ры населения Республики Саха)/ П.Г. Петрова; под ред. А.Н. Агаджаняна. – М.; Якутск: Сахаполиграфиздат, 1996. – 271 с.

Petrova P.G. Ecology, adaptation and health features of environment and population structure of Republic Sakha) / P.G. Petrova; ed. A.N. Agadžanân. – M.; Yakutsk: Sahapoligrafizdat, 1996. – P.271.

3. Кривошапкин В.Г. Очерки клиники внутренних болезней на Севере / В.Г. Кривошапкин. – Якутск, 2001.- 110-112.с.

Krivošapkin V.G. Clinic essays of internal medicine in the North/V.G. Krivošapkin. - Yakutsk. 2001. – 110-112 p.

4. Качество природной среды и состояние природных ресурсов// Государственный доклад о состоянии окружающей природной среды Республики Саха (Якутия) в 1997 г. – Якутск, 1998. – С.6.

The quality of the environment and natural resources state // State report on the State of the environment of Republic Sakha (Yakutia) in the 1997 г. – Yakutsk, 1998. – P.6.

5. Питание населения Республики Саха (Якутия): проблемы и перспективы развития / У.М. Лебедева [и др.] // VII Всероссийский Форум «Здоровье нации – основа процветания России». – М., 2010.- С.11.

Nutrition of the population the Republic Sakha (Yakutia): problems and perspectives of development / U.M. Lebedeva [et al] // VII all-Russian Forum “Health of the nation is the basis of the prosperity of Russia”. – M., 2010. - P.11

6. О тактике ведения больных с избыточным весом и ожирением в школе «Контроль веса» // Л.С. Захарова, Т.С. Неустроева, У.М. Лебедева // Материалы Конгресса диетологов и нутрициологов с международным участием «Питание и здоровье». – М., 2010.-С.36.

On the tactics of patients with overweight and obesity in school «Weight control» // L.S. Zakharova, T.S. Neustroeva, U.M. Lebedeva // Materials of the Congress of nutritionists and nutriciol, ogists. -M., 2010.-P.36.

7. Американская диабетическая ассоциация. Курение и диабет. - 2002 - №25. - С 80-81

American Diabetes Association: Smoking and diabetes. - Diabetes Care №25, 2002.-P-80-81.

8. Справочник-путеводитель практикующего врача. 2000 болезней от А до Я /Под ред. И.Н. Денисова, Э.Г. Улумбекова – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1998. – С.302-304.

Guide of medical practitioner. 2000 diseases from a to z / ed.. I.N. Denisov, E.G. Ulumbekova. - M: GEOTAR medicine, 1998. – P. 302-304.

9. Клинические рекомендации. Эндокринология / Под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – С.153-158.

Clinical recommendations. Endocrinology/Ed. I.I. Dedov, G.A. Melnichenko. -M.: GEOTAR-Media, 2008. -P. 153-158.

10. Общая врачебная практика по Джону Нобелю / Под ред. ДЖ. Нобеля, при участии Г. Грина, В. Левинсон, Дж Модеста, С. Малроу, Дж. Шергера и М.Янга. Пер. с англ. – М., Практика, 2005. – С.808-812.

General medical practice by John Nobel / ed J. Nobel, with the participation of G. Greene, V. Levinson, J. Modest,. Lane. with English. -M., Practice, 2005. –.P. 808-812.

11. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой (Изд. доп.). – М., 2007. – С.112.

Algorithms of specialized medical assistance for patients with diabetes mellitus/Edited by I.I. Dedov,M,V.. Shestakova (enlarged Edition). – M., 2007. –P.112 .

12. Гипергликемия при СД-2 / Д.М. Натан [и др.] // Диабет Положение Консенсуса из АДА и EASD. - 2006. - №29. - С.192-197.

Management of Hyperglycemia in Type 2 / D.M. Nathan [et al] // Diabetes. A consensus statement from the ADA & EASD. – Diabetes Care. - 2006. - №29. – P. 196-197.

13. Руяткина Л.А. Сахарный диабет 2 типа в клинической практике терапевта: учебное пособие /Л.А. Руяткина. – 3-е изд., доп. – Новосибирск: Сибмедиздат НГМУ, 2008. – С.29-30. \Ruâtkina L.A. Diabetes mellitus 2 type in therapist clinical practice: manual/L.A. Ruâtkina. – 3-ed. Suppl. -Novosibirsk: Sibmedizdat NGMU, 2008. -.P 29-30.

## ГИГИЕНА, САНИТАРИЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

А.М. Петерсон, Е.В. Глинская, Г.И. Грива, А.В. Брушков, В.Е. Репин, В.Ф. Чернявский, О.Н. Софронова

# БАКТЕРИИ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ РЕЛИКТОВЫХ МЕРЗЛЫХ ТОЛЩ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

УДК 551.345:561.23(571.56)

Изложены результаты первого этапа комплексных исследований культивируемых микроорганизмов, выделенных из древнейших многолетнемерзлых пород обнажения «Мамонтова гора» в Якутии и перспектива их научно-прикладной значимости.

**Ключевые слова:** вечная мерзлота, биохимические реакции, реликтовые микроорганизмы, таксономическое разнообразие, фенотипические свойства.

The results of the first stage of comprehensive studies of cultivated microorganisms isolated from the oldest permafrost exposed rocks of “Mammoth Mountain” in Yakutia are presented, and their potential scientific and applied significance is shown.

