

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Кузнецова М.В.^{1,2}, Маммаева М.Г.¹, Баранников В.Г.¹, Кириченко Л.В.¹

ВЫЖИВАЕМОСТЬ БАКТЕРИЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОГРАЖДАЮЩИХ ПОВЕРХНОСТЕЙ СООРУЖЕНИЙ ДЛЯ СОЛЕТЕРАПИИ

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614000, Пермь;

²«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, 614081, Пермь

Введение. Наземные сооружения для солетерапии, отличающиеся по составу минералов и модификации лечебных поверхностей, активно используются в России и за рубежом. Абиотические поверхности данных устройств подвержены микробному загрязнению, источниками которого являются верхние дыхательные пути, кожные покровы пациентов и медицинского персонала.

Цель работы – оценить жизнеспособность микроорганизмов на абиотических поверхностях, идентичных материалу для изготовления соляных физиотерапевтических сооружений.

Материалы и методы. Выживаемость референтных и изолированных из соляных помещений грамположительных и грамотрицательных культур микроорганизмов оценивали через 6 и 24 ч после нанесения на абиотические поверхности с различным рельефом. Жизнеспособные клетки определяли методом десятичных разведений по числу колониеобразующих единиц.

Результаты. Выявлено, что клетки бактерий могут сохраняться на галите и различных поверхностях сильвинита не менее суток. Показатель жизнеспособности микроорганизмов не зависел от соотношения минералов (галит/сильвин) в образцах. Значимым фактором для выживаемости бактерий была структура поверхности сильвинита: наибольшее количество микроорганизмов сохранялось на дроблёном сильвините ($7,98E+02 \pm 1,62E+03$ КОЕ/мл). Несмотря на большую выживаемость стафилококков по сравнению с грамотрицательными условно патогенными бактериями на всех исследованных поверхностях, достоверных различий между группами не выявлено. При этом бактерии, изолированные из соляных сооружений, были более устойчивы к солевой нагрузке, что обусловлено адаптивной модификацией микроорганизмов, в том числе за счёт увеличения гидрофобности клеточной стенки, повышающей их способность к выживанию. Бактерии, выращенные на агаризованной среде, оказались более толерантными к условиям осмотического стресса. Полученные данные подтверждают зависимость адаптивных механизмов от условий окружающей среды и исходного физиологического состояния клеток. Результаты исследований по выживаемости бактерий на соляных поверхностях различных типов свидетельствуют об их устойчивости к высоким концентрациям солей, что ставит вопрос о специальных методах обработки ограждений сооружений для солетерапии.

Ключевые слова: сильвинит; галит; рельеф поверхности; жизнеспособность микроорганизмов; гидрофобность клеточной стенки бактерий.

Для цитирования: Кузнецова М.В., Маммаева М.Г., Баранников В.Г., Кириченко Л.В. Выживаемость бактерий при моделировании ограждающих поверхностей сооружений для солетерапии. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(9): 943-948. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-943-948>

Для корреспонденции: Кузнецова Марина Валентиновна, доктор мед. наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ, 614000, Пермь; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН» – филиала ФГБУН «ПФИЦ» УрО РАН, 614081, Пермь. E-mail: mar@iegm.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ГР № 01201353249.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов: Концепция и дизайн исследования – Кириченко Л.В., Кузнецова М.В.; сбор и обработка материала – Маммаева М.Г.; статистическая обработка – Маммаева М.Г.; написание текста – Кузнецова М.В.; редактирование – Кириченко Л.В., Баранников В.Г.; утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Поступила 03.07.2018

Принята к печати 23.07.19

Опубликована: октябрь 2019

Kuznetsova M.V.^{1,2}, Mamaeva M.G.¹, Barannikov V.G.¹, Kirichenko L.V.¹

SURVIVAL OF BACTERIA IN A SIMULATION OF SURROUNDING SURFACES OF CONSTRUCTIONS FOR SALT THERAPY

¹E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, 614000, Russian Federation;

²Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of RAS, Perm, 614081, Russian Federation

Introduction. Ground constructions for salt therapy, which differ in the composition of minerals and in the modification of therapeutic surfaces, are actively used in Russia and abroad. The abiotic surfaces of these devices are susceptible to microbial contamination, the sources of which are the upper respiratory tract, the skin of patients and medical staff.

The aim of the work is to assess the viability of microorganisms on abiotic surfaces identical to the material for the manufacture of salt physiotherapy constructions.

Material and methods. 6 and 24 hours after application to abiotic surfaces with different relief there was evaluated the survival rate of reference gram-positive and gram-negative cultures of microorganisms and isolated ones from salt rooms. Viable cells were determined by the method of decimal dilutions in terms of the number of colonies-forming units (CFU).

