

УДК 619:616.98:579.873.21:57.083.32:636.5

ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ПЕРЕБУВАННЯ ДИСОЦІАТИВНИХ ФІЛЬТРИВНИХ ФОРМ *Mycobacterium bovis* ЗА НИЗЬКОЇ ПЛЮСОВОЇ ТЕМПЕРАТУРИ НА ЇХ МОРФОЛОГІЮ, ТИНКТОРІАЛЬНІ ТА КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ**ТКАЧЕНКО О. А.**, д. вет. н., професор
БІЛАН М. В., к. вет. н., доцент
АЛЕКСЄЄВА Н. В., к. вет. н., доцентДніпропетровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпропетровськ
tkachenko.o.a@dsau.dp.ua
bilan.m.v@dsau.dp.ua
aleksieieva.n.v@dsau.dp.ua

Показано, що мембранні фільтри з діаметром пор 0,1 та 0,05 мкм здатні пропускати витримані 20 місяців за низької плюсової температури (3 °С) як фільтривні, так і L-форми мікобактерій, культури яких більш вологі, що підтверджується їх ростом на стерильних живильних середовищах. Тривале перебування за низької плюсової температури не вплинуло на морфологію дисоціативних фільтривних форм *M. bovis*. Мікроскопією виявляли, як з культур кольору слонової кістки, так і помаранчевого, невислужливості палички різної довжини, гіллясті, ниткоподібні, зернисті форми, невислужливості та вислужливості (в невеликій кількості) зерна, а також поодинокі L-форми (овальні) з оболонкою різної оптичної густини поверхні. Властивості дисоціативних фільтривних форм *M. bovis* 118 варіанту 62 та 63 генерацій: ріст (на 5–10 добу) за низької плюсової температури та пігментоутворення є закріпленими і дають підставу відносити мікобактерії до атипичних.

Ключові слова: мікобактерії, поліморфізм, дисоціативні та фільтривні форми, вислужливості та невислужливості форми, L-форми, морфологія, тинкторіальні та культуральні властивості, пігментоутворення.

Постановка проблеми. На сьогоднішній день, залишаються актуальними питання розробки нових методів діагностики туберкульозу, оскільки збудник володіє значним поліморфізмом, що знижує ефективність бактеріологічних методів. Перепону створюють форми мікобактерії відмінні від типових: такі як L-форми та найдрібніші – фільтривні. На здатність типових форм мікобактерій трансформуватися в L-форми та фільтривні вказують численні повідомлення вчених, які працювали в різні роки минулого століття й до теперішнього часу [1, 5, 6, 8–10, 12–14, 16, 17]. Передбачається, що такі зміни збудника відбуваються у відповідь на дію несприятливих агентів або проявлення стадійності життєвого циклу. Також було встановлено, що як L-форми, так і фільтривні за певних умов можуть реверсувати в типові мікобактерії з відновленням вірулентності [5, 9, 12, 13, 17–19].

Здатність збудника туберкульозу культивуватися за 3 °С на штучних живильних середовищах з рН 6,5 та 6,7, зокрема за значної кількості пересівів, про що повідомлялося співробітниками нашої кафедри [2, 3, 4, 7, 16], дає

можливість встановити наявність L-форм, фільтривних (елементарних тілець) форм та вказує на обов'язкову участь останніх у біологічному циклі розвитку мікобактерій, оскільки вони здатні генерувати паличкоподібні форми збудника туберкульозу, за цього L-форми, мають чітку тенденцію до руйнації.

Властивість пігментоутворення у дисоціативних фільтривних форм *M. bovis* 118 варіанту 62 генерації, які тривалий час перебували (більше 20 місяців) за умов низької плюсової температури, спонукала нас на проведення наступних досліджень щодо вивчення морфології, тинкторіальних та культуральних властивостей таких мікобактерій.

Тому **метою** нашої роботи було вивчення впливу тривалого перебування дисоціативних фільтривних форм *M. bovis* 62 субкультури 118 пересіву за низької плюсової температури на їх морфологію, тинкторіальні та культуральні властивості.

Матеріал та методи. У досліджах використали дисоціативні фільтривні форми *M. bovis* (60 субкультура), що відщепилися на 118 пересіві та одержані після фільтрування

через мембранні фільтри з діаметром пор 0,1 мкм [15].

Для дослідження застосовували фільтротримач шприцевий для мембранних фільтрів модель DN 25PWT1-1, діаметр фільтра 25 мм, матеріал фільтротримача – тефлон, виробник AWL-Tech (Чехія). Фільтри мембранні дискові “Владіпор” типу МФАС – Б1 та МФАС – Б2, матеріал мембран – мікропористий плівковий, виготовлений 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, РФ).

