

ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ КОСТНЫХ ОСТАНКОВ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ СУДЕБНОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ¹

*А.Н. Приходько**, *О.С. Лаврукова***, *Н.А. Сидорова***, *В.Л. Попов****

*Бюро судебно-медицинской экспертизы
(Республика Карелия, г. Петрозаводск)

**Петрозаводский государственный университет
(Республика Карелия, г. Петрозаводск)

***Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова
(Санкт-Петербург)

Обобщены результаты комплексных исследований специфических посмертных микробиомов, выделенных с поверхности костных останков, обнаруженных в составе исторических захоронений. С помощью стандартных методов изучены 9 образцов, полученных с поверхностей бедренной и подвздошной костей, а также с поверхности костно-мышечного конгломерата в проекции передней поверхности крестца. Выделенные изоляты отнесены к Ascomycota и Deuteromycota. Все культуры отличались выраженным фенотипическим полиморфизмом, низкой активностью внеклеточных гидролаз и высокой активностью мицелиальной каталазы, которая является фактором адаптации к условиям окислительного стресса, возникающего из-за дефицита питательного субстрата для выделенных групп микроорганизмов. Более адаптированными к дефициту белков и углеводов могут считаться грибы рода *Cladosporium*. Выдвинуто предположение, что в течение процесса разложения костных останков происходит процесс специфической реколонизации субстрата. Факторы окружающей среды, климатические и погодные явления, изменение окислительно-восстановительного потенциала костного матрикса некробионтами создают новые возможности для микробной инфильтрации костей. Первичных колонизаторов трупов сменяют микроорганизмы костных останков, способные приобретать питательные вещества и энергию из тканей костей, связок, волос трупа, тем самым увеличивая собственное метаболическое и таксономическое разнообразие. Основная причина в реколонизации субстратов с ограниченным набором питательных веществ заключается в

¹Исследование выполнено в рамках реализации Программы развития опорного университета ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» на период 2017–2021 годов, при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках государственного задания № 17.7416.2017/8.9.

Ответственный за переписку: Лаврукова Ольга Сергеевна, адрес: 185013, Республика Карелия, г. Петрозаводск, ул. Боровая, д. 32, кв. 4; e-mail: olgalavrukova@yandex.ru

Для цитирования: Приходько А.Н., Лаврукова О.С., Сидорова Н.А., Попов В.Л. Особенности микрофлоры костных останков и их использование для целей судебной экспертизы // Журн. мед.-биол. исследований. 2018. Т. 6, № 2. С. 156–164. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.2.156

лабильном ферментативном аппарате адаптированных к олиготрофии микроорганизмов. С помощью полученных результатов становится возможной оценка вклада отдельных видов посмертного микробиома в изменение структуры костных фрагментов, что в дальнейшем позволит расширить доказательную базу судебно-медицинской экспертизы и судебной археологии.

Ключевые слова: *судебно-медицинская экспертиза, судебная археология, некробиом, костные останки, фенотипический полиморфизм микроорганизмов, адаптация микроорганизмов.*

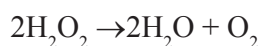
Одним из актуальных направлений судебной медицины остается судебная археология [1], на значимость которой для идентификации фрагментов трупа указывал J. Davis в работе «Forensic archaeology» еще в 1992 году [2]. В последние десятилетия, с накоплением новых знаний в области экспертизы человеческих останков [3], все чаще становятся востребованными приемы и методы других наук, таких как тафономия, почвоведение, энтомология, ботаника, зоология. Так, при комплексном использовании методов стратиграфии, остеoarхеологии, палинологии и энтомологии растет вероятность определения не только происхождения костных останков, но и давности конкретного исторического захоронения. Однако, несмотря на достигнутые успехи в судебной археологии, проблемное поле этого раздела судебно-медицинской экспертизы продолжает расти и на сегодняшний день охватывает еще более широкий круг научных дисциплин. К такой дисциплине относится и микробиология, позволяющая с помощью специальных методов оценить значимость посмертного микробиома для решения конкретных задач в процессе исследования неидентифицированных захоронений. При анализе некробиома учитывается, что развитие микроорганизмов всегда сопровождается снижением концентрации доступного питательного субстрата и увеличением количества продуктов микробного метаболизма, изменяющих условия окружающей среды. В составе некробиома эти изменения способствуют правопреемственности в систематическом и физиологическом разнообразии бактерий, которое связано, прежде все-

