

УДК 619:616.98:579.873.21Т

**МЕТОДОЛОГІЧНІ ЗАСАДИ ЩОДО ВИЗНАЧЕННЯ ШТАМУ МІКОБАКТЕРІЙ
(ТЕОРЕТИКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДАНІ)****ТКАЧЕНКО О. А., д. вет. н.**Дніпровський державний аграрно-економічний
університет, м. Дніпро
tkachenko.o.a@dsau.dp.ua

Наведені матеріали багаторічних досліджень *M. bovis* свідчать про складність визначення штамових особливостей. Показано, що вона ґрунтується на біологічному циклі розвитку. Акцентовано на необхідності за визначення штаму, оцінювати біологічні властивості конкретної субкультури мікроорганізмів, особливо за динамічного біологічного циклу розвитку. Стверджується, що морфологічні форми певних стадій розвитку володіють специфічними біологічними властивостями, які впливають на штамові особливості.

Ключові слова: L-форми, біологічний цикл, дисоціація, мікобактерії, туберкульоз, штам.

Вступ. Штам (від нім. *Stamm* – стовбур, основа, рід) – в енциклопедичних виданнях сучасності, визначається як “генетично однорідна культура мікроорганізмів з однаковими морфологічними ознаками та біологічними властивостями, виділена із певного джерела і підтримувана в пересівах” [9]. Акцентується, що бактерії і віруси одного і того ж виду можуть мати істотні штамові відмінності.

Проте інколи не достатньо зрозуміло як визначати й оцінювати культури мікроорганізмів зі зміненими ознаками, властивостями, які одержані з вихідного штаму за пересівів через штучне живильне середовище чи макроорганізм.

Мета роботи. На підставі даних біологічного циклу розвитку *M. bovis* в динаміці багаторазових пересівів через штучне живильне середовище обґрунтувати штамові відмінності певних морфологічних форм мікроорганізмів.

Матеріал і методи досліджень. У багаторічній роботі досліджували вихідний високовірулентний штам *M. bovis*, виділений з біологічного матеріалу, реагуючої на ППД-туберкулін для ссавців корови. В динаміці 240 пересівів вивчались основні біологічні властивості мікобактерій, їх ліпідний склад за традиційними методиками ветеринарної медицини.

Результати та їх обговорення Найбільш показовим прикладом штамових відмінностей може бути VCG, селекційованих Кальметтом і Гереном із вірулентного штаму *M. bovis*. В процесі багаторазового пасажування останніх через штучне живильне середовище вченим

вдалось одержати змінені мікобактерії які втратили (або суттєво знизили активність) ген вірулентності але зберегли імуногенність та здатність розмножуватись. Ця особливість поряд з іншими, (які безперечно супроводжують процес селекціонування), в тому числі мутація генів визначила можливість стверджувати про одержання згаданими вище дослідниками штаму мікобактерій. Тобто не атенуйованого варіанту чи субштаму вихідного вірулентного штаму, а окремого штаму з відповідними властивостями. Тривале зберігання, відповідно багаторазові за різних умов пересіви, в країнах світу, в які було доставлено селекціоновані Кальметтом та Гереном мікобактерії сприяло появі нових штамів, що відрізняються від вихідного штаму VCG. За цього сучасні штами в тій чи іншій країні генетично поліморфні та за своєю морфологією, імуногенністю, вірулентністю та іншими властивостями суттєво різняться між собою: одні штами знизили імуногенність інші набули певної вірулентності, ще інші, можливо, на цьому тлі змінили морфологію, тинкторіальні властивості. Все це, й незаперечно інше, визначило певні штами VCG: Russia (Moscow), Japan (Tokio), Moreau (Brazil, Rio), Sweden (Goethenburg), Birkhaug, Danish (Denmark, Copenhagen), Prague (Czechoslovakian), Glaxo (London), China, Phipps (New York, Park, Philadelphia), Tice (Chicago), Frappier (Montreal), Pasteur (Paris, French), Bulgaria (Sophia), Connaught (Toronto) та ін [26, 27].

На перший погляд все ясно та зрозуміло.

