

ФОТОИНАКТИВАЦИЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Н.И. Фасхутдинова, О.В. Кузьмин
Кубанский государственный университет, Краснодар

Антибиотикорезистентность патогенных микроорганизмов является актуальной проблемой здравоохранения, требующей быстрого развития новых способов борьбы с инфекцией, альтернативных традиционным. Хирургическая операция может представлять непосредственную угрозу жизни пациента, так как всегда существует риск генерализации инфекции микроорганизмами, устойчивыми к антимикробным препаратам. Одним из решений профилактики и лечения раневой инфекции является использование излучения ближнего ультрафиолетового и видимого 400–420 нм диапазонов спектра.

Данная статья носит аналитический характер, целью статьи является определение диапазона длин волн для эффективной фотоинаktivации *Pseudomonas aeruginosa* – одного из наиболее распространенных возбудителей внутрибольничных раневых инфекций.

Ключевые слова: *P. aeruginosa*, антибиотикорезистентность, внутрибольничные инфекции, раневые инфекции, пиоцианин, глутатион, порфирины, ультрафиолетовое излучение, диапазон спектра 400–420 нм

Введение

Раневая инфекция всегда представляла собой сложную задачу в выборе методики лечения, а с увеличением количества внутрибольничных штаммов микроорганизмов, резистентных к антибиотикам, стала весьма серьезной проблемой. Одним из наиболее частых возбудителей раневых инфекций являются бактерии *Pseudomonas aeruginosa*, которые являются одним из шести видов самых опасных бактерий – возбудителей нозокомиальных инфекций, объединенных термином “ESKAPE” (аббревиатура из первых букв *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*) [1].

Удельный вес хирургических и ожоговых больных в общей структуре внутрибольничных инфекций достигает 85 %. На их долю приходится половина всех встречающихся осложне-

ний, при этом риск летального исхода у этих пациентов в 7 раз выше по сравнению с подобными по возрасту и полу больными. При внутрибольничных инфекциях, вызванных *P. aeruginosa*, возбудитель локализуется, главным образом, в ранах, преимущественно ожоговых. Наиболее частые клинические формы этой инфекции – нагноение раны, сепсис. Течение инфекций очень тяжелое, выраженный фатальный характер носят септицемии, сопровождающиеся в 35–75 % случаев летальным исходом. После хирургического вмешательства развитие раневой инфекции происходит нередко в тканях, которые в норме являются стерильными, поэтому все пациенты восприимчивы к развитию синегнойной инфекции. Генетическое внутривидовое разнообразие *P. aeruginosa* не позволяет рассчитывать на высокую профилактическую эффективность иммунизации пациентов перед плановыми оперативными вмешательствами [2].

Даже сегодня, когда стало возможным выполнение сложнейших реконструктивных операций и трансплантации органов, хирургическая инфекция остается одной из актуальных проблем медицины. Сложность лечения инфицированных ран и высокая летальность определяют актуальность внедрения в практику стационаров хирургического и ожогового профиля эффективных, альтернативных традиционным, способов профилактики и лечения раневых инфекций, к которым бактерии не способны легко развить устойчивость.

Хромофоры *P. aeruginosa* как факторы вирулентности

P. aeruginosa является оппортунистической грамотрицательной бактерией, это выраженный хемоорганотроф, строгий аэроб, протеолитическая активность сильно выражена. Первое описание раневой инфекции, вызванной синегнойной палочкой, принадлежит А. Lucke (1862), первая вспышка внутрибольничной инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, зарегистрирована в 1897 г.

Подавляемое большинство штаммов *P. aeruginosa* одновременно синтезируют два хромофора: пиоцианин синего цвета и пиовердин, флюоресцирующий в ультрафиолетовом свете желто-зеленый пигмент. Пиоцианин является мощным окислителем, пиовердин проявляет признаки антиоксиданта. Некоторые штаммы бактерий *P. aeruginosa* могут временно или полностью утратить пигментацию.