го, с большим спектром химических реакций, с помощью которых представители некробиома получают источники азота и углерода для питания и энергию для роста, поддержания клеточного гомеостаза и размножения [4]. Физико-химические параметры, определяющие скорость макроскопического изменения разлагающегося трупа [5], аналогичны кофакторам, которые ингибируют или стимулируют рост микробов. Первичные факторы включают в себя температуру, активность воды, pH субстрата, доступность кислорода, содержание питательных веществ и физическую структуру ложа трупа. В совокупности перечисленные факторы создают условия, благоприятствующие развитию определенных видов бактерий и микроскопических грибов.

Известно, что костная ткань представляет собой специфический разлагающийся субстрат, состоящий из ограниченного запаса питательных веществ, в основном в виде соединений кальция и фосфора. Тем не менее в некоторых исследованиях приводится факт микробно-опосредованного воздействия на костную ткань трупа [6]. В 2015 году на базе кафедры антропологии Университета Теннесси с помощью культурально-независимого секвенирования бактерий, выделенных с поверхности костных останков человека, идентифицированы доминантные группы микроорганизмов – Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria и Acidobacteria [7]. Также установлено, что с увеличением срока разложения в образцах костей снижается количество Firmicutes и Bacteroidetes, а численность α -, γ -, протео- и актинобактерий

увеличивается. В образцах костей с периодом разложения более 2 лет выделены ацидобактерии, принадлежащие к семействам Solibacteraceae и Koribacteraceae, и виды семейств Pseudomonadaceae, Clostridiaceae и Tissierellaceae. Бактерии и микроэукариоты с коллагеназной активностью используют коллаген в качестве единственного источника азота и углерода для удовлетворения своих метаболических потребностей. С помощью метода накопительных культур и оценки биохимической активности установлено, что 17 % микробных изолятов в составе микрофлоры костных останков и почвы ложа трупа содержат коллагеназу. Однако попытки предложить конкретные изоляты в качестве тафонных агентов костной биодеградации не дали надежных результатов [8].

В данном исследовании приводятся результаты идентификации микроорганизмов, выделенных с поверхностей бедренной и подвздошной костей, а также с поверхности костно-мышечного конгломерата в проекции передней поверхности крестца, обнаруженных при изучении исторического захоронения. У чистых культур микроскопических грибов определен уровень мицелиальной каталазы. Субстратом для каталазы является перекись водорода, которая ферментативно разрушается до H_2O и O_2 согласно уравнению



Выбор фермента для анализа биохимической активности микроорганизмов обусловлен преимущественно реакциями окисления и гидролиза, возникающих при деструкции природных объектов. Кроме того, при остеoarхеологических исследованиях с использованием микроорганизмов необходимо учитывать факт, что биосинтез внеклеточных оксидоредуктаз может повышать устойчивость грибов к неблагоприятным внешним воздействиям. Понимание того, какие факторы влияют на состав некробиома костных останков человека и как отдельные виды посмертного микробиома могут из-

менить структуру костей, позволит расширить доказательную базу судебно-медицинской экспертизы и пополнить данные в области судебной археологии.

Материалы и методы. Исследования выполнены в период с 26 апреля по 3 июня 2016 года на базе медицинского института Петрозаводского государственного университета. Пробы микроорганизмов в составе некробиома костей отбирали с соблюдением правил асептики методом смывов для объективной оценки качества и количества микробных клеток в составе анализируемых образцов. При отборе проб учитывали место взятия, им присваивали определенный порядковый номер: 1, 2а, 3–7, 8а, 9 – смывы с передней поверхности диафиза правой бедренной кости; 2б – смыв с поверхности костно-мышечного конгломерата в проекции передней поверхности крестца; 8б – смыв с внутренней поверхности левой подвздошной кости (таз); 10 – контроль стерильности. Контрольная проба необходима для проверки стерильности изотонического раствора NaCl, который стандартно используется при отборе проб микроорганизмов для исследования твердых поверхностей.