Завис мікобактерій дослідних зразків готували шляхом відбору бактеріальної маси бактеріологічною петлею, над полум’ям горілки в умовах боксу, та поміщали у стерильну ступку. За допомогою товкача гомогенізували бактеріальну масу в ступці з додаванням стерильного ізотонічного розчину натрію хлориду. З отриманої бактеріальної маси готували завис із вмістом мікобактерій 1 мг/см³ (кожного дослідного зразку окремо).

Фільтрацію завису дослідних зразків 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) висівали бактеріологічною петлею у чотири бактеріологічні пробірки з ячним елективним живильним середовищем і культивували за температури 3 °С (в умовах ТСО-80, виробництво РФ), упродовж 90 діб. Облік росту культур мікобактерій перші сім діб проводили кожну добу, а в наступуючому – один раз на тиждень упродовж досліді.

Результати досліджень та їх обговорення. У роботах нашої кафедри [2, 3, 4, 15, 16] попередніх років вже повідомлялося про виявлені дисоціативні форми *M. bovis* у 118 варіанту 60 генерації, які культивувалися за 3 °С на ячному живильному середовищі з рН 6,5 та володіли пігментоутворенням. За культуральними властивостями вони характеризувалися утворенням блискучого суцільного росту по лінії посіву зі злитих між собою колоній, маслянистої консистенції. На середовищі одних пробірок зверху посіву культура була помаранчевого кольору, а нижче – кольору слонов’ячої кістки (рис. 1.1), в інших пробірках пігментоутворення спостерігалось по всій поверхні культури.

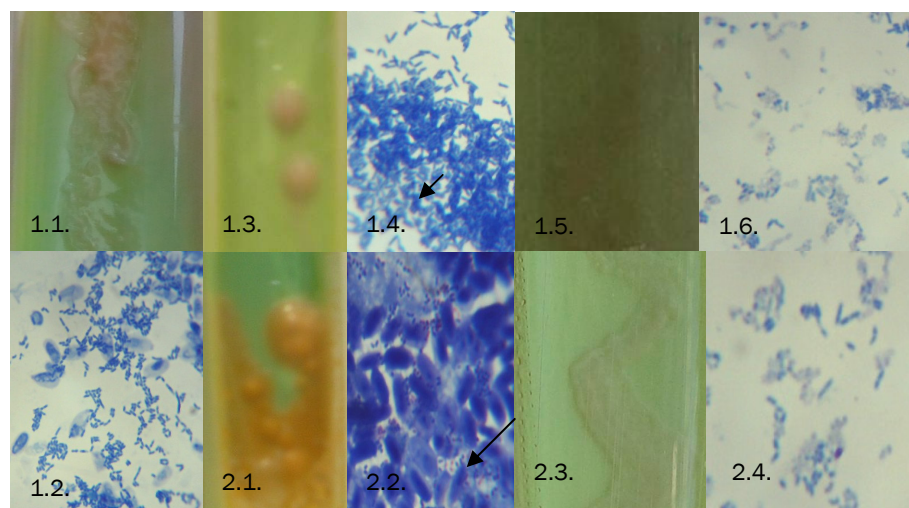


Рис. 1., 2. Культуральні властивості та морфологія дисоціативних 60 генерації *M. bovis* та їх фільтривних форм 62 генерації (фільтр з діаметром пор 0,1 мкм) 118 варіанту:

- 1.1 – нативна дисоціативна культура; 1.3 – колонії кольору слонов’ячої кістки (фільтривні форми); 1.5 – фільтривні форми через 5 діб після посіву: колонії кольору слонов’ячої кістки; 2.1 – колонії помаранчевого кольору (фільтривні форми); 2.3 – через 5 діб після посіву: колонії кольору слонов’ячої кістки (фільтривні форми); морфологія 1.2 – нативна дисоціативна культура; 1.4, 2.2 – фільтривні форми; 1.6, 2.4 – фільтривні форми через 5 діб після посіву. $\times 1600$

Мікроскопією відмічали некіслотостійкі зернисті палички різної довжини, поодинокі, на межі бачення, зерна, велику кількість середніх за розміром L-форм блідо-блакитного кольору, всередині яких були темні включення (рис. 1.2).