Ранее пиоцианин и пиовердин игнорировались как бактериальные вторичные метаболиты, но позже была обнаружена их связь с тяжестью инфекций, вызываемых *P. aeruginosa* [3]. Пиоцианин вызывает непосредственное повреждение эпителиальных тканей, пиовердин стимулирует производство и развитие биопленок, пиовердин и пиоцианин обладают способностью к прямому гемолизу эритроцитов. Пиоцианин легко проникает в клеточные мембраны и при внедрении в клетки-мишени реагирует с GSH и NADH, вызывая генерацию активных форм кислорода, гидроксид-радикалов (O_2^- , OH \cdot) и перекиси водорода H_2O_2 . Результатом этих биохимических реакций является индукция окислительного стресса и последующая гибель клеток-мишеней. В клетках человека пиоцианин ингибирует клеточное дыхание, цитолитическую функцию, а также инактивирует ката-

лазу – фермент, ответственный за разложение перекиси водорода [4]. Пиоцианин ингибирует пролиферацию фибробластов, которые в продуктивной фазе заживления раны синтезируют мукополисахариды и протеиновые предшественники коллагена, что отчасти объясняет, как *P. aeruginosa* препятствует заживлению ран [5].

Являясь строгим аэробом, *P. aeruginosa* размножается и в отсутствии кислорода. Ключевую роль в дыхательном метаболизме играет пиовердин, который относится к сидерофорам. Сидерофоры связывают внеклеточные ионы Fe^{3+} в комплекс и в таком виде транспортируют его в клетку бактерии. В клетке железо восстанавливается до Fe^{2+} , к которому сидерофоры имеют лишь незначительное сродство и поэтому освобождают его [6]. Таким образом, *P. aeruginosa* разрушает белки плазмы крови, осуществляющих транспорт ионов железа, нанося им фатальный ущерб.

Пиоцианин обладает выраженным антибактериальным действием, и в очагах воспаления *P. aeruginosa* вступают в антагонистические отношения с грамположительными и грамотрицательными бактериями, подавляя рост их популяций. При этом *P. aeruginosa* проявляет устойчивость к собственному антибактериальному препарату. Устойчивость *P. aeruginosa* к высоким концентрациям пиоцианина связана с наличием антиоксидантного комплекса, включающего каталазу, супероксиддисмутазу, NADH-оксидазу, а также глутатион и глутатионредуктазу – фермент, катализирующий восстановление глутатиона из окисленной формы в восстановленную и играющий важную роль в поддержании редокс-регуляции, выполняя защитную функцию [7].

Фотоинактивация *P. aeruginosa* ультрафиолетовым излучением

Ультрафиолетовое излучение (UVR) классифицируется по трем областям спектра: UVA (315–400 нм), UVB (280–315 нм) и UVC (100–280 нм). Эта классификация принята в 1987 г. в качестве стандарта Международной организацией по стандартизации СІЕ (Commission Internationale de l'Éclairage). В последнее время было предложено разделить UVA на UVA-1 (340–400 нм) и UVA-2 (320–340 нм). Стандарт СІЕ не всегда строго соблюдается, и некоторые страны вносят небольшие изменения. Напри-

мер, в США диапазон UVC определяется как 200–280 нм, а промышленный стандарт Германии (DIN 5031) определяет UVA как излучение между 315 и 380 нм.

Основными источниками искусственного ультрафиолетового излучения являются ртутные, металлогалогенные, ксеноновые, эксимерные и эксимерные газоразрядные лампы, светодиоды, лазерные диоды и лазеры. Многочисленные эпидемиологические исследования подтверждают опасность неконтролируемого воздействия ультрафиолетового излучения, которое является основным фактором, связанным с индукцией и прогрессированием рака кожи [8–14]. В связи с этим, в 1989 г. Международным комитетом по неионизирующему излучению было разработано руководство по максимальным пределам воздействия UVR, где каждая длина волны ультрафиолетового спектра регламентируется предельно допустимой дозой облучения кожи, выражаемой в единицах Дж/м². Это руководство постоянно дополняется и переиздается [15].

В РФ, согласно Руководству Р 3.5.1904-04, бактерицидным действием обладает ультрафиолетовое излучение с диапазоном длин волн 205–315 нм, которое проявляется в деструктивно-модифицирующих фотохимических повреждениях ДНК клеточного ядра микроорганизма, что приводит к гибели микробной клетки в первом или последующем поколении [16].