Для оценки видовой принадлежности и численности микроорганизмов в составе смывов с костных останков применяли стандартные микроскопические и бактериологические методы исследования. Ультраструктуру микроорганизмов изучали с помощью прижизненных [9] и фиксированных препаратов, которые просматривали в 3 полях зрения на микроскопе «Motic» (Китай). Для дифференциального окрашивания гиф микроскопических грибов готовили смесь Судана 3. На микроскопических препаратах учитывали морфологию клеток и ультраструктурные признаки: септированность мицелия, особенность гиф, наличие эндо- и экзоспор. Способность к росту и утилизации углерод- и азотсодержащих субстратов оценивали с помощью основных (мясо-пептонный агар – МПА, мясо-пептонный бульон – МПБ), элективных (кровяной агар – КА) и

дифференциально-диагностических сред Гисса. На жидких и агаризованных средах учитывали культуральные признаки, характер роста, образование биопленок, биохимическую активность. Численность микробных клеток выражали в колониеобразующих единицах в 0,1 мл инокулюма (КОЕ/мл) и рассчитывали как общее количество микроорганизмов, способных к росту на поверхности МПА в течение 48 ч (24 ч инкубации при 37 С° и 24 ч при комнатной температуре); количество микроорганизмов, образующих зону гемолиза на КА (48 ч инкубации при 37 С°); количество микромицетов, вырастающих на агаре Сабуро (14 сут инкубации при комнатной температуре). Биохимическую активность выделенных микроорганизмов в отношении мицелиальной каталазы выражали в активных единицах (а. е.), учитывая убыль H_2O_2 с помощью спектрофотометра «ЛЕКИ» («MEDIORA OY», Финляндия) при длине волны $\lambda = 240$ нм.

Результаты. Выделенные культуры микроорганизмов характеризовались незначительным биоразнообразием. В результате микробиологического исследования получено 6 изолятов, способных расти на МПБ и формировать изолированные колонии на средах МПА, КА и Сабуро и отличающихся набором фенотипических признаков (см. таблицу, с. 160).

При количественном учете микроорганизмов в составе исследуемых смывов установлена различная степень контаминации микроорганизмами поверхностей обнаруженных костей: передней поверхности диафиза правой бедренной кости – от 3,8 до 7,6 %, внутренней поверхности левой повздошной кости и костно-мышечного конгломерата в проекции передней поверхности крестца – от 11,5 до 19,2 %. Максимальная численность клеток обнаружена в пробе 2б (костно-мышечный конгломерат в проекции передней поверхности крестца) – 174 КОЕ/мл, а минимальная – в пробе 6 (18 КОЕ/мл). Пробы отличались количеством остаточной органики, что сказалось на неровном распределении клеток микроорганизмов в образцах.

По совокупности изученных признаков выделенные микроорганизмы отнесены к Ascomycota (сумчатым грибам) и Deuteromycota (несовершенным грибам). Большинство грибов отдела Ascomycota являются типичными сапрофитами, имеют хорошо развитый септированный мицелий и, как правило, только одно гаплоидное ядро. В результате полового процесса данные микроорганизмы формируют аски с аскоспорами. Отдел представлен сахаромицетами. С поверхности диафиза правой бедренной кости и костно-мышечного конгломерата выделены Saccharomycetes с псевдогифами, появление которых ряд авторов [10] связывают с дефицитом азотного и углеродного питания. У таких культур увеличивается G_2 -фаза клеточного деления, в результате чего клетки удлиняются и трансформируются в псевдогифы. Deuteromycota представлены родом *Cladosporium*, который часто доминирует среди несовершенных грибов. Для морфологических особенностей рода характерно наличие базальных конидий, отличающихся по форме и величине в составе микрофлоры изученных смывов.