**Keywords:** permafrost, biochemical reactions, relict microorganisms, taxonomic diversity, phenotypic properties.

**ПЕТЕРСОН Александра Михайловна** – к.б.н., доцент Саратовского госуниверситета им. Н. Г. Чернышевского, **ГЛИНСКАЯ Елена Владимировна** – к.б.н., доцент-Саратовского госуниверситета; **ГРИВА Геннадий Иванович** – д.г.-м.н., гл.н.с. Тюменского НЦ СО РАН; **БРУШКОВ Анатолий Викторович** – д.г.-м.н., зав. кафедрой Московского госуниверситета им. М.В. Ломоносова; **РЕПИН Владимир Евгеньевич** – к.б.н., руковод. отдела Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, _vasya@mail.ru; **ЧЕРНЯВСКИЙ Виктор Федорович** – к.м.н., засл. врач РФ, врач-эпидемиолог ФБУЗ “Центр гигиены и эпидемиологии в РС(Я)”, poi@fguz-sakha.ru, **СОФРОНОВА Октябрина Николаевна** – зав. лаб. ФБУЗ “Центр гигиены и эпидемиологии в РС(Я)”:

Многолетнемерзлые породы широко распространены на Земле, а их возраст в некоторых регионах достигает сотни тысяч и миллионы лет. Они являются естественным хранилищем наиболее древних на Земле “законсервированных” природных сообществ микроорганизмов, банком древних генов и биомолекул [12, 22].

Изучение жизнеспособных бактерий в криосфере Земли представляет интерес в связи с рядом аспектов эволюции микроорганизмов [6, 9, 18], оценкой микробиологического разнообразия на Земле [20, 26], возможности существования жизни на других планетах [29], потенциала биогеохимической активности микробной биомассы многолетнемерзлых пород [17, 21] и их потенциал возможных взаимосвязей с современными биоценозами [19, 26]. Важность исследования микробиоты в криосфере связана также с вероятностью присутствия и сохранения в них жизнеспособных патогенных микроорганизмов и необходимостью разработки превентивных мер в случае их высвобождения вследствие антропогенной деятельности или естественного оттаивания многолетнемерзлых пород [27, 28]. Кроме того, исследование свойств реликтовых микроорганизмов важно для решения такой фундаментальной задачи, как выяснение природы их длительной жизнеспособности и выявление механизмов, позволяющих

им предотвращать накопление повреждений генетического аппарата.

Исследования, результаты которых изложены в настоящей работе, выполнялись в составе комплексного изучения реликтовых микроорганизмов, выделенных из многолетнемерзлых толщ разного возраста и генезиса. Целью работ на данном этапе являлось изучение биохимических и других свойств жизнеспособных культивируемых микроорганизмов в древних мерзлых толщах Мамонтовой горы (Якутия), микробиологические исследования которых ранее не выполнялись.

Место отбора проб и возраст мерзлоты. «Мамонтова гора» – геологически хорошо изученное и достоверно датированное обнажение реликтовых мерзлых толщ, простирающееся на 12 км вдоль левого берега р. Алдан в 325 км от его впадения в Лену. Представляет собой интенсивно размываемый речной эрозией останец водораздельной возвышенности Алдано-Амгинского междуречья, сложенный серией разновозрастных аллювиальных отложений видимой мощностью до 80 м. Нижняя часть отложений, из которых отбирались пробы для микробиологических исследований, сложена преимущественно песчаными осадками с обильными включениями ископаемой неогеновой флоры, состав которой свидетельствует о том, что осадконакопление происходило в среднем миоцене во временном интервале 11-16 млн. лет назад [16].

Известно, что мерзлые толщи в этой части Евразии существовали уже в раннем плейстоцене 1,8-2,0 млн. лет назад [10, 11]. Ряд палеоклиматических реконструкций [3, 8], основанных на результатах палинологических, палеогеографических, палеомагнитных, стратиграфических исследований и датировок, свидетельствуют о начавшемся похолодании климата со второй половины неогена с резким снижением среднегодовых температур на границе позднего миоцена – раннего плиоцена 5,5 млн. лет назад. Формирование же мерзлых толщ в данном регионе началось, по-видимому, в позднем плиоцене 3,5 млн. лет назад, когда среднеиюльские температуры воздуха понизились до +12 … +16ºС, а среднеянварские до -12 … -32ºС.

Одной из причин того, что реликтовые мерзлые толщи Мамонтовой горы не оттаивали в более поздние периоды геологического развития, является отсутствие наземного оледенения этого региона на протяжении всего четвертичного периода [8]. Результаты некоторых исследований [1, 2, 4, 5, 11, 15] позволяют заключить, что во время полных плейстоценовых оледенений Восточной Евразии и частичных Западной Сибири эта часть Азии была свободна от покровных ледников, способствующих повышению среднегодовой температуры пород и оттаиванию сформированных ранее мерзлых толщ.

Более континентальный по сравнению с современными условиями климат наряду с чрезвычайно малым (до 250 мм) годовым количеством осадков обеспечивал сохранение неогеновых отложений в мерзлом состоянии на протяжении всего плейстоцена. Не оттаивали они и в период климатического оптимума голоцена, о чем свидетельствует изученное нами криогенное строение верхней части миоценовой толщи и перекрывающих ее более молодых отложений.

Кроме того, благодаря направленности тектонических движений в позднем кайнозое [10], данная территория не была подвержена влиянию морских трансгрессий и связанных с ними периодических оттаиваний реликтовых мерзлых толщ, как это происходило в более северных приморских низменностях Якутии и Евразии в целом. Таким образом, возраст реликтовых неогеновых многолетнемерзлых толщ Мамонтовой горы, не оттаивавших после их формирования в позднем плиоцене, достигает, вероятно, 3-3,5 млн. лет.

Пробы мерзлых пород на микробиологические исследования отбирались в зонах максимальной интенсивности речной эрозии из свежеобрушенных вертикальных стенок обнажения в средней и нижней его части в интервалах 15-30 м выше уреза реки и 40-50 м ниже уровня земной поверхности. Скорость термоэрозионного разрушения обнажения в местах отбора, по данным выполняемых нами режимных наблюдений, превышает 4-5 м в год в верхней части и достигает 1-1,5 м в средней. Отбор производился с глубин, превышающих мощность сезонноталого слоя на 1-1,5 м, что исключало попадание в зону отбора ранее оттаивавших пород.

**Методы исследований.** В полевых условиях из многолетнемерзлых толщ с помощью стерилизованных спиртом и обожженных в пламени инструментов отбирались образцы мерзлых пород ненарушенной структуры весом 4-6 кг, преимущественно песчаного состава с редкими прослоями мелкодисперсных грунтов и включениями органических остатков. Отобранные монолиты хранились в мерзлом состоянии при температуре, близкой к естественной (-5°С). Транспортировка проб в лабораторию также осуществлялась без их оттаивания в термоконтейнерах с хладагентами.