Для обеззараживания воздуха и поверхностей в помещениях наибольшее распространение получили ртутные лампы низкого давления с длиной волны излучения 253,7 нм. В Руководстве Р 3.5.1904-04 приведены экспериментально полученные значения поверхностной бактерицидной дозы, обеспечивающей достижение эффективности обеззараживания до 99,9 % при облучении микроорганизмов излучением с длиной волны 254 нм от ртутной лампы низкого давления (РЛНД). Для дикого штамма *P. aeruginosa* эта доза составляет 105 Дж/м², что в 1,75 раза превышает предельно допустимую дозу облучения кожи человека 60 Дж/м² для данной длины волны.

В опубликованном Л. Лаврентьевой с соавт. исследовании бактерицидного действия ультрафиолетового излучения эксимерных и эксимерных ламп [17], сопоставимым с РЛНД бактерицидным эффектом обладала ХеВг-эксимерная лампа с максимумом интенсивности на 282 нм. При облучении бактерий рода *Pseudomonas* достижение бактерицидной эффективности

обеззараживания до 99,9 % было обеспечено дозой 110 Дж/м², что в 3 раза превышает предельно допустимую дозу 36 Дж/м² для данной длины волны.

J. Bak et al. исследовали потенциал светоизлучающих диодов LED UVC на 265 нм для дезинфекции катетерных трубок, загрязненных искусственно биопленкой *P. aeruginosa* [18]. Концентрация клеток *P. aeruginosa* на контрольных образцах биопленок находилось в диапазоне $5 \cdot 10^5$ – $1,3 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Показатель дезинфекции 99,99 % был достигнут облучением дозой 78 Дж/м², что в 2 раза превышает предельно допустимую дозу 37 Дж/м² для данной длины волны.

В нескольких клинических исследованиях был продемонстрирован антимикробный эффект UVC при терапии хронических инфицированных язв.

В 1965 г. H. Freytes et al. был исследован эффект UVC излучения на 254 нм при лечении индолентных язв у трех пациентов [19]. У всех пациентов отмечалось уменьшение размера ран с образованием грануляционной ткани.

В исследовании с использованием бесперстных мышей H. Sterenborg et al. сравнивали канцерогенный эффект UVC (254 нм) с канцерогенностью UVB (313 нм) [20]. Группы мышей облучались UVC или UVB ежедневно дозой 57,5–460 мДж/см². Во всех группах у большинства животных на определенном этапе эксперимента было обнаружено большое количество опухолей. Подавляющее большинство классифицировалось как плоскоклеточный рак. Независимо от ежедневных доз, используемых в эксперименте, UVC оказался менее канцерогенным, чем UVB.

T. Thai et al. на трех пациентах исследовали действие UVC излучения 254 нм при лечении язвенных поражений кожи, инфицированных метициллин-резистентным *Staphylococcus aureus* (MRSA) [21]. UVC излучением воздействовали на рану в течение 180 с, плотность мощности составляла 15,54 мВт/см² (соответствует дозе 2,8 Дж/см² при допустимом значении 6 мДж/см²). Под воздействием излучения уменьшалось относительное количество бактерий в ранах, что облегчало заживление ран у всех пациентов.

Несмотря на положительные результаты заживления ран под воздействием UVC излучения на 254 нм, никто пока не сообщил о каких-либо результатах в отношении отдаленных по-

следствий. Поэтому необходимы долгосрочные исследования, чтобы найти потенциальные побочные эффекты или доказать их отсутствие при клиническом использовании излучения с этим диапазоном длин волн.

Предполагается, что разумное воздействие UVC излучения может быть полезным для заживления ран и восстановления целостности кожного покрова. Однако необходимость превышения предельно допустимых доз облучения для инактивации практически всех видов микроорганизмов, не позволяет использовать UVC и UVB для лечения инфицированных ожоговых и хирургических ран. Возникает необходимость в определении другого спектра действия, который, инактивируя патогенные микроорганизмы, не будет представлять угрозу для ДНК и клеток тканей человека.