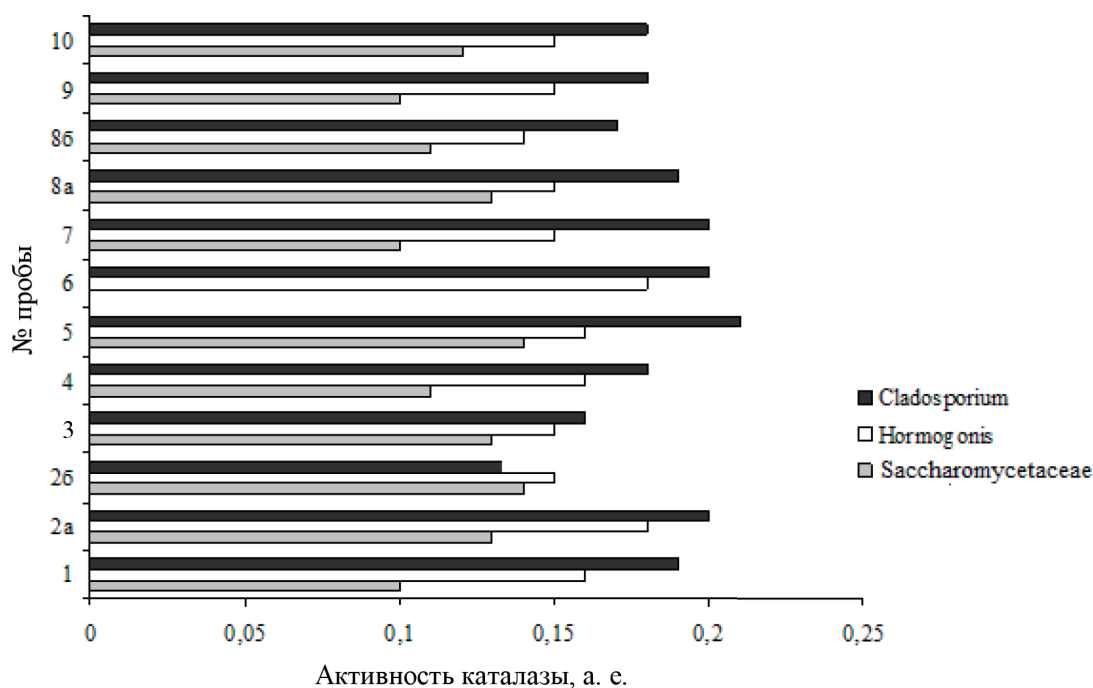
Характерно, что на 5–8-е сутки культивирования все выделенные изоляты на КА проявляли гемолитическую активность при отсутствии роста на средах с углеводами и избирательном росте на средах с белками. Известно, что экзотоксины формируются, когда достигается большой пул первичных метаболитов в виде аминокислот, ацетата, пирувата и т. д. Таким образом, синтез токсинов у выделенных микромицетов объясняется необходимостью уменьшения количества предшественников, которые в дальнейшем не требуются для метаболизма и, согласно полученным результатам, являются косвенными показателями низкой активности внеклеточных гликолитических и протеолитических ферментов Ascomycota и Deuteromycota в составе некробиома костей.

Активность биосинтеза внеклеточной оксидоредуктазы на примере мицелиальной ка-

**ОСНОВНЫЕ ПРИЗНАКИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ
ИЗ КОСТНЫХ ОСТАНКОВ**

№ пробы	Характеристика колоний	Морфология клеток	Рост клеток		
			на средах с углеводами	на средах с белками	на КА, гемолиз
2б, 6, 9	Плотные, возвышающиеся над средой, кожистые, серовато-белого цвета, глубоко врастают в среду, без обильных складок	Мицелий не септированный, отдельные хламидоспоры, микроконидии иногда овальной или грушевидной формы	К-Г ⁻	В виде хлопье-видного осадка, H ₂ S ⁻	+
2а, 4, 9	Кожистые, складчатые, с серовато-белым мицелием. Много очерченных радиальных борозд, сходящихся в центре	Мицелий ветвящийся септированный, микроконидии овальной формы	К-Г ⁻	В виде хлопье-видного белого осадка, H ₂ S ⁺	+
2а, 2б, 3, 5, 6	Плоские, желтые, сметанообразной консистенции, с гладкой блестящей поверхностью и ровными краями	Мицелий ветвящийся, микроконидии овальной формы, псевдогифы	К-Г ⁻	В виде хлопье-видного белого осадка, H ₂ S ⁺	+
2б, 7, 8а, 8б	Плоские, кремовые, сметанообразной консистенции, с гладкой блестящей поверхностью и ровными краями	Мицелий ветвящийся, микроконидии овальной формы	К-Г ⁻	В виде хлопье-видного белого осадка, H ₂ S ⁺	+
1, 2а, 4, 9	Плоские, белые, сметанообразной консистенции, с гладкой блестящей поверхностью и ровными краями	Мицелий ветвящийся, микроконидии овальной формы	К-Г ⁻	В виде хлопье-видного белого осадка, H ₂ S ⁺	+
1, 2а, 2б, 8а, 8б	Бледно-серые, в центре светло-коричневые с бежевым краем, порошистые	Дрожжевидные споры	К-Г ⁻	В виде хлопье-видного белого осадка, H ₂ S ⁺	+

