

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

УДК 619:616.98:579.873.21:614.48
© 2013

О.А. ТКАЧЕНКО,
доктор ветеринарних наук

**І.М. ШЕНДРИК,
В.В. МІСКІВ,**
аспіранти

А.В. КОВАЛЬОВ,
здобувач

*Розглядаються *M. bovis*, які відмінні за біологічними властивостями від патогенних штамів. Селекційовано расу змінених форм мікобактерій з особливими властивостями, що можуть виявитися перспективними для конструювання протитуберкульозної вакцини.*

Мікобактерії взагалі, й *M. bovis* зокрема, володіють генетично закладеною здатністю суттєво змінюватися як фенотипом, так і генотипом, втрачаючи деякі антигени з одночасною появою інших, які для мікобактерій в загальному не є новими. За цього зміни можуть відбуватися при дії факторів довкілля й незалежно від них, що стверджує лабільність закладеного в мікробній клітині геному з дремаючими й активними та активуючими оживлення генами (grf) [9–12]. Саме вони визначають ту чи іншу здатність мікобактерій на певній стадії розвитку, зберігаючи високу ймовірність реверсії у вихідну чи конверсії у наступну нову форму, з чітко вираженими постійними, генетично закріпленими або з тимчасовими (фенотиповими) ледь помітними властивостями: змінюється морфологія мікобактерій, культуральні, біохімічні й інші властивості [1–3, 5, 6]. Розуміючи в загальному такі механізми, мікобактерії, зокрема бичачого виду, залишають багато нез'ясованих, незрозумілих питань, пов'язаних у першу чергу з морфологією мікробної клітини, її біологічною активністю, зі здатністю набувати властивостей атипичних мікобактерій.

Важливим у цьому напрямі є дослідження L- та інших форм *M. bovis* дисоціантів зі втраченою (зниженою/втраченою) сенсипілізуювальною здатністю, що розмножуються за температури 3 °С у динаміці пасажив через щільне се-

редовище, оскільки робіт такого спрямування в доступній нам літературі не знайдено.

Тому метою роботи було з'ясування морфогенезу і біологічних властивостей L- та інших форм дисоціантів *M. bovis*, культивованих за температури 3 і 37 °С.

Тому метою роботи було з'ясування морфогенезу і біологічних властивостей L- та інших форм дисоціантів *M. bovis*, культивованих за температури 3 і 37 °С.

Матеріал і методи досліджень. Роботу виконували в навчально-дослідній лабораторії кафедри епізоотології ДДАУ з використанням змінених форм одного штаму *M. bovis*, одержаних у 118 пасажив через середовище Левенштейна-Йенсена (рН 7,1–7,2) за температури культивування 37 °С й витриманих з початковим ростом поодиноких колоній (118 субкультура) в умовах температури 2–3 °С протягом 20 місяців. Досліджували ізольовані колонії в динаміці наступних 60-ти пересівів. А саме: швидкість росту культури, пігментоутворення за зміни рН середовища, морфологічні ознаки, тинкторіальні (мазки фарбували за методом Ціля-Нільсена) властивості змінених форм мікроорганізмів, культивованих за 3 і 37 °С, ріст культури різних генерацій мікобактерій на простих живильних середовищах, на середовищі зі вмістом 0,5 і 1 мг/см³ саліциловокислого натрію.

Загальновідомими методами досліджували дегідрогеназну і каталазну активність змінених мікобактерій вихідних культур і їх ревернантів, виділених з органів морських свинок, в організм яких інокульовано дослі-

джувані мікроорганізми.

З метою встановлення в тривалому досліді сенсibiliзувальної здатності з використанням симультанної проби (ППД для ссавців та ААМ) й інших особливостей мікобактерій пасажовані мікроорганізми, накопичені на щільному середовищі за температури 3 °С, інокулювали (разово в дозі 1 мг/см³) 4-м морським свинкам, з яких дві етаназували через три, а інші через дев'ять місяців від початку досліді з подальшим бактеріологічним дослідженням біологічного матеріалу від них та повторною інокуляцією виділеної культури (ревернант) дослідним морським свинкам.