Дослідженнями встановлено, що після тривалого перебування культури дисоціативних форм *M. bovis* 118 варіанту 62 генерації, одержаної з фільтривних форм, за умов низької плюсової температури в пробірках виявлялися колонії гладкі блискучі маслянистої консистенції, однорідної структури, але різні за кольором: № 1 – кольору слонової кістки та № 2 – яскраво помаранчеві колонії, які утворювали суцільний ріст та були більш вологі (рис. 1.3, 2.1).

Мікроскопією колонії кольору слонової кістки виявили некіслотостійкі палички різної довжини та поодинокі зерна, на межі бачення, а також поодинокі L-форми (овальні), із некіслотостійкими зернами по центру (позначені стрілочкою, рис. 1.4); а колонії помаранчевого кольору – крупні та дрібні (на межі бачення) некіслотостійкі та кислотостійкі (в невеликій кількості) зерна, некіслотостійкі та поодинокі кислотостійкі (показані стрілочкою) палички різної довжини, а також крупні L-форми (овальні) з оболонкою різної оптичної густини (рис. 2.2).

Після пересіву завису вихідних (№ 1 та 2) культур на живильні середовища встановили, що їх ріст розпочався на 5 добу. На початку культури мали колір слонової кістки з бурим відтінком, який більш виражений у культури № 1 (рис. 1.5, 2.3). Мікроскопією виявлені некіслотостійкі зернисті палички різної довжини, товщини та некіслотостійкі, на межі бачення, зерна (рис. 1.6, 2.4).

Після фільтрування завису культури № 1 через фільтри з діаметром пор 0,1 мкм та 0,05 мкм та культури № 2 через фільтр з діаметром пор 0,05 мкм, перед посівом мікроскопією виявили на межі бачення поодинокі некіслотостійкі зерна (рис. 3.1, 3.2, 3.4), а завису культури № 2 після фільтрування через фільтр з діаметром пор 0,1 мкм – кислото- та некіслотостійкі зерна, кислотостійкі та некіслотостійкі короткі і середньої довжини палички (рис. 3.3).

Після посіву фільтратів культур № 1 та 2 на

щільне ячне живильне середовище, встановили, що ріст фільтрату, культури № 1, одержаного за допомогою фільтру з діаметром пор 0,1 мкм, та культури № 2, одержаного за допомогою фільтрів з діаметром пор 0,1 та 0,05 мкм, спостерігався на 5–10–27 добу після висіву. Проте з фільтрату, культури № 1, одержаного за допомогою фільтру з порами 0,05 мкм, росту не встановлено протягом всього періоду дослідження.

З'ясували, що на живильному середовищі деяких пробірок з фільтрату культури № 1 формувалися колонії кольору слонової кістки гладкі, блискучі, маслянистої консистенції, які в одних пробірках і надалі залишалися кольору слонової кістки (рис. 4.1, 4.2), а в інших – на 27 добу дослідження набули яскраво-помаранчевого кольору (рис. 4.4, 4.5). Мікроскопією виявляли: в одних пробірках (колонії кольору слонової кістки) короткі та довгі некіслотостійкі палички та зерна (рис. 4.3); в інших пробірках – некіслотостійкі товсті короткі палички та зерна у більшій кількості (рис. 4.6).

У засіяних пробірках з фільтрату культури № 2, одержаного за допомогою фільтру з порами 0,1 мкм, формувалися колонії різного розміру, кольору слонової кістки гладкі блискучі вологі. Мікроскопією встановили короткі тов-

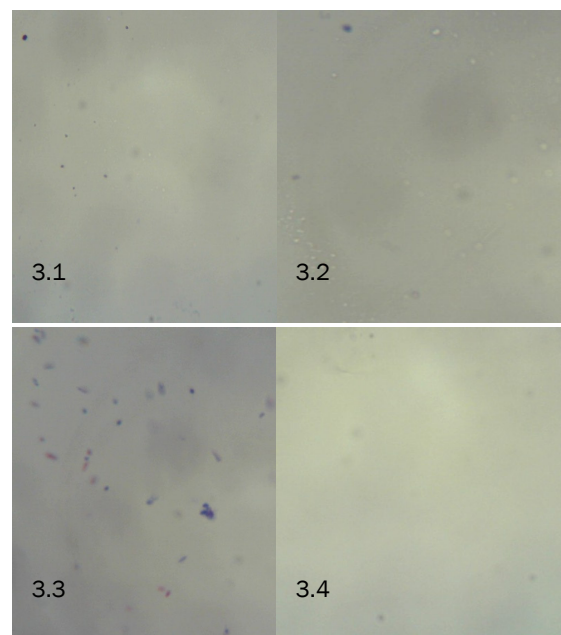


Рис. 3. Морфологія фільтривних *M. bovis* 118 варіанту 63 генерації перед посівом на живильне середовище. $\times 1600$