Практически все бактерии вырабатывают пигменты, например: *P. aeruginosa* – пиоцианин и пиовердин, *S. aureus* – стафилоксантин и т.д.; продуктами метаболизма бактерий являются порфирины и флавины. Эти эндогенные хромофоры поглощают излучение UVA и видимого фиолетово-синего диапазонов спектра.

Предельно допустимые дозы облучения UVA диапазона довольно высоки и увеличиваются с 10^4 Дж/м² для длины волны 315 нм до $1,5 \cdot 10^6$ Дж/м² для длины волны 400 нм. Появление коммерчески доступных светодиодов и лазерных диодов, излучающих в UVA диапазоне спектра, открывает новые возможности для исследований с целью создания фототерапевтических медицинских приборов для эффективного лечения раневых инфекций.

Фотоинактивация *P. aeruginosa* излучением диапазона 400–420 нм

Противомикробное действие излучения диапазона 400–420 нм в последнее время привлекает много внимания. Излучение коротковолнового видимого диапазона спектра имеет явное преимущество перед излучением UVC и UVB в связи с общепризнанными рисками повреждения кожи и развития раковых заболеваний вследствие воздействия ультрафиолета. Если сравнивать с фотодинамической терапией, то в данном случае нет необходимости в использовании экзогенных фотосенсибилизаторов, доставка которых к глубоко залегающей в ткани биопленке является довольно затрудни-

тельной. И хотя исследования находятся в начаточном состоянии, проведенные эксперименты *in vitro* и *in vivo* по инактивации клинически значимых изолятов бактерий, характеризующихся резистентностью к антибиотикам, позволяют предполагать, что технология фототерапии с использованием излучения диапазона 400–420 нм может быть весьма перспективна для профилактики и лечения ожоговых и хирургических раневых инфекций.

Точный механизм, лежащий в основе антибактериальных эффектов фиолетового диапазона спектра, пока не до конца понят. Одна из гипотез предполагает поглощение излучения диапазона 400–420 нм продуцируемыми бактериями порфиринами, которые являются внутриклеточными светочувствительными хромофорами. В результате фотохимической реакции образование цитотоксических реакционноспособных форм кислорода (ROS) приводит к разрушению цитоплазматической мембраны и ДНК бактерий.

В исследованиях *in vitro* и *in vivo* по инактивации *P. aeruginosa* ATCC 19660 (штамм 180), R. Amin et al. использовали светодиодную матрицу с центральной длиной волны излучения 415 нм [22]. Проведя предварительно анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, они установили, что *P. aeruginosa* ATCC 19660 продуцирует эндогенный копропорфирин III, который, как предположили, и ответственен за образование ROS под воздействием излучения на 415 нм. В экспериментах *in vitro* суспензию *P. aeruginosa* с плотностью популяции 10^8 КОЕ/мл подвергали воздействию излучения на 415 нм. Подавление бактериальной активности на $3.54 \log_{10}$ было достигнуто после воздействия излучения дозой 48 Дж/см² (40 мин при плотности излучения 20 мВт/см²).

Для исследований *in vivo* R. Amin et al. использовали мышей инбредной линии BALB/c. Перед бактериальной инокуляцией мышам делали инъекции циклофосамида, обладающего выраженным иммуносупрессивным действием, что делало мышей более уязвимыми для инфекции. Мышей анестезировали, удалили часть эпидермиса, создавая рану 1×1 см, после чего в рану инокулировали 50 мкл бактериальной суспензии, содержащей $4 \cdot 10^7$ КОЕ/мл популяции *P. aeruginosa*. Для мониторинга в реальном масштабе времени степени зараженности мышей использовалась

биолюминесцентная визуализация. Через 30 мин после бактериальной инокуляции на рану воздействовали излучением на 415 нм дозой 48 Дж/см² (8 мин при плотности излучения 100 мВт/см²), при этом бактериальная люминесценция была полностью устранена.

Используя источник излучения с длиной волны 405 нм, G. Fila et al. исследовали антибактериальный эффект фиолетового диапазона спектра на 15 штаммах *P. aeruginosa* (штаммы дикого типа, клинические изоляты, чувствительные к лекарственным средствам, и изоляты с лекарственной устойчивостью) [23].

