

УДК 619:616.98:579.873.21:57.083.32:636.5

**ФІЛЬТРИВНІ ФОРМИ У БІОЛОГІЧНОМУ ЦИКЛІ РОЗВИТКУ ДИСОЦІАТИВНИХ
MYCOBACTERIUM BOVIS****ТКАЧЕНКО О. А.**, д. вет. н., професор
АЛЕКСЄЄВА Н. В., к. вет. н., доцент
ЗАЖАРСЬКИЙ В. В., к. вет. н., доцентДніпропетровський державний аграрно-
економічний університет,
м. Дніпропетровськ,
epizooddau@mail.ru

Показано, що в популяції мікобактерій бичачого виду дисоціативних варіантів у процесі пересівів збільшується частота виділення фільтривних форм, які за висіву на живильне середовище генерують паличкоподібні мікобактерії і, рідко, елементарні тільця. Стверджується, що останні є невід'ємною складовою біологічного циклу розвитку мікобактерій, бо саме з елементарних тілець (фільтривних форм) утворюються паличкоподібні форми цього виду мікроорганізмів

M. bovis, біологічний цикл, морфогенез, фільтривні форми, ультрадрібні форми, елементарні тільця

Постановка проблеми. Проблема туберкульозу існує з давніх часів і до тепер, хоча і в її пізнанні досягнуто багато успіхів. Це, звичайно, суттєво впливає, за умови якісної реалізації результатів дослідження, на ефективність профілактики інфекції та її викорінення. Між тим ряд питань, на теперішній час, недостатньо вивчені та дискусійні. До першого відносяться фільтривні форми мікобактерій, їх значення в тій чи іншій популяції мікроорганізмів, у розвитку інфекційного процесу та біологічному циклі розвитку мікобактерій. Повідомлення авторів [1, 3] в 70-х роках минулого століття та в останні роки [2] свідчать про те, що фільтривні форми та елементарні тільця тотожні за біологічною суттю, які, до того ж, не культивуються (погано культивуються) на звичайних штучних живильних середовищах. Це визначає певну складність їх вивчення. У той же час дисоціативні форми мікобактерій, в тому числі й фільтривні (елементарні тільця), як свідчать наші дослідження попередніх років [4], культивуються за 3 С на звичайних живильних середовищах з рН 6,5-7,1. Це визначило можливість дослідити наявність ультрадрібних форм (елементарних тілець) у популяції *M. bovis* дисоціантів, та їх ролі в біологічному циклі розвитку, цього виду мікроорганізмів.

Мета роботи: виявлення фільтривних форм *M. bovis* дисоціантів у динаміці багаточисельних пасажів через щільне живильне середовище та з'ясування їх ролі в біологічному циклі розвитку.

Матеріали та методи. Для дослідів використали мікобактерії, субкультури яких зберігалися в музеї лабораторії кафедри епізоотології та інфекційних хвороб ДДАЕУ: патогенний штам *M. bovis* 124 генерації та його дисоціативні форми, що відщепилися на 117 (а, б, в) та 118 пересіві й пасажувалися в наступному 110 разів за температури 3°C.

У роботі використали фільтротримач шприцевий для мембранних фільтрів модель DH25PWT1-1, діаметр фільтра 25 мм, матеріал фільтротримача – тефлон, виробник AWL-Tech (Чехія).

Фільтри мембранні дискові типу МФАС – Б1 та МФАС – Б2, матеріал мембран – мікропористий плівковий, приготовлений на основі суміші ацетатів целюлози, з розміром пор 0,1 та 0,05 мкм і загальною пористістю 80 – 85 %, виробник ЗАО НТЦ «Владіпор» (м. Володимир, Російська Федерація).

Завис мікобактерій (1 мг/см³) дослідних зразків готували шляхом відбору культури бактеріологічною петлею, над полум'ям горілки в умовах боксу, та вмішували у стерильну сту-

пку. За допомогою пестика гомогенізували бактеріальну масу в ступці з додаванням стерильного ізотонічного розчину натрію хлориду.

Фільтрацію завису дослідних зразків мікобактерій різних морфологічних форм проводили за допомогою шприца з'єданого за принципом Луер-конуса у стерильні мірні пробірки. Для проведення процесу фільтрації розгвинчували корпус фільтротримача, на опірній сіточці (трегері) розміщували мікрофільтраційні мембрани, загвинчували корпус та з'єднували зі шприцом.