Проте на тлі мутації чи модифікації генетичного коду мікроорганізмів штаму VCG за пасажів через штучне живильне середовище, (які й визначають відмінності між штамми) відбувається конверсія в наступну морфологічну форму. Але як тоді можна стверджувати, що штам VCG, генетично мутований який до введення в макроорганізм представлений у формі паличок (кислотостійких), зерен, ниток, за час персистенції (3–4 міс), як що він трансформується в L-форми (везикулярні форми) з різною оптичною густиною поверхні. Тобто багаточисельними дослідженнями з цього питання встановлено, що бактеріальна форма мікроорганізму штаму VCG однорідна із закріпленими на генетичному рівні змінами. Проте мутація генів мікобактерій штаму VCG не є стабільною за персистенції в тканинах макроорганізму. Така мутація не впливає (не попереджає, не стабілізує) на природній біологічний цикл розвитку *M. bovis* взагалі. Це зумовлено мутацією певних генів, що відповідають за конкретні властивості й, напевно, вона не стосується біологічного циклу розвитку, а тільки вірулентності за збереження імуногенності. Наші дослідження з цього приводу засвідчили, а деякі моменти підтверджені й іншими дослідниками, що передостанньою стадією біологічного циклу розвитку *M. bovis* взагалі є L-форми сферопластного, протопластного типу з різною оптичною густиною поверхні [2, 14, 19, 20, 25]. Такі форми збудника можуть культивуватися на штучних живильних середовищах. Кінцевою стадією складного біологічного процесу розвитку є елементарні тільця (звільняються з перехідних, адаптивних ниткоподібних та овальних L-форм) – вони не культивуються або погано культивуються на штучних живильних середовищах, а від так і не ідентифікуються [16]. Тобто якщо мікобактерії штаму VCG вибірково генетично мутовані, про що є багато повідомлень, то в макроорганізмі вони зберігають певну здатність змінюватися, принаймні морфологічно. Подібне виявляється і з іншими штамми.

Вкрай важливі дані отримані нами й при дослідженні біологічного циклу розвитку некислотостійких зернистих паличкоподібних форм *M. bovis*. Цей штам мікобактерій одержаний з вірулентного штаму збудника туберку-

льозу. Морфологія таких форм була стабільною протягом 40–50 пересівів через штучне живильне середовище [19].

Проте провівши пасажі таких морфологічних форм мікобактерій через організм морських свинок встановлено, що за другого та третього в організмі дослідних тварин персистують не зерна та короткі некислотостійкі палички, а L-форми везикулярного та протопластного типу які в наступному з однієї клітини на штучному живильному середовищі конвертують в ниткоподібні форми, з яких звільняються елементарні тільця так само як із L-форм – овалів з різною оптичною густиною поверхні.

Поряд з цим на третьому пасажі в організмі морських свинок (термін досліду три місяці) виявлено розвиток інфекційного процесу туберкульозу, який ідентифікувався гістологічними дослідженнями біологічного матеріалу від них [11].

З'ясовуючи біологічні властивості швидкозрослого високовірулентного штаму *M. bovis* (ріст колоній в перших субкультурах (генераціях) на 2–4 добу) в динаміці багаточисельних пересівів виявлено [21], що поряд із особливостями швидкості формування колоній на штучному живильному середовищі через 40–60 пересівів на тлі кислотостійких мікобактерій почали з'являтися некислотостійкі палички, згодом поряд з ними, ниткоподібні некислотостійкі форми. У той же час, швидкість утворення колоній на середовищі рН 7,3 дещо сповільнилася (із 19–24 пересіву) натомість на такому з рН 6,5–6,7 – тільки на 115–120 [1]. Це свідчить, що середовище на якому мікобактерії розмножуються сприяє зміні біологічних властивостей: в одних випадках сповільнюється обмін речовин в мікробній клітині, в інших спостерігається на попередньому рівні, або ж пришвидшується. Звичайно, інтенсивність обміну речовин (якщо це тривалий період його підтримання за певних умов) може суттєво впливати на синтетазні системи мікробної клітини взагалі та призводити до загальних зрушень біологічної активності мікроорганізму [6, 7].

