

УДК 579.61

**ВЛИЯНИЕ УЗКОПОЛОСНОГО УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ
ЭКСПЛЕКСНОЙ ЛАМПЫ НА
ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЮ БАКТЕРИОФАГА MS2**О.С. Жданова, Е.П. Красноженов, Э.А. Соснин***,
С.М. Авдеев*, В.Ф. Тарасенко*, А.В. ГрицутаСибирский государственный медицинский
университет, г. Томск*Институт сильноточной электроники СО РАН,
г. Томск**Томский государственный университет
E-mail: oksfox@pochta.ru

Жданова Оксана Сергеевна,
канд. мед. наук, ст. препода-
ватель кафедры микробиоло-
гии и вирусологии Сибирско-
го государственного меди-
цинского университета.

E-mail: oksfox@pochta.ru

Область научных интересов:
микробиология, вирусология,
биоупаковки, иммунология.

**Красноженов Евгений Пав-
лович**, д-р мед. наук, профес-
сор, заведующий кафедрой
микробиологии и вирусологии
Сибирского государственного
медицинского университета.

E-mail: krasnoj@mail.ru

Область научных интересов:
микробиология, инфекция,
иммунитет.

Соснин Эдуард Анатольевич,
д-р физ.-мат. наук, ст. науч.
сотр. лаборатории оптических
излучений Института сильноточной
электроники СО РАН,
профессор кафедры управления
инновациями Томского госу-
дарственного университета.

E-mail: badik@loi.hcei.tsc.ru

Область научных интересов:
спектроскопия, светотехника,
фотохимия, процессы горения
и взрыва, фотобиология, фо-
томедицина, организация
научных исследований, фено-
мен и методы творчества.

Авдеев Сергей Михайлович,
канд. физ.-мат. наук, мл. науч.
сотр. лаборатории оптических
излучений Института сильноточной
электроники СО РАН.

E-mail: asm@sibmail.com.

Область научных интересов:
источники оптического излу-
чения, эксилампы.

Представлены результаты определения чувствительности бактериофага MS2 к ультрафиолетовому излучению ртутной лампы низкого давления (РЛНД) и эксилампы на молекулах ХеВг*. Показано, что вирулицидный эффект эксилампы выражен сильнее, чем эффект РЛНД.

Ключевые слова:

Бактериофаг, бактерицидное действие излучения, ультрафиолетовое излучение, эксилампа.

Введение

Бактерицидные свойства коротковолнового спектра УФ-излучения широко используются для дезинфекции и стерилизации. Самыми распространенными источниками УФ-излучения в настоящее время являются ртутные лампы низкого давления (РЛНД) – TUV 15W и TUV 30W [1, 2]. Сегодня установлено, что их применение небезопасно для здоровья человека, что связано с загрязнением окружающей среды ртутью. Утилизация таких ламп сопровождается высокими экономическими затратами. В связи с этим, в странах ЕС с 2009 г. начато поэтапное выведение содержащих ртуть ламп из производственного цикла [3].

Современные разработки в области формирования излучения позволяют уйти от использования ртуть-содержащих источников. Так, в [4, 5] на различных бактериальных культурах показано, что ХеВг-эксилампа как источник УФ-излучения также обладает бактерицидным действием.

В ранее проведенных исследованиях [6] мы показали наличие инактивирующего действия УФ-излучения этой лампы на бактериальные культуры – возбудители внутрибольничных инфекций. Целью данной работы явилось определение чувствительности вирусов, на примере бактериофага MS2, к УФ-излучению ХеВг-эксилампы.

ной работы явилось определение чувствительности вирусов, на примере бактериофага MS2, к УФ-излучению ХеВг-эксилампы.

Материалы и методы

Тарасенко Виктор Федотович, д-р физ.-мат. наук, профессор, руководитель лаборатории оптических излучений Института сильноточной электроники СО РАН.

E-mail: vft@loi.hcei.tsc.ru

Область научных интересов: физика низкотемпературной плазмы и физика лазеров.

Грицута Александра Валерьевна, студентка медицинского факультета Сибирского государственного медицинского университета.

E-mail: umertvy@mail.ru

Область научных интересов: микробиология, вирусология.

В экспериментах использовалась ХеВр-эксилампа (модель ХеВр_BD_P, Институт сильноточной электроники СО РАН, Россия) [7] с бактерицидной отдачей 8,7 %. Спектр лампы представлен на рис. 1. Он представляет собой узкую полосу излучения с максимумом на длине волны 283 нм и полушириной несколько нанометров.

