

УДК 619:616-078:637.12.05-619:616.5-002.525  
<https://doi.org/10.47612/2224-168X-2022-1-22-30>

Лысенко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор<sup>1</sup>  
Кучвальский М.В., аспирант<sup>2</sup>  
Притыченко А.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>1</sup>  
Высоцкий А.Э., кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>1</sup>  
Якобсон Е.И., магистрант<sup>2</sup>  
Красникова Е.Л., научный сотрудник<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск  
<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, г. Минск

## УНИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА С ДЕФЕКТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ УЛЬТРАПАСТЕРИЗОВАННОГО МОЛОКА

### Резюме

В молоке коров, не реагировавших на туберкулин, обнаружена ДНК микобактерий туберкулеза (МБТ). После 10-часового прогревания при температуре 98 °С из 50 % проб такого молока выделены микобактерии туберкулеза с дефектной клеточной стенкой (cell wall deficient – CWD).

Штаммы CWD МБТ выдерживали пятичасовое прогревание при температуре 98 °С.

При нагревании закономерно изменялась морфология клеток, возрастала их кислотоустойчивость вплоть до появления полностью кислотоустойчивых клеток. Посев прогретых суспензий на специальную питательную среду во всех случаях дал рост CWD МБТ, не отличавшихся от исходных культур. Это подтверждает уникальную термическую устойчивость МБТ и указывает на то, что даже такое экстремальное термическое воздействие не решает проблему биобезопасности молока.

**Ключевые слова:** туберкулез крупного рогатого скота, скрытая туберкулезная инфекция, микобактерии туберкулеза с дефектной клеточной стенкой.

### Summary

The DNA of *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) was found in the milk of cows that did not reacted to tuberculin. After 10 hours of warming up at 98 °C cell wall deficiency (CWD) mycobacterium tuberculosis was isolated from 50% of samples of such milk.

Strains of CWD MBT withstood 5 hour warming up at 98 °C.

The morphology of cells naturally changed during warming, their acid-fastness increased up to the appearance of completely acid-fast cells. Sowing of warmed suspensions on a special nutrient medium in all cases gave growth of CWD MBT which did not differ from the initial strains, which confirms the unique thermal stability of MBT and indicates that even such extreme thermal exposure does not solve the problem of biosafety of milk.

**Keywords:** bovine tuberculosis, latent tuberculosis, cell wall deficient tuberculosis mycobacteria.

Поступила в редакцию 12.03.2022 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Уже более века известно, что микобактерии туберкулеза (МБТ) могут трансформироваться в полиморфные некислоустойчивые (НКУ) формы (МБТ с дефектной клеточной стенкой – cell wall deficient – CWD) [1, 2]. Из-за трудностей их обнаружения, выделения, идентификации и ряда необычных свойств отношение к феномену часто граничит с недоверием

(это контаминация?!). Даже в Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [3] не упоминается о CWD МБТ. Проблема во многом связана с тем, что при трансформации меняется структура клеточной стенки, которая теряет способность удерживать фуксин при окраске по Цилю-Нильсену, из-за чего CWD МБТ не окрашиваются в характерный рубиново-красный цвет и оказываются «невидимыми»

для ортодоксального диагноста. Кроме того, у измененных НКУ МБТ резко снижается патогенность.

Подобные изменения заметно повышают возможности выживания МБТ. У НКУ МБТ в 20–30 раз ускоряется размножение, они приобретают способность к росту на простых средах и в диапазоне температур от 0 до 55 °С. Ультрамелкие формы МБТ проходят через стерилизующие фильтры и преодолевают плацентарный барьер [4–6]. С изменчивостью МБТ связана способность сохранять жизнеспособность после воздействия высокой температуры. Если типичные патогенные МБТ погибают при «мягких» режимах пастеризации молока, то измененные формы сохраняют жизнеспособность даже после ультрапастеризации [7].

Использование современных методов обнаружения генома и культивирования МБТ делает заметным то, что было невозможно обнаружить рутинными методами, и указывает на необходимость по-новому взглянуть на проблему биобезопасности. Так, ДНК *M. bovis* была обнаружена в 5 % проб ультрапастеризованных молочных продуктов, из которых 89,9 % были произведены в Испании, 6,6 % – во Франции, 0,8 % – в Ирландии, 0,4 % – в Италии, 0,8 % – в Германии, 0,8 % – в Нидерландах, 0,8 % – в Швейцарии [8]. Часть этих стран давно считаются свободными от туберкулеза крупного рогатого скота. Более того, из некоторых образцов ультрапастеризованного молока в коммерческих упаковках, произведенного в Швеции, Латвии, Украине, удалось выделить СВД МБТ [9].