В лабораторных стерильных условиях из центра образца извлекали пробу размером приблизительно 3х4 см, помещали в спирт на 2-3 с, после чего обжигали в пламени спиртовки. Обработанный таким образом материал переносили в пустую стерильную чашку Петри и оставляли для дальнейшего оттаивания при комнатной температуре (20ºС) на 1 ч.

К оттаявшему грунту с помощью пипетки добавляли 5 мл стерильного физиологического раствора и тщательно перемешивали. Из полученной почвенной взвеси готовили мазки, окрашивали по Граму [7].

По 0,1 мл полученной почвенной взвеси засевали на чашки Петри с ГРМ-агаром, в пробирки с ГРМ-бульоном и минимальной синтетической средой. Инкубацию посевов проводили при 28 и 37ºС. Оставшуюся почвенную взвесь оставляли при комнатной температуре на 14 суток.

Биохимические свойства штаммов определяли традиционными методами [14].

Антагонистические свойства выделенных штаммов по отношению к различным тест-культурам (*Escherichia coli* 113-13, *Bacillus cereus* 8035, *Staphylococcus aureus* 209) определяли методом агаровых блочков. Для этого исследуемую культуру высевали сплошным газоном на поверхность ГРМ-агара в чашки Петри и инкубировали при 28°С в течение 7 суток. Затем стерильным сверлом вырезали агаровые блочки с бактерильным газоном и переносили их на поверхность ГРМ-агара, предварительно засеянного тест-микроорганизмом. Чашки помещали на 24 ч в термостат при температуре, благоприятной для развития тест-организма. Чувствительность тест-культур к антибиотическим веществам исследуемых штаммов определяли по образованию зон отсутствия роста.

Устойчивость выделенных штаммов к различным по химическому строению группам антибиотиков определяли методом дисков. В работе использовали аминогликозиды (стрептомицин, неомицин), макролиды (эротромицин,

олеандомицин), бета-лактамы (бензилпенициллин, оксациллин, карбенициллин), ароматические антибиотики (левомицитин). Для этого исследуемые штаммы высевали сплошным газоном на поверхность питательной среды АГВ в чашки Петри. Затем на поверхность газона стерильным пинцетом накладывали диски. Инкубировали в термостате в течение 24 ч при 37°С, после чего учитывали образование зон отсутствия роста и измеряли их диаметр. Диаметры зон задержки роста сравнивали с пограничными значениями в справочных таблицах [9] и относили исследуемые штаммы к одной из трех категорий чувствительности: устойчивые, умеренно устойчивые, чувствительные [13, 14].

**Результаты и обсуждение.** Одной из главных проблем любого палеомикробиологического исследования является возможность контаминации. Для контроля проникновения внутрь отобранного монолита мерзлых пород современной микробиоты или ДНК был проведен модельный опыт, при котором его поверхность обрабатывалась раствором специально синтезированного ампликона (D-петля митохондриальной ДНК длиной 1100 пн). Результаты анализа концентраций ампликона на разных глубинах в монолите после 3-х месяцев его хранения позволяют говорить о практически полной невозможности проникновения поверхностных загрязнений вглубь отобранных проб мерзлых грунтов ненарушенной структуры.

При микроскопировании мазков оттаявшего грунта колонии микроорганизмов, вегетативные клетки или бактериальные споры не обнаруживались. Это говорит об их малочисленности и, возможно, о тесном контакте с частицами грунта [7]. Однако при микроскопических исследованиях проб мерзлых грунтов были обнаружены единичные клетки, изолированные полисахаридными (полипептидными пленками) и прикрепленные к почвенным частицам.

Видимый бактериальный рост на всех средах появлялся на третьи сутки культивирования. На ГРМ-агаре рост был слабый, чаще полупрозрачный. В жидких питательных средах наблюдалось лёгкое помутнение. В мазках обнаруживались мелкие и крупные бациллы, грамположительные неспоровые палочки, грамположительные кокки неправильной формы.

Далее проводили рассев культур, выделенных на плотных и жидких питательных средах, на чашки с ГРМ-агаром для получения изолированных колоний. Посевы культивировали при 28 и 37ºС в течение 3 сут. Большая часть культур при повторном посеве на питательную среду роста не давала. В чистой культуре удалось получить штаммы № 6, 13-15.

После двухнедельной инкубации почвенной взвеси при комнатной температуре в окрашенных по Граму мазках обнаруживались грамположительные палочки различных размеров и кокки неправильной формы. Посев почвенной взвеси проводили по вышеуказанной схеме. Это говорит, что перевод клеток в более высокую температуру дал возможность для более активного метаболизма и, возможно, деления. На всех питательных средах на первые сутки культивирования наблюдался слабый рост, на третьи – обильный. В мазках обнаруживались мелкие и крупные бациллы, грамположительные неспоровые палочки. В отличие от первого варианта опыта, большая часть культур при повторном посеве на питательную среду давала видимый рост. В чистой культуре удалось получить штаммы № 17, 20, 27, 29, 30, 32-34, 37, 39, 40.

Наибольшую группу составляли штаммы (№ 13, 15, 17, 30), дающие на ГРМ-агаре блестящие морщинистые колонии неправильной формы (рис. 1,а). В мазках обнаруживались однотипные короткие грамположительные споровые палочки с закруглёнными концами. Во вторую типичную группу были включены штаммы бактерий (№20, 27, 40, 47), образующие на агаре крупные круглые колонии с матовой поверхностью (рис. 1,б).

По морфологии клеток (рис. 2) эта группа штаммов также отличалась от предыдущей, и представляла собой длинные спорообразующие палочки с обрубленными концами. Штамм №29 по морфологии клеток был близок к группе споровых бактерий, но по культуральным свойствам несколько отличался (табл. 1). Остальные выделенные штаммы представляли собой грамположительные неспоровые палочки, различающиеся по морфологии клеток (правильной или неправильной формы, с закруглёнными или обрубленными концами) или культуральным свойствам (гладкие или морщинистые, наличие или отсутствие пигмента).