Можливість викликати інфекційний процес туберкульозу досліджуваними мікобактеріями вивчали шляхом дворазової інокуляції (1 мг/см³, з інтервалом через 1,5 місяця) свинкам мікобактерій, культивованих за 3 і 37 °С. Реакцію макроорганізму на введені мікобактерії оцінювали кожні 10 діб: за масою тіла, строками формування виразки в ділянці введення зависі мікобактерій, розвитку підвищеної чутливості сповільненого типу (симультанна проба з ППД для ссавців кожні 30 діб) та патолого-анатомічних змін (через три місяці від початку другого введення зависі мікроорганізмів). Для контролю в досліді використовували *M. bovis* патогенного материнського штаму.

У дослідженнях застосовували методики, передбачені відповідними положеннями [4, 7].

Результати досліджень та їх обговорення. Вивчаючи ріст мікобактерій на щільному яечному середовищі однієї пробірки за температури 3 °С після 118 разового пасажування через середовище з рН 7,1–7,2, відмічено, що за 20-місячний термін впливу цього температурного режиму культивування характер культури та кількісний склад колоній суттєво змінився: до розміщення культури в умови низької плюсової температури зафіксовано 5 дрібних колоній, після – наліт, одна велика шорстка колонія та 10 дрібних. Мікроскопією мазків, приготовлених з окремих колоній, які сформувалися в умовах культивування 3 та 37 °С, виявлено кислотостійкі короткі, товсті й тонкі, прямі й вигнуті зі заокругленими кінцями та вираженою зернистістю па-

лички, які розміщувалися скупченнями. Провівши посів на живильне середовище зависі мікобактерій, приготовлене з ізолюваних колоній та культивуючи за температури 3 °С на 12 добу, виявлено слабкий ріст окремих поодиноких дрібних правильної форми гладеньких сіро-білого кольору колоній (визначених нами як друга генерація субкультури), які в подальшому формували суцільний ріст по лінії посіву. Мікроскопією мазків, приготовлених з культури, встановлено не кислотостійкі овали (L-форми) з різною оптичною щільністю поверхні та поодинокі кислотостійкі елементарні тільця.

У контролі *M. bovis* 100-ї субкультури патогенного штаму за температури 3 °С росту не виявили.

Висіявши на середовище шести пробірок зависі мікобактерій, приготовлену з одержаної культури другої генерації й культивуючи за 3 і 37 °С, первинний ріст вологих кремових колоній виявлено на 11 і 25 добу спостереження відповідно. Мікроскопією мазків, виготовлених з виявлених колоній за вказаних температур, встановлено як не кислотостійкі овали з різною оптичною щільністю поверхні, тобто L-форми, так і кислотостійкі елементарні тільця.

Зазначимо, що, за більшістю літературних даних, трансформовані *M. bovis* у L-форми, як і інші види мікобактерій, не культивуються на щільних живильних середовищах. Для цього використовуються спеціальні напіврідкі середовища за наявності осмотичних факторів. Проте деякі повідомлення свідчать про розмноження таких форм збудника з утворенням колоній і на щільних середовищах [1]. Цей факт підтверджують наші дослідження.

Вивчення патогенних й сенсibiliзувальних властивостей одержаних культур за температури 3 і 37 °С на морських свинках показало, що мікобактерії не викликають туберкульозних патолого-анатомічних змін та не сенсibiliзують організм тварин щодо ППД для ссавців.

Провівши сім прямих пасажів досліджуваних мікроорганізмів через щільне живильне середовище та культивуючи за температури 3 і 37 °С, реєстрували ріст культури на 5

та 4 добу відповідно. За цього мікобактерії в першому випадку продукували помаранчевий, в другому – креманий пігмент. Мікроскопія мазків, приготовлених з культур, виявила некіслотостійкі довгі й короткі, товсті й тонкі, вигнуті й прямі зі заокругленими кінцями зернисті палички та кислотостійкі елементарні тільця й L-форми за 3 °С та L-форми й інші утворення за 37 °С культивування. Стосовно останніх, підкреслимо, в материнській культурі на ранніх етапах морфогенезу ниткоподібні некіслотостійкі мікобактерії звільняли кислотостійкі зерна, з яких утворювалися типові клітини *M. bovis*, на що ми звернули увагу ще в 2008 році [8]. Через 60–80 пасажів некіслотостійких форм цього ж варіанта збудника ниткоподібні мікроорганізми звільняють некіслотостійкі структурні елементи-зерна, з яких формуються L-форми (на початку видовжені) з різною оптичною щільністю поверхні.

