Антигенный состав производственных штаммов и туберкулинов изучали с использованием бычьих, бараньих и кроличьих антисывороток к соникатам инактивированной 3-5% фенолом бактериальной массы *M. bovis* 8, *M. bovis* Vallee, *M. avium* 1603, *M. scrofulaceum* 526, *M. fortuitum* 342, *M. phlei* 1889.

Антигены получали дезинтеграцией инактивированной 3-5% фенолом бактериальной массы микобактерий на ультразвуковых дезинтеграторах УЗДН-1 и Vandelin (5-10 мг/мл в 0,5% феноле, pH 7,2, 15 кгц, 100 В/см², 15-20 мин).

Имунопреципитацию проводили по общепринятой методике.

Ультрафильтрацию проводили на ультраfiltре Minitan II S (Millipore) с мембранами РНТК с пределом задержания 300, 100, 30 и 10 kDa, на ультраfiltре с полыми волокнами 300 и 15 К (Биосарт).

Серии ОСА исследовали в каждой пробе на морских свинках.

Результаты исследований. Очистка автоклавированного культурального фильтрата включала следующие этапы: концентрирование осаждением ТХУ, ультрафильтрация для отделения высокомолекулярной фракции, иммунопреципитация антителами, удаление иммунных комплексов путем осаждения ПЭГ и ультрафильтрацией.

В результате были получены 6 серий продукта, условно названного ОСА (очищенный специфический аллерген). С учетом варьирования условий очистки проблемой явилась стандартизация получаемого продукта. Ее основным критерием был выбор такого разведения ОСА, в котором он вызывает интенсивные реакции у животных, зараженных МБТ, а особи, инфицированные НТМБ, на него не реагируют.

В таблице 1 приводятся результаты испытания ОСА серии 1 ип в каждой пробе на морских свинках. Предварительно ОСА развели в соотношении 2 мл + 7,5 мл растворителя и сделали разведения 1:20, 1:40, 1:100. Разведения ТО и ОСА по 0,2 мл вводили морским свинкам, инфицированным *M. bovis* и НТМБ (таблица 1).

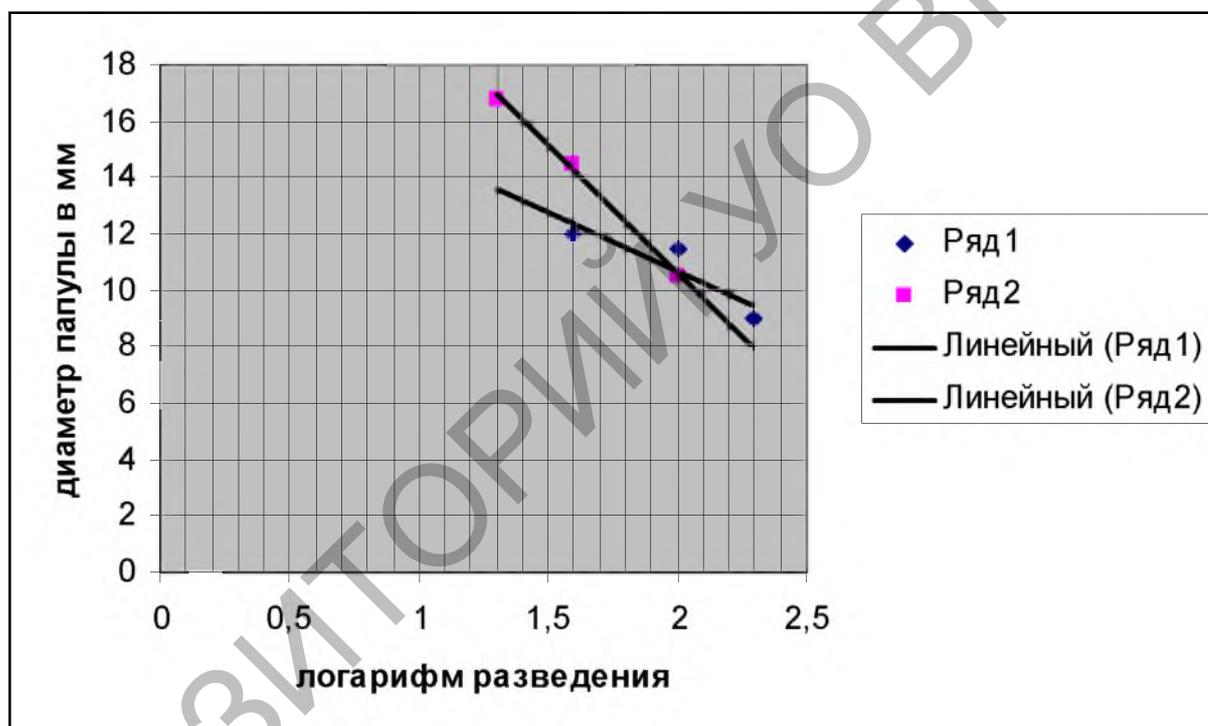
Таблица 1 – Среднеарифметические размеры папул в мм на введение ТО серии 66 и ОСА у здоровых морских свинок, инфицированных НТМБ и МБТ