При изучении биохимической активности бактерий, выделенных из многолетнемёрзлых пород, было установлено, что среди выделенных штаммов имеются как аэробы, так и факульта-

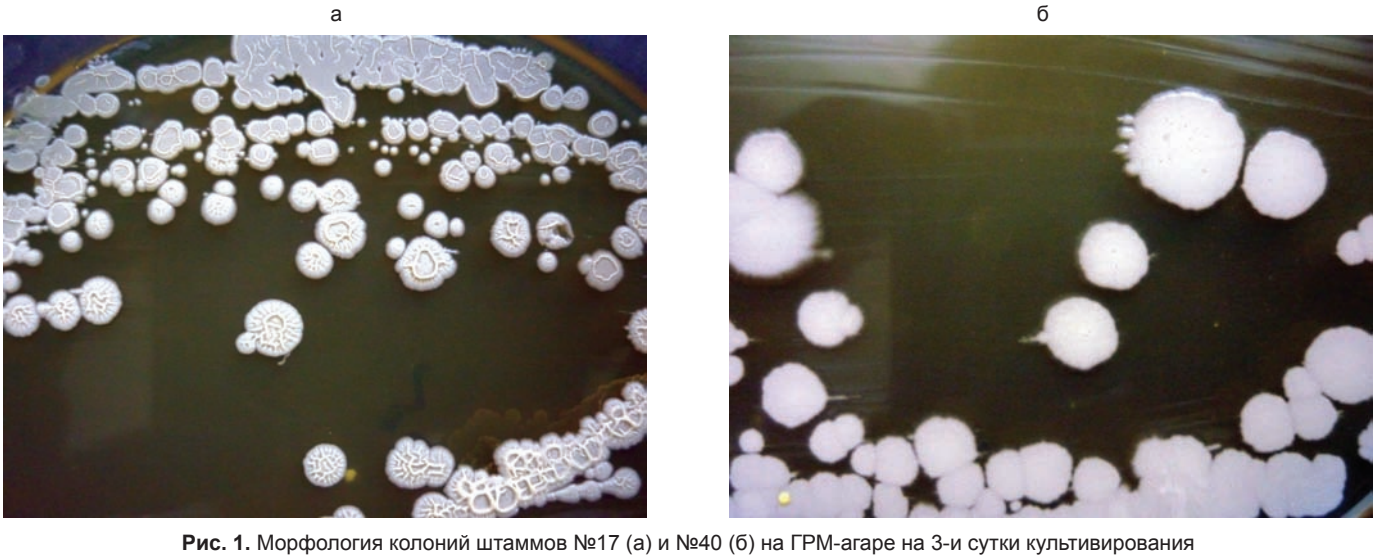


**Рис. 1.** Морфология колоний штаммов №17 (а) и №40 (б) на ГРМ-агаре на 3-и сутки культивирования

а б

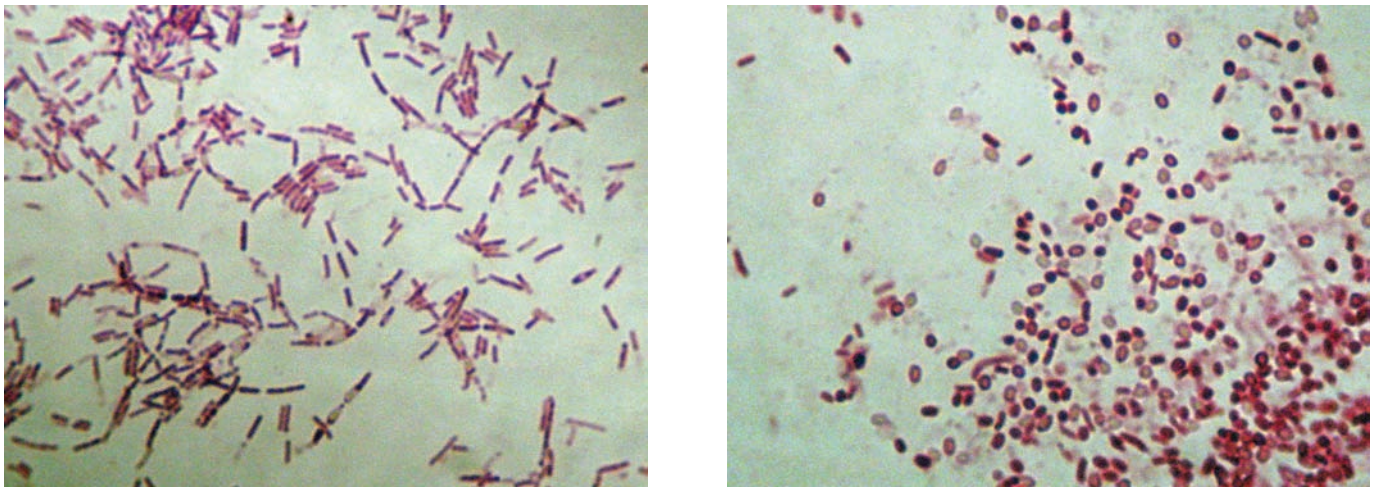

**Рис. 2.** Морфология клеток штаммов №17 (а) и №40 (б) на 3-и сутки культивирования

тивные анаэробы (табл. 1). Не было выявлено ни одного культивируемого облигатного анаэроба.

Все выделенные микроорганизмы были каталазоположительными, редуцировали нитраты до газообразных продуктов и не обладали казеиназой. Результаты остальных биохимических тестов варьировали у разных штаммов. Обращает на себя внимание низкая сахаролитическая активность изолятов: лишь три штамма неспоровых палочек обладали амилазой, а из 7 предложенных сахаров отдельные штаммы использовали лишь маннит и маннозу. При изучении пептолитической активности установлена способность большинства штаммов выделять сероводород при разложении пептонов. К образованию аммиака или индола не был способен ни один из исследованных штаммов. Большинство (10 из 15) изолятов фиксировали атмосферный азот и давали обильный рост на безазотистой среде Эшби.

