



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-2-183-188>  
УДК 619:579.873.21:615.37:636.91

# Изучение иммунотерапевтических свойств конъюгата антигенов БЦЖ с бетулоновой кислотой на морских свинках, инфицированных *Mycobacterium scrofulaceum*

И. Н. Кошкин, В. С. Власенко, Н. А. Денгис

ФГБНУ «Омский аграрный научный центр» (ФГБНУ «Омский АНЦ»), пр. Королева, 26, г. Омск, 644012, Россия

## РЕЗЮМЕ

В настоящей работе представлены результаты изучения иммунотерапевтических свойств препарата из антигенного комплекса БЦЖ, конъюгированного с бетулоновой кислотой, после экспериментального заражения морских свинок культурой *Mycobacterium scrofulaceum*, относящейся к нетуберкулезным микобактериям II типа по классификации Раньона. С этой целью проведен опыт на 15 морских свинок, из которых было сформировано 3 группы. Животным 1-й и 2-й групп ( $n = 10$ ) подкожно инокулировали *Mycobacterium scrofulaceum* в дозе 5 мг, после чего особям 2-й группы ( $n = 5$ ) через 14 сут подкожно вводили конъюгат антигенов БЦЖ с бетулоновой кислотой в дозе 500 мкг/мл белка. Пять интактных особей служили контролем. При проведении экспериментов оценивали функциональное состояние бактерицидных систем нейтрофилов, а также выполняли патогистологические исследования паховых лимфатических узлов. В результате было установлено, что сенсibilизация морских свинок *Mycobacterium scrofulaceum* активизирует деятельность катионных белков и миелопероксидазы нейтрофилов, и по мере выведения микобактерий из организма к 42-м сут от начала эксперимента их концентрация снижалась до уровня контрольной группы. Введение препарата индуцировало более выраженное усиление внутриклеточного метаболизма фагоцитов в течение всего срока наблюдения, способствуя элиминации нетуберкулезных микобактерий из организма животных уже на 7-е сут после обработки конъюгатом, что подтверждалось отсутствием микобактериального антигена в мазках крови при исследовании в реакции непрямой иммунофлуоресценции, а также патогистологическими изменениями в паховых лимфатических узлах, которые выражались уменьшением выраженных центров размножения в лимфатических фолликулах.

**Ключевые слова:** нетуберкулезные микобактерии, морские свинки, бацилла Кальмета – Герена (БЦЖ), бетулоновая кислота, нейтрофилы, паховые лимфатические узлы

**Благодарности:** Статья подготовлена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках проведения научно-исследовательских работ по теме FNUN-2022-0035 «Разработка новых и усовершенствование существующих средств и методов диагностики и профилактики социально-значимых инфекций с целью сохранения эпизоотического благополучия и получения качественной и безопасной продукции с учетом генетических баз данных и особенностей возбудителей, направлений и селекции животноводства, технологий кормления, экономических и географических условий». Авторы выражают благодарность профессору, доктору химических наук И. В. Кулакову за предоставление бетулоновой кислоты, синтезированной на кафедре органической и экологической химии Института химии ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет».

**Для цитирования:** Кошкин И. Н., Власенко В. С., Денгис Н. А. Изучение иммунотерапевтических свойств конъюгата антигенов БЦЖ с бетулоновой кислотой на морских свинках, инфицированных *Mycobacterium scrofulaceum*. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (2): 183–188. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-2-183-188>

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для корреспонденции:** Власенко Василий Сергеевич, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мер борьбы с туберкулезом отдела ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ», ул. Лермонтова, 93, г. Омск, 644001, Россия, e-mail: [vvs-76@list.ru](mailto:vvs-76@list.ru)

## Studying immunotherapeutic properties of the conjugate based on BCG antigens with betulonic acid in guinea pigs infected with *Mycobacterium scrofulaceum*

Ivan N. Koshkin, Vasily S. Vlasenko, Natalia A. Dengis

Omsk Agrarian Scientific Center, 26 Koroleva ave., Omsk 644012, Russia

## ABSTRACT

The paper reports on the research into the immunotherapeutic properties of a conjugate based on BCG antigens with betulonic acid after experimental infection of guinea pigs with *Mycobacterium scrofulaceum* culture, belonging to nontuberculosis mycobacteria type II according to the Runyon classification. Fifteen guinea pigs were used for the experimental purposes, divided into 3 groups. *Mycobacterium scrofulaceum* was subcutaneously injected into animals of Groups 1 and 2 ( $n = 10$ ) at a dose of 5 mg. Fourteen days later, a conjugate based on BCG antigens with betulonic acid was subcutaneously injected into animals of Group 2 ( $n = 5$ ) at a dose

© Кошкин И. Н., Власенко В. С., Денгис Н. А., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

of 500 µg/mL of protein. Five intact animals were used as controls. During the experiment, neutrophil bactericidal activity was assessed, and histopathological examination of inguinal lymph nodes was done. The experiment showed that the inoculation of *Mycobacterium scrofulaceum* into guinea pigs activates cationic proteins and neutrophil myeloperoxidase, and on experiment day 42 (preceded by mycobacteria withdrawal from the body) their concentration reduced to the level of the control group. The vaccine administration induced a more active intracellular phagocyte metabolism during the entire observation period, which resulted in the elimination of nontuberculosis mycobacteria in animals as early as day 7 after treatment with the conjugate. The elimination was confirmed by the absence of mycobacterial antigen in blood smears tested in indirect immunofluorescence, as well as by histopathological changes in inguinal lymph nodes demonstrated as a reduction of germinal centers within lymphoid follicles.