При воздействии на клеточные суспензии, содержащие 10⁸ КОЕ/мл *P. aeruginosa*, дозой 50 Дж/см² (15,7 мВт/см², $\lambda=405$ нм, длительность облучения 53 мин) наблюдалось снижение жизнеспособности микроорганизмов на $>5 \log_{10}$, независимо от их чувствительности к лекарственным препаратам. В процессе экспериментов также анализировали и количественно определяли пиоцианин во всех изолятах *P. aeruginosa*. Количество пиоцианина значительно уменьшалось под воздействием излучения на 405 нм, при этом было отмечено, что мутантные штаммы, которые не могли продуцировать пиоцианин, демонстрировали более высокую восприимчивость к воздействию излучения на 405 нм, чем штаммы, продуцирующие пиоцианин.

Исследовалось также последовательное воздействие излучения на 405 нм и введение антибиотиков на *P. aeruginosa*. После предварительного воздействия излучения дозой 12,5 Дж/см² на клеточные суспензии, содержащие 10⁸ КОЕ/мл *P. aeruginosa*, и последующего введения цефтазидима в 6 раз ниже минимальной ингибирующей концентрации, колонии бактерий были полностью уничтожены, и вторичный рост не наблюдался через 24 ч.

Результаты этих исследований демонстрируют способность излучения 405 нм эффективно инактивировать пиоцианин и уменьшать тяжесть локальной инфекции, вызываемой *P. aeruginosa*. G. Fila et al. предположили, что пиоцианин является основной мишенью для фотоинаktivации *P. aeruginosa*. Кроме того, в процессе фотоинаktivации участвуют внеклеточные фракции эндогенных порфиринов.

Анализ хромофоров, потенциально ответственных за фотоинаktivацию *P. aeruginosa*

Нами были проанализированы продуцируемые *P. aeruginosa* хромофоры – потенциальные участники фотоинаktivации бактерии и их спектры поглощения. С целью определения длин волн, наиболее эффективных для возникновения и поддержания фотохимической реакции, была использована информация о спектрах поглощения основных хромофоров *P. aeruginosa* из ранее опубликованных источников [24–28]. Сравнивая спектры эмиссии источников излучения со спектрами поглощения продуцируемых *P. aeruginosa* пигментных веществ, можно установить связь между поглощенной хромофором энергией излучения (дозой Дж/см²) и величиной снижения популяции (\log_{10}), параметра, отражающего эффективность воздействия.

В экспериментах *in vitro* R. Amin et al. суспензию *P. aeruginosa* с плотностью популяции 10⁸ КОЕ/мл подвергали воздействию излучения 415 нм. Подавление бактериальной активности на 3,54 \log_{10} было достигнуто после воздействия излучения дозой 48 Дж/см² (40 мин при плотности излучения 20 мВт/см²) [22].

Как было указано выше, используя источник излучения с длиной волны 405 нм, G. Fila et al. воздействовали на клеточные суспензии, содержащие 10⁸ КОЕ/мл *P. aeruginosa*, дозой 50 Дж/см² (15,7 мВт/см² при длительности облучения 53 мин), наблюдая снижение жизнеспособности микроорганизмов на $>5 \log_{10}$, независимо от их чувствительности к лекарственным препаратам.

Сравнивая результаты работ [22] и [23], несложно заметить, что эффективность инаktivации под воздействием излучения с длиной волны 405 нм выше, чем под воздействием излучения на 415 нм.

Анализируя спектр поглощения копропорфирина III, как возможного хромофора, участвующего в фотоинаktivации популяции *P. aeruginosa*, можно прийти к следующему заключению: полоса поглощения с пиком на 392 нм захватывает диапазон 405–415 нм, при этом длина волны на 405 нм поглощается более интенсивно, чем длина волны на 415 нм (рис. 1).