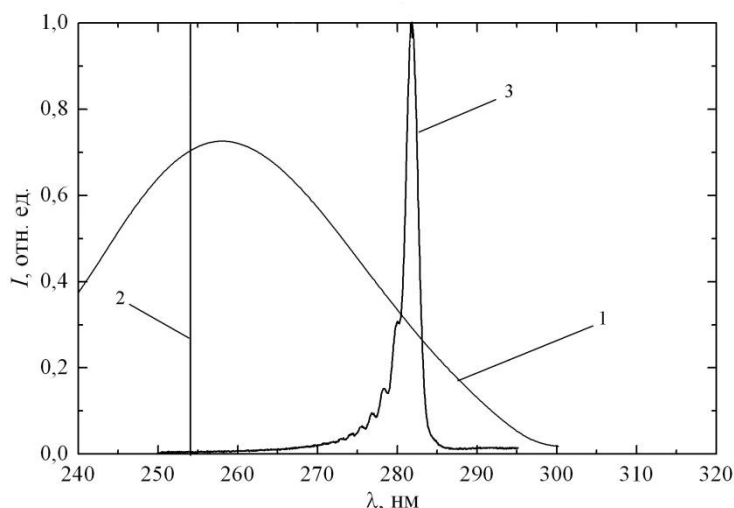


Рис. 1. Спектральные характеристики источников УФ-излучения и ДНК: 1) спектр поглощения ДНК; 2) атомарная линия ртути РЛНД; 3) спектр излучения ХеВр-эксилампы

В качестве РЛНД использовали лампу Philips TUV-15, имеющую бактерицидную отдачу (согласно [2]) 27 %. При работе с РЛНД часть ее закрывали диафрагмой таким образом, чтобы обеспечивались дозы облучения сопоставимые по величине с дозами облучения ХеВр-эксилампой. Мощность и дозу облучения определяли в абсолютных единицах фотоприемником С8026 (Hamamatsu Photonics КК) с головкой Н8025-222. Доза облучения составляла 45 Дж/м². При проведении экспериментов учитывали необходимость разогрева РЛНД в течение 2,5 мин для возникновения стабильного светового потока. ХеВр-эксилампа сразу после пуска выходит на рабочий режим.

Для проведения исследования использовали бактериофаг MS2 (штамм ВКПМ РН-1505), размножающийся на культуре *E. coli* К-12 F+ Str^R (штамм ВКПМ В-3254). Культура фага и кишечной палочки получены из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов.

Чувствительность бактериофага MS2 к УФ-излучению определяли по модифицированной нами стандартной методике агаровых слоев А. Грация [8]. Культуру бактериофага титровали на физиологическом растворе до 10⁻⁹. Исследуемый материал равномерно распределяли по поверхности мясо-пептонного агара в чашках Петри и подвергали облучению. Одну часть опытных чашек облучали РЛНД, другую — ХеВр-эксилампой, контрольные чашки с культурой фага действию УФ-излучения не подвергали. После проведения эксперимента все чашки заливали расплавленным мягким агаром, в который предварительно вносили чувствительную к бактериофагу культуру *E. coli*. Чашки инкубировали в термостате при 37 °С в течение 18...20 ч, после чего подсчитывали количество инфекционных фокусов (рис. 2). Эффективность вирулицидного действия УФ-излучения каждой лампы выражали в процентах и оценивали по степени инактивации бактериофага по формуле: $A = \frac{B_k - B_0}{B_k} \cdot 100 \%$, где A — эффективность вирулицидного действия лампы; B_k — количество инфекционных фокусов в контроле; B_0 — количество ин-

фекционных фокусов после облучения. В каждом опыте рассчитывали среднее арифметическое значение вирулицидной эффективности для каждой лампы по шести точкам. Опыт повторяли 7 раз.

Статистическую обработку проводили с использованием системы программного обеспечения анализа базы данных Statistica 6.0. Статистическую значимость ($p < 0,05$) при сравнении двух независимых переменных, ввиду небольшой выборки, определяли с помощью U-критерия Манна-Уитни. Результаты представлены в виде диаграммы размаха на рис. 3.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования было выявлено, что выраженное вирулицидное действие на культуру бактериофага MS2 вызывает УФ-излучение обоих источников (рис. 2).