**Keywords:** non-tuberculosis mycobacteria, guinea pigs, Bacillus Calmette-Guerin (BCG), betulonic acid, neutrophils, inguinal lymph nodes

**Acknowledgements:** The article was prepared with the financial support from the Ministry of Education and Science of the Russian Federation as part of the research project FNUN-2022-0035 "Developing new and improving existing tools and methods for diagnosis and prevention of socially significant infections in order to ensure freedom from epizooties and produce high-quality and safe products, taking into account genetic databases, characteristics of pathogens, trends in livestock breeding, feeding technologies, economic and geographical conditions". The authors express their appreciation to Dr. Sci. (Chemistry), professor I. V. Kulakov for providing betulonic acid synthesized at the Department of Organic and Environmental Chemistry of the Institute of Chemistry of the University of Tyumen.

**For citation:** Koshkin I. N., Vlasenko V. S., Dengis N. A. Studying immunotherapeutic properties of the conjugate based on BCG antigens with betulonic acid in guinea pigs infected with *Mycobacterium scrofulaceum*. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (2): 183–188. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-2-183-188>

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

**For correspondence:** Vasily S. Vlasenko, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Epizootology and Tuberculosis Control, Department of Veterinary Medicine, Omsk Agrarian Scientific Center, 93 Lermontova str., Omsk 644001, Russia, e-mail: [vvs-76@list.ru](mailto:vvs-76@list.ru)

## ВВЕДЕНИЕ

Из насчитывающихся к настоящему времени более 190 видов микроорганизмов рода *Mycobacterium* значительное число представителей относится к группе нетуберкулезных микобактерий, из которых свыше 60 видов патогенны для животных и человека [1, 2].

Нетуберкулезные микобактерии имеют практически повсеместное распространение в окружающей среде и создают существенную проблему в прижизненной и посмертной диагностике туберкулеза крупного рогатого скота, так как инфицирование ими вызывает ложноположительные реакции на введение туберкулин-а из-за наличия в аллелгене антигенных детерминант, общих для нетуберкулезных и патогенных микобактерий. В дополнение к этому видимые и микроскопические изменения, индуцированные нетуберкулезными микобактериями, в некоторых случаях трудно различимы от поражений, вызванных *Mycobacterium tuberculosis* и *Mycobacterium bovis* [2, 3, 4, 5, 6].

По мере снижения распространения туберкулеза крупного рогатого скота и усиления мер по диагностике для выявления остаточной инфекции на территориях, где были внедрены программы борьбы с этой патологией, обнаруживалось увеличение числа микобактериозов, обусловленных нетуберкулезными микобактериями [7, 8, 9, 10]. Несмотря на растущий интерес к этой проблеме, опубликованных данных о нетуберкулезных микобактериальных инфекциях по-прежнему мало, а имеющаяся литература в основном сосредоточена на комплексе *Mycobacterium avium* и его подвидах [11, 12, 13, 14, 15].

Для решения проблемы неспецифических реакций, индуцированных нетуберкулезными микобактериями, помимо прижизненных дифференциальных тестов (симультанная, пальпебральная пробы и др.), альтернативным направлением может служить применение специфических иммунопрофилактических или иммунотерапевтических средств. В нескольких недавних исследованиях отмечается, что выработке перекрестно-реактивного иммунитета к нетуберку-

лезным микобактериям способствует вакцинация БЦЖ [16, 17, 18, 19], а также иммунизация нереагентами конъюгатами на основе протективных антигенов, выделенных из вакцины БЦЖ, с полиионами [20]. Однако некоторые ученые утверждают, что предшествующий контакт с нетуберкулезными микобактериями может оказать антагонистическое влияние, снижая эффективность иммунизации, но это касалось только живой вакцины БЦЖ и не оказывало влияния на защитное действие инактивированных субъединичных противотуберкулезных вакцин [21, 22, 23, 24].

По нашему мнению, перспективными в этом плане также могут быть конъюгаты антигенов БЦЖ с бетулином и его производными, бетулиновой и бетулоновой кислотами. В частности, молекулярный докинг показал, что бетулоновая кислота в большинстве случаев проявляет наивысшую ингибирующую активность в отношении белковых мишеней, являющихся структурными частями *Mycobacterium tuberculosis* и/или *Mycobacterium bovis* [25].

В связи с изложенным целью данной работы стало изучение иммунотерапевтической эффективности экспериментального конъюгата антигенов БЦЖ с бетулоновой кислотой.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования были проведены на морских свинках линии агути в соответствии с требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18.03.1986 и одобрены локальным независимым этическим комитетом организации по уходу и использованию лабораторных животных ФГБНУ «Омский АНЦ». Группы экспериментальных животных подбирали по принципу аналогов (масса – 400–500 г, возраст – 4–5 мес.).

Для заражения экспериментальных животных использовали 14–21-суточную культуру скотохромогенных микобактерий *Mycobacterium scrofulaceum* (II тип по классификации Раньона), которую вводили под-

кожно в область паха слева в дозе 5 мг/мл. Инокуляции культуры микобактерий были подвергнуты 10 гол., из которых сформировали 2 группы: 1-я – инфицированные *Mycobacterium scrofulaceum* ( $n = 5$ ); 2-я – инфицированные *Mycobacterium scrofulaceum* и через 14 сут обработанные конъюгатом антигенов БЦЖ с бетулоновой кислотой ( $n = 5$ ). Еще 5 интактных морских свинок составляли контрольную группу.