Поряд з традиційними формами мікобактерій популяції перших генерацій утворюються й адаптивні їх варіанти (некислотостійкі палички та ниткоподібні форми). Відомо, що куль-

тури патогенних мікобактерій, які виділені з біологічного матеріалу реагуючої на ППД-туберкулін для свавців великої рогатої худоби одного господарства мають різну вірулентність, що може свідчити про різні штами збудника туберкульозу, які циркулюють в певному стаді тварин. І не тільки від різних тварин. Існують повідомлення про персистенцію мікобактерій одного виду але з різною вірулентністю в одному макроорганізмі, тобто в процесі розмноження мікобактерій в тканині з'являються такі з високою чи низькою вірулентністю. Традиційно відомо, що пасажі мікобактерій через організм морських свинок, чутливих до цього виду збудника, сприяють підвищенню вірулентності. Проте, досліджуючи ідентифікований, та вивчений нами швидкорослий штам мікобактерій перших генерацій в динаміці прямих пасажів через організм морських свинок встановлено, що існують й такі штами які не вписуються в загальну думку дослідників. Так, протягом десяти пасажів через організм [8] морських свинок встановлено поступове скорочення тривалості інфекційного процесу до п'ятого пасажу, а в наступних – подовження і вже на десятій патолого-анатомічно хвороба не виявлялась, проте стан алергії збудник стимулював.

Такі результати прямих пасажів мікобактерій швидкорослого штаму через організм морських свинок, з однієї сторони визначають особливості конкретного штаму, а з другої суперечить думці, що з кожним пасажем підвищується ступінь ураження тварин оскільки інколи з окремими штамами все відбулося навпаки. Виявилось, що в організмі морських свинок, чутливих до *M. bovis*, високовірулентний штам динамічно втрачає свою агресивність.

У той же час, можна стверджувати, що змінена певна властивість у мікроорганізмі в динаміці пасажів чи під впливом інших чинників яка традиційно ідентифікується у вихідного материнського штаму може характеризувати певний окремий штам, навіть якщо така властивість гіпотетично може змінитися.

Поряд з цим, безумовно, на визначення штаму впливає й швидкість розмноження, здатність культивуватися на середовищах. Саме тому традиційним вважається наявність пові-

льнорослих й швидкорослих штамів зокрема [5, 10, 19]. Мікобактерії бичачого виду, штами які культивуються на одних середовищах й не культивуються на інших (із натрієм саліциловокислим), свідчить про певні зміни в синтетазних системах які відбулися внаслідок активізації одних й пригніченні інших генів мікроорганізму.

Вочевидь, такі особливості біологічної активності певних штамів пов'язані з хімічною будовою мікробної клітини. І це правомірно, так як регуляція вмісту хімічних речовин клітинної оболонки тісно пов'язана з активністю певного гену й прямо вказує на інтенсивність метаболізму клітини в цілому. Так, зниження вмісту загальних ліпідів з 8–10% до 2–3% супроводжується зниженням ступеня вірулентності аж до повної втрати [3, 4, 12, 22]. І, як свідчать дослідження, триразові прямі пасажі мікобактерій через організм морських свинок, не призводять до поновлення вихідної патогенності. Звичайно, що не тільки вміст загальних ліпідів може визначати та характеризувати той чи інший штам.

Динамічні зрушення вмісту загальних ліпідів свідчать й про інші процеси, які відбуваються в мікробній клітині, про перебудову синтетазних систем в тих чи інших умовах. Проте фракції загальних ліпідів, незалежно від рівня їх загального вмісту, якісно стабільні, але кількісно динамічно змінюються щоправда не завжди із статистичною достовірністю. Це свідчить що фракції ліпідів не можуть характеризувати відмінності штама мікобактерій [3, 4, 22, 24].

Водночас за окремими показниками ліпідів все ж таки можна встановити штамові особливості. Це вміст вільних жирних кислот [3, 4]. Дослідженнями встановлено, що на тлі динамічних змін культуральних, біохімічних властивостей та морфології мікобактерій, які призводять до суттєвого зниження вірулентності мікобактерій, перелаштовується якісний склад та кількісний вміст вільних жирних кислот: у вірулентних штамів превалюють довголанцюгові, а в слабковірулентних чи атипових – коротколанцюгові вільні жирні кислоти. До цього не тільки знижується вміст довголанцюгових кислот але й спостерігається їх зникнення з більшим числом атомів вуглецю

до не діагностованого за хроматографічним методом рівня (C_{23:0}–C_{27:0}).