Фільтрат 1 (фільтр МФАС – Б1 0,1 мкм) та фільтрат 2 (фільтр МФАС – Б2 0,05 мкм), кожного дослідного зразка висівали бактеріологічною петлею на ячне живильне середовище для культивування мікобактерій чотирьох бактеріологічних пробірок і культивували за температури 3 та 37 °С, упродовж 90 діб. Облік росту культур мікобактерій перші сім діб проводили щодоби, а в послідуєчому – раз у тиждень упродовж досліді.

У культур вивчали швидкість росту на ячному живильному середовищі, зовнішній вигляд, пігментоутворення, а також у мазках зафарбованих за методом Ціля-Нільсена морфологію, тинкторіальні властивості мікобактерій.

Мікроскопію мазків, приготовлених з первинних культур та із субкультур, проводили за їх пересіву до і після фільтрації.

Результати дослідження. Встановлено, що культура 60 генерації 117 а варіанта дисоціативних форм мікобактерій характеризувалася суцільним ростом жовто-помаранчевого кольору по лінії висіву (рис. 1.1).

Під імерсією в мазку, виготовленому з досліджуваної культури, виявлено поодинокі субмікроскопічні некіслотостійкі (та інколи кіслотостійкі) зерна та значну кількість коротких (традиційних розмірів) й більш довгих (ниткоподібних) паличок (рис. 1.2).

У фільтраті (діаметр пор 0,1 та 0,05 мкм), одержаного з вихідної культури мікобактерій, не виявлено морфологічних форм досліджуваних мікобактерій. Проте фільтрат (0,05 мкм), висіяний на живильне середовище стимулював ріст культури (рис. 1.3) на 50 добу культивування, що свідчить про наявність у ньому ультрадрібних форм. Інший фільтрат (0,1 мкм), в якому також не виявлено ультрадрібних форм мікобактерій, дав негативні результати культуральних досліджень. Під імерсією в мазку, виготовленому з отриманої культури (із фільтрату 0,05 мкм) виявлені некіслотостійкі зернисті палички та поодинокі зерна (рис. 1.4).

При з'ясуванні наявності ультрадрібних форм у 110 генерації *M. bovis* дисоціантів 117 а варіанту виявлено наступне: за висіву фільтрату на живильне середовище спостерігався ріст культури по лінії посіву на 7-9 добу

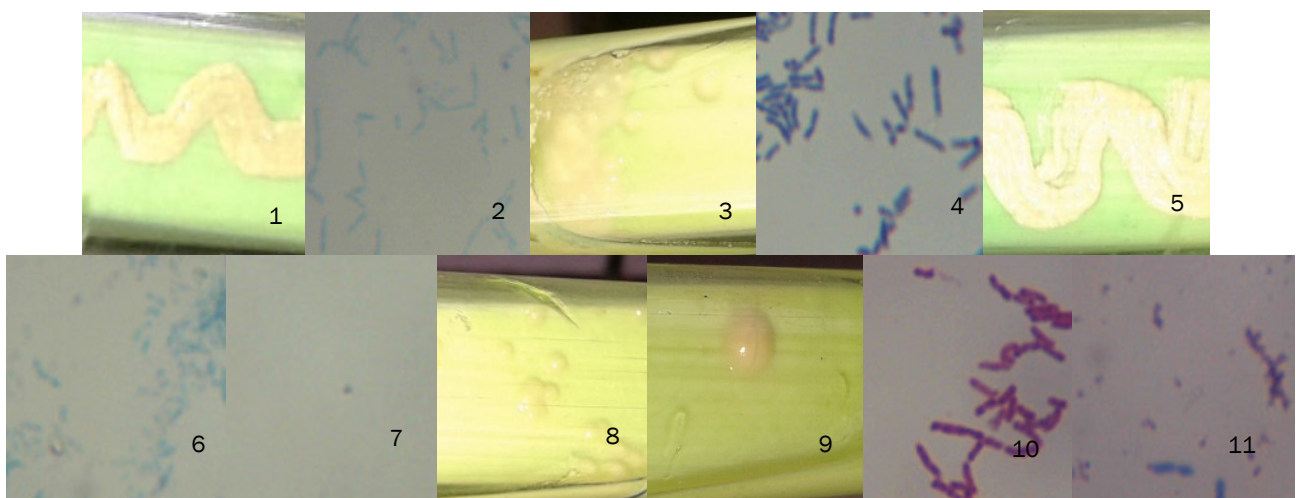


Рис. 1. Культуральні властивості та морфологія *M. bovis* 117 а варіанта:

культура (1) 60 генерація, (3) із фільтративних форм 60 генерації, (5) 110 генерація, (8-9) із ультрадрібних форм 110 генерації; морфологія: (2) 60 генерація, (4) із фільтративних форм 60 генерації, (6) 110 генерація, (7) ультрадрібні форми 110 генерації, (10-11) *M. bovis* одержані з ультрадрібних форм 110 генерації (0,1 та 0,05 мкм). $\times 1600$

культивування (рис. 1.5) під імерсією в полі зору мікроскопа, виявлено некіслотостійкі кокоподібні, короткі й більш довгі (інколи ниткоподібні) палички (рис. 1.6).