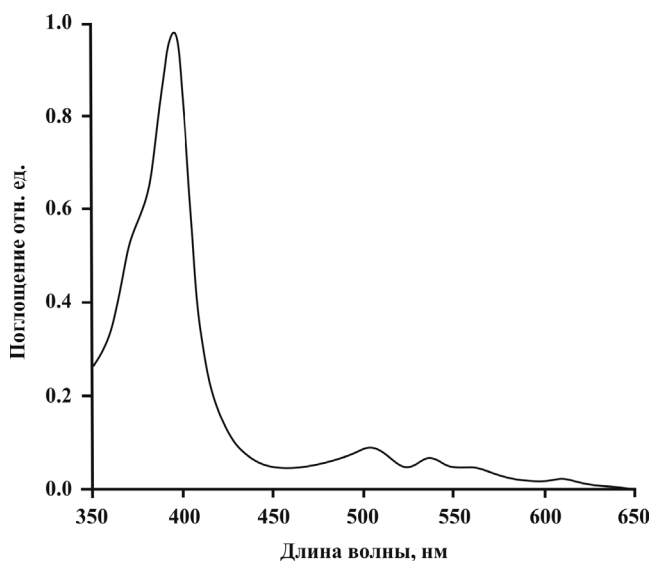


Рис. 1. Спектр поглощения копропорфирина III, растворитель – эфир, $\lambda_{\text{max}}=392$ нм

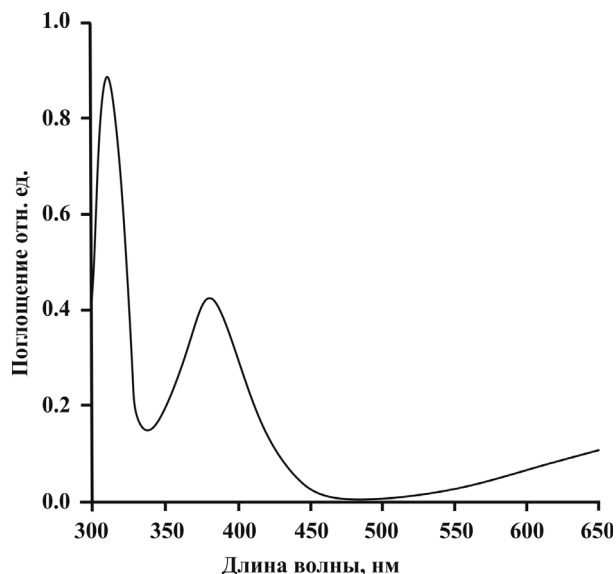


Рис. 2. Спектр поглощения пиоцианина, измеренный на бактериальных фильтрах *P. aeruginosa*, $\lambda_{\text{max}}=311$ нм и 378 нм

Пиоцианин тоже можно рассматривать как хромофор, участвующий в фотоинактивации *P. aeruginosa*, хотя его полоса поглощения с максимумом на 378 нм лишь незначительно захватывает диапазон 405–415 нм (рис. 2).

Мы не исключаем возможность участия в фотохимической инактивации *P. aeruginosa* еще одного хромофора – пиовердина, имеющего полосу поглощения в ультрафиолетовой области спектра с максимумом на 385 нм (рис. 3).

Несмотря на то, что излучение 405 и 415 нм попадает лишь в край полосы поглощения копропорфирина III и пиоцианина, эффективность инактивации *P. aeruginosa* можно объяснить высокой энергией фотонов, участвующих в фотохимических реакциях: 3,10 эВ (405 нм) и 2,99 эВ (415 нм).

Заключение

Эксперименты описанные в [22] и [23], продемонстрировали бактерицидную эффективность излучения 405 и 415 нм в отношении *P. aeruginosa*, и это указывает на высокий потенциал фиолетовой области спектра для лечения раневых инфекций. Однако, исходя из спектров поглощения копропорфирина III и