**Целью работы** было исследование эффективности экстремального термического воздействия на жизнеспособность МБТ, способность их восстановления и изучение свойств МБТ, изолированных из молока.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали:

- 5 проб молока туберкулиноцитрицательных коров из длительно благополучного по туберкулезу стада, в котором перио-

дически выявлялись животные, реагирующие на туберкулин;

- 2 изолята из коммерческого ультрапастеризованного молока производства Швеции («Е3%Sw»), Латвии («La»);

- 1 изолят из сборного молока, фильтрованного через Millex GP 0.22 µm, коров неблагополучного по туберкулезу стада («Ne sb 0.22»);

- 1 изолят из прогретого 10 ч при температуре 98 °С молока туберкулиноцитрицательной коровы («7/696кб»);

- 1 изолят из лимфатического узла коровы, зараженной *M. bovis* («Ne tbc»).

**ПЦР.** ДНК выделяли с помощью набора «РИБО-преп» (Амплисенс) и исследовали в ПЦР (условия амплификации приведены в таблице 1). Амплификацию проводили на C1000TM ThermoCycler (BioRad). Электрофорез полученных ампликонов проводили в 1,7%-ном агарозном геле (буфер ТАЕ) с использованием ДНК маркера молекулярного веса «M50BP» (Праймтех).

**Для бактериологического посева** Для бактериологического посева пробы молока прогревали на BioSan CH-100 10 ч при температуре 98 °С, смешивали (1:2) со стимулятором роста ВКГ, инкубировали 24 ч при температуре 37 °С и высевали на питательную среду МусСел DW [10].

Изоляты выращивали в среде МусСел DW 2 суток. Бактериальную массу суспендировали в стерильной дистиллированной воде (1,5–2 мг/мл). Пробирки Эппендорф с суспензиями прогревали 5 ч при температуре 98 °С на BioSan CH-100. Каждый час делали мазки (окраска по Кинуюн), через 3 и 5 ч гретые суспензии высевали (по 300 мкл) на среду МусСел DW. Посевы инкубировали при температуре 37 °С.

**Для иммуноблоттинга** отмытую бактериальную массу изолятов прогревали 7 мин при температуре 98 °С в загрузочном буферном растворе и подвергали электрофорезу в 10–12 % ПААГ-ДСН [11]. Перенос на нитроцеллюлозную мембрану осуществляли на Trans-blot® SD (Biorad, США). В иммуноблоттинге использовали антисыворотки (1:60) к СВД *M. bovis* 8 и к

CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv, истощенные антигенами *Staph. aureus*, *Strept. epidermidis*, *E. coli*, *Salm. dublin*, *Klebs. pneumoniae*.

Контролем служил экспериментально полученный штамм CWD *M. bovis* 8.

Таблица 1. – Условия амплификации

Локус		mtb-mpb64 mtb-5kst	16sRNA Mpb64 mpb70
Длина локусов, пар нуклеотидов		422 128	443 141 352
Последовательности праймеров (прямой и обратный, по локусам соответственно)		TCCGCTGCCAGTCGTCTTCC GTCCTCGCGAGTCTAGGCCA  TTGCTGAACTTGACCTGCCCGTA GCGTCTCTGCCTTCTCCGAT	GGTGGTTTGTTCGCGTTGTTC TGCACACAGGCCACAAGGGA  TCCGCTGCCAGTCGTCTTCC GCAACTCCCCGGGTTGAAG  GAACAATCCGGAGTTGACAA AGCACGCTGTCAATCATGTA
Температура (°C) и время (мин) этапа амплификации	первичная денатурация	94; 10:00	95; 4:00
	денатурация	94; 1:00	94; 1:00
	отжиг	60; 1:00	60; 1:00
	элонгация	72; 1:00	72; 1:30
	финальная элонгация	72; 5:00	72; 5:00
	количество циклов	40	35

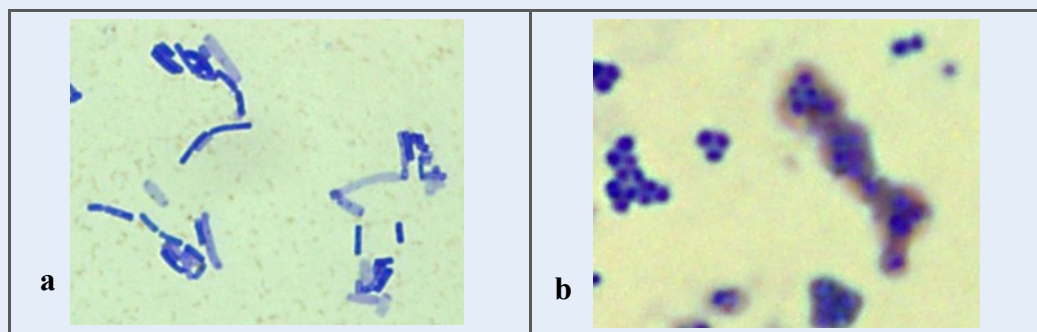
### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В 4 из 5 исследованных проб (80 %) молока туберкулиноотрицательных коров обнаружен геном МБТ (таблица 2). После 10 ч прогревания при температуре 98 °C и инкубации в стимуляторе роста 2 пробы молока (40 % от исследованных и 50 % от