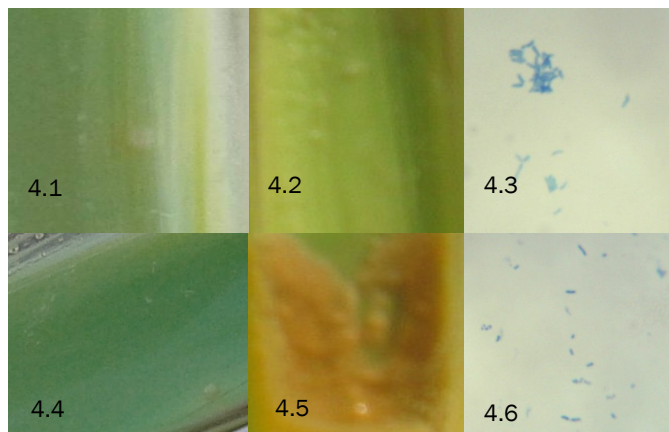


Рис. 4. Культуральні властивості та морфологія фільтрівних *M. bovis* 118 варіанту 63 генерації: культура № 1 (кольору слонов'ячої кістки). $\times 1600$

сті та довгі, некіслотостійкі зернисті палички, окремі зерна в невеликій кількості (рис. 5.1, 5.2).

У пробірках з фільтрату культури № 2, одержаного за допомогою фільтру з порами 0,05 мкм, відмічалось генерування: в одних ріст з'явився найпізніше (на 27 добу) і характеризувався формуванням блискучих, гладких колоній світло-помаранчевого кольору, які з часом набули яскраво-помаранчевого кольору (рис. 6.1), а в інших пробірках – гладких коло-

ній (на 10 добу), утворюючих суцільний ріст, з світло-рожевим відтінком (рис. 6.3).

З'ясовуючи морфологію мікобактерій, одержаних з колоній яскраво-помаранчевого кольору (фільтр з порами 0,05 мкм), встановили некіслотостійкі довгі, гіллясті, ниткоподібні, зернисті палички, кислотостійкі чітко видимі зерна, а також темно-фіолетові L-форми (або великі зерна) (рис. 6.2); а з гладких колоній з жовтуватого-рожевим відтінком – короткі та більш довгі некіслотостійкі палички та пооди-

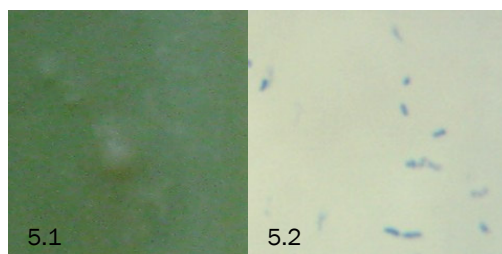


Рис. 5. Культуральні властивості та морфологія фільтрівних *M. bovis* 118 варіанту 63 генерації: культура № 2 (кольору слонов'ячої кістки). $\times 1600$

нокі зерна (рис. 6.4).

Отже, дослідженнями встановлено, що фільтри з діаметром пор 0,1 та 0,05 мкм здатні пропускати як фільтрівні, так і L-форми мікобактерій, які утворювали культуру вологої маслянистої консистенції.

Через чотири місяці від початку досліджень встановили, що за культуральними властивостями вихідні культури № 1 та 2 практично не відрізнялися одна від одної: спостерігався блискучий суцільний ріст з колоній маслянистої консистенції, кольору слонов'ячої кістки однорідної структури, але з більш інтенсивним забар-

вленням культури № 2 (рис. 7.1, 7.3).

Мікроскопією також відмінностей не встановлено: виявлено некіслотостійкі короткі та зернисті довгі палички, некіслотостійкі зерна у великій кількості (рис. 7.2, 7.4).

Проте за порівняння морфології мікобактерій вихідних культур з такими тільки на початку дослідження, встановлено відмінності, які вказують, напевно, на старіння культур і виражений поліморфізм, про який зазначається у роботах окремих дослідників [8].