Отже, детекція мікобактерій за вмістом ліпідів може свідчити про новий штам, оскільки мікобактерії з таким хімічним складом набувають й нових властивостей непритаманних материнському вихідному штаму. З таким вмістом ліпідів, зокрема вільних жирних кислот, ідентифікуються мікобактерії, які виділяються (ізолюються з біологічного матеріалу) з організму інших тварин і в цьому випадку стверджується, що виділено штам мікобактерій, які характеризуються такими чи іншими показниками. Звичайно, хімічний склад мікроорганізму безпосередньо зв'язаний з метаболізмом мікробної клітини, що визначає її біологічну активність, в цілому та здатність проявляти (набувати) нову властивість, яка забезпечує виживання в довкіллі. Безпосередню участь в цих складних й доки ще остаточно нез'ясованих процесах беруть гени. Саме вони регулюють, активізуючись чи пригнічуючись, адаптивні процеси мікобактерій та визначають прояв необхідної здатності до виживання в тих чи інших умовах. На цьому тлі можуть з'являтися до цього не ідентифіковані властивості: здатність розмножуватися за низьких плюсових температур, на простих живильних середовищах, зі вмістом різних індикуючих речовин [13, 17, 23].

Такі властивості мікобактерій навіть за умови їх тимчасовості, можуть визначати специфічність штаму, оскільки ці мікроорганізми володіють досить високою лабільною здатністю. В той же час змінена біологічна активність, здатність інтенсивно розмножуватися на простих живильних середовищах закріплюється досить стійко, так як впродовж 140 пересівів через елективне живильне середовище вона не втрачається. Водночас змінені мікобактерії розмножуються й на простих живильних середовищах. Цей феномен, за умови відсутності чи присутності інших описаних вище незвичайних властивостей також може свідчити про особливість штаму мікобактерій.

У досліджених мікроорганізмів, без сумніву, змінюється біохімічна активність (чинники невідомі). Результати досліджень свідчать про те, що окремі штами мікобактерій дисоціативних форм володіють вищою ферментативною активністю, ніж мікроорганізми материнського штаму *M. bovis*, та стверджують про набуття ними підвищених ферментативних властивостей (каталазна, пероксидазна, дегідрогеназна), які непритаманні патогенним мікобактеріям, натомість характерні атипичним.

Вочевидь, штамова особливості мікобактерій може включатися й за можливістю утворювати корд-фактор, оскільки одні вірулентні штами збудника його утворюють інші ж позбавлені такої здатності, натомість окремі види атипичних мікобактерій достатньо інтенсивно формують “косички” та “джгути” [15].

Отже, деякі аспекти біологічних властивостей мікобактерій бичачого виду, досліджених в динаміці багаточисельних пересівів через штучне живильне середовище, організм морських свинок свідчать про різноманітність та складність детекції штаму, особливо за умови біологічного циклу розвитку мікроорганізму [18, 25]. Морфологічні форми окремих стадій розвитку мають свої особливі біологічні властивості, свою активність в біологічному світі. За таких обставин наступна субкультура, навіть з адаптивними морфологічними формами, одержана від материнського патогенного (різного ступеня вірулентності) штаму за окремими властивостями, а можливо зі значно зміненними властивостями може вважатися як новий штам, одержаний з певного джерела: чи то макроорганізм чи то материнська субкультура (культура) мікроорганізмів, зокрема мікобактерій.

Висновок.

Штамові відмінності визначаються певними специфічними біологічними властивостями конкретної популяції, раси мікобактерій (мікроорганізмів) субкультури незалежно від того з якого джерела вони одержані.

ЛІТЕРАТУРА

1. Адаптивна здатність *M. bovis* на щільних яєчних живильних середовищах з різним рН / О.А. Ткаченко, Г.І. Хільченко, М.В. Зеленська [та ін.] // Вет. медицина України. – 2004. – № 7. – С. 18–21.
2. Аспекти морфогенезу та культуральні й