У фільтраті, одержаному зі згаданої вище субкультури за допомогою фільтра, з порами 0,1 та 0,05 мкм виявлено поодинокі некіслотостійкі субмікроскопічні зерна (рис. 1.7). Культуральні дослідження фільтрату, одержаного через пори фільтра обох розмірів дали позитивні результати: ріст культури (окремо розташовані колонії) після висіву фільтрату відмічено на 19-22 добу культивування (рис. 1.8 та 1.9).

Під імерсією в мазку, виготовленому з одержаних культур виявлено (рис. 1.10) в першому випадку (пори фільтра 0,1 мкм) кіслотостійкі короткі й більш довгі прямі та зігнуті палички, а також поодинокі субмікроскопічні зерна. У другому випадку, де фільтрат, одержано через пори 0,05 мкм, під імерсією виявлено субмікроскопічні некіслотостійкі та кіслотостійкі зерна, а також некіслотостійкі зернисті палички (рис. 1.11).

Отже, дослідження дисоціативних *M. bovis* 117 а варіанту засвідчили, що фільтративні форми мікобактерій генеруються в популяції мікроорганізмів постійно. Такі форми (зерна) в першій субкультурі (рис. 1.10 та 1.11) генерують як різних форм палички, так і зерна, в то-

му числі й субмікроскопічні. Це свідчить про те, що ультрадрібні форми різних розмірів є одним із етапів біологічного циклу розвитку збудника туберкульозу.

Вивчаючи культуральні властивості 60 субкультури 117 б варіанту дисоціативних форм мікобактерій бичачого виду (рис. 2) встановлено на живильному середовищі суцільний ріст маслянистої культури злегка жовтуватого-помаранчевого кольору (рис. 2.1).

Приготувавши завис мікобактерій з цієї культури та висіявши на живильне середовище одержано ріст подібної субкультури на 7-8 добу спостереження (рис. 2.2). З'ясовуючи морфологію мікобактерій з одержаної субкультури виявлено (рис. 2.3) некіслотостійкі кокоподібні, короткі й більш довгі палички.

Фільтрат, одержаний з субкультури не вміщував (за мікроскопії) мікроорганізмів, що визначило відсутність росту культури упродовж 90 діб інкубації.

Вивчаючи за подібною схемою властивості 110 субкультури 117 б варіанту відмічено, що ріст слизової культури сіро-жовтуватого забарвлення спостерігався за лінією висіву завису мікобактерій (рис. 2. 4). Подібне виявлено за висіву завису, виготовленого із досліджуваної вихідної 110 культури (рис. 2. 5).

Водночас вивчення під імерсією мазка, виготовленого із завису мікобактерій 117 б варіа-