Results. It was found that bacterial cells can preserve at the halite and various surfaces of sylvinit for at least 24 hours. The viability of microorganisms was independent of the ratio of minerals (halite/sylvinit) in the samples. The structure of the surface of sylvinit: the largest number of microorganisms was retained on crushed sylvinit

($7.98E+02 \pm 1.62E+03$ CFU/ml) was a significant factor for the survival of bacteria. Despite a great survival of staphylococci in comparison with gram-negative opportunistic pathogenic bacteria on all the surfaces studied, no significant differences between the groups were detected. In this case, bacteria isolated from salt structures were more resistant to salt load due to adaptive modification of microorganisms, including increasing the hydrophobicity of the cell wall, increasing their ability to survive. Bacteria grown on a solid agar medium proved to be more tolerant of the conditions of osmotic stress.

Conclusion. The obtained data confirm the dependence of the adaptive mechanisms on the environmental conditions and the initial physiological state of cells. The results of studies on the survival of bacteria on salt surfaces of various types indicate their resistance to high concentrations of salts, which raises the question of special methods for treating fences of salt therapy structures.

Key words: sylvinite; halite; surface relief; viability of microorganisms; hydrophobicity of the bacterial cell wall.

For citation: Kuznetsova M.V., Mammaeva M.G., Barannikov V.G., Kirichenko L.V. Survival of bacteria in a simulation of surrounding surfaces of constructions for salt therapy. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2019; 98(9): 943-948. (In Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-943-948>

For correspondence: Marina V. Kuznetsova, MD, Ph.D., DSci., professor of the Department of microbiology and virology of the E.A. Vagner Perm State Medical University the Russian Federation, Perm, 614000, Russian Federation; leading researcher of the laboratory of molecular microbiology and biotechnology of the Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of RAS, Perm, 614081, Russian Federation. E-mail: mar@iegm.ru

Information about authors:

Kuznetsova M.V., <https://orcid.org/0000-0003-2448-4823>. Scopus ID: 53264013300

Mammaeva M.G., <https://orcid.org/0000-0003-4985-101X>

Barannikov V.G., <https://orcid.org/0000-0002-4840-7788>. Scopus ID: 6603830403

Kirichenko L.V., <https://orcid.org/0000-0001-6306-1757>. Scopus ID: 7003964418

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The work was carried out within the framework of state objective № 01201353249.

Contributions: The concept and design of the study – Kirichenko L.V., Kuznetsova M.V.; Collection and processing of material – Mammaeva M.G.; Statistical processing – Mammaeva M.G.; Writing a text – Kuznetsova M.V.; Editing – Kirichenko L.V., Barannikov V.G.; Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

Received: July 03, 2019

Accepted: July 23, 2019

Published: October 2019

Введение

Сильвинитовые и галитовые сооружения для минералотерапии активно используются в комплексном лечении различных заболеваний [1–4]. Их интенсивная эксплуатация и отсутствие должного контроля способствуют изменению лечебных факторов внутренней среды и микробного пейзажа [5]. В процессе проведения сеансов солелотерапии воздух соляных устройств подвержен микробному загрязнению, источниками которого являются медицинский персонал и пациенты. Соли обладают угнетающим действием на микроорганизмы, однако выявлена высокая обсеменённость воздуха и абиотических поверхностей соляных помещений, зависящая от интенсивности и срока их эксплуатации [6, 7], что может свидетельствовать о сохранении бактерий в условиях солёности.

Процессы приспособления микроорганизмов к неблагоприятным факторам окружающей среды направлены на минимизацию негативных последствий и обусловлены морфологическими, физиологическими и биохимическими реакциями клетки [8–10]. Адаптация бактерий к условиям окружающей среды, в том числе при осмотическом стрессе, является сегодня одним из широко изучаемых разделов микробиологии [11, 12].

Цель данной работы – оценка жизнеспособности микроорганизмов на абиотических поверхностях, идентичных материалу для изготовления соляных физиотерапевтических сооружений.

Материал и методы

В качестве объектов исследования были взяты референтные штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC®29887, *Escherichia coli* ATCC®25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC®700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГИСК им. Л.А. Тарасевича (сейчас ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, г. Москва). Использо-

вали также природные почвенные штаммы *Pseudomonas veronii*, *Pseudomonas fluorescens* из коллекции лаборатории «ИЭГМ УрО РАН» и штаммы, изолированные с поверхности соляных сооружений: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum*, *Pseudomonas* spp.

Выживаемость бактерий оценивали на галите, сильвините без обработки и после зачистки, сильвинитом сколе, дроблёном сильвините.

Процентное содержание минералов оценивали путём обработки изображений поверхности сильвинита и галита с помощью программы, написанной на языке C# в среде Microsoft Visual Studio 2010 [13].

Эксперименты по выживаемости бактерий на соляных поверхностях проводили двумя способами. В первом случае суспензии клеток ночных культур бактерий, стандартизованных до 2,0 по стандарту McFarland, наносили по 100 мкл на соляные поверхности по трафарету (1 см²). Во втором случае использовали биомассу бактерий, выращенных на твёрдых питательных средах, для чего нагружали полную бактериальную петлю и наносили на поверхность. Исследуемые материалы помещали в термостат и выдерживали 6 и 24 ч. Жизнеспособность клеток оценивали после высева «сухих смывов» на агаризованные питательные среды методом десятичных разведений по числу колониеобразующих единиц (КОЕ/мл).