- тинкторіальні властивості *M. bovis* дисоціативних форм за різних температур культивування / О.А. Ткаченко, І.М. Шендрик, В.В. Місків [та ін.] // Ветеринарна медицина, міжвідомчий тематичний науковий збірник – 2013. – №97 – С. 143–144.
3. Білан М.В. Вільні жирні кислоти – фактори патогенності *M. bovis* / М.В. Білан, О.А. Ткаченко, Л.О. Ковальова // Зб. наук. праць Луган. НАУ. – 2007. – №78/101. – С. 613 – 620.
 4. Білан М.В. Порівняльна характеристика вільних жирних кислот *M. bovis* / М.В. Білан, О.А. Ткаченко, Л.О. Ковальова. // Проблеми зооінж. та вет. медицини: зб. наук. праць ХДЗВА. – 2007. – Вип. 15 (40), – т. 1, ч.2. – С. 85–90.
 5. Біологічна активність епізоотичних та музейних штамів *M. bovis* / О.А. Ткаченко, Н.Г. Усєєва, В.В. Глебенюк [та ін.] // Наук. вісник Львів. нац. ун-ту ім. С. З. Ґжицького. – 2007. – № 3(34), ч. 1, Т. 9. – С. 218–224.
 6. Біологічні властивості дисоціативних форм *M. bovis*: культуральні особливості за температур 3 і 37° С / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Місків [та ін.] // Вет. медицина України. – 2010. – № 3. – С. 33–35.
 7. 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.] // Вет. медицина України. – 2010. – №12. – С. 27–30.
 8. Бусол В. Вільні жирні кислоти *M. bovis* та інфекційний процес / В. Бусол, О.Ткаченко, М. Зеленська, Л. Ковальов // Ветеринарна медицина. – 2007. – № 3. – С. 10–13.
 9. Ветеринарний енциклопедический словарь / Под. ред. В.П. Шишкова. – Издательство “Соверсткая энциклопедия”, 1981. – 576 с.
 10. Глебенюк В.В. Видова належність мікобактерій, виділених від тварин у Дніпропетровській області / В.В. Глебенюк, К.В. Теліженко // Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. – 2015. – Т. 3. №1.– С. 61–64. – Режим доступу: <http://biosafety-center.com/wp-content/uploads/2015/06/2.pdf>
 11. Глебенюк В.В. Мікроструктурні зміни органів морських свинок, заражених дисоціативними варіантами *Mycobacterium bovis* швидкорослого штаму / В.В. Глебенюк, О.Г. Глебенюк, Ю.О. Верченко // Вісник Дніпропетровського ДАУ. – 2016. – №2 (40). – С. 62–65.
 12. Давиденко П. О. Ліпідний склад *M. bovis* дисоціативних форм, пасажованих через щільне живильне середовище з рН 7,1 за різних температур культивування / П.О. Давиденко, О.А. Ткаченко // Матеріали III Всеукр. з’їзду екологів з міжнар. участю [«Екологія-2011»], (Вінниця, 2011р.) / М-во освіти і науки, молоді та спорту України, М-во екології та прир. ресурсів України, Вінницький національний техн. ун-т [та ін.], 2011. – Т. 2. – С. 485–488.
 13. Закономірність морфологічних ознак та тинкторіальних властивостей *M. bovis* дисоціативних форм від температури культивування / О.А. Ткаченко, П.О. Давиденко, В.В. Місків [та ін.] // Збірник наук. праць Луган. НАУ. – 2011 – №31. – С.212–216.
 14. Елементарні тільця в біологічному циклі *M. bovis*. / О.А. Ткаченко, М.В Білан, Л.О. Ковальова [та ін.] // Наук.-техн. бюлетень ін.-ту біології тварин і держ. наук.-дослідн. контрольного ін.-ту ветпрепаратів та корм. добавок. – Львів, 2009. – Вип. 10. – № 4. – С. 212–216.
 15. Ткаченко О. А. Корд-фактор та вірулентність *Mycobacterium bovis* швидкорослого штаму та атипичних мікобактерій / О.А. Ткаченко, В.В. Зажарський, В.В. Глебенюк // Ветеринарна медицина України. – 2012. – №3(193). – С.10–13.
 16. Лабораторна діагностика туберкульозу тварин: [Практичний посібник] / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Зажарський, Л.О. Ковальова. – Дн-вськ: видавництво “Свідлер А. Л.”, 2010. – 208 с.
 17. Ліпідний склад дисоціативних форм *M. bovis* / О. А. Ткаченко, П.О. Давиденко, В. В. Зажарський [та ін.] // Вет. медицина України. – 2011. – № 11 – С. 33–35.
 18. Морфологічні особливості реверсії некіслотостійких *M. bovis* в бактеріальну кислотостійку форму / О.А. Ткаченко, М.В