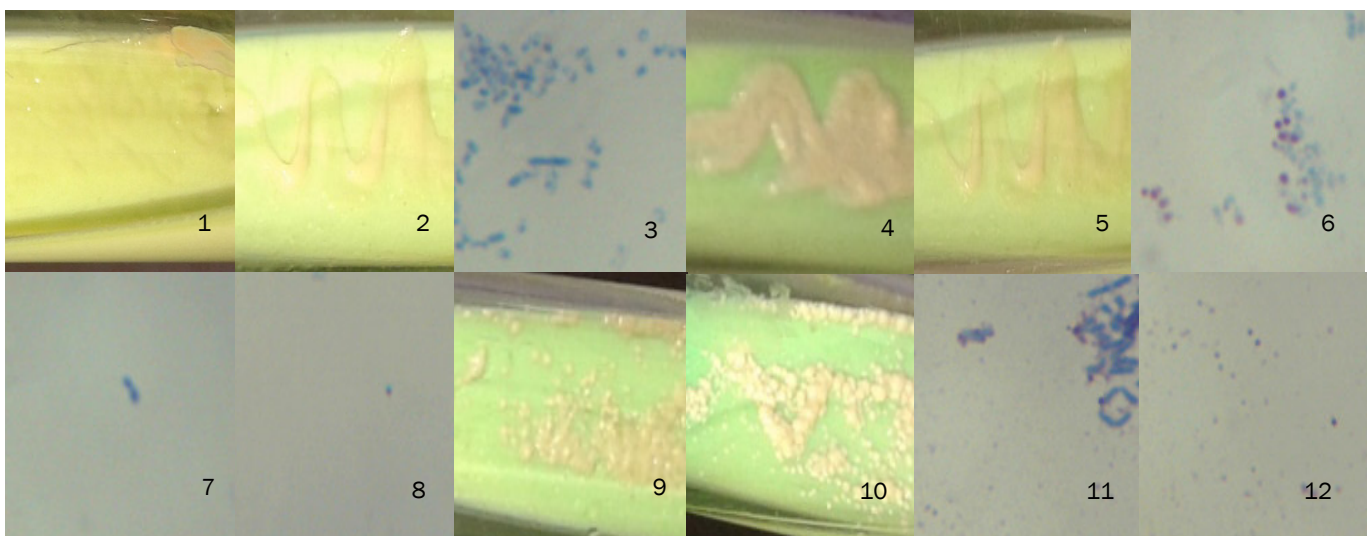


Рис. 2. Культуральні властивості та морфологія *M. bovis* 117 б варіанта:

культура – (1) 60 генерація, (2) 61 генерація, (4) 110 генерація (нативна), (5) 111 генерація (завис), (9-10) із ультрадрібних форм 110 генерації (пори 0,1 та 0,05 мкм); морфологія: – (3) 61 генерація, (6) 111 субкультура, (7-8) ультрадрібні форми 110 генерації (пори 0,1 та 0,05 мкм), (11-12) *M. bovis* одержані з ультрадрібних форм 110 генерації (0,1 та 0,05 мкм). $\times 1600$

нту (110 субкультура) виявлено (рис. 2. 6) дрібні як некіслотостійкі, так і кіслотостійкі (30 %) зерна. У фільтраті, одержаного з цього завису (пори фільтра 0,1 мкм) під імерсією виявлено поодинокі субмікроскопічні некіслотостійкі зерна (рис. 2.7). Подібне встановлено і у фільтраті, одержаного через пори фільтра 0,05 мкм (рис. 2.8).

Висіявши перший та другий фільтрати на живильне середовище одержано практично суцільний ріст жовтої сухуватої культури, сформованої окремими колоніями (рис. 2.9 та 2.10).

Під імерсією в мазках, виготовлених із культур, які стимулювали ультрадрібні *M. bovis* виявлено (фільтр з порами 0,1 та 0,05 мкм) субмікроскопічні некіслотостійкі зерна та паличкоподібні (різних форм і довжини) форми (рис. 2.11 та 2.12).

Отже, дисоціативні *M. bovis* 117 б варіанту в 60 генерації не вміщували ультрадрібних форм. Вони виявилися тільки в 110 субкультурі.

Дослідження наступного штаму *M. bovis* дисоціативних форм 117 в варіанту засвідчили наступне (рис. 3).

Вихідна жовто-помаранчева культура (рис. 3.1) була сформована некіслотостійкими поодинокими зернами, паличками та значною кількістю зернистих ниткоподібних (гіллястих) форм, окремі з яких, розпадаються на окремі частини (рис. 3.2).

Проте провівши їх фільтрацію та досліджуючи виготовлені мазки під імерсією не виявлено ніяких форм мікобактерій, а 3-х місячні культуральні дослідження одержаного та висі-

яного на живильне середовище фільтрату не дали позитивних результатів.

Водночас провівши такі ж дослідження 110 субкультури мікобактерій 117 в варіанту встановлені протилежні результати. Так, з рисунку 3.3. видно, що вихідна жовтуватого кольору 110 субкультура формувалася некіслотостійкими зернами, та окремими (як виключення) зернистими паличками (рис. 3.4). У той же час у фільтраті (пори 0,1 мкм) виявлені поодинокі некіслотостійкі зерна та інколи тонкі короткі палички (рис. 3.5).

Між тим, висіявши фільтрат на штучне живильне середовище та культивуючи його за 3 °С виявлено ріст культури (з окремих колоній) на 23-26 добу (рис. 3.6), яка формувалася некіслотостійкими зернистими паличками (рис. 3.7).