Гидрофобность поверхности бактериальных клеток оценивали по их относительному распределению между водной фазой и фазой органического растворителя гексаксана (ВАТН-тест) [14].

Статистический анализ проводили с использованием программ Microsoft Office Excel и Statistica 10. Показатели представлены в виде среднего арифметического и его ошибки ($M \pm m$). Достоверность различий средних величин определяли с помощью *t*-критерия. При $p < 0,05$ делали вывод о наличии статистически значимой разницы между сравниваемыми выборками. Связь между количественными значениями проводили с помощью линейного коэффициента корреляции Пирсона (r_p).

Результаты

В ходе экспериментальных исследований было установлено, что референтные штаммы стафилококков сохранялись на всех изучаемых поверхностях в течение 24 ч при посеве культур петлём из колонии (см. таблицу). Достоверных отличий по числу жизнеспособных бактерий в течение суток на галите и сальвините без обработки не выявлено ($9,63E+01$ vs $1,25E+02$ КОЕ/мл для *S. aureus* и $2,15E+01$ vs $3,10E+01$ КОЕ/мл для *S. epidermidis*). На поверхности сальвинита после зачистки и сальвинитового скола бактерии выживали также в течение 24 ч при посеве культур из колонии ($7,45E+02$ и $2,49E+03$ КОЕ/мл для *S. aureus*, $1,50E+00$ и $6,27E+01$ КОЕ/мл для *S. epidermidis*). Штаммы стафилококков, выделенные из соляных сооружений, оказались более устойчивы к солевой нагрузке, чем референтные, которые сохранялись на поверхности галита и сальвинита даже при технике нанесения в жидкой культуре. Кроме того, выявлены достоверные различия по выживаемости клеток на сальвинитовом сколе при 6-часовой экспозиции ($p < 0,05$). Значимым фактором для выживаемости бактерий была структура поверхности сальвинита: наибольшее количество микроорганизмов сохранялось через 24 ч на дроблёном сальвините ($1,19E+02$ – $4,73E+03$ КОЕ/мл для референтных штаммов и $4,00E+01$ – $3,75E+03$ КОЕ/мл для бактерий, выделенных с соляных помещений).

Клетки референтных штаммов *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* выживали в течение 6 ч только на дроблёном сальвините ($8,00E+02 \pm 4,62E+02$, $3,75E+03 \pm 5,22E+03$ и $8,96E+03 \pm 5,17E+03$ КОЕ/мл соответственно), тогда как выделенные из соляных сооружений грамотрицательные бактерии сохранялись на поверхности галита ($2,40E+02 \pm 1,70E+02$ КОЕ/мл для *Pseudomonas* sp. K4) и сальвинита без обработки ($8,00E+01 \pm 5,66E+01$ КОЕ/мл для *Pseudomonas* sp. K14). Максимальное число жизнеспособных клеток детектировано также на дроблёном сальвините ($7,68E+03 \pm 5,43E+03$ КОЕ/мл для *Pseudomonas* sp. K4).

В целом с учётом всех изученных микроорганизмов наибольшее количество клеток сохранялось на дроблёном сальвините на протяжении 6 ч ($3,44E+03 \pm 4,64E+04$ КОЕ/мл) и 24 ч ($7,98E+02 \pm 1,62E+03$ КОЕ/мл), при этом выживаемость бактерий достоверно снижалась с течением времени (рис. 1). Минимальное число клеток микроорганизмов зафиксировано на поверхности сальвинита без обработки ($5,38E+01 \pm 1,29E+02$ КОЕ/мл на 6 ч и $7,46E+01 \pm 2,69E+02$ на 24 ч) и после зачистки ($4,21E+01 \pm 1,58E+01$ КОЕ/мл на 24 ч). Через 6 ч с позиции снижения жизнеспособности бактерий поверхность распределилась следующим образом: дроблѐный сальвинит > сальвинитовый скол \geq галит \geq сальвинит после зачистки \geq сальвинит без обработки. При этом достоверные различия по количеству клеток выявлены между дроблѐмым сальвинитом и сальвинитовым сколом ($p < 0,05$), а также дроблѐмым сальвинитом и остальными поверхностями ($p < 0,005$). Через 24 ч выживаемость бактерий на дроблѐном сальвините была ниже, чем при 6-часовой экспозиции. Тенденция к снижению этого показателя выявлена для остальных поверхностей, за исключением сальвинита без обработки.