Экспериментальный конъюгат антигенных комплексов БЦЖ с бетулоновой кислотой конструировали в соответствии с авторской разработкой. Препарат животным вводили подкожно в дозе 500 мкг/мл белка. Бетулоновая кислота синтезирована на кафедре органической и экологической химии Института химии ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет» и любезно предоставлена для исследований профессором, доктором химических наук И. В. Кулаковым.

Микобактериальный антиген в пробах крови выявляли с помощью реакции непрямой иммунофлуоресценции в соответствии с методическими рекомендациями Н. Н. Новиковой и соавт. [26]. Активность миелопероксидазы и содержание катионных белков нейтрофилов крови оценивали с помощью бензидиновой пробы и теста с бромфеноловым синим с распределением фагоцитов по степени наполненности цитоплазмы гранулами (1, 2 и 3-я) с последующим расчетом в соответствии со стандартными методиками средних цитохимических коэффициентов (СЦК).

Аллергические исследования осуществляли с помощью внутрикожного введения туберкулина очищенного (ППД) для млекопитающих до начала эксперимента и на 21-е сут после инфицирования. Взятие крови для серологических исследований проводили на 21-е и 42-е сут после введения скотохромогенных микобактерий; для оценки функционального состояния нейтрофилов – на 14, 28 и 42-е сут.

Эвтаназию лабораторных животных осуществляли на 45-е сут от начала эксперимента с помощью ингаляционного наркоза парами эфира с последующим тотальным обескровливанием. Для гистологических исследований брали кусочки паховых лимфоузлов (регионарных к месту инокуляции культуры микобактерий, а также с противоположной стороны), помещали в кассеты с 10%-м раствором нейтрального формалина в фосфатном буфере, далее материал заливали в парафин, используя станцию MICROM EC 350 (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Серийно гистосрезы толщиной 5–7 мкм изготавливали на роторном микротоме MICROM HM 340 (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Гистопрепараты окрашивали гематоксилином и эозином, а затем проводили их микроскопию.

Математическую обработку полученных данных проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики, включающих определение средних арифметических ( $M$ ) и расчет ошибок средних арифметических ( $m$ ). При оценке достоверности различий ( $p$ ) между двумя средними величинами  $M_x$  и  $M_y$  использовали  $t$ -критерий Стьюдента. Различия результатов считали статистически достоверными при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Инокуляция морским свинкам *Mycobacterium scrofulaceum* сопровождалась усилением кислород-независимой активности нейтрофилов, о чем свиде-

тельствовало увеличение числа фагоцитов с высокой наполненностью цитоплазмы гранулами (3-я степень), содержащими катионные белки, в 1-й и 2-й опытных группах соответственно в 1,60 и 1,74 раза ( $p < 0,01$ ) относительно контроля. Вследствие этих изменений также происходило повышение средних цитохимических коэффициентов в 1,65 раза (табл. 1).

Состояние повышенной чувствительности замедленного типа на туберкулиновую пробу, проведенную через 21 сут после заражения морских свинок, развивалось только у 60% особей, которым не вводили экспериментальный препарат (1-я группа), тем не менее микобактериальный антиген в реакции непрямой иммунофлуоресценции обнаруживался у всех животных этой группы. Средний размер кожной припухлости у реагирующих особей составил  $4,33 \pm 0,33$  мм.

На 28-е сут после сенсibilизации морских свинок нетуберкулезными микобактериями II группы по Раньону сохранялась идентичная тенденция, характеризующаяся достоверным увеличением концентрации катионных белков нейтрофилов в опытных группах относительно контрольной. Следует отметить, что активность антимикробных пептидов нейтрофилов была более высокой в группе животных, подвергнутых обработке экспериментальным препаратом на 14-е сут после инокуляции скотохромогенных микобактерий (2-я группа), и находилась на том же уровне, который наблюдался при исследовании двумя неделями ранее. В то же время у животных 1-й группы интенсивность метаболических процессов, напротив, была ниже по сравнению с предыдущим тестированием.

**Таблица 1**  
Содержание катионных белков нейтрофилов у животных в разные сроки после инокуляции *Mycobacterium scrofulaceum*,  $M \pm m$

**Table 1**  
Level of neutrophil cationic proteins in animals at different moments post inoculation of *Mycobacterium scrofulaceum*,  $M \pm m$