Группы морских свинок	Разведения ТО сер. 66			Разведения ОСА сер. 1 ип		
	1:40	1:100	1:200	1:20	1:40	1:100
Здоровые	0	0	0	0	0	0
НТМБ	6,0	4,0	2	0	0	0
M. bovis	12,0	11,5	9,0	16,8	14,5	10,5

Как видно из таблицы 1, ОСА не вызывал изменений в коже здоровых морских свинок, следовательно, был нереагтогенным. ТО вызывал реакции (до 6 мм) у морских свинок, инфицированных НТМБ. На ОСА таких реакций не отмечено.

Активность ТО 66 и ОСА сер. 1 ип у морских свинок, зараженных M. bovis, сопоставлена на рисунке 1. Линии активности препаратов пересекались, что свидетельствует о различиях в их биологических свойствах. В концентрированных растворах активность ОСА была выше, чем у ТО, но в разведённом состоянии – меньше, что свидетельствует о более узком наборе антигенов в ОСА.

Суммарная разница расстояния между линиями активности составила 0,23 log. $\text{antilog } 0,23$ равняется 1,69. Следовательно, испытанный ОСА (разведенный 2 мл + 7,5 мл растворителя), можно дополнительно разводить добавлением на 1 мл - 0,69 мл растворителя.

**Рисунок 1 - Зависимость аллергической активности ОСА сер. 1 ип от логарифма разведения у морских свинок, инфицированных M. bovis**

В таблице 2 представлены результаты исследования ОСА серии 7-15 после разведения 1+0,69 и ОСА серии 1-2 (в разведениях 1:40 и 1:80). Установлено, что ТО (1:40) давал выраженные перекрёстные реакции у морских свинок, зараженных НТМБ, причем через 48 часов различий в интенсивности реакций в гомологичной и гетерологичной системе практически не было. Обе серии ОСА оказались достоверно специфичнее ТО (разница 7,2-10,2 мм). При разведении ОСА с 1:40 до 1:80 активность обеих серий даже возрастала. Последующее разведение несколько снижало активность ОСА, но повышала специфичность.

Таблица 2 – Активность и специфичность ОСА серии 7-15+0,69 и ОСА сер1-2 (размер папул в мм)

Группы	ТО 1:40	ОСА 7-15	ОСА 7-15 + 0,69,	ОСА 7-15 + 0,69,	ОСА 1-2	ОСА 1-2
		1:40	1:40	1:80	1:40	1:80
Через 24 ч						
M. bovis	15,3	16,4	16,7	15,4	15,3	18
НТМБ	11,0	6,2	5,3	7,1	8,1	7,1
Разница	4,3	10,2	11,4	8,3	7,2	10,9
Через 48 ч						
M. bovis	11,0	13,1	12,4	12,6	16,9	13,5
НТМБ	12,0	10,7	8,0	8,0	12,8	9,8
Разница	-1	2,3	4,4	4,6	4,1	3,7

Для дальнейшего титрования ОСА и подбора концентрации, не вызывающей перекрестных реакций у морских свинок, сенсibilизированных НТМБ, провели исследование:

- №1- ТО с.66 1:40 (контроль);
- №5 -ОСА с.5-15 0,5 мл+0,35 растворителя – 0,25 мл+10 мл растворителя;
- №2 -разведение №5 + равный объем растворителя (1:80);
- №4- ОСА с.5-15 1:40;
- №3- ОСА с.1200 1:40;
- №6 ОСА с.1200 1:80.

Результаты учёта реакций представлены в таблице 3. Как видно, все разведения ОСА вызывали выраженные аллергические реакции у морских свинок, заражённых *M. bovis*, которые по интенсивности достоверно не отличались от ТО в разведении 1:40. Вместе с тем, у морских свинок заражённых НТМБ реакции на ОСА были заметно меньше, чем на туберкулин, а у варианта №5 они находились на нижней границе положительной реакции (5,3±1,4 мм).