Интересно сравнение биохимической активности штаммов, объединённых нами в группы по культуральным и морфологическим признакам. Биохимические свойства штаммов первой группы были практически идентичны, лишь штамм № 13 отличался от остальных изолятов данной группы по способности к продукции сероводорода и фиксации азота. Вторая группа также оказалась достаточно однородной по биохимической активности: отличия были отмечены лишь в способности к использованию цитрата в качестве единственного источника углерода и в продукции сероводорода. Штаммы № 33 и 37, имеющие схожие культуральные и морфологические свойства, по биохимической активности сильно различались, поэтому в дальнейших исследованиях рассматривались нами отдельно.

**Таблица 1**

**Биохимические свойства выделенных штаммов**

| Штаммы | Анаэробный рост | Каталаза | Оксидаза | Тест Фогес-Проскауэра | Использование цитрата | Редукция нитратов | Гидролиз | | | Образование кислоты | | | | | | | Образование газов | | | Фиксация $N_2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | Казеина | Желатина | Крахмала | Глюкозы | Маннита | Арабинозы | Ксилозы | Лактозы | Маннозы | Сорбита | Аммиака | Индола | Сероводорода | |
| 6 | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| 13 | - | + | + | + | + | + | - | + | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - |
| 14 | + | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 15 | - | + | + | + | + | + | - | + | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + |
| 17 | - | + | + | + | + | + | - | + | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + |
| 20 | + | + | - | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | + | + |
| 27 | + | + | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | + |
| 29 | - | + | - | + | + | + | - | + | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + |
| 30 | - | + | + | + | + | + | - | + | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + |
| 32 | + | + | + | - | - | + | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + |
| 33 | - | + | + | + | + | + | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + |
| 34 | + | + | + | - | - | + | - | - | + | - | - | - | - | - | + | - | - | - | + | - |
| 37 | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| 39 | + | + | + | - | + | + | - | + | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | - | + |
| 40 | + | + | - | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | + |

При изучении диапазона устойчивости выделенных штаммов к различным физико-химическим факторам установлено, что нижний температурный предел роста для большинства штаммов составлял +8$^0$C. Инкубация при +2$^0$C не приводила к образованию видимых колоний в течение 2 месяцев. Высокие температуры (+43$^0$C) подавляли рост четырех штаммов. Таким образом, большинство изученных штаммов одинаково хорошо росли в диапазоне температур от +8 до +43$^0$C.

Высокие концентрации хлорида натрия губительно действовали на большинство выделенных штаммов. Присутствие в среде 6,5% хлорида натрия подавляло рост семи штаммов, при содержании в среде 10% хлорида натрия ни один из исследованных штаммов видимого роста не давал. Нижний предел значений pH, при котором наблюдался рост выделенных культур, варьировал от 5,0 до 6,0. Для девяти штаммов была установлена устойчивость к высоким значениям pH (11,0).

При значении pH 12,0 роста выделенных культур не наблюдалось (табл. 2).

При сравнении пределов толерантности к различным физико-химическим факторам штаммов внутри выделенных нами групп было установлено, что устойчивость штаммов первой группы абсолютно идентична, штаммы второй группы имели небольшие отличия в чувствительности к 6,5% NaCl и к кислотности (pH 5,0).

Нами были изучены антагонистические свойства выделенных штаммов в отношении стандартных тест-культур: *E. coli* 113-13, *S. aureus* 209-P, *B. cereus* 8035 (табл. 3). Антагонистическую активность в отношении *E. coli* проявил лишь один штамм (№ 29). Рост грамположительных бактерий (*S. aureus* и *B. cereus*) подавляли штаммы № 13, 15, 30, 39. Интересно, что три из них принадлежали к I группе. Штамм № 17, также относящийся к I группе, проявлял антагонистическую активность только в отношении *B. cereus*. Аналогичной активностью обладал штамм № 33. Штамм № 29, проявивший антагонистическую активность в отношении грамотрицательных палочек, был активен и в отношении грамположительных кокков. Штаммы № 6, 14, 20, 27, 32, 34, 37, 40 не подавляли роста тест-культур, а штамм № 37 оказывал стимулирующий эффект на рост *B. cereus*.

**Таблица 2**

**Выживаемость выделенных штаммов при экстремальных условиях**

| Штаммы | Рост при различных параметрах | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | +2 °C | +8°C | +43°C | 6.5%NaCl | 10%NaCl | pH 4.0 | pH 5.0 | pH 5.5 | pH 6 | pH 8.5 | pH 9.0 | pH 10.0 | pH10.5 | pH 11.0 | pH 12.0 |
| 6 | - | + | + | + | - | - | - | + | + | + | + | - | - | - | - |
| 13 | - | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 14 | - | + | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - |
| 15 | - | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 17 | - | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 20 | - | + | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 27 | - | + | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 29 | - | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 30 | - | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 32 | - | + | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - |
| 33 | - | + | + | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 34 | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | - | - | - | - |
| 37 | - | + | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - |
| 39 | - | - | + | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - |
| 40 | - | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |

При изучении фенотипических свойств (антибиотикоустойчивости) выделенных штаммов было установлено, что штаммы № 6, 15, 17, 30 чувствительны ко всем использо-ванным антибиотикам, кроме левомицетина. Максимальную устойчивость проявили штаммы № 14, 37, 39. Остальные изоляты характеризовались неодинаковой чувствительностью к антибиотикам различных групп. Неомицин оказывал сильное антибактериальное действие в отношении всех выделенных штаммов. Наиболее слабую биологическую активность проявил левомицетин, к которому оказался чувствительным только штамм № 27 (табл. 4,5).