ПЦР-положительных соответственно) дали рост культур с характерной для CWD МБТ морфологией (палочковидные формы изолята «7/686кб» – рисунок 1а, таблица 2; коккоиды с частично кислотоустойчивыми (ЧКУ) элементами изолята «8/757кб» – рисунок 1б, таблица 2).

Таблица 2. – Результаты исследования молока туберкулиноотрицательных коров

№ коровы	ПЦР с ДНК из молока	Результат посева проб молока, гретых 10 ч при температуре 98 °C	ПЦР с ДНК изолята
6/130кб	Is 6110	роста нет	-
7/686кб	Is 6110	CWD МБТ	Is 6110
8/757кб	Is 6110	CWD МБТ	Is 6110
16/159кб	Is 6110	роста нет	-
1/360пм	отриц.	роста нет	-

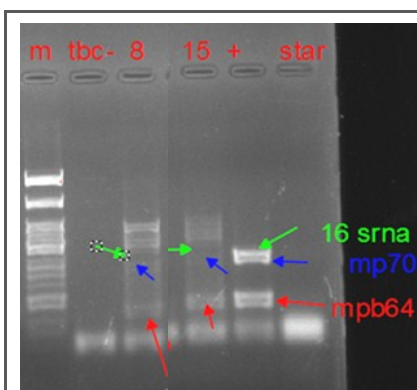


а – корова № 7/686кб; б – корова № 8/757кб  
**Рисунок 1. – Изоляты из молока коров, гремого 10 ч при температуре 98 °С**

Результаты идентификации исследованных изолятов представлены в таблице 3 и на рисунке 2. С учетом НКУ, характерной морфологии и результатов ПЦР все они относились к CWD МБТ.

Таблица 3. – Результаты идентификации изолятов в ПЦР

Проба	ПЦР с ДНК изолята
«E3%Sw»	Is 6110 Cq 35.17
«La»	Is 6110 Cq 34.17
«Ne sb 0.22»	16sRNA+, MPB70+, MPB64+, Is 6110 Cq 34.11
«7/696кб»	Is 6110 Cq 34.10
«Ne tbc»	16sRNA+, MPB70+, MPB64+ Is 6110 Cq 33.15



m – маркер молекулярного веса; tbc- – отрицательный контроль; 8 – ДНК изолята «Ne tbc» из лимфатического узла коровы, зараженной *M. bovis*;  
 15 – ДНК изолята из сборного молока «Ne sb 0.22» (16sRNA+, MPB70+, MPB64+);  
 + – положительный контроль;  
 star – «старая» ДНК  
 (выделена более года до даты постановки реакции)

**Рисунок 2. – Амплификаты ДНК полученных изолятов**

В таблицах 4–7 суммированы результаты изучения изменения морфологии изолятов при прогреве при температуре 98 °С. Как видно, прослеживалась определенная закономерность. Под воздействием высокой температуры несколько увеличивался размер клеток, часть клеток окрашивалась сильнее метиленовым синим, а часть клеток теряла эту способность. После 2 ч прогревания в мазках увеличивалось количество «пустых» клеток. Вместе

с тем возрастало количество клеток с КУ и ЧКУ элементами, а в суспензии изолята «Ne sb 0.22» появились типичные КУ микобактерии (таблица 6). При продолжении прогревания в течение 3–5 ч у некоторых изолятов нарастало количество «пустых» и ЧКУ клеток (таблицы 4–7), причем у разных изолятов после 3–5 ч прогревания появлялись ЧКУ клетки идентичной морфологии (рисунок 3).