Таблица 3 - Диаметры папул в мм у морских свинок, сенсibilизированных *M. bovis* ВСГ и НТМБ

Группы	№1- ТО с.66 1:40	Разведение №2 + равный объем растворителя (1:80)	Разведение №3- ОСА 1200 1:40;	Разведение №4- ОСА 5- 15 1:40;	Разведение №5 - ОСА 5-15 0,5 мл + 0,35 растворителя – 0,25 мл+10 мл растворителя	Разведение №6 ОСА 1200 1:80
M.bovis 1	11	13	15	16	19	15
M.bovis 2	15	18	16,5	16	18	24
M.bovis 3	16,5	14	16	17	17	15
M.bovis 4	17	16	15	18	16,5	18
M.bovis 5	17	16	14	15	13	18
M±m	15,3±1,2	15,4±0,95	15,3±0,47	16,4±0,6	16,7±0,97	18,0±1,5
НТМБ1	13,5	10	11,5	4	8	13
НТМБ2	15	10,5	13	13	12	12,5
НТМБ3	9	4	4	6	3	3
НТМБ4	5	3	3	3	3	3
НТМБ5	6	3	3	3	3	3
НТМБ6	10	5,5	3	3	2	2
НТМБ7	6,5	3	2	4,5	2	2
НТМБ8	9,5	7	11	5	2	9
НТМБ9	9,5	3	3	3	3	3
НТМБ10	18,5	14	19,5	11,5	15	15
НТМБ11	18	14,5	15,5	10	5	12,5
M±m	11±1,2	7,1±1,5	8,1±2,2	6,2±1,2	5,3±1,4	7,1±1,9

В таблице 4 представлены результаты статистической обработки сравнения интенсивности реакций в группах морских свинок, сенсibilизированных *M. bovis* и НТМБ.

Таблица 4 - Сравнение интенсивности реакций в группах морских свинок, сенсibilизированных *M. bovis* и НТМБ

Группы	№1- ТО с.66 1:40	№2 + равный объем растворителя (1:80)	№3- ОСА1200 1:40	№4- ОСА 5-15 1:40	№5 -ОСА 5-15 0,5 мл + 0,35 растворителя – 0,25 мл +10 мл растворителя	№6 ОСА 1200 1:80
M. bovis ВСГ	15,3±1,2	15,4±0,95	15,3±0,47	16,4±0,6	16,7±0,97	18,0±1,5
НТМБ	11±1,2	7,1±1,5	8,1±2,2	6,2±1,2	5,3±1,4	7,1±1,9
Различия в интенсивности реакций (мм) между <i>M. bovis</i> и НТМБ	4,3	8,3	7,2	10,2	11,4	10,9
Достоверность различий P %	P = 3%	P меньше 0,1%	P = 0,8%	P меньше 0,1%	P меньше 0,1%	P меньше 0,1%

Как видно из таблицы 4, испытанные аллергены вызывали у морских свинок, заражённых НТМБ, достоверно менее интенсивные реакции, чем у заражённых *M. bovis*. Наибольшая разница отмечалась у разведений ОСА серии 5-15, которую далее обозначили и использовали, как ОСА серии 1 ип.

Для стандартизации оптимальной серией препарата ОСА 1 ип провели опыт на морских свинках с использованием ТО 66 в разведении 1:40 (контроль) и ОСА 1 ип в разведениях:

- 1,8 мл концентрата+7,2 мл растворителя;
- 0,9 мл концентрата+7,2 мл растворителя;
- 0,6 мл концентрата+7,2 мл растворителя.

Реакции учитывали через 24 ч, определяя размеры папул (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты определения оптимального разведения ОСА 1 ип. Диаметры папул в мм у морских свинок, сенсibilизированных M. bovis BCG и НТМБ

Группы	ТО 66	ОСА 1,8 мл концентрата +7,2 мл растворителя	ОСА 0,9 мл концентрата +7,2 мл растворителя	ОСА 0,6 мл концентрата +7,2 мл растворителя
M. bovis 1	13,5	13	9	7,5
M. bovis 2	13	11	11	9
M. bovis 3	13,3	10,5	7,5	5
M. bovis 4	11	11,5	11	7,5
M. bovis 5	17	14	11	4
M. bovis 5	17,5	17	11,5	11
M. bovis 6	14	12	9	8
M. bovis 7	14,5	14	14,5	11
M. bovis 8	15,5	14	15	6
M. bovis 9	16	11,5	14	12
M. bovis 10	10,5	8,5	13	8
M±m	14,2±0,69	12,5±0,7	11,5±0,75	8,1±0,76
НТМБ 1	8	6	7	3
НТМБ 2	3	0	2	3
НТМБ 3	4	2	2	3
НТМБ 4	11	3	3	3
НТМБ 5	4	2	2	2
M±m	6±1,75	3±1,0	3,2±0,95	2,8±0,35

Установлено, что в разведении 1,8+7,2 ОСА вызывал аллергические реакции у морских свинок группы M. bovis, которые не отличались по интенсивности от ТО в разведении 1:40. Вместе с тем, это разведение ОСА в отличие от ТО, не вызывало реакций в группе НТМБ. В разведении ОСА 0,6 мл концентрата + 7,2 мл растворителя перекрёстные реакции отсутствовали у всех животных, инфицированных НТМБ. Следовательно, оптимальным разведением концентрата ОСА является 1:8-1:10.