Через чотири місяці ріст з фільтрату (діаметр пор фільтру 0,1 мкм) культури № 1

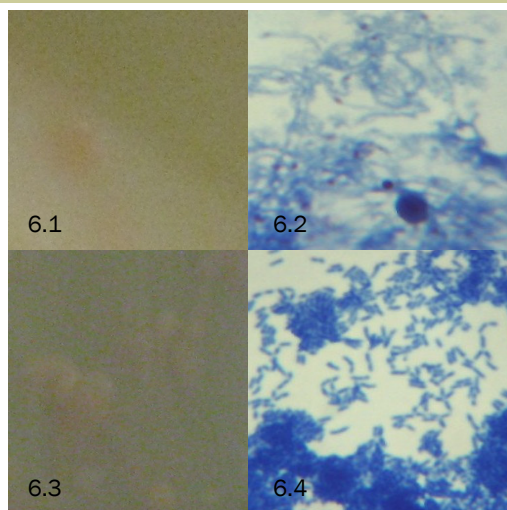


Рис. 6. Культуральні властивості та морфологія фільтривних *M. bovis* 118 варіанту 63 генерації: культура № 2 (помаранчевого кольору). $\times 1600$

(кольору слонової кістки) характеризувався в одних пробірках дрібними колоніями кольору слонової кістки, маслянистої консистенції, у мазках – в основному виявляли середні, довгі зернисті некислотостійкі палички та некислотостійкі зерна, на межі бачення (рис. 8.1, 8.4), а в інших – великими колоніями блідо-рожевого кольору, маслянистої консистенції, в мазках – некислотостійкі, ниткоподібні зернисті та середньої довжини палички і некислотостійкі зерна, на межі бачення (рис. 8.2, 8.5), та суцільний ріст, маслянистої консистенції з помаранчевим пігментом, в мазках – чітко види-

мі некислотостійкі зерна та короткі палички (рис. 8.3, 8.6).

Ріст з фільтрату (діаметр пор фільтру 0,1 мкм) культури № 2 (колонії помаранчевого кольору) характеризувався в одних пробірках дрібними в інших дрібними та середніми колоніями кольору слонової кістки, маслянистої консистенції (рис. 9.1, 9.3), у мазках відмічали некислотостійкі середні та довгі зернисті та незернисті палички (рис. 9.2, 9.4).

Після висіву фільтрату культури № 2 (колонії помаранчевого кольору), отриманого через фільтр з діаметром пор 0,05 мкм, через

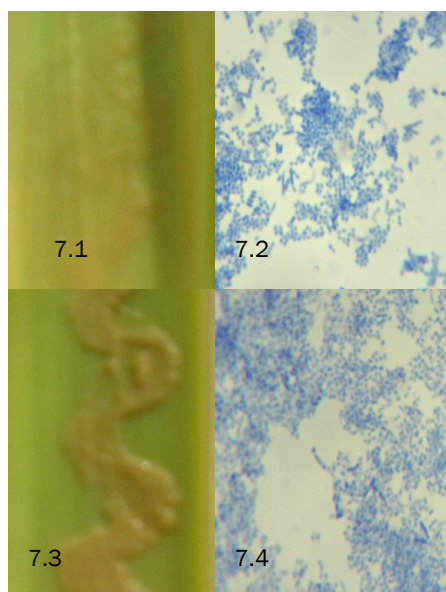


Рис. 7. Культуральні властивості та морфологія дисоціативних фільтривних форм *M. bovis* 118 варіанту 62 генерації (вихідних): через чотири місяці після посіву. $\times 1600$

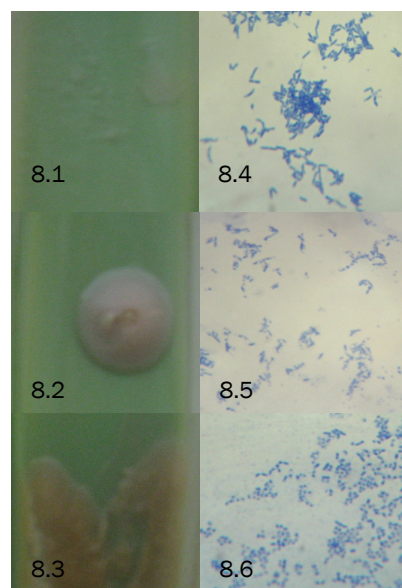


Рис. 8. Культуральні властивості та морфологія фільтривних форм *M. bovis* 118 варіанту 63 генерації: культура № 1 (діаметр пор фільтру 0,1 мкм). $\times 1600$