| Цитохимические параметры   | Группа животных |                |                 |
|--|-----------------|----------------|-----------------|
|  | контроль        | 1-я опытная    | 2-я опытная     |
| 14-е сут после инокуляции микобактерий                                     |                 |                |                 |
| 1-я степень, %   | 5,00 ± 0,58     | 11,33 ± 3,33   | 10,00 ± 3,05    |
| 2-я степень, %   | 9,66 ± 1,67     | 16,66 ± 2,40   | 10,00 ± 1,15    |
| 3-я степень, %   | 33,00 ± 1,15    | 52,66 ± 5,78*  | 57,33 ± 4,37**  |
| Средний цитохимический коэффициент, у. е.                                  | 1,23 ± 0,02     | 2,03 ± 0,11**  | 2,02 ± 0,12**   |
| 28-е сут после инокуляции микобактерий (14-е сут после введения препарата) |                 |                |                 |
| 1-я степень, %   | 3,33 ± 0,67     | 8,33 ± 2,85    | 3,66 ± 0,88     |
| 2-я степень, %   | 14,00 ± 0,58    | 12,66 ± 2,40   | 9,66 ± 0,33**   |
| 3-я степень, %   | 29,33 ± 2,18    | 45,33 ± 1,33** | 57,00 ± 4,04**  |
| Средний цитохимический коэффициент, у. е.                                  | 1,19 ± 0,06     | 1,70 ± 0,05**  | 1,94 ± 0,11**   |
| 42-е сут после инокуляции микобактерий (28-е сут после введения препарата) |                 |                |                 |
| 1-я степень, %   | 5,33 ± 2,33     | 5,00 ± 0,58    | 2,66 ± 1,76     |
| 2-я степень, %   | 11,00 ± 0,58    | 11,66 ± 0,88   | 7,00 ± 1,73     |
| 3-я степень, %   | 30,00 ± 4,58    | 33,33 ± 2,73   | 71,66 ± 2,03*** |
| Средний цитохимический коэффициент, у. е.                                  | 1,17 ± 0,12     | 1,28 ± 0,08    | 2,31 ± 0,08**   |

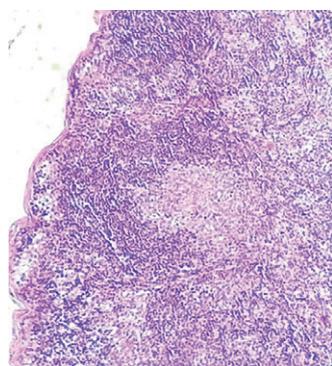
\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

**Таблица 2**  
Ферментная активность миелопероксидазы нейтрофилов у животных в разные сроки после инокуляции *Mycobacterium scrofulaceum*,  $M \pm m$

**Table 2**  
Enzyme activity of neutrophil myeloperoxidase in animals at different moments post inoculation of *Mycobacterium scrofulaceum*,  $M \pm m$

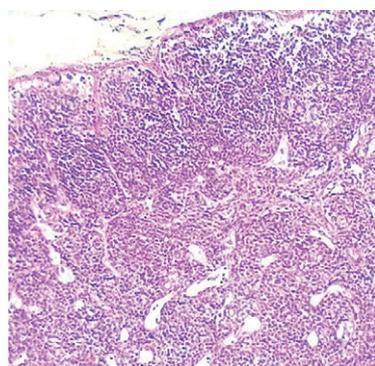
| Цитохимические параметры   | Группа животных |                |                 |
|--|-----------------|----------------|-----------------|
|  | контроль        | 1-я опытная    | 2-я опытная     |
| 14-е сут после инокуляции микобактерий                                     |                 |                |                 |
| 1-я степень, %   | 9,33 ± 0,67     | 9,66 ± 0,88    | 10,33 ± 3,18    |
| 2-я степень, %   | 12,33 ± 1,85    | 18,66 ± 1,67   | 19,33 ± 2,33    |
| 3-я степень, %   | 21,33 ± 3,53    | 42,66 ± 1,33** | 43,00 ± 3,21*   |
| Средний цитохимический коэффициент, у. е.                                  | 0,98 ± 0,08     | 1,75 ± 0,06**  | 1,78 ± 0,02**   |
| 28-е сут после инокуляции микобактерий (14-е сут после введения препарата) |                 |                |                 |
| 1-я степень, %   | 5,66 ± 0,67     | 15,00 ± 1,53   | 10,00 ± 0,58**  |
| 2-я степень, %   | 7,33 ± 2,60     | 14,66 ± 2,33   | 13,00 ± 2,08    |
| 3-я степень, %   | 23,33 ± 0,88    | 36,00 ± 5,68   | 44,66 ± 4,98*   |
| Средний цитохимический коэффициент, у. е.                                  | 0,90 ± 0,06     | 1,52 ± 0,13*   | 1,70 ± 0,18*    |
| 42-е сут после инокуляции микобактерий (28-е сут после введения препарата) |                 |                |                 |
| 1-я степень, %   | 7,66 ± 1,33     | 7,33 ± 0,33    | 5,66 ± 1,85     |
| 2-я степень, %   | 8,66 ± 2,33     | 13,66 ± 3,18   | 12,66 ± 1,45    |
| 3-я степень, %   | 26,00 ± 1,00    | 23,33 ± 2,03   | 59,33 ± 0,88*** |
| Средний цитохимический коэффициент, у. е.                                  | 1,03 ± 0,03     | 1,05 ± 0,04    | 2,09 ± 0,01***  |

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .



**Рис. 1.** Лимфатический фолликул с большим центром размножения. Регионарный лимфатический узел морской свинки (1-я группа). Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 50x

**Fig. 1.** A lymphoid follicle with a large germinal center. Regional lymph node of a guinea pig (Group 1). Staining with hematoxylin and eosin, magnification 50x



**Рис. 2.** Снижение ширины коркового вещества и размера лимфатических фолликулов, не имеющих центров размножения. Регионарный лимфатический узел морской свинки (2-я группа). Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 50x

**Fig. 2.** Reduction of cortical substance volume and size of lymphatic follicles without germinal centres. Regional lymph node of a guinea pig (Group 2). Staining with hematoxylin and eosin, magnification 50x

По истечении еще 14 сут наблюдалось дальнейшее снижение концентрации катионных белков у морских свинок 1-й опытной группы до уровня контрольных значений. Так, цитохимический коэффициент в сред-

нем по группе составил  $1,28 \pm 0,08$  у. е., а в контроле –  $1,17 \pm 0,12$  у. е. У животных, подвергнутых иммунизации экспериментальным конъюгатом, напротив, уровень кислород-независимого метаболизма нейтрофилов возрастал за счет увеличения числа высокоактивных фагоцитов в 2,39 раза ( $p < 0,001$ ) и, как следствие, среднего цитохимического коэффициента в 1,97 раза ( $p < 0,01$ ).

Введение морским свинкам *Mycobacterium scrofulaceum* также индуцировало усиление кислород-зависимой активности нейтрофилов (табл. 2). Так, в обеих опытных группах с высокой степенью достоверности ( $p < 0,01$ ) возрастал уровень среднего цитохимического коэффициента миелопероксидазы соответственно в 1,79 и 1,82 раза за счет увеличения числа высокоактивных фагоцитов в 2 раза относительно контрольной группы.

В последующие сроки исследования у морских свинок 2-й опытной группы наблюдали достоверное повышение ферментной активности миелопероксидазы. Так, среднегрупповые значения цитохимического коэффициента после введения препарата составили:

- на 14-е сут  $1,70 \pm 0,18$  у. е. против  $0,90 \pm 0,06$  у. е. ( $p < 0,05$ ) в контроле;
- на 28-е сут  $2,09 \pm 0,01$  у. е. против  $1,03 \pm 0,03$  у. е. ( $p < 0,001$ ) в контроле.

В 1-й опытной группе по мере увеличения срока, прошедшего после инокуляции микобактерий, напротив, происходило снижение кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов до уровня контрольной группы к 42-м суткам от начала эксперимента.

По результатам исследований проб крови в реакции непрямой иммунофлуоресценции на 42-е сут после инокуляции *Mycobacterium scrofulaceum* было зарегистрировано наличие микобактериального антигена только у 2 морских свинок из 1-й опытной группы.

Таким образом, введение иммунобиологического препарата усиливает функциональную активность аэробных и анаэробных бактерицидных систем нейтрофилов, что способствует ускоренной элиминации нетуберкулезных микобактерий из организма опытных животных.

На снижение антигенной нагрузки на организм морских свинок, обработанных экспериментальным конъюгатом, также указывали результаты патогистологических исследований, проведенных на 45-е сут от начала эксперимента. Так, в регионарных паховых лимфатических узлах животных 1-й опытной группы прослеживалось увеличение численности лимфатических фолликулов с большим центром размножения (рис. 1), где регистрировалась гиперплазия макрофагов. В корковом веществе также обнаруживалось размножение макрофагов. В мозговых тяжах наблюдали в подавляющем большинстве лимфоциты и незначительную концентрацию плазмоцитов.

Для 2-й опытной группы, напротив, была характерна существенно меньшая ширина коркового вещества пахового лимфоузла. Меньшего размера были и лимфофолликулы, к тому же в них отсутствовали центры размножения (рис. 2), а в случаях наличия таких центров в них выявляли только дендритные ретикулоциты.

В прилегающих с другой стороны от места инокуляции микобактерий паховых лимфоузлах морских свинок, инфицированных *Mycobacterium scrofulaceum*, наблюдали значительно меньшее количество лимфа-