Вивчення патогенних і сенсibiliзуючих властивостей досліджуваних субкультур мікобактерій 10-ї генерації, одержаних за різних температур культивування, засвідчило, що морські свинки залишаються живими, не реагують на ППД для ссавців упродовж тримісячного дослідження.

Наступні десять пасажів мікобактерій досліджуваних субкультур через щільне живильне середовище мікобактерій показали суттєве пришвидшення формування колоній, порівняно з 10-ю генерацією, тільки за температури культивування 37 °С – з 4 до 2 діб. Мікроскопія мазків, приготовлених з культур, засвідчила, що за температури культивування 3 °С генеруються некіслотостійкі, довгі й короткі, тонкі вигнуті й прямі з округленими кінцями зернисті палички, L-форми (овали) та ледь червонуваті поодинокі елементарні тільця, за 37 °С – некіслотостійкі, довгі, але переважно короткі зернисті вигнуті й прямі палички, L-форми та кислотостійкі елементарні тільця.

Подальші дослідження мікобактерій, пасажованих за різних температур (15 генерації), провели на простих живильних середовищах – МПА та МПБ. У контролі патогенні *M. bovis* (100 субкультура досліджуваного варіанта) на середовищі Левенштейна-Йенсена

за 37 °С росли на 23 добу, а за 3 °С росту культури не виявлено впродовж тримісячного спостереження. На МПА та МПБ мікобактерії патогенного штаму не росли, а змінені мікроорганізми проявляли ріст на 2–3 добу дослідження. На агарі відзначено суцільний ріст по лінії посіву світло-сірої культури, яка мала тенденцію до збільшення в часі. У бульйоні, на початку росту культури, помічено світло-сіру плівку на поверхні, слабке помутніння з подальшим утворенням осаду. Через три тижні, за наявності плівки та помутніння, рівень осаду збільшився в 4–6 разів.

Мікроскопією мазків, приготовлених з тижневих культур (3 °С) на МПА виявлено некіслотостійкі короткі й довгі, товсті прямі й вигнуті з округленими кінцями зернисті палички, некіслотостійкі зерна та L-форми, за 37 °С – некіслотостійкі елементарні тільця та L-форми. У культурі МПБ за 3 °С – некіслотостійкі короткі й довгі товсті, прямі й вигнуті зернисті з заокругленими кінцями палички та некіслотостійкі зерна, за 37 °С – кислото- та некіслотостійкі зерна й L-форми.

Через 3 тижні за мікроскопії мазків, приготовлених з плівки та осаду МПБ, виявили в першому випадку (за 3 і 37 °С) практично однаковий, порівняно з тижневою культурою, за морфологією й тинкторіальними властивостями малюнок. Проте в осаді (за 3 °С) палички різної форми й довжини були некіслотостійкими, в плівці кислото- та некіслотостійкими, а за 37 °С – тільки кислотостійкими.

Важливі дані одержані в паралельному пасажі L-форм через щільне середовище Левенштейна-Йенсена за різних температур культивування. Так, спостерігаючи під імерсією мазки, приготовлені з дещо помаранчевого кольору субкультури першої генерації в умовах культивування за температури 3 °С, зареєстрували наявність L-форм (видовжені овали, з деяких виштовхуються зерна) та зернистих паличок (короткі та більш довгі); в умовах термостату (жовтуватої субкультури, яка емульгувалася легко) – тільки L-форми з різною оптичною щільністю поверхні (практично округлої форми) та поодинокі зернисті палички. У третій генерації, в умовах холо-

дильника, субкультуру формували L-форми (видовжені овали) та палички й зерна; у четвертій, в умовах термостату, – L-форми (круглі) та поодинокі паличкоподібні утворення.