Таблица 4. – Изменение морфологии изолятов из молока и лимфатического узла коровы, зараженной *M. bovis* 8, при прогреве при температуре 98 °С

Изолят	Через 1 ч	Через 2 ч	Через 3 ч	Через 4 ч	Через 5 ч
«E3%Sw»	укрупнение и интенсивное окрашивание клеток	появление ЧКУ зернистости, снижение интенсивности окраски	появление длинных клеток	появление «пустых» и слабоокрашенных клеток	«пустые» и слабоокрашенные клетки
«La»	укрупнение и интенсивное окрашивание клеток	снижение интенсивности окраски	появление ЧКУ клеток	увеличение количества ЧКУ клеток	ЧКУ зернистость
«Ne sb 0.22»	укрупнение клеток	<b>появление КУ клеток</b>	преобладание НКУ клеток	появление ЧКУ клеток	появление ЧКУ зернистости
«7/696кб»	укрупнение и появление «пустых» клеток	появление ЧКУ клеток	появление пустых и слабоокрашенных клеток	появление длинных и ЧКУ клеток	ЧКУ клетки
«Ne tbc»	укрупнение и появление «пустых» клеток	появление ЧКУ зернистости, снижение интенсивности окраски	исчезновение ЧКУ клеток	появление ЧКУ и «пустых» клеток	преобладание НКУ клеток

Таблица 5. – Морфология изолята из молока «E3%Sw» при прогреве при температуре 98 °С и результаты посева после 3 и 5 ч нагревания (Kinyoun, 10×100)

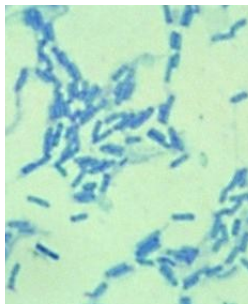
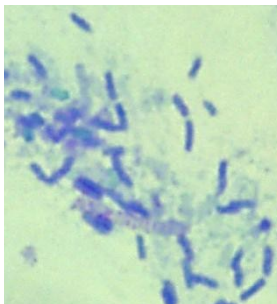
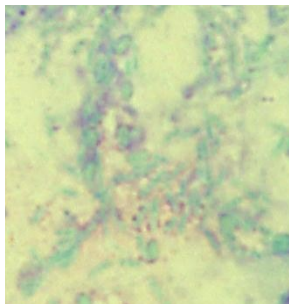
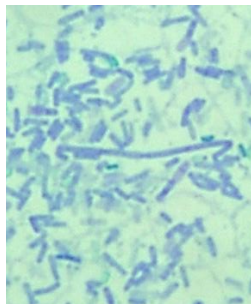
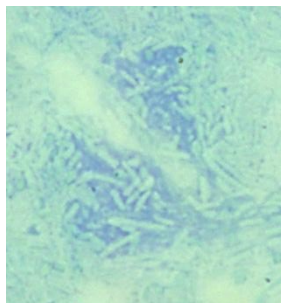
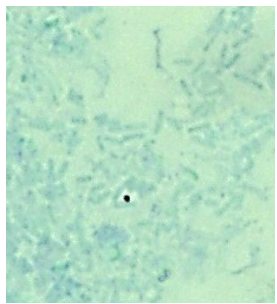
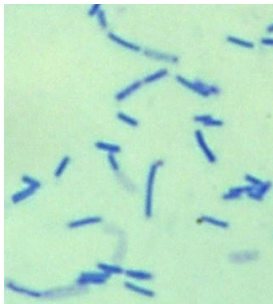
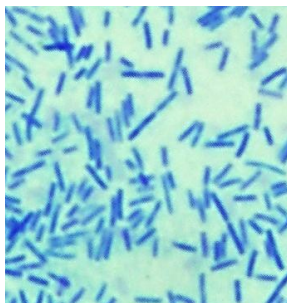
До прогревания	Через 1 ч	Через 2 ч	Через 3 ч
			
Через 4 ч	Через 5 ч	Рост после 3 ч прогрева	Рост после 5 ч прогрева
			

Таблица 6. – Морфология изолята из молока «La» при прогреве при температуре 98 °С и результаты посева после 3 и 5 ч нагревания (Kinyoun, 10×100)

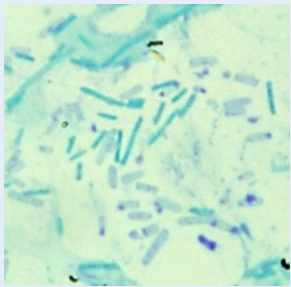
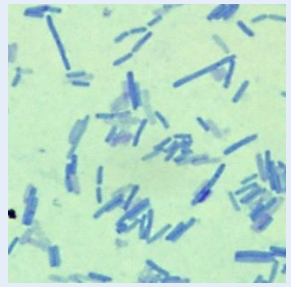