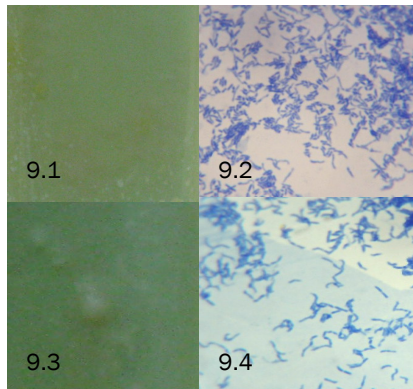


Рис. 9. Культуральні властивості та морфологія фільтривних *M. bovis* 118 варіанту 63 генерації: культура № 2 (діаметр пор фільтру 0,1 мкм). $\times 1600$

чотири місяці дослідження, виявили в одних пробірках великі блідо-рожеві колонії маслянистої консистенції (рис. 10.1) та суцільний ріст помаранчевого кольору в невеликій кількості, маслянисто-водянистої консистенції (рис. 10.2), а в інших – дрібні та середні колонії кольору слонової кістки (рис. 10.3).

У мазках з блідо-рожевої колонії виявили коротенькі некіслотостійкі палички та некіслотостійкі зерна, на межі бачення, та поодинокі кислотостійкі зерна (позначені стрілочкою) (рис. 10.4); з суцільного росту помаранчевого

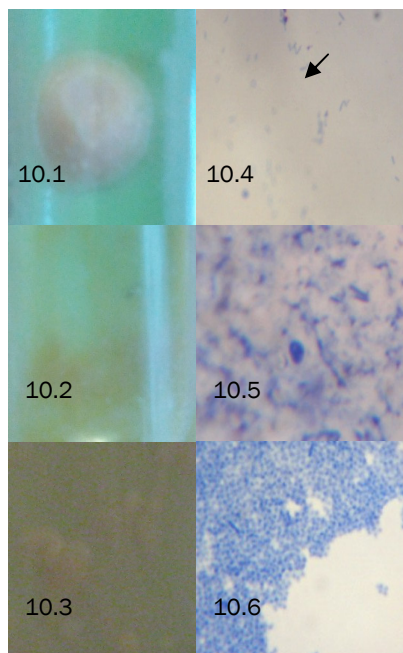


Рис. 10. Культуральні властивості та морфологія фільтривних *M. bovis* 118 варіанту 63 генерації: культура № 2 (діаметр пор фільтру 0,05 мкм). $\times 1600$

кольору – короткі та ниткоподібні некіслотостійкі палички, некіслотостійкі зерна та поодинокі темно-сині L-форми (або великі зерна) (рис. 10.5); з колоній кольору слонової кістки – некіслотостійкі короткі та поодинокі середньої довжини палички (рис. 10.6), які були подібні до вихідних (рис. 7.4).

Отже, дослідженнями встановлено, що ознака пігментоутворення у вихідних культур дисоціативних фільтривних форм *M. bovis* 118 варіанту 62 генерації є закріпленою, проте у 63 генерації культури з фільтратів фільтривних форм *M. bovis* розщеплюються та утворюють три варіанти колоній (кольору слонової кістки, блідо-рожевого та помаранчевого) за тривалого культивування. Здатність до росту колоній з утворенням блідо-рожевого кольору може вказувати як на проміжну ознаку в пігментоутворенні, так і на появу нових рас мікобактерій. Дисоціативні фільтривні форми *M. bovis* 118 варіанту 62 та 63 генерації не втратили здатність рости за температури 3 °C на яєчних живильних середовищах з рН 6,5. Саме ці властивості (пігментоутворення та ріст за низької плюсової температури) дають підставу відносити дисоціативні форми *M. bovis* до атипових і підтверджують результати попередніх досліджень [11].

Висновки. 1. Мембранні фільтри з діаметром пор 0,1 та 0,05 мкм здатні пропускати витримані 20 місяців за низької плюсової температури (3 °C) як фільтривні, так і L-форми мікобактерій, культури яких більш вологі, що підтверджується їх ростом на стерильних живильних середовищах.

2. Тривале культивування за низької плюсової температури не вплинуло на морфологію дисоціативних фільтривних форм *M. bovis*. Мікроскопією виявляли, як з культур кольору слонової кістки, так і помаранчевого, некіслотостійкі палички різної довжини, гіллясті, ниткоподібні, зернисті форми, некіслотостійкі та кислотостійкі (в невеликій кількості) зерна, а також поодинокі L-форми (овальні) з оболонкою різної оптичної густини поверхні.

3. Властивості дисоціативних фільтривних форм *M. bovis* 118 варіанту 62 та 63 генерацій: ріст (на 5–10 добу) за низької плюсової температури та пігментоутворення є закріпленими і дають підставу відносити мікобактерії до атипових.