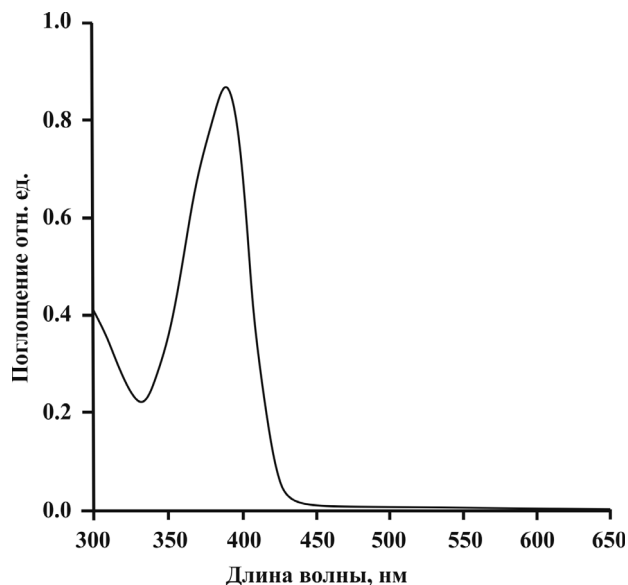


Рис. 3. Спектр поглощения свободного пиовердина, $\lambda_{\text{max}}=385$ нм

пиоцианина, мы предполагаем, что наиболее эффективным для фотоинактивации *P. aeruginosa* будет излучение UVA в диапазоне 380–390 нм. Конечно, данное предположение требует экспериментального подтверждения,

поскольку спектр инактивирующего действия *in vivo* может отличаться от спектров поглощения выделенных в чистом виде хромофоров.

Список литературы

1. Rice L.B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: ESKAPE // *J. Infect. Dis.* 2008. Vol. 197. № 8. P. 1079–1081.
2. Эпидемиология и профилактика синегнойной инфекции: федеральные клинические (методические) рекомендации. – М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2014. 82 с.
3. Hunter R.C., Vanja K., Magen M.L. et al. Phenazine content in the cystic fibrosis respiratory tract negatively correlates with lung function and microbial complexity // *Amer. J. Resp. Cell. Mol. Biol.* 2012. Vol. 47. P. 738–745.
4. Lau G.W., Hassett D.J., Ran H. et al. The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection // *Trends Mol. Med.* 2004. Vol. 10. № 12. P. 599–606.
5. Muller M., Li Z., Maitz P.K.M. et al. *Pseudomonas* pyocyanin inhibits wound repair by inducing premature cellular senescence: Role for p38 mitogen-activated protein kinase // *Burns.* 2009. Vol. 35. P. 500–508.
6. Visca P., Imperi F., Lamont I.L. Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance // *Trends in Microbiol.* 2007. Vol. 15. № 1. P. 22–30.
7. Веремеенко Е.Г., Максимова Н.П. Механизмы устойчивости бактерий *Pseudomonas aeruginosa* – продуцентов феназиновых антибиотиков к собственным феназинам // *Труды Белорусского гос. ун-та.* 2009. Т. 4. № 1. С. 161–167.
8. Setlow R.B. The wavelengths in sunlight effective in producing skin cancer: a theoretical analysis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1974. Vol. 71. P. 3363–3366.
9. Langford I.H., Bentham G., McDonald A.L. Multi-level modelling of geographically aggregated health data: a case study on malignant melanoma mortality and UV exposure in the European Community // *Stat. Med.* 1998. Vol. 17. P. 41–57.
10. Woodhead A.D., Setlow R.B., Tanaka M. Environmental factors in nonmelanoma and melanoma skin cancer // *J. Epidemiol.* 1999. Vol. 9. P. 102–114.
11. Moan J., Dahlback A., Setlow R.B. Epidemiological support for an hypothesis for melanoma induction indicating a role for UVA radiation // *Photochem. Photobiol.* 1999. Vol. 70. P. 243–247.
12. He Y.Y., Council S.E., Feng L., Chignell C.F. UVA-induced cell cycle progression is mediated by a disintegrin and metalloprotease/epidermal growth factor receptor/AKT/Cyclin D1 pathways in keratinocytes // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68. P. 3752–3758.
13. Yoon J.H., Prakash L., Prakash S. Highly error-free role of DNA polymerase eta in the replicative bypass of UV-induced pyrimidine dimers in mouse and human cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. Vol. 106. P. 18219–18224.
14. Pfeifer G.P., Besaratinia A. UV wavelength-dependent DNA damage and human non-melanoma and melanoma skin cancer // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2012. Vol. 11. P. 90–97.
15. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 7th Ed. – Cincinnati: ACGIH. 2017. 264 pp.
16. Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях: Руководство. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2005. 46 с.
17. Лаврентьева Л.В., Авдеев С.М., Соснин Э.А., Величевская К.Ю. Бактерицидное действие ультрафиолетового излучения эксимерных и эксиплексных ламп на чистые культуры микроорганизмов // *Вестн. Томского гос. ун-та. Биология* 2008. № 2. С. 18–27.
18. Bak J., Ladefoged S.D., Tvede M. et al. Disinfection of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm contaminated tube lumens with ultraviolet C light emitting diodes // *Biofouling.* 2010. Vol. 26. № 1, P. 31–38.
19. Freytes H.A., Fernandez B., Fleming W. Ultraviolet light in the treatment of indolent ulcers // *South. Med. J.* 1965. Vol. 58. № 2. P. 223–226.
20. Sterenborg H.J., van der Putte S.C., van der Leun J.C. The dose-response relationship of tumorigenesis by ultraviolet radiation of 254 nm // *Photochem. Photobiol.* 1988. Vol. 47. № 2. P. 245–253.
21. Thai T.P., Houghton P.E., Keast D.H. et al. Ultraviolet light c in the treatment of chronic wounds with MRSA: a case study // *Ostomy. Wound Managem.* 2002. Vol. 48. № 11. P. 52–60.