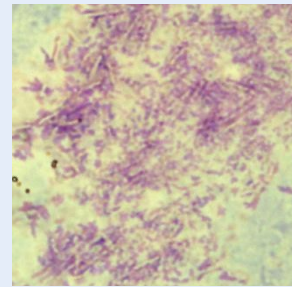
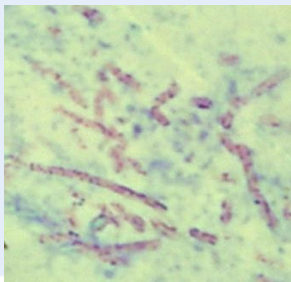
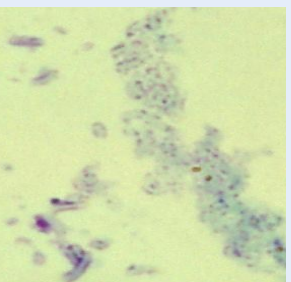
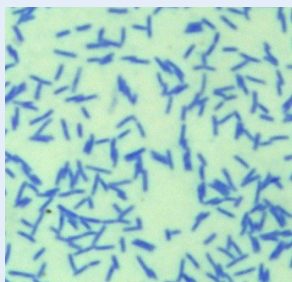
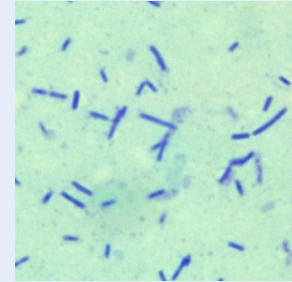
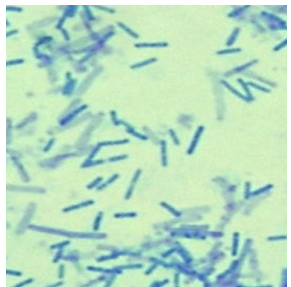
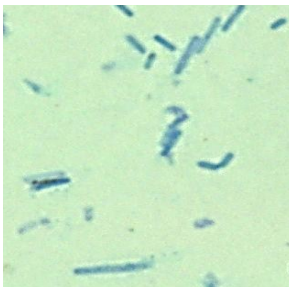
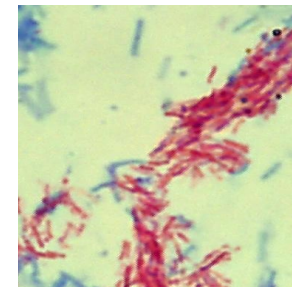
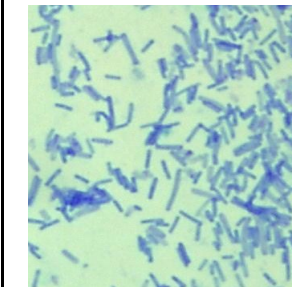
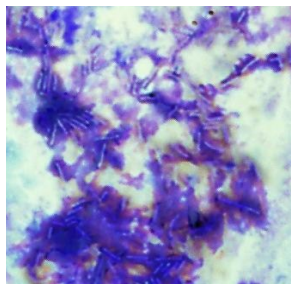
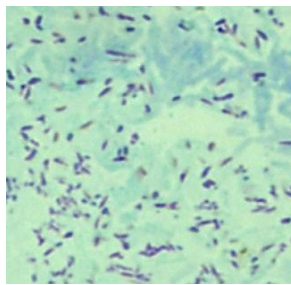
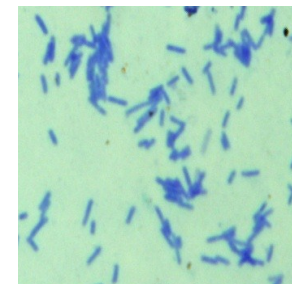
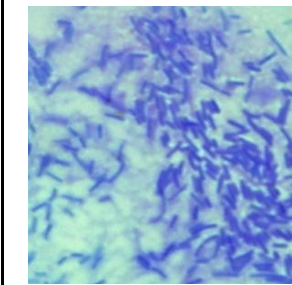
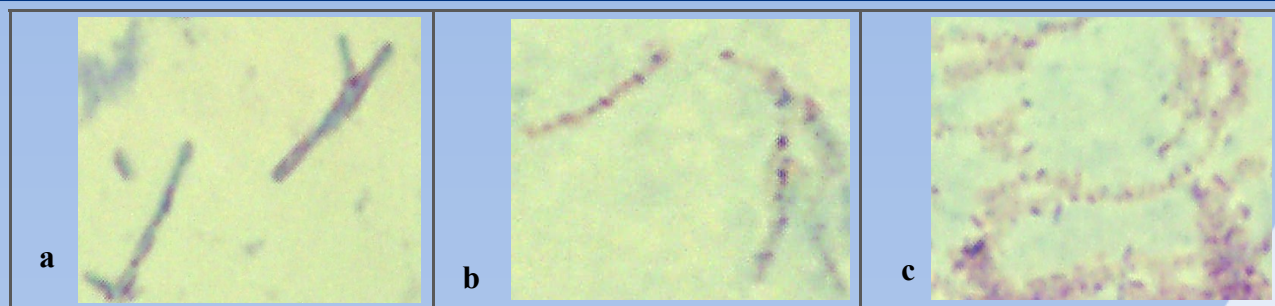
До прогрева	Через 1 ч	Через 2 ч	Через 3 ч
			