Полученные данные значительно отличаются от результатов аналогичных исследований микроорганизмов, выделенных из покровных льдов Антарктиды, где отмечена высокая устойчивость изолятов к большинству антибиотиков [14]. Возможно, это связано

**Таблица 3**

**Антагонистическая активность бактерий (d зоны подавления, мм)**

| Тест-культуры | Штаммы | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 6 | 13 | 14 | 15 | 17 | 20 | 27 | 29 | 30 | 32 | 33 | 34 | 37 | 39 | 40 |
| *E. coli 113-13* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 24±0.8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *S. aureus 209-P* | 0 | 30±0.9 | 0 | 34±1.0 | 0 | 0 | 0 | 18±1.2 | 22±0.9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22±1.0 | 0 |
| *B. cereus 8035* | 0 | 14±1.3 | 0 | 27±1.2 | 20±1.2 | 0 | 0 | 0 | 16±0.2 | 0 | 22±1.1 | 0 | стимул | 16±1.0 | 0 |

**Таблица 4**

**Антибиотикограмма штаммов микроорганизмов (d зоны подавления, мм)**

| Группы антибиотиков по хим. строению | Антибиотик | Штаммы | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 | 13 | 14 | 15 | 17 | 20 | 27 | 29 | 30 | 33 | 37 | 39 | 40 | 47 |
| Аминогликозиды | Стрептомицин | 21±0.3 | 18±0.8 | 18±0.9 | 23±0.6 | 20±0.1 | 25±2.2 | 28±1.8 | 26±2.1 | 17±0.6 | 0 | 12±0.1 | 12±0.8 | 26±2.1 | 29±2.6 |
| | Неомицин | 43±1.5 | 30±1.4 | 36±2.1 | 41±3.9 | 44±3.6 | 37±2.2 | 30±2.4 | 45±3.0 | 45±4.4 | 34±2.8 | 43±3.6 | 37±3.0 | 41±3.4 | 42±3.5 |
| Макролиды | Эритромицин | 43±2.1 | 12±0.2 | 16±1.6 | 26±2.2 | 27±1.6 | 36±4.0 | 37±2.6 | 28±2.0 | 19±0.6 | 48±3.4 | 0 | 0 | 42±3.8 | 37±3.1 |
| | Олеандомицин | 27±0.6 | 13±0.2 | 0 | 20±2.3 | 22±1.8 | 23±2.2 | 25±2.4 | 15±1.7 | 22±1.3 | 0 | 0 | 0 | 30±2.4 | 24±3.5 |
| Бета-лактамы | Бензилпенициллин | 19±0.5 | 20±1.3 | 0 | 40±4.6 | 32±2.3 | 11±0.2 | 0 | 24±0.6 | 36±3.0 | 32±4.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Оксациллин | 20±0.8 | 24±1.2 | 0 | 32±2.5 | 30±2.9 | 0 | 11±0.3 | 26±0.8 | 30±2.5 | 30±1.8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Карбенициллин | 35±2.4 | 41±3.2 | 14±0.7 | 40±4.6 | 45±3.4 | 15±0.7 | 15±1.0 | 39±3.2 | 40±3.7 | 43±3.4 | 25±2.0 | 24±1.8 | 16±1.0 | 17±1.0 |
| Ароматические антибиотики | Левомицетин | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16±0.3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Таблица 5

**Антибиотикоустойчивость штаммов микроорганизмов**

| Группы антибиотиков по хим. строению | Антибиотик | Штаммы | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 | 13 | 14 | 15 | 17 | 20 | 27 | 29 | 30 | 33 | 37 | 39 | 40 | 47 |
| Аминогликозиды | Стрептомицин | ++ | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | – | – | – | ++ | ++ |
| | Неомицин | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Макролиды | Эритромицин | ++ | – | – | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | – | – | ++ | ++ |
| | Олеандомицин | ++ | – | – | + | ++ | ++ | ++ | – | ++ | – | – | – | ++ | ++ |
| Бета-лактамы | Бензилпенициллин | ++ | ++ | – | ++ | ++ | + | – | ++ | ++ | ++ | – | – | – | – |
| | Оксациллин | ++ | ++ | – | ++ | ++ | – | – | ++ | ++ | ++ | – | – | – | – |
| | Карбенициллин | ++ | ++ | – | ++ | ++ | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + |
| Ароматические антибиотики | Левомицетин | – | – | – | – | – | – | + | – | – | – | – | – | – | – |

Примечание. – устойчивые штаммы; + умеренно устойчивые штаммы; ++ чувствительные штаммы.

с гораздо более молодым возрастом антарктических льдов по сравнению с древними многолетнемерзлыми толщами Центральной Якутии, поскольку, несмотря на таксономическую схожесть микроорганизмов из природных льдов [24], спектр их антибиотикоустойчивости отличается в зависимости от места выделения, возраста проб и вероятности контакта с современными организмами [23, 25].

**Выводы.** Древние многолетнемерзлые породы обнажения «Мамонтова гора» содержат реликтовые жизнеспособные микроорганизмы, находящиеся в мерзлой толще с момента промерзания отложений 3-3,5 млн. лет назад.

Культивируемые бактерии немногочисленны, содержатся в мерзлых породах в виде единичных выживших клеток, споры и колонии при микроскопических исследованиях проб грунтов не обнаружены.

Таксономическое разнообразие микроорганизмов невелико, большая их часть недоступна для культивирования, что подтверждается прекращением роста бактериальных клеток после переноса их на искусственные питательные среды. Доминантных культур не выявлено. Все выделенные штаммы грамположительны и отличаются незначительным набором признаков.

Отличительными особенностями изолятов Мамонтовой горы от других реликтовых микроорганизмов, выделенных из более молодых многолетенемерзлых пород других регионов, являются повышенная способность к азотфиксации, антибиотикочувствительность, незначительные антагонистические свойства и способность к активному росту в широком диапазоне значений температур, кислотности и при других экстремальных условиях.

Выявленные биологические свойства бактерий, наряду с самим фактом сохранения ими жизнеспособности на протяжении значительного промежутка времени, позволяют говорить о необходимости более детального их изучения и перспективности использования выделенных штаммов в биотехнологии и медицине, включая эпидемиологию.

*Работа выполнена при частичной поддержке интеграционных грантов СО РАН №117 и №10.*

## Литература

1. Архипов С.А. Геологическая история, ландшафты и климаты плейстоцена Западной Сибири / С. А. Архипов, В. С. Волкова. – Новосибирск: НИЦ ОИГГМ СО РАН, 1994. – 105 С.