Отже, ультрадрібні форми (елементарні тільця) частіше виявляються в субкультурах мікобактерій, які багаторазово пасажуються через щільне живильне середовище генеруючи за цього, паличкоподібні некіслотостійкі дисоціативні форми. Можливо це зумовлено адаптивною здатністю ультрадрібних форм (в основному елементарних тілець) до елективного живильного середовища, які з часом, за багаторазових пересівів, пристосовуються до нього. Проте ультрадрібні форми на штучному середовищі не генерують собі подібних за морфологією нащадків, а утворюють некіслотостійкі паличкоподібні варіанти мікобактерій.

Наші дослідження попередніх років, а також інших авторів свідчили, що елементарні тільця практично не культивуються на звичайних живильних середовищах [1-3]. Проте, ця

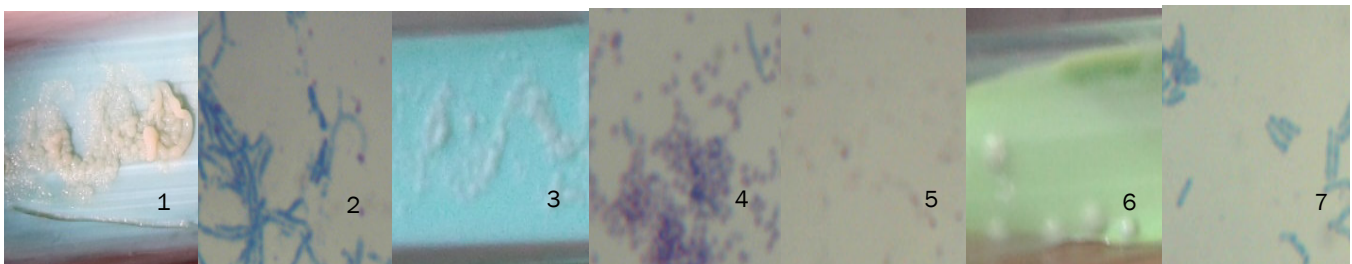


Рис. 3. Культуральні властивості та морфологія *M. bovis* 117 в варіанта: культура – (1) 60 генерація (вихідна), (3) 110 генерація, (6) 111 генерація (з ультрадрібних форм 110 генерації); морфологія: – (2) 60 генерація. (4) 110 генерація, (5) ультрадрібні форми 110 генерації, (7) *M. bovis* одержані з ультрадрібних форм 110 генерації. $\times 1600$

робота переконуюче стверджує, що дисоціативні елементарні тільця можуть культивуватися одночасно з іншими формами зберігаючи можливість реверсії в некіслотостійкі форми збудника туберкульозу, тобто в таких клонах мікобактерій постійно утворюються з елементарних тілець паличкоподібні форми збудника, тобто вони є невід'ємною частиною біологічного циклу розвитку, хоча таке явище не завжди спостерігається в кожній популяції мікобактерій того чи іншого штаму. Напевно це визначається особливістю стадії розвитку мікобактерій.

Водночас у літературі повідомляється [3], що L-форми мікобактерій, культивовані на селективному живильному середовищі не зважаючи на свої великі розміри порівняно з типовими паличками, внаслідок зміни складових клітинної стінки витягуючись проходять через бактеріальні фільтри. Для уточнення цього питання дослідили L-форми 118 генерації (рис. 4).

Результати досліджень засвідчили, що за 20 місяців знаходження 60 культури 118 генерації в умовах низької плюсової температури практично не відбулося зміни її зовнішнього вигляду (рис. 4.1).

У той же час морфологічні ознаки мікобактерій та їх тинкторіальні властивості за аналізований період дещо змінилися. Вихідна культура формувалася (рис. 4.2) некіслотостійкими дрібними зернами (поодинокі), кокоподібними, зернистими – короткими й більш довгими паличками, нитками (які формувалися зернами) та L-формами (овали) з яких звільняються зернисті утворення.

Через 20 місяців (за знаходження в умовах низької плюсової температури) мікроскопією цієї ж субкультури виявлено іншу морфологію та тинкторіальні властивості мікобактерій. За цього (рис. 4.3) тільки поодинокі L-форми залишалися некіслотостійкими, в той час як переважна більшість з них набула червонуватого забарвлення із переважно синіми зернами в