Через 4 ч	Через 5 ч	Рост после 3 ч прогрева	Рост после 5 ч прогрева
			

Таблица 7. – Морфология изолята из молока «Ne sb 0.22» при прогреве при температуре 98 °С и результаты посева после 3 и 5 ч нагревания (Kinyoun, 10×100)

До прогрева	Через 1 ч	Через 2 ч	Через 3 ч
			
Через 4 ч	Через 5 ч	Рост после 3 ч прогрева	Рост после 5 ч прогрева
			

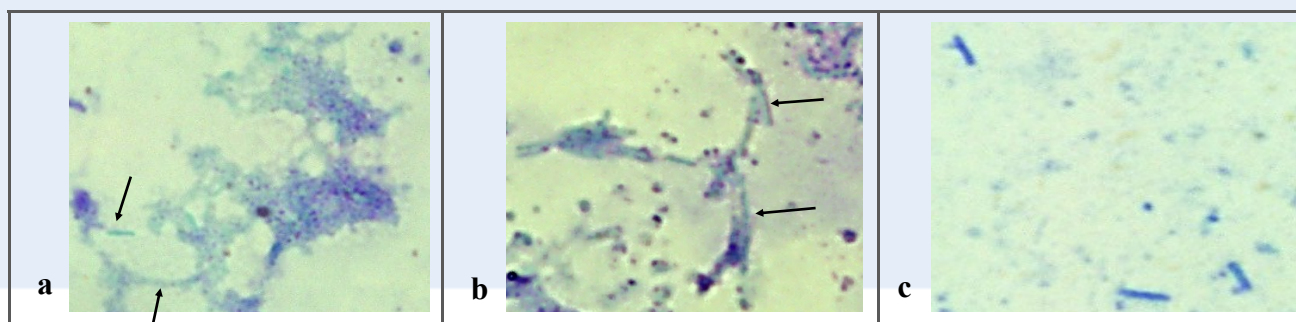
Посев проб на среду МусСел DW после 3 и 5 ч прогрева при температуре 98 °С во всех случаях дал рост микроорганизмов, не отличавшихся по морфологии от исходных изолятов до прогрева (таблицы 5–7). Более того, фильтрат суспензии, полученный фильтрацией через Millex GP 0.22 µm, изолята «Ne sb 0.22», выросшего

после 5 ч прогрева при температуре 98 °С, дал рост во II «слепо» пересеве, через 14 дней после исходного посева. Рост начался с появлением протопластов с КУ зернистостью (рисунок 4а, б), в которых формировались палочковидные формы (рисунок 4).



а – прогрев 2 ч изолята из молока 7/696кб; б – прогрев 5 ч изолята из молока 7/696кб;  
 с – прогрев 4 ч изолята из лимфатического узла «Ne tbc»

**Рисунок 3. – Появление ЧКУ клеток после прогревания при температуре 98 °С (Kinyoun, 10×100)**

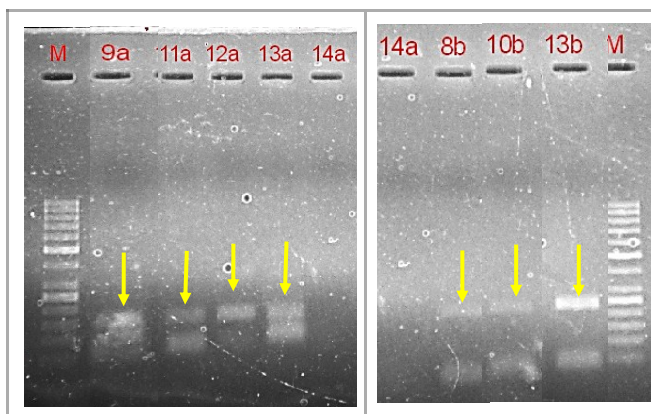


а, б – начало роста (стрелки – формирующиеся палочковидные формы);  
 с – рост палочковидных форм

**Рисунок 4. – Рост в посевах фильтрата (0.22 μm) суспензии изолята «Ne sb 0.22», выросшего после 5 ч прогревания при температуре 98 °С (Kinyoun, 10×100)**

ДНК культур, выросших после 3 и 5 ч прогревания при температуре 98 °С, реагировала в ПЦР с праймерами *mtb-5kst* (локус «5 kb specific target», характерный для рода *Mycobacterium*) и *mtb-mpb64* (локус антигена MPB64, характерного для микобактерий туберкулеза) (рисунок 5), а их антигенный состав в иммуноблоттинге с антителами к CWD *M. bovis* 8 не отличался как друг от друга, так и от экспериментально полученного штамма CWD *M. bovis* 8 (рисунок 6).