Изучено соотношение галита и сальвина на различных поверхностях, идентичных материалу соляных сооружений: галит – 88,67/11,33%, сальвинит без обработки – 5,68/94,32%, сальвинит после зачистки – 1,04/98,96%, сальвинитовый скол – 4,56/95,44%, дроблѐный сальвинит – 8,99/91,01%. Корреляционный анализ показал слабую отрицательную связь между жизнеспособностью

Жизнеспособность клеток (КОЕ/мл) референтных и природных штаммов бактерий рода *Staphylococcus* на галитовой и сальвинитовых поверхностях

Штамм	Техника нанесения	Соляная поверхность																				
		Галит			без обработки			после зачистки			Сальвинит											
		Время выдержки в термостате, ч						скол						дроблѐный								
<i>S. aureus</i> ATCC	1	0	6	24	0	6	24	0	6	24	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.			
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	$1,12E+04 \pm 9,53E+03$	6	24			
<i>S. aureus</i> ATCC	2	0	6	24	0	6	24	0	6	24	$5,40E+02 \pm 7,62E+02$	$9,63E+01 \pm 1,15E+02$	$9,81E+01 \pm 9,60E+01$	$1,25E+02 \pm 5,68E+01$	$8,73E+02 \pm 1,33E+03$	$7,45E+02 \pm 1,00E+03$	$8,67E+01 \pm 6,43E+01$	$2,49E+03 \pm 4,22E+03$	$1,12E+04 \pm 9,53E+03$	$4,73E+03 \pm 5,99E+03$	н.д.	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	$9,80E+01 \pm 1,24E+02$	$2,15E+01 \pm 1,90E+01$	$5,95E+02 \pm 7,99E+02$	$3,10E+01 \pm 1,80E+00$	$3,31E+01 \pm 1,38E+01$	$1,50E+00 \pm 7,07E-01$	$5,23E+02 \pm 8,70E+02$	$6,27E+01 \pm 4,47E+01$	$5,71E+03 \pm 8,90E+03$	$1,19E+02 \pm 1,57E+02$	н.д.	
<i>S. aureus</i>	1	0	6	24	0	6	24	0	6	24	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$4,00E+01 \pm 6,07E+01$	0	0	0	н.д.	н.д.	н.д.	$8,60E+03 \pm 6,22E+02$	$3,75E+03 \pm 1,15E+03$	н.д.
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	$4,00E+03 \pm 2,64E+01$	$1,20E+02 \pm 8,49E+01$	$1,40E+02 \pm 1,20E+02$	0	0	0	$4,45E+03 \pm 2,87E+03$	$2,80E+02 \pm 1,41E+02$	н.д.	н.д.	н.д.	
<i>S. epidermidis</i>	1	0	6	24	0	6	24	0	6	24	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$4,00E+01 \pm 2,83E+01$	0	0	0	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	н.д.	н.д.	$1,08E+04 \pm 5,63E+03$	$4,00E+01 \pm 2,83E+02$	н.д.
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	$2,30E+02 \pm 2,12E+02$	$3,08E+03 \pm 4,24E+03$	$8,00E+01 \pm 2,83E+01$	$1,24E+03 \pm 1,73E+03$	0	0	0	$3,00E+01 \pm 2,54E+01$	$3,73E+03 \pm 5,25E+03$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	н.д.	н.д.
<i>S. epidermidis</i>	2	0	6	24	0	6	24	0	6	24	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	0	0	0	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	н.д.	н.д.	$8,40E+02 \pm 5,94E+02$	0	н.д.
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	0	0	0	$7,00E+01 \pm 7,07E+01$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$1,85E+03 \pm 2,14E+03$	н.д.	н.д.	
<i>S. cohnii</i>	1	0	6	24	0	6	24	0	6	24	$1,00E+02 \pm 7,07E+01$	$1,00E+02 \pm 7,07E+01$	$1,00E+02 \pm 7,07E+01$	0	0	0	$6,00E+01 \pm 4,24E+01$	н.д.	н.д.	$1,08E+04 \pm 2,62E+03$	$1,16E+03 \pm 8,49E+02$	н.д.
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	$2,00E+01 \pm 1,41E+01$	0	0	0	$1,50E+02 \pm 1,27E+01$	$1,10E+02 \pm 7,07E+01$	$3,37E+01 \pm 9,90E+01$	$4,09E+03 \pm 5,76E+03$	0	н.д.

Примечание. Техника нанесения: 1 – жидкая культура, 100 мкл; 2 – колония, петля 3,5 мкл; н.д. – нет данных.

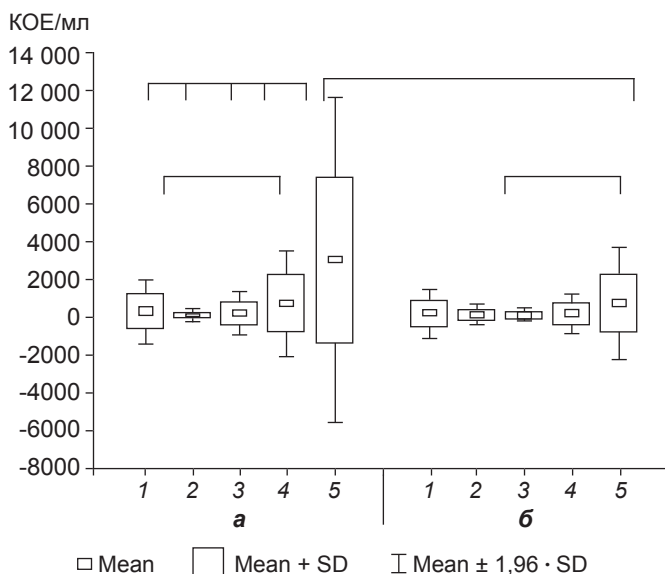


Рис. 1. Количество жизнеспособных бактерий с учётом вида соляных поверхностей и экспозиции 6 ч (а) и 24 ч (б).