П'ята субкультура, в умовах 3 °С культивування, характеризувалася видовженими L-формами та паличкоподібними й зернистими некіслотостійкими елементами. Сьома субкультура (термостат) формувалася практично L-формами (круглими) та поодинокими, товстими зернистими короткими й довгими паличками. У мазку сьомої субкультури, що одержана за 3 °С культивування, виявлено видовжені L-форми, з яких звільняються зернисті форми та коротенькі палички. У дев'ятій субкультурі (термостат) у полі зору мікроскопа зафіксовано тільки L-форми, круглої форми та злегка червонуваті, поодинокі, елементарні тільця. Мазок з восьмої субкультури (3 °С) характеризувався наявністю тих самих форм мікобактерій, що й в сьомій. Приготовлений мазок з 12-ї субкультури, що одержана в термостаті, вміщував L-форми та елементарні тільця (зерна) з ледь червонуватим відтінком.

У субкультурі 10-ї (3 °С) та 18-ї (37 °С) генерацій суттєвих змін, порівняно з попередніми дослідженнями мазків, не виявлено. Хоча в мазку, як у першій, так і у другій культурі, зафіксовано й наявність зернистих паличок. 12-та субкультура (3 °С) мала видовжені L-форми, з яких звільняються некіслотостійкі зерна та палички короткі й довгі та поодинокі, ледь червонуваті елементарні тільця, 19-та субкультура (термостат) – L-форми, довгі, короткі зернисті палички та елементарні тільця з червонуватим відтінком. 20-та (3 °С) та 21-ша (37 °С) генерації характеризувалися тими самими морфологічними формами мікобактерій, що й 12 та 19-та.

Узагальнюючи динаміку морфологічних ознак, тинкторіальних властивостей та характер росту культур змінених форм *M. bovis* (у тому числі L-форм), незаперечним є те, що в умовах низької плюсової температури (3 °С) у часі генеруються, на фоні стабільності культури, некіслотостійкі зерна, зернисті палички, зі зменшенням їх кількості, порівняно з вихідною культурою, L-форми. В умовах термостата на фоні зменшення кількості та

зміни морфології L-форм з'являються некіслотостійкі зерна, короткі й ниткоподібні палички та поодинокі червонуваті елементарні тільця, які, напевно, змінюють характер росту культури. А саме: якщо за відсутності елементарних тілець культура у вигляді суцільного росту по лінії висіву зависі досліджуваних мікроорганізмів інтенсивно збільшувалася в часі, то з появою елементарних тілець – через 4–5 діб культивування, культура начебто провалювалася під її тиском в середовище. Із часом суцільний ріст культури витончувався й через 2–4 тижні середовище “стікало”, що свідчить про незвичайні, особливі властивості у цих форм *M. bovis*.

Водночас наші попередні дослідження неодноразово підтверджували, що швидкість розмноження досліджуваного штаму мікобактерій, зниження ступеня вірулентності, зміна якісного і кількісного складу вільних жирних кислот суттєво залежать від рН середовища [1–3, 6, 8]. Тому необхідними виявилися дослідження впливу вмісту кислотних грам-еквівалентів у середовищі на пігментоутворення, морфологію й тинкторіальні властивості форм мікобактерій за температури культивування 3 °С (за 37 °С пасажовані мікобактерії на цьому етапі досліджень втратили здатність рости на середовищі).

Пересіявши досліджувані мікроорганізми та оцінивши характер росту культур до 26-ї (середовище з рН 7,1–7,2) і наступних з 27-ї по 37-му генерації відмічено, що злегка помаранчевого кольору культура на середовищі з рН 6,5 через 2–3 тижні набувала більш інтенсивного забарвлення, на середовищі з рН 7,1–7,2 – така сама і залишалася (злегка помаранчева) протягом трьох місяців культивування.

Під час вивчення під імерсією мазка, приготовленого з культури 26-ї генерації мікобактерій, встановлено переважну більшість некіслотостійких зернистих форм, інколи (рідко) кислотостійкі палички та досить рідко товсті (15–20 мкм) темно-сині палички з однією щільністю поверхні. Перший пересів таких різних форм з 26-ї генерації на середовище з рН 6,5 супроводжувався появою значної кількості синіх овалоподібних форм

(з темними зернами в центрі) з різною оптичною щільністю поверхні, дрібних зерен, інколи з червоним відтінком, які розташовуються тільки навколо і біля овалів (синіх). Це свідчить про “виштовхування” зерен з овалів. Подібне виявлено в мазку, приготовленому з культури 33 та 37-ї генерації. Проте спостерігали й незначну кількість синіх утворень, які набули форми товстих синіх овалоподібних зернистих паличок, на і біля них (або “виштовхуються” з них) знаходяться дрібні некіслотостійкі (дуже рідко кіслотостійкі) зернисті форми (0,1–0,2 мкм). Типових форм паличок збудника туберкульозу в цій і попередній генераціях (навіть некіслотостійких) не виявлялося.