- Білан, П.О. Давиденко [та ін.] // Вет. медицина України. – 2009. – №. 6 – С. 28–30.
19. Поліморфізм і мінливість *M. bovis* швидко-та повільнорослих штамів / О. А. Ткаченко, М. В Білан, В. В Зажарський. [та ін.] // Вет. медицина України. – 2009. – № 3. – С. 30–33.
20. Ткаченко О.А. Швидкоростучі *M. bovis* у проблемі туберкульозу / О.А. Ткаченко // Вет. медицина України. – 2004. – № 7. – С.14–17.
21. Ткаченко О.А. Біохімічний склад швидкорослого штаму *M. bovis* в залежності від тривалості пасажування / О.А. Ткаченко, В.О. Бусол, М.В. Зеленська [та ін.] // Вет. медицина України. – 2006. – № 2. – С. 20–22.
22. Ткаченко О.А. Вільні жирні кислоти *M. bovis* та інфекційний процес / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.О. Бусол, [та ін.] // Вет. медицина України. – 2007. – № 3. – С. 10–13.
23. Ткаченко О.А. Вплив температури культивування на вірулентність мікобактерій / О.А. Ткаченко, В.В. Глебенюк // Вісник Дніпропетровського ДАУ. – 2008. – №2. – С. 112–114.
24. Ткаченко О.А. Вплив пасажу через морських свинок на біологічну активність та ліпідний склад *M. bovis* швидкокорослого штаму / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Глебенюк // Науковий вісник Львівського НУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького. – 2008. – Т. 10, № 2 (37), Ч. 2. – С. 262–267.
25. Ткаченко О.А. Біологічний цикл розвитку *Mycobacterium bovis* / О.А. Ткаченко // Вет. медицина України. – 2014. – № 10. – С. 15–20.
26. Influence of bcg vaccine strain on the immune response and protection against tuberculosis / Nicole Ritz, Willem A. Hanekom, Roy Robins-Browne [et al.] // FEMS Microbiol Rev. – 2008. – Vol. 32, № 2. – P. 821–841.
27. Variable virulence and efficacy of bcg vaccine strains in mice and correlation with genome polymorphisms / Lu Zhang, Huan-wei Ru, Fuzeng Chen [et al.] // Molecular Therapy. – 2016. – Vol. 24. – № 2. – P. 398–405.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ШТАММА МИКОБАКТЕРИЙ (ТЕОРЕТИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ)

Ткаченко А.А.

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепр

Приведенные материалы многолетних исследований *M. bovis* свидетельствуют о сложности определения штаммовых особенностей. Показано, что она основывается на биологическом цикле развития. Указано на необходимость при определении штамма, оценивать биологические свойства конкретной субкультуры микроорганизмов, особенно при динамичном цикле биологического развития. Утверждается, что морфологические формы определенных стадий развития обладают специфическими биологическими свойствами, которые влияют на штаммовые особенности.

Ключевые слова: L-формы, биологический цикл, диссоциация, микобактерии, туберкулез, штамм.

METHODOLOGICAL PRINCIPLES FOR DETERMINING STRAINS OF MYCOBACTERIA (THEORETICAL-EXPERIMENTAL MATERIALS)

O. Tkachenko

Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipro

These materials of years of research demonstrate the complexity of determining characteristics of a strain of mycobacteria, because this type as in some other types of microorganisms biological cycle of development, which is largely detected by protracted numerous replanting passages through the culture medium like in experiments on the use of suspension mycobacteria and those of a single cell. It is shown that morphological development cycle depends on the phase of the cycle and growth. The attention is focused on the fact that at replanting (including direct) culture (suspension of *Mycobacterium*) and culturing at 37 ° C acid resistant highly virulent mycobacterium tuberculosis in the first 117 passages depending on the pH changes morphologically, cultural properties, the rate of reproduction, lipid composition, virulence, biochemical activity. Next there is the ability to

be cultivated by 2-3° C and a gradual loss as such at 37° C. These forms reproduce on simple nutrient media, intensive form a pigment. With the advent of these forms significantly reduced virulence and sensibilization ability with preserving immunogenic properties. Dynamically changing the structure of free fatty acids with of long chain against a background of significant reduction in total lipids and preserve the quality of the fractions. Is accented to the need for determining strain to assess biological properties of a particular subculture microorganisms, especially dynamic biological development cycle. It is alleged that certain morphological forms of development stages have specific biological properties that influence the strain characteristics. Is accented to the need for determining strain to assess biological properties of a particular subculture microorganisms, especially dynamic biological development cycle. It is alleged that certain morphological forms of development stages have specific biological properties that influence the strain characteristics.

Key words: *dissociation, L-form, mycobacteria, strain, tuberculosis.*