1 – галит; 2 – сильвинит без обработки; 3 – сильвинит после зачистки; 4 – сильвинитовый скол; 5 – дроблённый сильвинит.

бактерий и содержанием галита через 6 ч ($r_p = -0,234$) и 24 ч ($r_p = -0,163$).

Микрорельеф поверхности оказался наиболее значительным параметром для колонизации и выживаемости бактерий, поскольку наибольшее количество клеток зафиксировано на сильвините с неровным рельефом поверхности (рис. 2).

Гидрофобность клеточной стенки исследованных микроорганизмов существенно варьировала от 0 до 24,2%, составив в среднем $8,12 \pm 9,6\%$. Выявлена сильная положительная связь между гидрофобностью и числом жизнеспособных клеток, адгезированных на поверхности дроблённого сильвинита: $r = 0,829$. Корреляция между суммарным показателем выживаемости (с учётом всех поверхностей и обеих техник нанесения) и гидрофобностью клеточной стенки бактерий составила $r = 0,346$. При учёте показателей жизнеспособности только при технике посева из колонии связь была очень сильной ($r = 0,955$).

Обсуждение

Для строительства наземных соляных сооружений используют калийно-натриевые соли различных месторождений. Сильвинит – осадочная горная соляная порода, представляющая собой совокупность минералов сильвина (KCl), галита (NaCl) и карналлита ($KCl \times MgCl_2 \times 6H_2O$). Галит – кристаллическая форма хлорида натрия и различных примесей. Галокамеры могут быть выполнены блоками из рудных прессованных соляных материалов и блоками, сформированными из осадочных природных пород, а также методом напыления соли на ограждения с подсыпкой минералов на пол [7]. Сильвинитовые сооружения представляют собой помещения, стены и пол которых облицованы блоками природных калийных солей, а потолок – соляными блоками или плитками с соляным напылением [5]. Учитывая, что соляные сооружения в России и за рубежом представлены в различных модификациях лечебных поверхностей, в настоящем исследовании были использованы материалы, идентичные применяемым для солетерапии ограждениям, отличающиеся по элементному составу и рельефу поверхности.

Состав и структура соляной поверхности наряду с другими факторами могут играть важную роль в формировании микробиологического пейзажа. По минералогическим характеристикам калийная соль состоит из следующих фракций: прозрачная фракция галита, прозрачная фракция галита с поверхностным голубым окрасом, красная фракция сильвина, молочно-белая фракция сильвина, прозрачные кристаллы галита, тёмно-серые кристаллы галита, мясо-красная и янтарно-перламутровая фракция сильвина [15]. Цветовые различия фракций легли в основу программы по оценке соотношения минералов в используемых материалах [13]. Отсутствие достоверной разницы между показателями жизнеспособности клеток на сильвините и галите, а также слабая отрицательная связь между содержанием галита и показателем выживаемости бактерий свидетельствуют, что жизнеспособность клеток практически не зависела от состава соли, что согласуется с данными Rath K.M. и соавт. (2016), которые не выявили достоверных различий в токсичности солей, содержащих ионы Na^+ и K^+ , для микробных клеток [16], хотя ранее было обнаружено, что соли K^+ менее токсичны для прокариотов, чем соли Na^+ [17]. Из всех сильвинитовых поверхностей максимальное количество выживших