Наступними 10 пересівами встановлено, що в перші п’ять (з 41 по 45) ріст культури розпочинався з 4 доби, як правило, у вигляді кремового нальоту по лінії посіву з подальшим формуванням окремих великих сухих колоній помаранчевого кольору. Того ж часу 45-та субкультура виявилася слизовою та в’язкою. У мазку, приготовленому зі субкультури цього пересіву під імерсією мікроскопа, виявлені некіслотостійкі зернисті та некіслотостійкі великі (у 12 разів більші за палички) видовжені овали з однією щільністю поверхні, з яких “виштовхуються” короткі палички. Далі п’ять пересівів культура залишалася слизовою, але її ріст через 1–6 днів змінював пігмент з помаранчевого на жовтуватий.

У полі зору мазка, приготовленого з культури 50-го пересіву, виявлено практично такі ж самі форми мікроорганізмів: на фоні некіслотостійких зернистих овалів (L-форми) встановлено й некіслотостійкі зерна, які звільняються з них та розташовуються між ними. На 60-му пересіві встановлено культуру та морфологічні форми мікобактерій, які ідентичні 50-й субкультурі.

Отже, культивування *M. bovis* дисоціативних форм в умовах низьких плюсових температур (3 °С) на середовищі з різним рН супроводжується на фоні стабільності утворення інтенсивного пігменту в умовах кислішого рН, стабільністю морфологічних форм мікобактерій.

Необхідними виявилися дослідження

можливих морфологічних змін у часі тривалого збереження культури. Тому мікроскопію мазків, приготовлених з незміненої за виглядом і формою 27-ї субкультури, яка витримана за температури 3 °С, провели через 15 місяців. Встановлено некіслотостійкі короткі й більш довгі зернисті палички та кіслотостійкі елементарні тільця (зернисті форми).

Дослідивши на четверту добу помаранчево-червонуватий суцільний по лінії посіву ріст культури 4-ї генерації, морфологію та тинкторіальні властивості L-форм на середовищі Левенштейна-Йенсена без саліциловокислого натрію за 3 °С, виявили некіслотостійкі утворення зі злегка червонуватою оболонкою і темними зернами, що знаходяться всередині овальної видовженої форми (швидше паличкоподібні). З деяких із них звільняються злегка червонуваті зерна та палички.

Культура, яка одержана на середовищі із вмістом 1 мг/см³ саліциловокислого натрію, сформувалася на шосту добу: слизова сіро-жовтуватого кольору по лінії посіву. Мікроскопія мазка, приготовленого з культури, засвідчила наявність мікроорганізмів і в контролі, і за вмісту 0,5 мг/см³ саліциловокислого натрію, проте з більш чітко вираженим забарвленням у червоний колір усієї клітини (крім темних зерен на середині). За 37 °С культивування на середовищі без саліциловокислого натрію ріст культури відмічено на 15-ту добу, а з його вмістом росту не виявлено.

У вихідних змінених форм, а також їх культур-ревернантів, виділених з органів морських свинок, яким інокульовано досліджувані варіанти вихідних мікроорганізмів – кіслотостійкі палички, спостерігалось підвищення окисно-відновних реакцій (дегідрогеназна й каталазна активність) з паралельною втратою вірулентності мікобактерій, у тому числі й у культур-ревернантів.

Отже, результати роботи засвідчили, що L- та інші форми набули властивостей атипичних мікобактерій. Але чи постійні такі явища в досліджуваних дисоціативних формах *M. bovis*? Встановлено, що персистенція досліджуваних мікроорганізмів (27 субкультура, некіслотостійкі палички та L-форми)

в організмі морських свинок триває дев'ять (період дослідів) і більше місяців. Проте зі суспензії, приготовленої з макроскопічно незмінених органів дослідних тварин, виділені кислотостійкі елементарні тільця (зерна) та типових морфологічних форм палички, які на щільному живильному середовищі утворювали на третю добу після висіву суспензії помаранчеву культуру.