Высокую чувствительность тестируемая культура проявила к действию УФ-излучения с длиной волны 283 нм (источник ХеВг-эксиллампа).

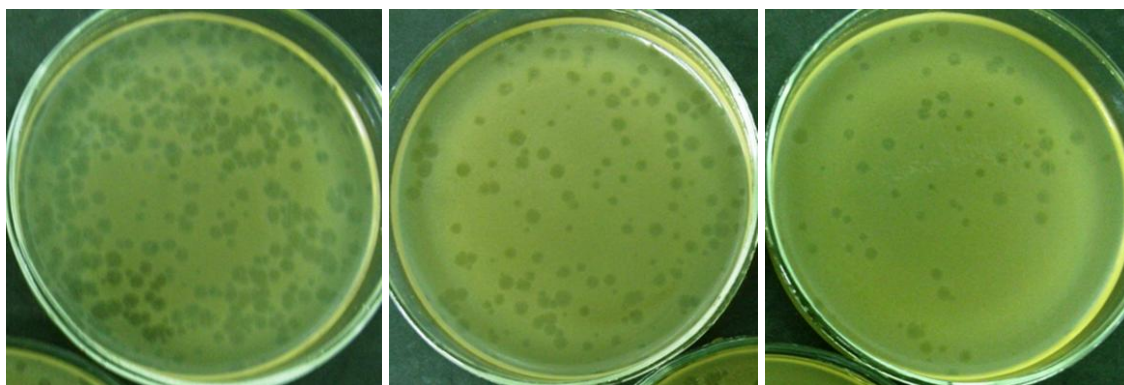


Рис. 2. Фотографии чашек Петри с инфекционными фокусами, образованными бактериофагом: а) инфекционные фокусы в контроле; б) инфекционные фокусы после облучения РЛНД; в) инфекционные фокусы после облучения ХеВг-эксиллампы

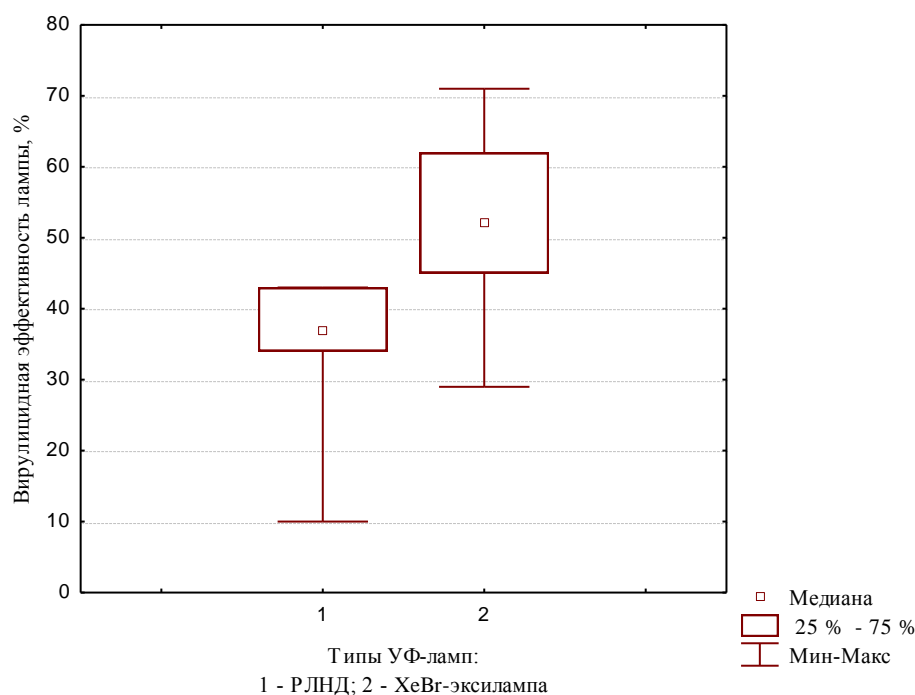


Рис. 3. Эффективность инактивации фага MS2 УФ-излучением РЛНД и ХеВг-эксиллампы

Бактерицидный эффект линейчатого излучения РЛНД хорошо известен и обусловлен инактивирующим действием резонансной линии ртути на $\lambda = 253,7$ нм, которая соответствует спектру поглощения нуклеиновых кислот и вызывает преимущественно их повреждение [9]. Механизмы, приводящие к изменению структуры и функции нуклеиновых кислот под действием УФ-излучения, связаны с повреждением пиримидиновых оснований: образованием димеров и фотогидротацией, а также образованием сшивок ДНК-белок. Показано, что наибольший вклад в инактивацию ДНК вносит механизм образования тиминовых димеров (значительно реже образуются сшивки между двумя цитозинами или цитозином и тиминном) [9]. Изменение структуры нуклеиновых кислот, в результате фотогидратации, обусловлено преимущественно образованием 6-окси-5-гидропроизводных цитозина и урацила [9].