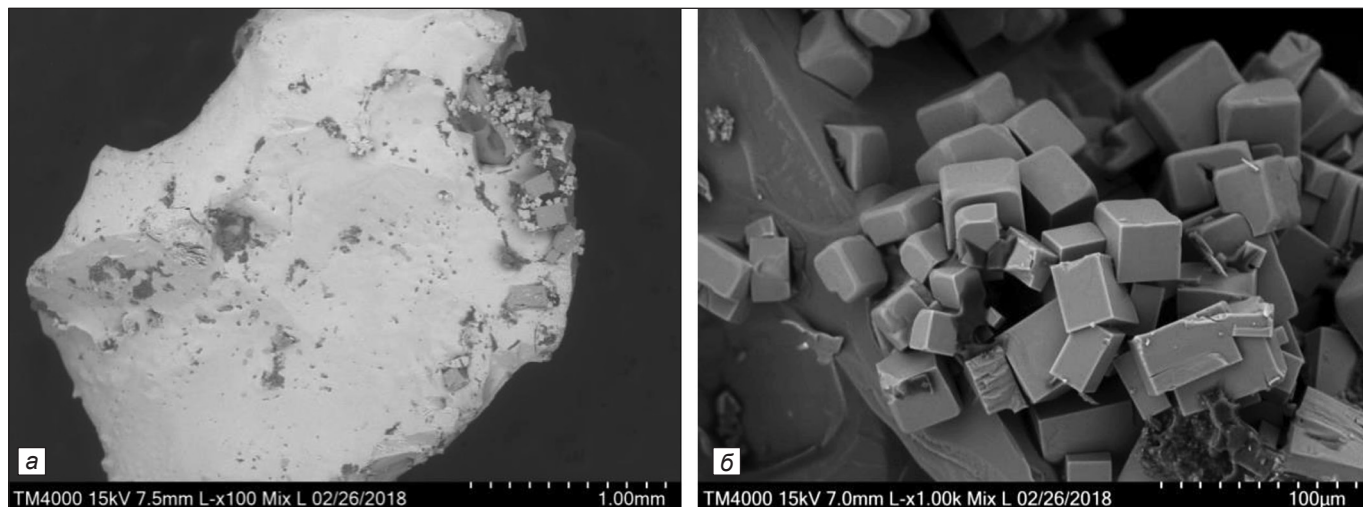


Рис. 2. Изображения структуры поверхности дроблённого сильвинита, полученные с помощью электронной микроскопии (Hitachi TM4000Plus, Япония). Масштабная линейка соответствует 1 мм (а) и 100 мкм (б).

микроорганизмов обнаружено на дроблёном сильвините с наибольшим содержанием хлорида натрия. Следовательно, более значимым фактором для сохранения бактерий, даже в условиях повышенной солёности, является уровень адгезии клеток к материалу. Предыдущими исследованиями было выявлено, что шероховатость и рельеф колонизируемой поверхности имеют существенное значение для формирования микробных биоплёнок [18–21].

Показана высокая выживаемость как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий в естественной среде (природные пещеры) и в местах промышленной солеработки (солерудники/солеотвалы) [22–24]. Выживание микроорганизмов в гиперосмотических условиях в целом происходит за счёт транспорта ионов через цитоплазматическую мембрану, синтеза и накопления осмопротекторов, а также формирования биоплёнок [25]. Адаптивные механизмы бактерий позволяют модифицировать поверхность клетки в отношении её гидрофобности, чтобы обеспечить оптимальное взаимодействие с субстратами. Известно, что увеличение гидрофобности клеточной стенки бактерий является ключевым фактором для адгезии и формирования биоплёнки. Гидрофобные клетки адгезируются в большей степени, чем гидрофильные (коэффициент линейной регрессии 0,8) [26]. Показано, что в присутствии NaCl увеличиваются гидрофобность поверхности и степень насыщения мембраны жирными кислотами в большей степени для клеток, выращенных на агаре, чем в жидкой среде [27, 28]. Это обусловлено тесной связью бактерий в колонии за счёт увеличения гидрофобности их клеточной поверхности [29]. В нашем исследовании большая выживаемость выявлена у бактерий, выделенных из сооружений для солелечения, с более высокими значениями гидрофобности клеточной стенки. Отсутствие сильной корреляции между суммарным показателем выживаемости (с учётом всех поверхностей) и гидрофобностью клеток микроорганизмов может свидетельствовать также о влиянии гидрофобности колонизируемых поверхностей. Как известно, этот параметр может «маскировать» зависимость адгезии от свойств клеточной стенки бактерий [30].

Заключение

Наземные сооружения для солелечения, отличающиеся по составу минералов и модификации лечебных поверхностей, активно используются в России и за рубежом. В период проведения сеансов воздух, а впоследствии и абиотические поверхности данных устройств подвержены микробному загрязнению, источниками которого являются верхние дыхательные пути, кожные покровы пациентов и медицинского персонала. Способность бактерий колонизировать и сохраняться на различных типах ограждающих поверхностях сооружений для солелечения никогда не изучалась.

Наши исследования свидетельствуют о том, что клетки референтных штаммов и бактерий, выделенных с ограждений соляных сооружений, могут сохраняться на галите и различных поверхностях сильвинита не менее суток. Показатель жизнеспособности микроорганизмов не зависел от соотношения минералов в образцах. Несмотря на большую выживаемость стафилококков по сравнению с грамотрицательными условно патогенными бактериями на всех исследованных поверхностях, достоверных различий между группами не выявлено. При этом бактерии, изолированные из соляных сооружений, были более устойчивы к солевой нагрузке, что обусловлено адаптивной модификацией микроорганизмов, в том числе за счёт увеличения гидрофобности клеточной стенки, повышаю-

щей их способность к выживанию. Культуры, выращенные на агаризованной среде, были более толерантными к условиям осмотического стресса. Всё это подтверждает зависимость приспособительных механизмов прокариотов от условий окружающей среды и исходного физиологического состояния клеток.

Таким образом, результаты исследований по выживаемости бактерий на соляных поверхностях различных типов свидетельствуют об их устойчивости к высоким концентрациям солей, что ставит вопрос о разработке специальных методов обеззараживания ограждений сооружений для солелечения.