Інокуляція виділених кислотостійких мікобактерій (культура-ревернант) морським свинкам (1 мг/см³) не супроводжувалася розвитком алергічного стану (алергічна реакція на туберкулін та ААМ через 30, 60 і 90 діб негативна), проте з органів евтанозованих через 3 місяці дослідних тварин виділені кислотостійкі мікобактерії, які на 3 добу утворювали культуру помаранчевого кольору. Очевидно, багаторазові пасажі через штучне живильне середовище (щільне), тривале знаходження (20 місяців) в умовах низької плюсової температури змінили генетичний баланс, що забезпечило їм виживання внаслідок втрати одних (характерних для патогенного мікроорганізму) й набуття нових властивостей, частково притаманних іншим мікобактеріям, зокрема атипових. Того ж часу персистенція в організмі морських свинок типових морфологічних кислотостійких форм (палички), які реверсували з L-форм, не супроводжується розвитком захворювання. Вони залишаються пігментують колонії й зберігають здатність утворювати колонії (культура-ревернант) на щільному живильному середовищі, починаючи з першої генерації (біологічний матеріал морських свинок) на другу добу культивування.

Втрата сенсibiliзувальної здатності у мікобактерій, багаторазово пасажованих і тривало персистуючих в організмі морських свинок, може свідчити, звичайно тільки певною мірою, про втрату імуногенної здатності, оскільки відомо, що розвиток алергічної (туберкулінової) реакції, до того ж її інтенсивність, вказує на імунологічну перебудову макроорганізму (розвиток інфекційного процесу) з паралельним набуттям специфічної стійкості. Проте результати експерименту доводять, що один з різноманітних показників клінічного прояву інфекційного процесу –

зміна маси тіла морських свинок, в організм яких інокулювали 1 мг/см³ досліджуваних мікобактерій, має певну закономірність динаміки: на 10 і 20-ту добу дослідів маса тіла підвищилася на 25 і 45 г відповідно, на 35 добу вона знизилася, порівняно з масою 20-ї доби, на 35 г з подальшим підвищенням на 50 г на 46-ту добу. Однак через 50 діб, на друге введення 1 мг/см³ таких форм мікобактерій, подібне зниження маси тіла відзначено через 15–20 діб з вирівнюванням попередньої позитивної динаміки аналізованого показника надалі. Це може демонструвати залишкову вірулентність досліджуваних змінених форм *M. bovis* з можливим формуванням специфічного протитуберкульозного імунітету без розвитку необхідного рівня, який виявлявся діагностикомом, алергічного стану та утворення виразки в ділянці введення зависі мікобактерій.

Бактеріоскопія мазків-відбитків з органів тварин, евтанозованих через 80 діб, виявила не кислотостійкі палички, зерна-тільця. У контролі маса тіла тварин тенденційно збільшувалася, а бактеріоскопічні дослідження (мазки-відбитки) були негативними. Очевидно, мікобактерії з новими, генетично закріпленими властивостями володіють іншою здатністю стимулювати доброякісний інфекційний процес, без розвитку алергії необхідного рівня, щоб вона виявлялася ППД для ссавців та ААМ.

Водночас зазначимо, що, можливо, згадання активності генів, відповідальних за патогенні властивості, які визначаються окисно-відновними процесами (дегідрогеназна, каталазна активність й інші) та генами, що активізувалися (перебували в дрімотному стані), активізують метаболічні процеси синтезу пігменту з пригніченням дії факторів (токсинів) патогенності.

Нами не встановлено залежності між швидкістю розмноження (строки утворення колоній) і патогенністю, бо вихідна материнська культура (третя генерація) досліджуваних змінених форм *M. bovis* володіла високою вірулентністю і формувала колонії на другу–третю добу, не утворювала пігменту та не мала вираженої дегідрогеназної і каталазної активності [6].