ЛІТЕРАТУРА

1. Асташова Е. А. Особенности морфогенеза L-форм микобактерий туберкулёза бычьего вида [Текст] / Е. А. Асташова, А. М. Кадочкин // Ветеринария, 1989. – № 7. – С. 31–34.
2. Біологічні властивості дисоціативних форм *M.bovis*: культуральні особливості за температур 3 і 37 °С [Текст] / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Місків [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 3 – С. 33–35.
3. Біологічні властивості дисоціативних форм *M.bovis*: морфологічні ознаки та тинкторіальні властивості за температур 3 та 37 °С [Текст] / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Зажарський та ін. // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 12 – С. 27–30.
4. Биологические свойства *M. bovis* диссоциативных L- и других форм при различных температурах культивирования [Текст] / А. А. Ткаченко, И. Н. Шендрок, В. В. Мискив [и др.] // Междун. научно-практич. журнал. – Минск. – 2013. – № 2. – С. 24–31.
5. Вейсфейлер Ю. К. Биология и изменчивость микобактерий туберкулёза и атипичных микобактерий [Текст] / Ю. К. Вейсфейлер. – Будапешт: Изд-во АН Венгрии, 1975. – 336 с.
6. Вейсфейлер Ю. К. Пигментная раса туберкулёзной бациллы и её значение в изучении некоторых спорных вопросов туберкулёза / Ю. К. Вейсфейлер, Л. Г. Калинина // Борьба с туберкулёзом. – 1935. – №2. – С. 10–19.
7. Деякі морфологічні особливості реверсійної здатності *M. bovis* [Текст] / М.В. Білан, П.О. Давиденко, Л.О. Ковальова [та ін.] // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – 2010. – № 2. – С. 99–102.
8. Дрabbкина Р.О. Микробиология туберкулёза [Текст] / Р.О. Дрabbкина – М.: Медгиз, 1963. – 256 с.
9. Калина Г.П. L–трансформация бактерий [Текст]: в 10 т. Т. 1. Многотомное руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных болезней / Г. П. Калина; редкол.: Н. Н. Жуков-Вережников (редактор), А.А. Имшенецкий, Г. Г. Калина [и др.] – М.: Медгиз, 1962. – С. 574–595.
10. Космодамианский В. Н. Бактериология и патогенез туберкулёза [Текст] / В.Н. Космодамианский. – М.: Медгиз, 1950. – 198 с.
11. Культуральні властивості та морфологічні і тинкторіальні ознаки дисоціативних форм *Mycobacterium bovis* культивованих за 3 та 37 °С [Текст] / О.М. Кулішенко, П.О. Давиденко, О.Г. Глебенюк [та ін.] // Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. – 2015. – Т. 3. – № 1. – С. 9. Режим доступу: <http://biosafety-center.com/wp-content/uploads/2015/06/Кулішенко-Давиденко-Глебенюк-Лисечко.pdf>
12. L-формы микобактерий туберкулёза / Под ред. З.Н. Кочемасовой. – М.: Медицина, 1980. – 174 с.
13. Модель Л.М. Биология туберкулёзных микобактерий и иммунология туберкулёза [Текст] / Л.М. Модель. – М.: Медгиз. – 1958. – 316 с.
14. Прозоровський С.В. L-форми бактерий [Текст] / С.В. Прозоровський, Л.Н. Кац, Г.Я. Каган. – М.: Медицина, 1981. – 239 с.
15. Ткаченко О.А., Алексеева Н.В. Морфогенез *Mycobacterium bovis* дисоціативних форм у динаміці багаточисельних пересівів [Текст] / О.А. Ткаченко, Н.В. Алексеева // Проблеми зоінженерії та ветеринарної медицини: Зб. наукових праць Харківської ДЗВА. – Х.: РВВ ХДЗВА, 2015. – В. 31, ч. 2 «Ветеринарні науки». – С. 116–124.
16. Елементарні тільця в біологічному циклі *M. bovis* О.А. [Текст] / Ткаченко, М.В. Білан, Л.О. Ковальова, В.В. Зажарський // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин і державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2009. – В. 10. – № 4. – С. 212–216.
17. Чернушенко Е.Ф. Микробиологическая и иммунологическая диагностика туберкулёза в современных условиях / Е.Ф. Чернушенко // Журн. АМН України. – 1998. – Т. 4. – № 1. – С. 118–132.
18. Dominque G.J. Woody H.V. Bacterial Persistence and Expression of Disease // *Clinical Microbiol. Rev.* – 1997. – Vol. 10. – № 2. – P. 320–344.
19. Fontes A. Filtrierbare formen der tuberkelbazillen / *Zbl.f.Bact.* – 1926. – V. 83. – pp. 476–477.