Литература

(пп. 3, 4, 9–12, 14, 16, 17, 19–21, 23, 24, 26–30 см. References)

- Жарин В.А., Метельский С.М., Решетникова Н.В., Федорович С.В. Спелеотерапия: прошлое и настоящее. *Военная медицина*. 2013; 1: 48–3.
- Хан М.А., Червинская А.В., Микитченко Н.А., Вахова Е.Л., Подгорная О.В., Куянцева Л.В. Галотерапия: современные технологии медицинской реабилитации часто болеющих детей. *Педиатрия*. 2013; 3 (81): 34–7.
- Черешнев В.А., Баранников В.Г., Кириченко Л.В., Деметьев С.В. *Физиолого-гигиеническая концепция спелео-солелечения*. Екатеринбург: РИО УрО РАН; 2013; 183.
- Кириченко Л.В., Баранников В.Г., Варанкина С.А., Хохлаева В.П., Маслов Ю.Н., Деметьев С.В. Гигиеническое обоснование профилактических санитарно-технических мероприятий при эксплуатации сильвинитовых сооружений. *Пермский медицинский журнал*. 2014; 31 (6): 105–9.
- Николаева Е.А., Тишкевич Г.И., Косяченко Г.Е. Анализ гигиенических характеристик спелеосреды наземных гало- и спелеоклиматических камер. *Здоровье и окружающая среда*. 2016; 26: 185–7.
- Соловьян В.Т. Приспособление клеток к неблагоприятным факторам. Характеристика адаптивных ответов. *Биополимеры и клетка*. 1990; 6 (4): 32–42.
- Баранников В.Г., Русаков С.В., Русакова О.Л., Сафонова Д.Н., Кириченко Л.В., Варанкина С.А. и др. Методика определения площади природного минерала сильвина в сооружениях из калийных солей. Патент РФ № 2016612200; 2015.
- Аптуков В.Н., Скачков А.П. Оценка микромеханических характеристик каменной соли, сильвинита и карналлита на установке NANOTEST-600. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 2011; 4 (2): 372–4.
- Арутюнов С.Д., Ипполитов Е.В., Пивоваров А.А., Царёв В.Н. Взаимосвязь шероховатости и рельефа поверхности базисного стоматологического полиметилметакрилатного полимера и формирования микробной биоплёнки при разных способах полировки образцов. *Казанский медицинский журнал*. 2014; 95 (2): 224–31.
- Ястребова О.В., Ананьина Л.Н., Пастухова Е.С., Плотникова Е.Г. Разнообразие бактерий, выделенных из района разработок месторождения калийных солей Верхнекамья. *Вестник Пермского университета*. 2009; 10 (36): 124–9.
- Селиванова Е.А. Механизмы выживания микроорганизмов в гиперосмотических условиях. *Бюл. Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2012; 3: 1–10.

References

- Zharin V.A., Metelskiy S.M., Reshetnikova N.V., Fedorovich S.V. Speleotherapy: past and present. *Voennaya meditsina*. 2013; 1: 48–3. (in Russian)
- Khan M.A., Chervinskaya A.V., Mikitichenko N.A., Vakhova E.L., Podgornaya O.V., Kujanceva L.V. Halotherapy: Up-To-Date Medical rehabilitation techniques for frequently ill children. *Pediatrya [Pediatrics]*. 2013; 3 (81): 34–7. (in Russian)
- Hedman J., Hugg T., Sandell J., Haahela T. The effect of salt chamber treatment on bronchial hyperresponsiveness in asthmatics. *Allergy*. 2006; 61 (5): 605–10.
- Rashleigh R., Smith S.M., Roberts N.J. A review of halotherapy for chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2014; 9: 239–46.
- Chereshnev V.A., Barannikov V.G., Kirichenko L.V., Dementev S.V. *Physiological and hygienic concept of speleo-salt therapy*. Yekaterinburg: RIO URO RAN; 2013; 183. (in Russian)
- Kirichenko L.V., Barannikov V.G., Varankina S.A., Khokhryakova V.P., Maslov U.N., Dementev S.V. Hygienic grounding for preventive