Висновки

Селекційована раса змінених форм *M. bovis*: L-форми за пасажів через щільне середовище при температурі 3 °С, змінюючись морфологічно, переходять у некіслотостійкі паличкові, кокові форми, за 37 °С – у некіслотостійкі (інколи кіслотостійкі) елементарні тільця (зерна); за температури 3 °С ріст на щільному елективному живильному середовищі помаранчевої культури відбувається на другу–третю добу культивування (інколи на 24 годину), за 37 °С – жовтуваті культури в такі самі строки, але після 20 пересівів відбувається слабкий ріст культури за цієї температури і згодом зникає; на МПА та МПБ – ростуть останні субкультури з 26-ї генерації тільки за 3 °С на

першу–другу добу культивування; на середовищі із вмістом саліциловогокіслоного натрію за низької плюсової температури ростуть на шосту добу, а за 37 °С – на 15 добу; володіють вираженою дегідрогеназною й каталазною активністю; авірулентні – протягом дев'яти місяців, частково реверсують у кіслотостійкі морфологічні форми, не викликаючи туберкульозу морських свинок, володіють низькою або не володіють взагалі сенсibiliзувальною здатністю (щодо ППД для ссавців, у тому числі ААМ), не утворюють виразки в ділянці введення мікобактерій; у першій генерації культура–ревернант, виділена з органів морської свинки, на другу добу утворює помаранчеву культуру.

Бібліографія

1. Біологічні властивості дисоціативних форм *M. bovis*: культуральні особливості за температур 3 і 37 °С / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Міськів [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 3. – С. 33–35.
2. Біологічні властивості дисоціативних форм *M. bovis*: морфологічні ознаки та тинкторіальні властивості за температур 3 та 37 °С / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Зажарський [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 12. – С. 27–30.
3. Давиденко П.О. Сенсibiliзувальні, вірулентні властивості та ліпідний склад *M. bovis*, багаторазово пасажованих через щільне живильне середовище з рН 7,1 / П.О. Давиденко, М.В. Білан, О.А. Ткаченко // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 2. – С. 20–22.
4. Лабораторна діагностика туберкульозу тварин: практичний посібник / [О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Зажарський, Л.О. Ковальова]. – Дніпропетровськ: Вид-во “Свідлер А.Л.”, 2010. – 208 с.
5. L-форми мікобактерій туберкулеза / под. ред. З.Н. Кочемасової. – М.: Медицина, 1980. – 165 с.
6. Морфологічні аспекти реверсії некіслотостійких ниткоподібних *M. bovis* в бактеріальну кіслотостійку форму / О.А. Ткаченко, О.Є. Галатюк, М.В. Білан [та ін.] // Сучасні проблеми туберкульозу в Україні: причини та шляхи

- їх подолання: матер. наук.-практ. конф., 27–28 лист. 2008 р. – К., 2008. – С. 149–153.
7. Настанова по діагностиці туберкульозу / [В.М. Манченко, З.Р.Троценко, М.С. Павленко та ін.] – К, 1994. – 39 с.
8. Ткаченко О.А. Швидкоростучі *M. bovis* у проблемі туберкульозу / О.А. Ткаченко // Ветеринарна медицина України. – 2004. – № 7. – С. 14–17.
9. Inhibition of respiration by nitric oxide induces a Mycobacterium tuberculosis dormancy program / M.I. Voskuil, D. Schnappinger, K.C. Visconti [et al] // J Exp. Med. – 2003. – P. 705–713.
10. Mutants of Mycobacterium tuberculosis lacking three of the five rpf-like genes are defective for growth in vivo and for resuscitation in vitro / K.J. Downing, V.V. Mischenko, M.O. Shleeva [et al] // Infect. Immun. – 2005. – Vol. 73. – P. 3038–3043.
11. Regulation of the Mycobacterium tuberculosis hypoxic response gene encoding alphacrystallin / D.R. Sherman, M. Voskuil, D. Schnappinger [et al] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – Vol. 98. – P. 7534–7539.
12. Tufariello J.M. Individual Mycobacterium tuberculosis resuscitation-promoting factor homologues are dispensable for growth in vitro and in vivo / J.M. Tufariello, W.R. Jacobs, J. Chan // Infect. Immun. – 2004. – Vol. 72. – P. 515–526.

Рецензент – доктор ветеринарних наук, професор **М.П. Високоє**