Примечание: К-Г⁻ – отсутствие продуктов гликолиза в виде кислоты (К-) и CO₂ (Г⁻).



Активность мицелиальной каталазы культур микроорганизмов, выделенных из костных останков

талазы *Saccharomycetes* и *Cladosporium* изменялась от 0,10 до 0,21 а. е. (см. рисунок). Во всех вариантах опыта средние значения активности мицелиальной каталазы грибов рода *Cladosporium* (0,19 а. е.) оказались в 1,7 раза выше оксидоредуктазной активности *Saccharomycetes* (0,11 а. е.). Сахаромицеты, выделенные с образца 6 (смыв с передней поверхности диафиза правой бедренной кости), обладали нулевыми значениями активности каталазы. В остальных вариантах смывов с костей для *Saccharomycetes* активность фермента менялась от 0,10 до 0,14 а. е. Для *Cladosporium* во всех случаях обнаружена мицелиальная каталаза, активность которой изменялась от 0,13 а. е. (образец 2б – смыв с поверхности костно-мышечного конгломерата в проекции передней поверхности крестца) до 0,21 а. е. (образец 5 – смыв с передней поверхности диафиза правой бедренной кости).

Установлена различная активность фермента для разных стадий развития Deuteromycota:

анаморфы и телеоморфы. Несмотря на то, что *Cladosporium* (анаморфа) является случайным микромицетом на костных останках, а *Hormogonis* (телеоморфа) – активным биодеструктором, во всех вариантах активность мицелиальной каталазы *Cladosporium* была выше на 0,03–0,07 а. е. при одинаковом среднем уровне активности 0,19 а. е.

Обсуждение. Вероятно, что ограниченный запас питательных веществ костной ткани приводит не только к снижению численности и биоразнообразия микроорганизмов, контаминирующих кости, но и к увеличению активности ферментов антиоксидантной защиты микроорганизмов. В данном случае мицелиальная каталаза является фактором адаптации к условиям окислительного стресса, возникающего из-за дефицита питательного субстрата для выделенных групп микроорганизмов. Более адаптированными к дефициту белков и углеводов можно считать грибы рода *Cladosporium*.

Полученные результаты объективны с позиции кометаболизма микроорганизмов в природных ассоциациях, когда активный метаболизм легкодоступной органики приводит к активации метаболизма труднодоступного субстрата ассоциацией плесневых и дрожжеподобных грибов, чем и объясняет их доминирование в исследованных некробиомах. Доминирование Ascomycota и Deuteromycota в составе некробиома костей является результатом их быстрой адаптации к труднодоступному питательному субстрату с последующим вытеснением менее адаптированных, как правило бактериальных, видов микроорганизмов.

Анализируя литературные данные и результаты собственных исследований, можно предположить, что в течение процесса разложения костных останков происходит процесс специфической реколонизации, или повторной колонизации субстрата. Факторы окружающей среды, климатические и погодные явления, изменение окислительно-восстановительного потенциала костного матрикса некробионтами создают новые возможности для микробной инфильтрации костей. Первичные