тических фолликулов по сравнению с региональными лимфоузлами этой же группы. В них реже обнаруживались центры размножения, а в центрах размножения и строме органа содержалось меньшее количество макрофагов. У животных, подвергнутых обработке препаратом (2-я группа), отмечали еще меньшее число лимфофолликулов в корковом веществе контррегионального лимфоузла.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно заключить, что сенсибилизация морских свинок *Mycobacterium scrofulaceum* индуцирует гиперреактивную внутриклеточных бактерицидных компонентов нейтрофилов продолжительностью до 28 сут с последующим снижением их активности до уровня, регистрируемого у животных контрольной группы. Инокуляция экспериментального препарата способствует ускоренному (через 7 сут) выведению микобактерий из организма морских свинок за счет дополнительной стимуляции иммунной функции фагоцитов, что также подтверждают результаты иммунофлуоресцентного анализа и гистологических исследований.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Parte A. C., Sardà Carbasse J., Meier-Kolthoff J. P., Reimer L. C., Göker M. List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2020; 70 (11): 5607–5612. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004332>
- Ghielmetti G., Friedel U., Scherrer S., Sarno E., Landolt P., Dietz O., et al. Non-tuberculous *Mycobacteria* isolated from lymph nodes and faecal samples of healthy slaughtered cattle and the abattoir environment. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2018; 65 (3): 711–718. <https://doi.org/10.1111/tbed.12793>
- Найманов А. Х., Гулюкин М. И., Толстенко Н. Г., Вангели Е. П., Калмыков В. М. Организация оздоровительных мер борьбы с туберкулезом животных в России. *Ветеринария*. 2019; (4): 3–7. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2019.22.4.03-07>
- Баратов М. О., Сакидибиоров О. П., Абдурагимова Р. М., Дзжабарова Г. А. Иммунные и протективные свойства нетуберкулезных кислотоустойчивых микобактерий. *Проблемы развития АПК региона*. 2022; (1): 73–79. [https://doi.org/10.52671/20790996\\_2022\\_1\\_73](https://doi.org/10.52671/20790996_2022_1_73)
- Nuru A., Zewude A., Mohammed T., Wondale B., Teshome L., Getahun M., et al. Nontuberculous mycobacteria are the major causes of tuberculosis like lesions in cattle slaughtered at Bahir Dar Abattoir, northwestern Ethiopia. *BMC Veterinary Research*. 2017; 13 (1):237. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1168-3>
- Hernández-Jarguín A. M., Martínez-Burnes J., Molina-Salinas G. M., de la Cruz-Hernández N. I., Palomares-Rangel J. L., López Mayagoitia A., Barrios-García H. B. Isolation and histopathological changes associated with non-tuberculous mycobacteria in lymph nodes condemned at a bovine slaughterhouse. *Veterinary Sciences*. 2020; 7 (4):172. <https://doi.org/10.3390/vetsci7040172>
- Gomez-Buendia A., Alvarez J., Bezos J., Mourelo J., Amado J., Saez J. L., et al. Non-tuberculous mycobacteria: occurrence in skin test cattle reactors from official tuberculosis-free herds. *Frontiers in Veterinary Science*. 2024; 11:1361788. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1361788>
- Камалиева Ю. Р., Мингалеев Д. Н., Равилов Р. Х. Идентификация микобактерий нетуберкулезного типа, изолированных от крупного рогатого скота в Республике Татарстан. *Аграрная наука*. 2021; 354 (11–12): 32–35. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-354-11-12-32-35>
- Баратов М. О., Гусейнова П. С. Актуализированная эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 222–228. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-3-222-228>
- Biet F., Boschirolu M. L. Non-tuberculous mycobacterial infections of veterinary relevance. *Research in Veterinary Science*. 2014; 97 (Suppl.): S69–S77. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.08.007>
- Lara G. H. B., Ribeiro M. G., Leite C. Q. F., Paes A. C., Guazzelli A., da Silva A. V., et al. Occurrence of *Mycobacterium* spp. and other pathogens in lymph nodes of slaughtered swine and wild boars (*Sus scrofa*). *Research in Veterinary Science*. 2011; 90 (2): 185–188. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.06.009>
- Klanicova-Zalewska B., Slana I. Presence and persistence of *Mycobacterium avium* and other nontuberculous mycobacteria in animal tissues

and derived foods: a review. *Meat Science*. 2014; 98 (4): 835–841. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.08.001>

- Varela-Castro L., Barral M., Arnal M. C., Fernández de Luco D., Gortázar C., Garrido J. M., Sevilla I. A. Beyond tuberculosis: Diversity and implications of non-tuberculous mycobacteria at the wildlife-livestock interface. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2022; 69 (5): e2978–e2993. <https://doi.org/10.1111/tbed.14649>
- Muwonge A., Oloya J., Kankya C., Nielsen S., Godfroid J., Skjerve E., et al. Molecular characterization of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* isolated from humans, cattle and pigs in the Uganda cattle corridor using VNTR analysis. *Infection, Genetics and Evolution*. 2014; 21: 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.012>
- Leão C., Canto A., Machado D., Sanches I. S., Couto I., Viveiros M., et al. Relatedness of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* clinical isolates of human and porcine origins assessed by MLVA. *Veterinary Microbiology*. 2014; 173 (1–2): 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.027>
- Kontturi A., Soini H., Ollgren J., Salo E. Increase in childhood non-tuberculous mycobacterial infections after bacille Calmette-Guérin coverage drop: A nationwide, population-based retrospective study, Finland, 1995–2016. *Clinical Infectious Diseases*. 2018; 67 (8): 1256–1261. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy241>
- Zimmermann P., Finn A., Curtis N. Does BCG vaccination protect against nontuberculous mycobacterial infection? A systematic review and meta-analysis. *The Journal of Infectious Diseases*. 2018; 218 (5): 679–687. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy207>
- Abate G., Hamzabegovic F., Eickhoff C. S., Hoft D. F. BCG vaccination induces *M. avium* and *M. abscessus* cross-protective immunity. *Frontiers in Immunology*. 2019; 10:234. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00234>
- Fritschi N., Curtis N., Ritz N. Bacille Calmette Guérin (BCG) and new TB vaccines: Specific, cross-mycobacterial and off-target effects. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2020; 36: 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2020.08.004>
- Власенко В. С., Косокозов Е. А., Денгис Н. А., Новикова Н. Н. Изучение иммунотерапевтических свойств иммуномодулятора КИМ-М2 на морских свинках, инфицированных нетуберкулезными микобактериями. *Вестник КрасГАУ*. 2022; (5): 91–97. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-5-91-97>
- Orme I. M., Collins F. M. Efficacy of *Mycobacterium bovis* BCG vaccination in mice undergoing prior pulmonary infection with atypical mycobacteria. *Infection and Immunity*. 1984; 44 (1): 28–32. <https://doi.org/10.1128/iai.44.1.28-32.1984>
- Buddle B. M., Wards B. J., Aldwell F. E., Collins D. M., de Lisle G. W. Influence of sensitisation to environmental mycobacteria on subsequent vaccination against bovine tuberculosis. *Vaccine*. 2002; 20 (7–8): 1126–1133. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(01\)00436-4](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(01)00436-4)
- Palmer M. V., Thacker T. C. Use of the human vaccine, *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette Guérin in deer. *Frontiers in Veterinary Science*. 2018; 5:244. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00244>
- Shah J. A., Lindestam Arlehamn C. S., Horne D. J., Sette A., Hawn T. R. Nontuberculous mycobacteria and heterologous immunity to tuberculosis. *The Journal of Infectious Diseases*. 2019; 220 (7): 1091–1098. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz285>
- Koshkin I. N., Vlasenko V. S., Pleshakova V. I., Alkhimova L. E., Elyshev A. V., Kulakov I. V. Morphology of lymphoid tissue in the lungs of guinea pigs infected with *Mycobacterium bovis* against the background of vaccine immunity and the action of betulin and its derivatives. *Vaccines*. 2022; 10 (12):2084. <https://doi.org/10.3390/vaccines10122084>
- Новикова Н. Н., Байсеитов С. Т., Власенко В. С., Красиков А. П. Применение реакции непрямой иммунофлуоресценции для диагностики лейкоза крупного рогатого скота: методические рекомендации. Алматы: NOVA Press; 2020. 17 с.