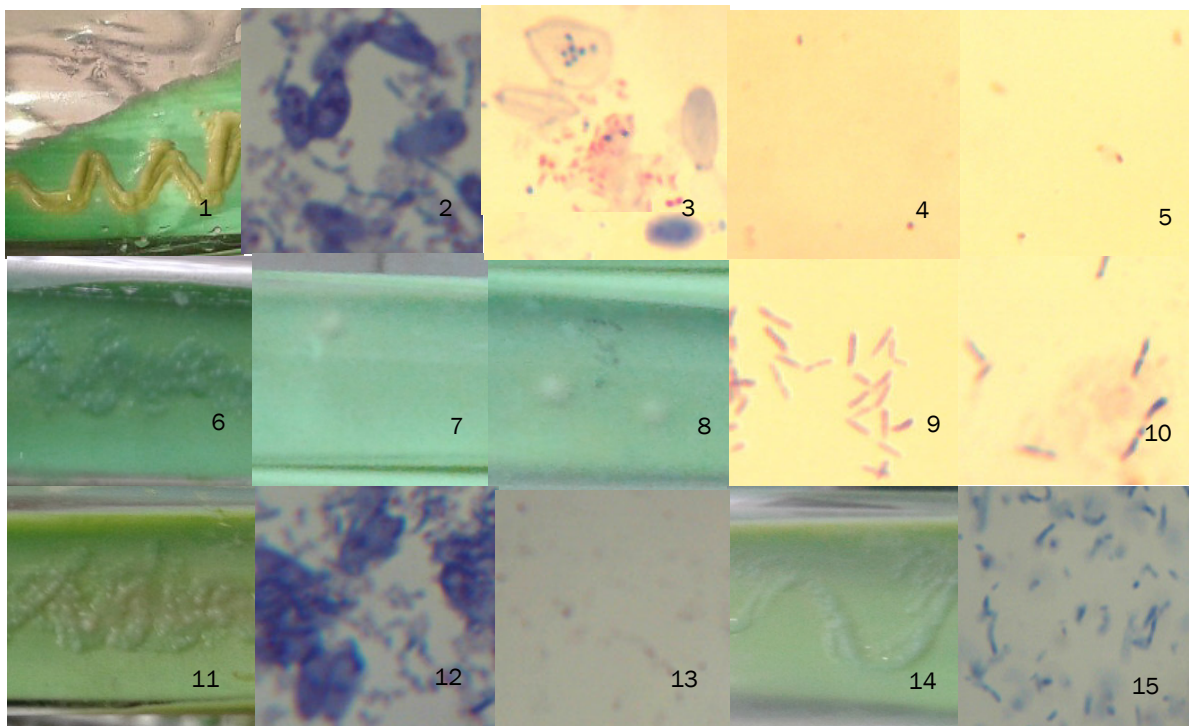


Рис. 4. Культуральні властивості та морфологія *M. Bovis* 118 варіанта:

культура – (1) 60 генерація, (6) 61 генерація (контроль), (7-8) з фільтривних форм 60 генерації (пори 0,1 та 0,05 мкм), (11) 110 генерація; (14) із фільтривних форм 110 генерації; морфологія: – (2) 60 генерація (нативна), (3) 60 генерація (завис), (4 -5) ультрадрібні форми 60 генерації (пори 0,1 та 0,05 мкм), (9-10) *M. bovis* з фільтривних форм 60 генерації, (12) 110 генерація, (13) ультрадрібні форми 110 генерації (пори 0,1 мкм), (15) *M. bovis* з ультрадрібних форм 110 генерації. $\times 1600$

середині. Такі зерна, але в більшості червоно-ватого забарвлення, виштовхуються (звільняються) через оболонку. Зерна як червоного, так і синього забарвлення домінують в полі зору мікроскопу. Палички (некислотостійкі) виявлялися тільки поодинокі.

Отже, тривале перебування L- та інших форм мікобактерій 60 генерації в умовах низької плюсової температури супроводжується в більшості перетворенням некислотостійких паличок та поодиноких зерен в кислотостійкі. L-форми, до цього ж, мають чітку тенденцію руйнації.

Провівши фільтрацію завису із досліджених під імерсією мікобактерій після 20 місяців зберігання за 3°C через фільтри з порами 0,1 та 0,05 мкм в діаметрі та знову дослідивши під мікроскопом встановлено як в першому, так і в другому випадку (рис. 4.4 та 4.5) тільки поодинокі дрібні некислотостійкі зерна.

За висіву ж фільтрованого матеріалу (завису мікобактерій – контроль) (рис. 4.6), виявлено ріст значної кількості колоній на 8-10 добу.

Між тим, висіявши одержаний фільтрат мікобактерій з досліджуваної культури на живильне середовище та культивуючи за 3 °С, виявлено на 23 добу одночасний ріст поодиноких колоній (по 1-3 в пробірці) незалежно від діаметру пори фільтра (рис. 4.7 та 4.8).