Arkhipov S.A. Geological history, landscapes and climates of Pleistocene in Western Siberia / S. A. Arkhipov, V. S. Volkova. – Novosibirsk: Research Center Unite Institute of Geology, Geophysics and Mineralogy SB RAS, 1994. – 105 p. (in Russian)..

2. Баулин В.В. История криогенного развития Земли в кайнозое / В. В. Баулин, Н.С. Данилова // Основы геокриологии. Ч.3. Региональная и историческая геокриология мира. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – С. 97-121.

Baulin V.V. The history of cryogenic development of the Earth during Cainozoe / V.V. Baulin, N.S. Danilova // Fundamentals of geocryology. Part 3. Regional and historical geocryology of the world. – M.: MSU Publishers, 1998. – P. 97-121 (in Russian).

3. Волкова В.С. Количественная оценка некоторых элементов климата позднего олигоцена и неогена / В.С. Волкова, Н.А. Кулькова // Палинология СССР. – Новосибирск: Наука. 1988. – С. 31-38.

Volkova V.S. Quantitative assessment of some elements of the climate of the Late Oligocene and Neogene / V. S. Volkova, N.A. Kul'kova // Palynology of the USSR. – Novosibirsk: Nauka. 1988. – P. 31-38 (in Russian).

4. Грива Г.И. Геоэкологические условия разработки газовых месторождений Ямала / Г. И. Грива. – Томск: Изд-во ТГУ, 2005. - 330 с.

Griva G.I. Geoecological conditions of the development of gas fields of Yamal / G.I. Griva. – Tomsk: TSU Publishers, 2005. - 330 P. (in Russian).

5. Гричук В.П. Реконструкция климатических показателей раннего кайнозоя по палеофлористическим данным / В.П. Гричук, Э.М. Зеликсон, О.К. Борисова // Климаты Земли в геологическом прошлом. - М.: Наука, 1987. – С. 69-77

Grichuk V.P. Reconstruction of climatic indices of the Early Cainozoe based on paleofloristic data / V.P. Grichuk, E.M. Zelikson, O.K. Borisova // Climates of the Earth in the geological past. – M.: Nauka, 1987. – P. 69-77 (in Russian).

6. Заварзин Г. А. Становление биосферы / Г. А. Заварзин //Вестник Российской академии наук. - 2001. – Т. 71, № 11. - С. 988-1001.

Zavarzin G.A. The formation of biosphere / G.A. Zavarzin // Bulletin of the Russian Academy of Sciences, 2001. – Vol. 71, N 11. - P. 988-1001 (in Russian).

7. Звягинцев Д.С. Почва и микроорганизмы / Д. С. Звягинцев. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987. – 256 С.

Zvyagintsev D.S. Soil and microorganisms / D.S. Zvyagintsev. – M.: Moscow State University Publishers, 1987. – 256 p. (in Russian).

8. Зубаков В.А. Глобальные климатические события неогена / В.А. Зубаков. – Л.: Гидрометеоиздат, 1990. - 223 С.

Zubakov V.A. Global climate events of the Neogene / V.A. Zubakov. – L.: Hydrometeoizdat, 1990. - 223 p. (in Russian).

9. Красильников А.П. Микробиологический словарь-справочник/ А.П. Красильников, Т.Н. Романовская. – Минск: Асар, 1999. – С. 373.

Krasilnikov A.P. Microbiological dictionary-directory / A.P. Krasilnikov, T.N. Romavovskaya. – Minsk: Asar, 1999. – p. 373 (in Russian).

10. Лазуков Г. И. Плейстоцен территории СССР / Г. И. Лазуков. - М.: Высшая школа, 1989. - 320 С.

Lazukov G I. Pleistocene in the territory of the USSR / G.I. Lazukov. – M.: High School, 1989. - 320 p. (in Russian).

11. Марков К.К. Четвертичный период. Т. III / К.К. Марков, А.А. Величко. - М.: Недра, 1967. - 440 с.

Markov K.K. Quaternary period. Vol.III / K.K. Markov, A.A. Velichko. – M.: Nedra, 1967. - 440 p. (in Russian).

12. Оценка бактериологической достоверности палеообразцов / В. Е. Репин [и др.]// Якутский медицинский журнал. - 2009. - №3 (31). – С. 63-65.

Assessment of bacteriological reliability of paleo-samples/ V.E. Repin [et al.] // Yakut medical journal, 2009. - № 3 (31). - P. 63-65.

13. Потенциальная опасность микроорганизмов, пришедших из прошлого / В.Е. Репин [и др.] // Юкагирский мамонт. - СПб.: Изд-во СПбГУ, 2007. - С. 183 – 190.

The potential danger of microorganisms coming from the past / V.E. Repin [et al.] // Yukagir mammoth. – St. Petersburg.: St. Petersburg State University Publishers, 2007. - P. 183 – 190 (in Russian).

14. Природные резервуары множественной устойчивости микроорганизмов к антибиотикам / И. С. Андреева [и др.] // Материалы IV съезда Российского общества биохимиков и молекулярных биологов. - Новосибирск, 11-15 мая, 2008. - С. 613

Natural reservoirs of multiple antibiotic resistance of microorganisms / I.S. Andreeva [et al.] // Proceedings of the 4th Congress of the Russian Society of Biochemists and Molecular Biologists. - Novosibirsk, May 11-15, 2008. - p. 613 (in Russian).

15. Проблема четвертичных оледенений Сибири / С.А. Стрелков [и др.] // Основные проблемы изучения четвертичного периода. - М.: Наука, 1965. - С. 188-205.

The problem of Quaternary glaciations of Siberia / S.A. Strelkov [et al.] // The main problems of the study of the Quaternary period. – M.: Nauka, 1965. - P. 188-205 (in Russian).

16. Разрез новейших отложений «Мамонтова гора» / под ред. К. К. Маркова. – М.: Изд-во МГУ, 1973. - 198 С.