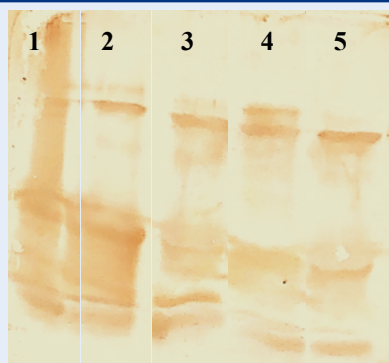
В 80 % исследованных проб молока туберкулиноотрицательных коров обнаружен геном МБТ. После 10 ч прогревания при температуре 98 °С из 50 % этих проб удалось выделить CWD МБТ. Это подтверждает уникальную термическую устойчивость МБТ [7, 8, 12] и указывает на то, что даже такое экстремальное воздействие не решает проблему биобезопасности молока.



**ПЦР с праймерами *mtb-5kst*:** М – маркер молекулярного веса; 9а – «Ne tbc» (5 ч); 11а – «Ne sb 0.22» (5 ч); 12а – «7/696кб» (3 ч); 13а – «7/696кб» (5 ч);

**ПЦР с праймерами *mtb-mpb64*:** 8b – «Ne tbc» (3 ч); 10b – «Ne sb 0.22» (3 ч); 13b – «7/696кб» (5 ч); 14а – К-

**Рисунок 5. – Амплификаты ДНК культур, выросших после прогревания при температуре 98 °С**



- 1 – CWD *M. bovis* 8; 2 – изолят из лимфатического узла коровы, больной туберкулезом «Ne tbc» (5 ч, 98 °С);  
 3 – изолят из молока «E3%Sw» (3 ч, 98 °С);  
 4 – изолят из молока «La» (5 ч, 98 °С);  
 5 – изолят из молока «Ne sb 0.22» (5 ч, 98 °С)

**Рисунок 6. – Иммуноблоттинг с антисывороткой к CWD *M. bovis* 8 (1:60). Иммуноблоттингу был подвержен гель 12 % ПААГ-ДСН после электрофореза**

Возникает вопрос: находились ли типичные МБТ в молоке? Скорее всего, нет, так как коровы не реагировали на туберкулин, а в стаде более 30 лет не выявляли больных животных. Вероятно, МБТ персистировали в CWD (L-?) формах, которые не индуцируют гиперчувствительности к туберкулину, но образуют вирусоподобные формы, которые выделяются с молоком. Вероятно, такие формы дополнительно трансформируются при термическом стрессе в «защитные» формы [9, 13]. Пока не ясно, что происходит с такими «защитными» формами при хранении и употреблении молока. В наших исследованиях восстановление жизнеспособности в виде CWD МБТ достигалось путем инкубации прогретого молока в стимуляторе роста и посева на питательную среду, предназначенную для выделения CWD МБТ. Состав стимулятора роста подобран эмпирически, и точный механизм его действия не ясен [10]. Предполагается, что он активизирует поступление водных растворов в ультрамелкие защитные формы и стимулирует их развитие в CWD МБТ [10, 12]. Нельзя исключать, что подобный процесс может проходить и при хранении молока, причем даже при относительно низких температурах [14]. Поэтому интерес представляло изучение изолятов из ультрапастеризованного молока. Установлено, что при длительном воздействии высокой температуры происходило закономерное изменение их морфологии. Деструкции клеток замечено не было, а их кислотоустойчивость возрастала. Создавалось впечатление, что клетки все время оставались живыми. Более того, изолят из сборного молока неблагополучного стада «Ne sb 0.22» после 2 ч прогревания

при температуре 98 °С частично трансформировался в типичные КУ микобактерии. Необходимо отметить, что в исходном посева «Ne sb 0.22» такие КУ клетки отсутствовали, и при продолжении нагревания они также исчезали.

В конечном итоге 5-часовой прогрев изолятов из молока приводил к их превращению в слабо окрашивающиеся и ЧКУ клетки, а также в протопласты с ЧКУ зернистостью. Тем не менее после посева прогретых 3 и 5 ч суспензий на среду Мус Сел DW без предварительной инкубации в стимуляторе роста во всех случаях был получен рост CWD МБТ, не отличавшихся от исходных изолятов. Эти результаты свидетельствуют, что многократная термическая обработка молока при наличии в нем защитных форм и CWD МБТ не стерилизует продукт. Более того, проблема не решается стерилизующей фильтрацией, так как, в частности, фильтрат изолята «Ne sb 0.22» из сборного молока неблагополучного стада, полученный фильтрацией через Millex GP 0.22 µm, дал рост на среде МусСел DW.