Проте в мазку під імерсійною системою з одержаних культур встановлено кислотостійкі (частково) короткі й довгі зернисті палички й окремо розташовані поодинокі зерна (рис. 4.9). В іншій культурі (рис. 4.10), одержаної з фільтрату (фільтр з порами 0,05 мкм) під імерсією виявлені кислотостійкі довгі із заокругленими кінцями та зернами в середині палички.

Водночас ідентифіковані і субмікроскопічні (на межі видимості) поодинокі кислотостійкі зерна (елементарні тільця). Вочевидь, різний діаметр пор фільтра пропускає ультрадрібні форми (елементарні тільця) різних розмірів, з певною потенціальною здатністю генерувати кислотостійкі чи некислотостійкі форми мікобактерій. Це стверджує різноманітність (можливо) їх біологічного значення.

Досліджуючи культуру 110 пересіву (рис. 4.11) цього ж штаму дисоціативних мікобактерій під імерсією виявили (рис. 4.12) неки-

слотостійкі форми ідентичні 60 генерації: короткі палички (швидше кокоподібні), видовжені L-форми із темними зернами в середині. З окремих L-форм звільняються зерна. У фільтраті із підготовленого завису мікобактерій (фільтр тільки з порами 0,1 мкм) під імерсією виявили (рис. 4.13) субмікроскопічні зерна.

Після висіву профільтрованих мікобактерій на живильне середовище через 20 діб одержали культуру суцільного росту (рис. 4.14), а у мазку, приготовленого з одержаної культури виявлено (рис. 4.15) тільки некислотостійкі зерна, кокоподібні, короткі й довгі зернисті палички за відсутності L-форм.

Досліджуючи *M. bovis* патогенного материнського штаму 124 генерації (рис. 5) виявлено чисельні, дрібні та середні за величиною, правильної форми матові колонії жовто-білого кольору (рис. 5.1), а під імерсією (рис. 5.2) – кислотостійкі палички: короткі, тонкі, прямі з заокругленими кінцями, що розташовувалися як поодинокі, так і скупченнями (температура культивування тільки 37 °С).

Провівши фільтрацію досліджених *M. bovis* патогенного штаму 124 генерації та дослідивши мазок під імерсією, який приготували з фільтрату нами не виявлено форм мікобактерій та не одержано росту культури (3-х місячна інкубація).

Отже, дослідження дисоціативних L-форм засвідчили беззаперечну динаміку змін біологічних властивостей, які свідчать, що за багаточисельних пасажів через штучне живильне середовище підвищується частота утворення ультрадрібних форм та їх адаптація до середовища. Проте це не супроводжується (частіше

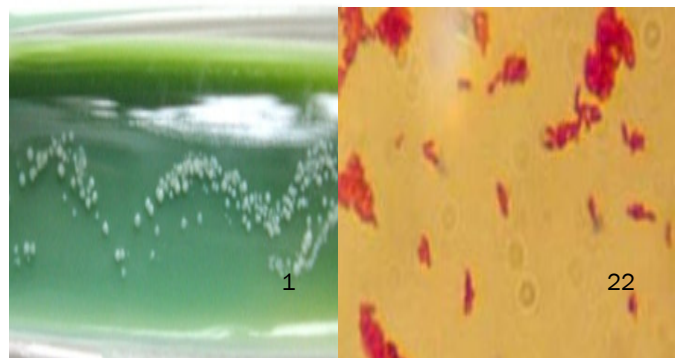


Рис. 5. Субкультура (1) та морфологія (2) патогенних *M. bovis* 124 пасажу. $\times 1600$

всього) генерацією таких же форм мікобактерій в наступних субкультурах: тобто з елементарних тілець (тільки поодиноких) у віддалені строки утворюються паличкоподібні некистотостійкі форми. Це стверджує закономірну участь ультрадрібних форм у біологічному циклі розвитку мікобактерій, оскільки вони генерують паличкоподібні форми збудника туберкульозу. Досліджені L-форми з різною оптичністю поверхні через бактеріальні фільтри не проникають, хоча вони й мають, через змінену у біохімічному відношенні, пластичну клітинну стінку.

Водночас, необхідно зазначити, що усі досліджувані *M. bovis* дисоціативних форм, за виключенням патогенного штаму, не культивувалися за 37 °С.

Висновки.

1. Субкультури *M. bovis* дисоціантів вміщують фільтривні форми, частота виділення яких

підвищується залежно від кількості генерацій (пасажів).

2. Фільтривні некистотостійкі форми за висіву на елективне середовище для культивування мікобактерій розмножуючись утворюють культури у вигляді поодиноких колоній та суцільного росту (у результаті злиття окремих колоній) в декілька разів повільніше, ніж у контролі.