колонизаторы свежих трупов могут быть заменены микроорганизмами костных останков, способными приобретать питательные вещества и энергию из тканей костей, связок, волос трупа, тем самым увеличивая собственное метаболическое и таксономическое разнообразие. Основная причина в реколонизации субстратов с ограниченным набором питательных веществ заключается в лабильном ферментативном аппарате адаптированных к олиготрофии микроорганизмов. Подобное предположение не дает четкого представления о сложных взаимодействиях между таксонами микроорганизмов в составе некробиома и используемым субстратом, однако позволяет выдвинуть новые гипотезы о вовлечении микроорганизмов в круговорот вещества и энергии, что применимо не только к микробной экологии, но также к судебной археологии и судебно-медицинской экспертизе. Дальнейшие исследования микрофлоры костных останков позволят выйти за рамки эмпирического подхода и получить объективно измеряемые переменные, и это будет полезно как для ретроспективных, так и для экспериментальных исследований в области судебной медицины.

Список литературы

1. Кузьмин С.А., Усов А.И., Говорина Н.В. Перспективы развития судебно-археологического направления в судебно-экспертном производстве государств-членов ЕВРАЗЭС // Теория и практика судеб. экспертизы. 2013. № 4(32). С. 121–125.
2. Davis J. Forensic Archaeology // Archaeological Review from Cambridge. 1992. № 11(1). P. 152–156.
3. Корищонов Н.В. Диагностика давности смерти при исследовании трупов в стадии гнилостной их трансформации: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2007. 24 с.
4. Jurtshuk P. Jr. Bacterial Metabolism // Medical Microbiology / ed. by S. Baron. 4th ed. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7919/> (accessed 30 October 2016).
5. Damann F.E., Carter D.O. Human Decomposition Ecology and Postmortem Microbiology // Manual of Forensic Taphonomy / ed. by J. Pokines, S. Symes. Boca Raton: CRC Press, 2014. P. 37–49.
6. Turner-Walker G. The Chemical and Microbial Degradation of Bones and Teeth // Advances in Human Paleopathology / ed. by R. Pinhasi, S. Mays. Chichester: John Wiley & Sons, 2008. P. 3–29.
7. Damann F.E., Williams D.E., Layton A.C. Potential Use of Bacterial Community Succession in Decaying Human Bone for Estimating Postmortem Interval // J. Forensic Sci. 2015. Vol. 60, № 4. P. 844–850.
8. Child A.M. Towards an Understanding of the Microbial Decomposition of Archaeological Bone in the Burial Environment // J. Archaeol. Sci. 1995. Vol. 22, № 2. P. 165–174.
9. Ефремов И.А. Тафономия и геологическая летопись. Кн. 1. Захоронение наземных фаун в палеозое. М.; Л.: АН СССР, 1950. 178 с.

10. Кнорре Д.А., Старовойтова А.Н., Соколов С.С., Сорокин М.И., Северин Ф.Ф. Роль функционального состояния митохондрий в образовании псевдогиф клетками дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Современная микология в России: тез. докл. 3-го Съезда микологов России. М.: Нац. акад. микологии, 2012. Т. 3. С. 96.