The section of the latest deposits of «Mammoth Mountain» / edited by K.K. Markov. – M.: MSU Publishers, 1973. - 198 p. (in Russian).

17. Реликтовые микроорганизмы криолитозоны как возможные объекты геронтологии / А.В. Брушков [и др.] // Успех геронтологии. – М.: 2009. - Т.22. - №2. - С. 253 – 260.

Relict microorganisms of cryolithozone as possible objects of gerontology / A.V. Brushkov [et al.] // Progress in gerontology. – M.: 2009. - V. 22. – N 2. - P. 253 – 260 (in Russian).

18. Репин В.Е. Особенности эволюции бактерий / В.Е. Репин //Развитие жизни в процессе абиотических изменений на Земле. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2008. - С.253-264.

Repin V.E. The peculiarities of bacterial evolution / V.E. Repin // Life development in the process of abiotic changes on the Earth. – Novosibirsk: SB RAS Publishers, 2008. - P.253-264 (in Russian).

19. Результаты микробиологических исследований проб мышечной ткани спины Оймяконского мамонтенка / О.Н. Софронова [и др.] //Материалы IV Междунар. конф. – Якутск, 2010. – С. 196-205.

The results of microbiological examinations of samples of muscular tissue from the back of the Oymyakon mammoth baby / O.N. Sofronova [et al.] // Proceedings of the 4th International Conference. – Yakutsk, 2010. – P. 196-205 (in Russian).

20. A molecular phylogenetic survey of sea-ice microbial communities (SIMCO) / M.V. Brown [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. - 2001. - V.35. – P. 267-275.

21. Ancient bacteria show evidence of DNA repair / S. S. Johnson [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 2007. 104:14401-14405.

22. Ashcroft F. Life at the Extremes / F. Ashcroft // Harper Collins. - 2000. - 326 P.

23. Biological invasions in the Antarctic: extent, impacts and implications / Y. Frenot [et al.]//Biol. Rev. – 2005 – V.80. - P. 45–72.

24. Diversity and Structure of Bacterial Communities in Arctic versus Antarctic Pack Ice / R. Brinkmeyer [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. - 2003 November; 69(11): 6610–6619.

25. Isolation of antibiotic resistance bacterial strains from Eastern Siberia permafrost sediments / S.Z. Mindlin [et al.] //Russian Journal of Genetics. – 2008. – V.44. -P.27-34.

26. Isolation of culture of a microbe of a Bacillus species from the trunk of the Oymyakon mammoth baby / O.N. Sofronova [et al.] // Quatermaire. – Hors-serie – N. 3. – 2010. – P. 58-59.

27. Pathogenicity and immunogenicity of influenza virus with gene from 1918 pandemic virus/ T.M. Tumpey [et al.] //Proc. Natl Acad Sci. USA.-2004.-V.101.-P. 3166-3171.

28. Permafrost as a potential source for replenishing collections with pathogenic microorganisms / V.Repin [et al.]// Hydrological Science and Technology.- 2000.-V.16, N.1-4.-P.35-39.

29. Super-long Anabiosis of Ancient Microorganisms in Ice and Terrestrial Models for Development of Methods to Search for Life on Mars, Europa and other Planetary Bodies / S. S. Abyzov [et al.] //Advances in Space Research – 2006. – V. 38, N 6. – P. 1191-1197.

Т.В. Сафьянова, Н.В. Лукьяненко

# ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В В АЛТАЙСКОМ КРАЕ В ДОПРИВИВОЧНОМ ПЕРИОДЕ И В ПЕРИОДЫ ВВЕДЕНИЯ ИММУНИЗАЦИИ

УДК 616.36-002-036.22:615.37(571.15)

С целью изучения развития эпидемического процесса острого вирусного гепатита В проведён анализ динамики показателей заболеваемости данной инфекцией в Алтайском крае в период с 1986 по 2009 г.

В результате проведённого анализа выявлено: снижение заболеваемости острым гепатитом В в 2009 г. к максимальному уровню 1996 г.; наличие обратной статистически значимой корреляционной зависимости между заболеваемостью населения острым гепатитом В и охватом профилактическими прививками против данного заболевания детей до 17 лет, а также взрослых с более выраженной зависимостью среди взрослого населения до 55 лет; изменение возрастной структуры заболевших детей до 17 лет в сторону снижения удельного веса детей дошкольного возраста и увеличения доли детей школьного возраста; превышение показателя заболеваемости острым гепатитом В среди городских жителей по отношению к сельскому населению при равном охвате профилактическими прививками жителей города и села.

**Ключевые слова:** острый гепатит В, эпидемиологические особенности, вакцинация.

The analysis of dynamics of morbidity indicators by the given infection in Altay territory during the period from 1986 for 2009 was carried out. The objective was to study development of the acute virus hepatitis B epidemic process.

As a result of the spent analysis it is revealed: morbidity decrease in 2009 to a maximum level of 1996; presence of inverse statistically significant correlation dependence between acute hepatitis B morbidity of the population and coverage by preventive inoculations against the given disease of children till 17 years as well as adults, with more expressed dependence among adult population till 55 years; change of age structure of ill children till 17 years towards decrease in relative density of children of preschool age and increase in a share of children of school age; excess of acute hepatitis B morbidity indicator among city dwellers in relation to agricultural population at equal coverage by preventive inoculations of townsmen and villagers.

**Keywords:** acute hepatitis B, epidemiological features, vaccination.

**САФЬЯНОВА Татьяна Викторовна** – к.м.н., ст. препод. ГБОУ ВПО АГМУ Минздравсоцразвития России, tysya_095@mail.ru; **ЛУКЬЯНЕНКО Наталья Валентиновна** – д.м.н., проф., зав. кафедрой ГБОУ ВПО АГМУ Минздравсоцразвития России.

**Введение.** Гепатит В – глобальная проблема здравоохранения в мире. Примерно 350-400 млн. чел. в мире инфицированы вирусом гепатита В, несмотря на доступность вакцины. Гепатит В имеет степень инфицирования, в 100 раз превышающую степень инфицирования вирусом иммунодефи-