## REFERENCES

- Parte A. C., Sardà Carbasse J., Meier-Kolthoff J. P., Reimer L. C., Göker M. List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2020; 70 (11): 5607–5612. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004332>
- Ghielmetti G., Friedel U., Scherrer S., Sarno E., Landolt P., Dietz O., et al. Non-tuberculous *Mycobacteria* isolated from lymph nodes and faecal samples of healthy slaughtered cattle and the abattoir environment. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2018; 65 (3): 711–718. <https://doi.org/10.1111/tbed.12793>
- Naïmanov A. H., Gulukin M. I., Tolstenko N. G., Vangeli E. P., Kalmykov V. M. Organization of the fight against animal tuberculosis in Russia. *Veterinariya*. 2019; (4): 3–7. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2019.22.4.03-07> (in Russ.)
- Baratov M. O., Sakidibirov O. P., Abduragimova R. M., Dzhabarova G. A. Immune and protective properties of non-tuberculosis acid-resistant mycobacteria. *Problems of Development of the Agro-Industrial Complex of the Region*. 2022; (1): 73–79. [https://doi.org/10.52671/20790996\\_2022\\_1\\_73](https://doi.org/10.52671/20790996_2022_1_73) (in Russ.)

5. Nuru A., Zewude A., Mohammed T., Wondale B., Teshome L., Getahun M., et al. Nontuberculous mycobacteria are the major causes of tuberculosis like lesions in cattle slaughtered at Bahir Dar Abattoir, northwestern Ethiopia. *BMC Veterinary Research*. 2017; 13 (1):237. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1168-3>
6. Hernández-Jarguín A. M., Martínez-Burnes J., Molina-Salinas G. M., de la Cruz-Hernández N. I., Palomares-Rangel J. L., López Mayagoitia A., Barrios-García H. B. Isolation and histopathological changes associated with non-tuberculous mycobacteria in lymph nodes condemned at a bovine slaughterhouse. *Veterinary Sciences*. 2020; 7 (4):172. <https://doi.org/10.3390/vetsci7040172>
7. Gomez-Buendia A., Alvarez J., Bezos J., Mourelo J., Amado J., Saez J. L., et al. Non-tuberculous mycobacteria: occurrence in skin test cattle reactors from official tuberculosis-free herds. *Frontiers in Veterinary Science*. 2024; 11:1361788. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1361788>
8. Kamaliev Yu. R., Mingaleev D. N., Ravilov R. Kh. Identification of non-tuberculous mycobacteria isolated from cattle in the Republic of Tatarstan. *Agrarian Science*. 2021; 354 (11–12): 32–35. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-354-11-12-32-35> (in Russ.)
9. Baratov M. O., Huseynova P. S. Actual bovine tuberculosis situation in the Republic of Dagestan. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 222–228. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-3-222-228>
10. Biet F., Boschirolli M. L. Non-tuberculous mycobacterial infections of veterinary relevance. *Research in Veterinary Science*. 2014; 97 (Suppl.): S69–S77. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.08.007>
11. Lara G. H. B., Ribeiro M. G., Leite C. Q. F., Paes A. C., Guazzelli A., da Silva A. V., et al. Occurrence of *Mycobacterium* spp. and other pathogens in lymph nodes of slaughtered swine and wild boars (*Sus scrofa*). *Research in Veterinary Science*. 2011; 90 (2): 185–188. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.06.009>
12. Klanicova-Zalewska B., Slana I. Presence and persistence of *Mycobacterium avium* and other nontuberculous mycobacteria in animal tissues and derived foods: a review. *Meat Science*. 2014; 98 (4): 835–841. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.08.001>
13. Varela-Castro L., Barral M., Arnal M. C., Fernández de Luco D., Gortázar C., Garrido J. M., Sevilla I. A. Beyond tuberculosis: Diversity and implications of non-tuberculous mycobacteria at the wildlife-livestock interface. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2022; 69 (5): e2978–e2993. <https://doi.org/10.1111/tbed.14649>
14. Muwonge A., Oloya J., Kankya C., Nielsen S., Godfroid J., Skjerve E., et al. Molecular characterization of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* isolated from humans, cattle and pigs in the Uganda cattle corridor using VNTR analysis. *Infection, Genetics and Evolution*. 2014; 21: 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.012>
15. Leão C., Canto A., Machado D., Sanches I. S., Couto I., Viveiros M., et al. Relatedness of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* clinical isolates of human and porcine origins assessed by MLVA. *Veterinary Microbiology*. 2014; 173 (1–2): 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.jvetmic.2014.06.027>
16. Kontturi A., Soini H., Ollgren J., Salo E. Increase in childhood non-tuberculous mycobacterial infections after bacille Calmette-Guérin coverage drop: A nationwide, population-based retrospective study, Finland, 1995–2016. *Clinical Infectious Diseases*. 2018; 67 (8): 1256–1261. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy241>
17. Zimmermann P., Finn A., Curtis N. Does BCG vaccination protect against nontuberculous mycobacterial infection? A systematic review and meta-analysis. *The Journal of Infectious Diseases*. 2018; 218 (5): 679–687. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy207>