References

1. Kuz'min S.A., Usov A.I., Govorina N.V. Perspektivy razvitiya sudebno-arkheologicheskogo napravleniya v sudebno-ekspertnom proizvodstve gosudarstv-chlenov EVRAZES [Prospects for the Advancement of Forensic Archaeology as a Branch of Forensic Inquiry in EurAsEC Member States]. *Teoriya i praktika sudebnoy ekspertizy*, 2013, no. 4, pp. 121–125.
2. Davis J. Forensic Archaeology. *Archaeological Review from Cambridge*, 1992, vol. 11, no. 1, pp. 152–156.
3. Korshunov N.V. *Diagnostika davnosti smerti pri issledovanii trupov v stadii gnilostnoy ikh transformatsii* [Determining the Postmortem Interval of the Bodies at the Stage of Putrefaction]. Moscow, 2007. 24 p.
4. Jurtshuk P. Jr. Bacterial Metabolism. Baron S. (ed.). *Medical Microbiology*. Galveston, 1996. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7919/> (accessed 30 October 2016).
5. Damann F.E., Carter D.O. Human Decomposition Ecology and Postmortem Microbiology. Pokines J., Symes S. (eds.). *Manual of Forensic Taphonomy*. Boca Raton, 2014, pp. 37–49.
6. Turner-Walker G. The Chemical and Microbial Degradation of Bones and Teeth. Pinhasi R., Mays S. (eds.). *Advances in Human Paleopathology*. Chichester, 2008, pp. 3–29.
7. Damann F.E., Williams D.E., Layton A.C. Potential Use of Bacterial Community Succession in Decaying Human Bone for Estimating Postmortem Interval. *J. Forensic Sci.*, 2015, vol. 60, no. 4, pp. 844–850.
8. Child A.M. Towards an Understanding of the Microbial Decomposition of Archaeological Bone in the Burial Environment. *J. Archaeol. Sci.*, 1995, vol. 22, no. 2, pp. 165–174.
9. Efremov I.A. *Tafonomiya i geologicheskaya letopis'. Kn. 1. Zakhoroneniye nazemnykh faun v paleozoe* [Taphonomy and the Geological Record. Book 1. Burial of Terrestrial Faunas in the Paleozoic]. Moscow, 1950. 178 p.
10. Knorre D.A., Starovoytova A.N., Sokolov S.S., Sorokin M.I., Severin F.F. Rol' funktsional'nogo sostoyaniya mitokhondriy v obrazovanii psevdogif kletkami drozhdzhey *Saccharomyces cerevisiae* [Role of the Functional State of Mitochondria in the Formation of Pseudohyphae by *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Cells]. *Sovremennaya mikologiya v Rossii* [Mycology in Russia Today]. Moscow, 2012. Vol. 3, p. 96.

DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.2.156

*Andrey N. Prikhod'ko**, *Ol'ga S. Lavrukova***, *Natal'ya A. Sidorova***, *Vyacheslav L. Popov****

*Bureau of Forensic Medical Examination
(Petrozavodsk, Russian Federation)

**Petrozavodsk State University
(Petrozavodsk, Russian Federation)

***Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University
(St. Petersburg, Russian Federation)

PECULIARITIES OF MICROBIOTA OF BONE REMAINS AND THEIR USE IN FORENSIC EXAMINATION

This article summarizes the results of complex studies on specific postmortem microbiomes isolated from the surface of bone remains found in the composition of historical burials. Using standard methods, 9 samples were obtained from the surfaces of the femur and the ilium as well as from the surface of the musculoskeletal conglomerate in the anterior projection of the sacrum surface. The isolates were

identified as Ascomycota and Deuteromycota. In all the cultures we observed pronounced phenotypic polymorphism, low activity of extracellular hydrolases, and high activity of mycelial catalase, which is a factor of adaptation to the conditions of oxidative stress arising from deficiency of nutrient substrate for the isolated groups of microorganisms. Fungi of the genus *Cladosporium* can be considered better adapted to protein and carbohydrate deficiency. We have suggested that in the course of decomposition of bone remains, specific recolonization of the substrate takes place. Environmental factors, climatic and weather phenomena as well as changes in the oxidation-reduction potential of the bone matrix caused by necrobiont fauna create new opportunities for microbial infiltration into bones. Primary colonizers of corpses are replaced by microorganisms of bone remains capable of acquiring nutrients and energy from the tissues of bones, ligaments and hair, thereby increasing their own metabolic and taxonomic diversity. The main reason for recolonization of substrates with a limited set of nutrients is the labile enzymatic apparatus of the microorganisms adapted to oligotrophy. The results obtained allow us to estimate the contribution of certain postmortem microbiome species to the changes in the structure of bone fragments, which in future can expand the evidence base for forensic medical examination and forensic archaeology.

Keywords: *forensic medical examination, forensic archaeology, necrobiome, bone remains, phenotypic polymorphism of microorganisms, adaptation of microorganisms.*

Поступила 14.02.2018
Received 14 February 2018

Corresponding author: Ol'ga Lavrukova, *address:* ul. Borovaya 32, kv. 4, Petrozavodsk, 185013, Respublika Kareliya, Russian Federation; *e-mail:* olgalavrukova@yandex.ru

For citation: Prikhod'ko A.N., Lavrukova O.S., Sidorova N.A., Popov V.L. Peculiarities of Microbiota of Bone Remains and Their Use in Forensic Examination. *Journal of Medical and Biological Research*, 2018, vol. 6, no. 2, pp. 156–164. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.2.156