3. У культурах, одержаних з фільтрату під імерсійною системою виявляються відмінні від висіяних на живильне середовище морфологічні форми мікобактерій.

4. Наявність фільтривних форм у популяції мікобактерій і їх здатність генерувати морфологічно змінені мікроорганізми в субкультурах переконливо стверджує їх беззаперечне значення в біологічному циклі розвитку цього дослідженого виду збудника туберкульозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биология и изменчивость микобактерий туберкулеза и атипичные микобактерии: Экспериментальные и теоретические исследования: пер. с венг. / Ю. К. Вейсфейлер. – Будапешт: Изд-во АН Венгрии, 1975. – 334 с.
2. Дорожкова И. Р. Возбудитель туберкулеза: история открытия и изучения / И. Р. Дорожкова // Туберкулез и болезни легких: науч.-практ. журн. – 2012. – № 3. – С. 3–15
3. L-формы микобактерий туберкулеза / Под ред. З. Н. Кочемасовой. – М.: Медицина, 1980. – 176 с.
4. Ткаченко О. А. Біологічний цикл розвитку *Mycobacterium bovis* / Ветеринарна медицина України. – 2014. – № 10. – С. 15–20.

ФИЛЬТРУЮЩИЕСЯ ФОРМЫ В БИОЛОГИЧЕСКОМ ЦИКЛЕ РАЗВИТИЯ ДИССОЦИИРОВАННЫХ МЫСОВАСТЕРИУМ БОВИС

Ткаченко А. А., Алексеева Н. В., Захарский В. В.

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепропетровск

Показано, что в популяции микобактерий бычьего вида диссоциированных вариантов, в процессе пересева увеличивается частота выделения фильтрующихся форм, которые при посеве на питательную среду генерируют палочковидные микобактерии и, редко, элементарные тельца, которые являются неотъемлемой составляющей биологического цикла развития микобактерий, потому что именно из элементарных телец (фильтрующихся форм) образуются палочковидные формы этого вида микроорганизмов

M. bovis, биологический цикл, морфогенез, фильтрующиеся формы, ультрамелкие формы, элементарные тельца

**FILTERABLE FORMS IN BIOLOGICAL CYCLES OF DISSOCIATIVE
MYCOBACTERIUM BOVIS****O. Tkachenko, N. Alekseeva, V. Zazharskiy***Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine*

*The article presents the results of a study of morphogenesis *M. bovis*-dissociative in the dynamics of multiple passages. It was installed directly involved ultrafine form (elementary bodies) in the biological cycle of dissociative *M. bovis* and proved that the filter (ultra small) generate rod-shaped mycobacteria.*

*Research of dissociative *M. bovis* a variant 117 have shown that the filterable form of mycobacteria generated in the population of microorganisms constantly. These forms (grains) generated as various forms of sticks and grains, including submicroscopic. It indicates that ultra small shapes of different sizes are one of the stages of the biological cycle of *Mycobacterium tuberculosis*.*

*Dissociative *M. bovis* 117 b variant of culture 60 generate without filterable forms, they were only in 110 subculture.*

*Study the following dissociative *M. bovis* strain 117 v variant forms showed that filterable forms (elementary bodies) often found in *Mycobacterium* subcultures, which have many passages through dense nutrient medium for generating, the acid-resistant rod of dissociative forms. Perhaps it is due to adaptive capacities of filterable forms (mostly elementary bodies) to elective nutrient medium, and over time by recultivation, adapt to it. However, filterable forms in an artificial environment do not generate their own kind in morphology seed, and form the acid is not stable for variant of mycobacteria.*

Our previous research, as well as other authors showed that elementary bodies practically not cultivated on ordinary culture medium.

*However, this work claims that dissociative elementary bodies can be cultivated along with other forms of preserving the possibility of reversion in the acid-intolerant forms of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mycobacterium* those clones continuously formed from elementary bodies pathogen form, they are an integral part of the biological development cycle even though the phenomenon is not always observed in all populations of mycobacteria of a strain. Perhaps this feature is determined by the stage of mycobacteria.*

*When tested L-forms 118 generation identified and submicroscopic (at the limit of visibility) acid single grain (elementary bodies). Obviously, different pore diameter filter passes filterable forms (elementary bodies) of various sizes, some with a potential capacity to generate acid-intolerant forms of *Mycobacterium*. It maintains diversity (possibly) their biological importance*

M. bovis-dissociative, biological cycles, morphogenesis, filterable forms, ultra small forms, elementary bodies