Безусловно, проблема нуждается в дальнейшем изучении, так как формы МБТ, образующиеся при воздействии высокой температуры, способны восстанавливать жизнеспособность не только в специальных условиях, но и в организме [13]. Хотя они и не вызывают явного заболевания, но способны пожизненно персистировать в организме. Достаточно обоснованно такую персистенцию связывают с развитием опухолей [4, 15, 16]. В наших исследованиях по антигенному составу и полипептидному профилю изоляты из молока были практически идентичны экспериментально полученному CWD штамму CWD *M. tuber-*



*culosis* H<sub>37</sub>Rv и изолятам из опухолей, в частности изоляту из крови человека «L-1» с аденокарциномой предстательной железы (рисунок 7).



- 1 – CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv;  
 2 – изолят из ультрапастеризованного молока «E3%Sw»;  
 3 – изолят из крови человека «L-1»  
 с аденокарциномой предстательной железы

**Рисунок 7. – Иммуноблоттинг с антисывороткой к CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv (1:60). Иммуноблоттингу был подвержен гель 12 % ПААГ-ДСН после электрофореза**

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ferran, J. *La nueva bacteriología de la tuberculosis : Congreso de la Tuberculosis / J. Ferran. – Valencia : Litografía de Jose Ortega, 1912. – 51 p.*
2. Кумбари, С. А. *О новой форме роста туберкулезных бацилл в связи с иммунитетом при этом заболевании / С. А. Кумбари // Гигиена и санитария. – 1910. – Т. 1. – С. 29.*
3. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 5: The Actinobacteria / B. W. Whitman [et al.]. – Baltimore : Williams & Wilkins, 2012. – 2083 p.*
4. *Morphological, biological, and immunological studies on isolates from tumors and leukemic bloods / F. B. Seibert [et al.] // Annals of the New York Academy of Sciences. – 1970. – Vol. 174, № 2. – P. 690–728.*
5. Markova, N. *Unique biological properties of Mycobacterium tuberculosis L-form variants: impact for survival under stress / N. Markova, G. Slavchev, L. Michailova // International Microbiology : The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology. – 2012. – Vol. 15, № 2. – P. 61–68.*
6. Markova, N. *Cell Wall Deficiency in Mycobacteria: Latency and Persistence / N. Markova // Understanding Tuberculosis – Deciphering the Secret Life of the Bacilli / ed. P.-J. Cardona. – InTech, 2012. – Cell Wall Deficiency in Mycobacteria. – P. 193–216.*
7. *Оценка эффективности термического обеззараживания молока туберкулинпозитивных коров с использованием методов детекции CWD форм микобактерий туберкулеза / А. П. Лысенко [и др.] // Экология и животный мир. – 2017. – № 1. – С. 41–48.*
8. *Detection of Mycobacteria by Culture and DNA-Based Methods in Animal-Derived Food Products Purchased at Spanish Supermarkets / I. A. Sevilla [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2017. – Vol. 8. – P. 1030.*
9. *Обнаружение маркеров скрытой туберкулезной инфекции в ультрапастеризованном молоке, произведенном в разных странах / А. П. Лысенко [и др.] // Экология и животный мир. – 2021. – № 2. – С. 13–25.*
10. Власенко, В. В. *Туберкулез в фокусе проблем современности / В. В. Власенко. – Винница : Наука, 1998. – 350 с.*
11. Laemmli, U. K. *Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // Nature. – 1970. – Vol. 227, № 5259. – P. 680–685.*
12. *Феномен изменчивости микобактерий туберкулеза и его использование для обнаружения туберкулезной инфекции / А. П. Лысенко [и др.] // Туберкулез – глобальная катастрофа человечества : материалы I Междунар. заочной науч.-практ. конф., 24 марта 2014 г. / Ростов н/Д. : РостГМУ, 2014. – С. 176–198.*
13. *The tuberculin skin test: How safe is safe? – the tuberculins contain unknown forms capable of reverting to cell-wall-deficient mycobacteria / A. P. Lysenko [et al.] // Clinical and Experimental Medical Sciences. – 2014. – Vol. 2. – P. 55–73.*
14. *Dissociation of Mycobacterium bovis: Morphology, Biological Properties and Lipids / O. Tkachenko [et al.] // Advances in Animal and Veterinary Sciences. – 2020. – Vol. 8, № 3. – P. 312–326.*
15. Tian, Y. *Detection of Mycobacterium tuberculosis L-forms and MPB64 gene in breast cancer tissues / Y. Tian, X. K. Cui, T. Hao // J. of Practical Medicine. – 2013. – № 15. – P. 45–46.*
16. *Clinical end-points associated with Mycobacterium tuberculosis and lung cancer: implications into host-pathogen interaction and coevolution / Y. Tian [et al.] // BioMed Research International. – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–9.*