22. Amin R.M., Bhayana B., Hamblin M.R. et al. Antimicrobial blue light inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* by photo-excitation of endogenous porphyrins: *In vitro* and *in vivo* studies // *Lasers Surg. Med.* 2016. Vol. 48. № 5. P. 562–568.
23. Fila G., Kawiak A., Grinholc M.S. Blue light treatment of *Pseudomonas aeruginosa*: Strong bactericidal activity, synergism with antibiotics and inactivation of virulence factors // *Virulence*. 2016. P. 1–21.
24. Watson D., MacDermot J., Wilson R. et al. Purification and structural analysis of pyocyanin and 1-hydroxyphenazine // *Eur. J. Biochem.* 1986. Vol. 159. P. 309–313.
25. Parsons J.F., Greenhagen B.T., Shi K. et al. Structural and functional analysis of the pyocyanin biosynthetic protein PhzM from *Pseudomonas aeruginosa* // *Biochemistry*. 2007. Vol. . № 7. P. 1821–1828.
26. Persson A.E. Study of *Pseudomonas aeruginosa* and different wound dressing products: Master of Sci. Thesis. – Goeteborg: CUT. 2010. 40 pp.
27. Hannauer M., Schoefer M., Hoegy F., Gizzi P. et al. Biosynthesis of the pyoverdine siderophore of *Pseudomonas aeruginosa* involves precursors with a myristic or a myristoleic acid chain // *FEBS Letters*. 2012. Vol. 586. № 1. P. 96–101.
28. Soares A.R.M., Taniguchi M., Chandrashaker V., Lindsey J.S. Self-organization of tetrapyrrole constituents to give a photoactive photocell // *Chem. Sci.* 2012. Vol. 3. № 6. P. 1963–1974.

PHOTOINACTIVATION OF ANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

N.I. Faskhutdinova, O.V. Kuzmin

Kuban State University, Krasnodar, Russia

Antibiotic resistance of pathogenic microorganisms is an escalating healthcare problem requiring rapid development of alternatives to traditional means of fighting with infection. Surgery may constitute immediate life-threatening situation for a patient because there is always a risk of infection generalization by microorganisms resistant to antimicrobial agents. One of the solutions for treatment and prevention of wound infections is near infrared ultraviolet and visible radiation within the spectrum range of 400–420 nm.

This article is analytical, its purpose is to define a wavelength range for the efficient photoinactivation of *Pseudomonas aeruginosa*, one of the most common agents of nosocomial wound infections.

Key words: *P. aeruginosa*, antibiotic resistance, nosocomial infections, wound infections, pyocyanin, glutathione, porphyrins, ultraviolet radiation, range of the spectrum 400–420 nm

E-mail: kuzmin@laser-biomed.com