- sanitary-technical measures with sylvinite units exploitation. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 31 (6): 105–9. (in Russian)
7. Nikolaeva E.A., Tishkevich G.I., Kosyachenko G.E. Analysis of hygienic features of speleo environment of above ground halo and speleo chambers. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda*. 2016; 26: 185–7. (in Russian)
 8. Solovyan V.T. Adaptation of cells to environmental factors. Characteristic of adaptive responses. *Biopolimery i kletka*. 1990; 6 (4): 32–2. (in Russian)
 9. Prins R.A., de Vrij W., Gottschal J.C., Hansen Th.A. Adaptation of microorganisms to extreme environments. *FEMS Microbiol Lett*. 1990; 75: 103–4.
 10. Smirnova G.V., Muzyka N.G., Oktyabrsky O.N. The role of antioxidant enzymes in response of *Escherichia coli* to osmotic upshift. *FEMS Microbiol Lett*. 2000; 186 (2): 209–13.
 11. Empadinhas N., da Costa M.S. Osmoadaptation mechanisms in prokaryotes: distribution of compatible solutes. *Int Microbiol*. 2008; 11 (3): 151–61.
 12. Wood J.M. Bacterial osmoregulation: a paradigm for the study of cellular homeostasis. *Annu Rev Microbiol*. 2011; 65: 215–38.
 13. Barannikov V.G., Rusakov S.V., Rusakova O.L., Safonova D.N., Kirichenko L.V., Varankina S.A. et al. Method for determination the area of natural mineral sylvinite content in potassium salt constructions. Patent RF N 2016612200; 2015. (in Russian)
 14. Rosenberg M., Gutnick D., Rosenberg E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: A simple method for measuring cell surface hydrophobicity. *FEMS Microbiol Lett*. 1980; 9: 29–3.
 15. Aptukov V.N., Skachkov A.P. Estimation of micromechanical characteristics of rock salt, sylvinite and carnallite by nanotest-600. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo*. 2011; 4 (2): 372–4. (in Russian)
 16. Rath K.M., Maheshwari A., Bengtson P., Rousk J. Comparative toxicity of salts to microbial processes in soil. *Appl Environ Microbiol*. 2016; 82(7): 2012–20.
 17. Sindhu M.A., Cornfield A.H. Comparative effects of varying levels of chlorides and sulphates of sodium, potassium, calcium and magnesium on ammonification and nitrification during incubation of Soil. *Plant Soil*. 1967; 27(3): 468–72.
 18. Arutyunov S.D., Ippolitov E.V., Pivovarov A.A., Tsarev V.N. Relationship between basic dental polymethyl methacrylate polymer roughness and surface topography and microbial biofilm formation using different polishing techniques. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 95 (2): 224–31. (in Russian)
 19. Dantas L.C., da Silva-Neto J.P., Dantas T.S., Naves L.Z., das Neves F.D., da Mota A.S. Bacterial adhesion and surface roughness for different clinical techniques for acrylic polymethyl methacrylate. *International Int J Dent*. 2016; 2: 1–6.
 20. Yoda I., Koseki H., Tomita M., Shida T., Horiuchi H., Sakoda H. et al. Effect of surface roughness of biomaterials on *Staphylococcus epidermidis* adhesion. *BMC Microbiol*. 2014; 14: 234.
 21. Hočevar M., Jenko M., Godec M., Drobne D. An overview of the influence of stainless-steel surface properties on bacterial adhesion. *Materials and Technology*. 2014; 48 (5): 609–17.
 22. Yastrebova O.V., Pastukhova E.S., Plotnikova E.G. The study of bacteria, isolated from the salt mining of Upper-Kama potassium-magnesium salt deposit. *Vestnik Permskogo universiteta*. 2009; 10 (36): 124–9. (in Russian)
 23. Diaz-Cardenas C., Cantillo A., Rojas L.Y., Sandoval T., Fiorentino S., Robles J. et al. Microbial diversity of saline environments: searching for cytotoxic activities. *AMB Expr*. 2017; 7(1): 223.
 24. Gebarowska E., Pusz W., Kucinska J., Kita W. Comparative analysis of airborne bacteria and fungi in two salt mines in Poland. *Aerobiologia*. 2018; 34 (2): 127–38.
 25. Selivanova E.A. Mechanisms of microorganisms survival in conditions of high osmotic pressure. *Byull. Orenburskogo nauchnogo tsentra UrO RAN*. 2012; 3: 1–10. (in Russian)
 26. Van Loosdrecht M.C.M., Lyklema J., Norghe W., Schraa G., Zehnder A.J. Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion. *Appl Environ Microbiol*. 1987; 53 (8): 1898–901.
 27. De Carvalho C.C., Wick L.Y., Heipieper H.J. Cell wall adaptations of planktonic and biofilm *Rhodococcus erythropolis* cells to growth on C5 to C16 n-alkane hydrocarbons. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2009; 82: 311–20.
 28. Hachicho N., Birnbaum A., Heipieper H.J. Osmotic stress in colony and planktonic cells of *Pseudomonas putida* mt-2 revealed significant differences in adaptive response mechanisms. *AMB Expr*. 2017; 7 (1): 62.
 29. Baumgarten T., Sperling S., Seifert J., von Bergen M., Steiniger F., Wick L.Y. et al. Membrane vesicle formation as a multiple-stress response mechanism enhances *Pseudomonas putida* DOT-T1E cell surface hydrophobicity and biofilm formation. *Appl Environ Microbiol*. 2012; 78 (17): 6217–24.
 30. Cerca N., Pier G., Vilanova M., Oliveira R., Azeredo J. Quantitative analysis of adhesion and biofilm formation on hydrophilic and hydrophobic surfaces of clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *Res Microbiol*. 2005; 156: 506–14. doi:10.1016/j.resmic.2005.01.007