Поскольку геном тестируемого нами бактериофага представлен однонитчатой РНК, логично предположить, что вирулицидная активность УФ-излучения связана с повреждением структуры РНК, протекающим по механизму фотогидратации и образованием 6-окси-5-гидроурацила.

Эффективность излучения ХеВг-эксилампы объясняется, *во-первых*, наличием коротковолнового «хвоста» в диапазоне длин волн 260...282 нм, которое покрывает часть пика поглощения ДНК, и, *во-вторых*, максимумом, приходящимся на длину волны 283 нм. Из литературы известно, что спектр поглощения белка определяется ароматическими аминокислотами (триптофан, тирозин, фенилаланин) с максимумами около 285, 280 и 258 нм и хвостом поглощения до 310 нм, а также наличием сульфгидрильных и дисульфидных групп цистина и цистеина, обеспечивающих поглощение в области 240 нм. При этом «спектр действия инактивации для индивидуального вещества по форме соответствует спектру его поглощения» [9, 10]. Таким образом, вирулицидная активность излучения ХеВг-эксилампы может быть связана: 1) с повреждением белков, образующих оболочку фага и защищающих геном; 2) с повреждением РНК бактериофага в результате фотогидратации.

Мы полагаем, что лучистый поток ХеВг-эксилампы вызывает большее число повреждений, по сравнению с РЛНД, результатом чего является более высокая чувствительность к нему бактериофага MS2.

Выводы

Проведено сравнительное исследование влияния УФ-излучения ХеВг-эксилампы и РЛНД на культуру бактериофага MS2. Показано, что ХеВг-эксилампа более эффективно инактивирует бактериофаг. Анализ полученных результатов диктует необходимость определения вирулицидной активности ХеВг-эксилампы в отношении других вирусов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Руководство Р 3.5.1904-04. Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях. – Минздрав РФ, 2004. – 28 с.
2. Методические указания МУ 2.3.975-00. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздушной среды помещений организаций пищевой промышленности, общественного питания и торговли продовольственными товарами. – Минздрав РФ, 2000. – 28 с.
3. EU Directive on Eco-Design/Staged phase-out // OSRAM. 2012. – URL: http://www.osram.com/osram_com/Professionals/General_Lighting/EU_Directive_on_Eco-Design/Staged_phase-out/index.html (дата обращения: 10.02.2012).
4. Соснин Э.А. Эксциламп и новое семейство ультрафиолетовых облучателей на их основе // Светотехника. – 2006. – № 6. – С. 25–31.
5. Avdeev S.M., Sosnin E.A., Velichevskaya K.Yu., Lavrent'eva L.V. Comparative study of UV radiation action of XeBr-excilamp and conventional low-pressure mercury lamp on bacteria // Proc. SPIE. – 2008. – V. 6938. – P. 693–813.

6. Жданова О.С., Соснин Э.А., Красноженов Е.П., Авдеев С.М., Тарасенко В.Ф., Грицута А.В. Чувствительность возбудителей госпитальных инфекций к ультрафиолетовому излучению с длиной волны 283 нм // Журнал инфекционной патологии. – 2010. – Т. 17. – № 3. – С. 62–64.
7. Технологии и разработки. Конкретные модели и разработки эксиламп // ФГУБУН Института сильноточной электроники СО РАН. – URL: <http://www.hcei.tsc.ru/ru/cat/technologies/excilamps/Developments.html>. (дата обращения: 10.02.2012).
8. Красильников А.П., Романовская Т.Р. Микробиологический словарь-справочник / 2-е изд., доп. и перераб. – Мн.: Асар, 1999. – 400 с.
9. Владимиров Ю.А., Потапенко А.Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов. – М.: Высшая школа, 1989. – 214 с.
10. Вассерман А.Л., Шандала М.Г., Юзбашев В.Г. Ультрафиолетовое излучение в профилактике инфекционных заболеваний. – М.: Медицина, 2003. – 208 с.

Поступила 10.02.2012 г.