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРЕБЫВАНИЯ ДИССОЦИАТИВНЫХ ФИЛЬТРИВНИХ ФОРМ MYCOBACTERIUM BOVIS ПРИ НИЗКОЙ ПЛЮСОВОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ НА ИХ МОРФОЛОГИЮ, ТИНКТОРИАЛЬНЫЕ И КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА**Ткаченко А. А., Билан М. В., Алексева Н. В.***Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепропетровск*

Показано, что мембранные фильтры с диаметром пор 0,1 и 0,05 мкм способны пропускать как фильтрующиеся, так и L-формы микобактерий, культуры которых более влажные, и длительное время (20 месяцев) сохранялись при низкой плюсовой температуры (3 °C), что подтверждается их ростом на стерильных питательных средах.

Длительное пребывание при низкой плюсовой температуры не повлияло на морфологию диссоциативных фильтрующихся форм *M. bovis*. Микроскопией обнаруживали, как из культур цвета слоновой кости, так и оранжевого, некислоустойчивые палочки разной длины, ветвистые, нитевидные, зернистые формы, некислоустойчивые и кислоустойчивые (в небольшом количестве) зерна, а также единичные L-формы (овальные) с оболочкой разной оптической плотности поверхности.

Свойства диссоциативных фильтрующихся форм *M. bovis* 118 варианта 62 и 63 генераций: рост (на 5-10 сутки) при низкой плюсовой температуры и пигментообразование являются закрепленными и дают основание относить микобактерии к атипичным.

Ключевые слова: микобактерии, полиморфизм, диссоциативные и фильтрующиеся формы, кислоустойчивые и некислоустойчивые формы, L-формы, морфология, тинкториальные и культуральные свойства, пигментообразование.

INFLUENCE LONG STAY DISSOCIATIVE FILTERABLE FORMS OF MYCOBACTERIUM BOVIS AT LOW POSITIVE TEMPERATURE ON THEIR MORPHOLOGY, TINCTORIAL AND CULTURAL PROPERTIES**A. Tkachenko. M. Bilan. N. Alekseeva***Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipropetrovsk*

It is shown that membrane filters with a pore diameter of 0.1 and 0.05 microns can pass as a filterable and L-forms of mycobacteria, which is more humid, and a long time (20 months) has remained at low positive temperature (3 °C), which is confirmed by their growth on sterile nutrient media.

Investigations have shown after culture filtrate sowing on thick egg medium found that from the culture filtrate № 1 formed colonies ivory smooth, shiny, oily consistency, which in one test-tubes and thereafter remained ivory (microscopy showed long and short non acid-proof coli and grain), and in other – 27 day study acquired bright orange (microscopy – non acid-proof thick short rods and grains in larger quantities from the filtrate of culture № 1 obtained using a filter with pores of 0.05 microns growth is not established throughout the study period.

The inoculated test-tubes of culture filtrate № 2 obtained through a filter with pores of 0.1 microns, formed colonies of different sizes, ivory smooth shiny wet. Microscopy established short and long thick, grainy non acid-proof sticks, individual grains in a small amount.

The test-tubes of the culture filtrate number 2 obtained using a filter with pores of 0.05 microns, pointed generation: some growth appeared later (on day 27), and described by the formation of shiny, smooth colonies pale orange color, which eventually acquired brightness orange (microscopy established non acid-proof long, branching, thread-like, granular rods, acid clearly visible grain). In other test-tubes formed smooth colonies (on day 10), forming a continuous growth, with a light pink tint (for microscopy – short and longer non acid-proof sticks and some grains).

Long stay plus at low temperature did not affect the morphology of dissociative filterable forms of *M. bovis*. Microscopy was detected from cultures of ivory and orange, non acid-proof sticks of different length, branching, filamentous, granular form, non acid-proof and acid-proof (small amount) of grain, as well as single L-forms (oval) with a shell of different optical density surface.

Properties dissociative filterable forms of *M. bovis* of 118 options 62 and 63 generations: growth (5-10 days) at low positive temperatures and pigmentation are secured and provide a basis to attributed to atypical mycobacteria.

Key words: Mycobacteria, dissociative and filterable, L-forms, acid-proof and non acid-proof forms, morphology, tinctorial and cultural properties.