Заключение. Проведённые исследования позволили установить, что наиболее оптимальным методом стандартизации ОСА является его титрование на морских свинках, зараженных МБТ и НТМБ в сравнении с туберкулином. Оптимальным признается то разведение препарата, которое вызывает интенсивные реакции (не менее 10 мм) у животных, инфицированных МБТ и не вызывает их у зараженных НТМБ (папулы не более 5 мм).

Литература. 1. Агапова, М.Ф. Эпизоотологическое обоснование и экономическая эффективность рациональной дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / М.Ф. Агапова ; ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО РАСХН. – Новосибирск, 2006. – 19 с. 2. Козлов, В.Е. Аллергены для диагностики туберкулеза : совершенствование производства и стандартизация : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 16.00.03 ; 03.00.23 / В.Е. Козлов ; ФГУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» – Москва, 2007. – 43 с. 3. Кузнецов, Н.А. Оценка и прогнозирование эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота по результатам аллергической диагностики, методы и средства ее совершенствования : автореф. дис. ... канд. вет. наук / Н.А. Кузнецов ; Академия аграрных наук Республики Беларусь. Белорусский НИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 2000. – 19 с. 4. Литвинов, В.И. Выделение иммуносorbентной аффинной хроматографией антигена M. bovis БЛЖ, его характеристика и использование для определения противотуберкулёзных антител / В.И. Литвинов, Л.Н. Черноусова, Б.Ш. Гильдбург // Иммунология. – 1988. – № 5. – С. 46–48. 5. Лысенко, А.П. Антигенные комплексы Mycobacterium bovis и их значение в диагностике туберкулёза : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / А.П. Лысенко ; БелНИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 1984. – 24 с. 6. Лысенко, А.П. Антигены M. bovis и атипичных микобактерий, изучение и применение для дифференциальной диагностики туберкулёза крупного рогатого скота : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.03 / А.П. Лысенко ; БелНИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 1994. – 35 с. 7. Притыченко, А.Н. Туберкулин очищенный для млекопитающих (оптимизация очистки, диагностические и иммунохимические свойства) : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / А.Н. Притыченко ; БНИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 2002. – 17 с. 8. Юсковец, М.К. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птиц / М.К. Юсковец. – Минск : Ураджай, 1963. – 448 с. 9. Adams, L.G. In vivo and in vitro diagnosis of Mycobacterium bovis infection / L.G. Adams // Rev. sci. tech. int. Epiz. – 2001. – Vol. 20 (1). – P. 304–324. 10. Cocito, C. Preparation and properties of antigen 60 from M. bovis BCG / C. Cocito, F. Vanlinden // Clin. exp. Immunol. – 1986. – Vol. 66. – P. 262–272. 11. Fife, J. Soluble Mycobacterium bovis protein antigens: studies on their purification and immunological evaluation / J. Fife, J.S. Rothel, P.R. Wood // Microbiol. – 1994. – № 40. – P. 65–81. 12. Kooperativni mezilaboratori studie species-specifickeho tuberculinu pro kozni testy nahomologne a heterologne Zenzibilizovanych morcatech / L.F. Affronti [et al] // Studia pneumologica et phisiologica cehoslovaca. – 1985. – Vol. 45. – P. 3–14. 13. Moulton, R. Isolation of specific and nonspecific components from purified proteins derivative / R. Moulton, T. Dietz, S. Marcus // Am. Rev. Resp. Dis. – 1972. – Vol. 106. – P. 213–216. 14. OIE Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals // Fifth Edition. – 2004. – Vol. 1. – P. 723. 15. Palmer, D. N. Bovine tuberculosis in OIE manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, 5th ed. / D. N. Palmer // World Organisation for Animal Health, France [Electronic resource] – 2004. – Mode of access: [http : //www.oie.int/eng/normes/en_mmanual.htm](http://www.oie.int/eng/normes/en_mmanual.htm). 22. – Data of access : 23.07.2004. 16. Turcotte, R. Purification and characterization of tuberculin-active components from BCG / R.Turcotte, M. Laguerre, // Can J Microbiol. : - 27. J. Gen. Microbiol. – 1975. – Dec; 21 (12). – P. 2019.

Статья передана в печать 21.04.2015 г.