18. Abate G., Hamzabegovic F., Eickhoff C. S., Hoft D. F. BCG vaccination induces *M. avium* and *M. abscessus* cross-protective immunity. *Frontiers in Immunology*. 2019; 10:234. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00234>
19. Fritschi N., Curtis N., Ritz N. Bacille Calmette Guérin (BCG) and new TB vaccines: Specific, cross-mycobacterial and off-target effects. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2020; 36: 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2020.08.004>
20. Vlasenko V. S., Kosobokov E. A., Dengis N. A., Novikova N. N. Studying immunotherapeutic properties of the immunomodulator KIM-M2 in guinea pigs infected with nontuberculous mycobacteria. *Bulletin of KrasSAU*. 2022; (5): 91–97. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-5-91-97> (in Russ.)
21. Orme I. M., Collins F. M. Efficacy of *Mycobacterium bovis* BCG vaccination in mice undergoing prior pulmonary infection with atypical mycobacteria. *Infection and Immunity*. 1984; 44 (1): 28–32. <https://doi.org/10.1128/iai.44.1.28-32.1984>
22. Buddle B. M., Wards B. J., Aldwell F. E., Collins D. M., de Lisle G. W. Influence of sensitisation to environmental mycobacteria on subsequent vaccination against bovine tuberculosis. *Vaccine*. 2002; 20 (7–8): 1126–1133. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(01\)00436-4](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(01)00436-4)
23. Palmer M. V., Thacker T. C. Use of the human vaccine, *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette Guérin in deer. *Frontiers in Veterinary Science*. 2018; 5:244. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00244>
24. Shah J. A., Lindestam Arlehamn C. S., Horne D. J., Sette A., Hawn T. R. Nontuberculous mycobacteria and heterologous immunity to tuberculosis. *The Journal of Infectious Diseases*. 2019; 220 (7): 1091–1098. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz285>
25. Koshkin I. N., Vlasenko V. S., Pleshakova V. I., Alkhimova L. E., Elyshev A. V., Kulakov I. V. Morphology of lymphoid tissue in the lungs of guinea pigs infected with *Mycobacterium bovis* against the background of vaccine immunity and the action of betulin and its derivatives. *Vaccines*. 2022; 10 (12):2084. <https://doi.org/10.3390/vaccines10122084>
26. Novikova N. N., Baiseitov S. T., Vlasenko V. S., Krasikov A. P. Using indirect immunofluorescence to diagnose bovine leukosis: guidelines. *Almaty: NOVA Press*; 2020. 17 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 13.03.2024

Поступила после рецензирования / Revised 12.04.2024

Принята к публикации / Accepted 19.04.2024

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Кошкин Иван Николаевич**, канд. вет. наук, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мер борьбы с туберкулезом отдела ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5537-219X>, e-mail: [in.koshkin@omgau.org](mailto:in.koshkin@omgau.org)

**Власенко Василий Сергеевич**, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мер борьбы с туберкулезом отдела ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8351-2818>, e-mail: [vvs-76@list.ru](mailto:vvs-76@list.ru)

**Денгис Наталья Александровна**, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мер борьбы с туберкулезом отдела ветеринарии ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0390-7121>, e-mail: [svir2007@mail.ru](mailto:svir2007@mail.ru)

**Ivan N. Koshkin**, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Epizootology and Tuberculosis Control, Department of Veterinary Medicine, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5537-219X>, e-mail: [in.koshkin@omgau.org](mailto:in.koshkin@omgau.org)

**Vasily S. Vlasenko**, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Epizootology and Tuberculosis Control, Department of Veterinary Medicine, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8351-2818>, e-mail: [vvs-76@list.ru](mailto:vvs-76@list.ru)

**Natalia A. Dengis**, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Epizootology and Tuberculosis Control, Department of Veterinary Medicine, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0390-7121>, e-mail: [svir2007@mail.ru](mailto:svir2007@mail.ru)

**Вклад авторов:** Кошкин И. Н. – проведение экспериментов, подбор научной литературы, подготовка цифровых снимков микроскопических исследований, оформление статьи; Власенко В. С. – концепция представления материалов, составление таблиц, статистическая обработка результатов, интерпретация данных и обобщение результатов исследования; Денгис Н. А. – проведение экспериментов, помощь в оформлении статьи.

**Contribution:** Koshkin I. N. – conducting experiments, selection of scientific literature, preparation of digital images of microscopic tests, making article design; Vlasenko V. S. – concept of presentation, compilation of tables, statistical processing of results, interpretation of data and summarizing test results; Dengis N. A. – conducting experiments, assistance in the article design.