Вирулицидные и бактерицидные эксиплексные лампы барьерного разряда

Э.А.Соснин, О.С.Жданова

Представлен краткий обзор результатов исследований ультрафиолетовой инактивации бактерий, живых клеток и вирусов с использованием эксиламп, проводившихся в 2002–2020 гг. Дано краткое описание используемых в этих исследованиях моделей эксиламп, разработанных в Институте сильноточной электроники СО РАН. Накопленные к настоящему времени научные данные свидетельствуют о том, что эксилампы на молекулах $KrCl^*$, $KrBr^*$ и $XeBr^*$ по своим оптическим параметрам являются альтернативой ртутным лампам низкого давления. Эти источники оптического излучения оказывают бактерицидное действие, а излучение KrCl- и KrBr-эксиламп обладает также вирулицидным действием. Последнее очень актуально в связи с распространением коронавирусных инфекций.

Ключевые слова: *спектр действия, ультрафиолет, эксиплексная молекула, эксилампа.*

Идея использовать для получения лазерной генерации эксимерное излучение, открытое в 1913 г. [1], возникла практически на заре появления квантовой электроники. В 1960 г. она была высказана Ф.Д. Хоутермансом [2] и спустя десять лет экспериментально реализована Н.Г.Басовым с сотрудниками [3]. В 1973 г. было достоверно установлено, что, помимо эксимеров, можно формировать гетероядерные возбуждённые молекулы, или эксиплексы, и была впервые получена генерация на эксиплексных молекулах XeO^* (λ = 540 нм), KrF^* (λ = 248 нм), $XeBr^*$ (λ = 282 нм), $XeCl^*$ (λ = 308 нм), ArF^* (λ = 193 нм), $KrCl^*$ (λ = 222 нм) [4, 5].

Развитие физики и техники лазерной генерации на эксимерах и эксиплексах стимулировало создание источников спонтанного излучения. Например, в 1974 г. в разряде постоянного тока была зарегистрирована люминесценция эксиплексов ArO^* и $ArCl^*$ [6]. Впоследствии спонтанное излучение эксимерных и эксиплексных молекул в ВУФ и УФ областях спектра было зарегистрировано при разных типах возбуждения [7–11].

В 1994 г. для обозначения всего многообразия источников спонтанного излучения на переходах эксимерных и эксиплексных молекул было предложено общее название – эксилампы [12]. В настоящее время наибольшее распространение получили эксилампы с возбуждением барьерным разрядом [13–18]. Они обладают высоким ресурсом (не менее нескольких тысяч часов), быстро зажигаются и выходят на рабочий режим. Эти источники широко применяются в научных исследованиях и уже внедрены в таких областях, как фотомедицина и микроэлектроника [11, 14, 19].

Э.А.Соснин. Институт сильноточной электроники СО РАН, Россия, 634055 Томск, просп. Академический, 2/3;
e-mail: badik@loi.hcei.tsc.ru
О.С.Жданова. Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1; e-mail: oksfox70@mail.ru

Поступила в редакцию 29 мая 2020 г.

Одно из перспективных направлений применения эксиламп – инактивация микроорганизмов (нарушение их жизнедеятельности вплоть до гибели). В настоящей статье сделан краткий обзор оптических параметров эксиламп, применяемых для решения этой задачи. Кроме того, дана краткая сводка самых важных экспериментальных данных о бактерицидном и вирулицидном действии УФС (диапазон 200 < λ < 290 нм) излучения эксиламп на микроорганизмы.

Актуальность исследований обусловлена необходимостью контроля распространения новых летальных респираторных инфекций, таких как тяжёлый острый респираторный синдром (SARS, 2003 г.), ближневосточный респираторный синдром (MERS, 2012 г.) и COVID-19 (2019–2020 гг.), вызываемых коронавирусами SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV2.

Сегодня наиболее распространёнными источниками УФ излучения, используемого для инактивации микроорганизмов, являются ртутные лампы низкого давления (РЛНД) [21]. Около 70% всей излучаемой мощности таких ламп приходится на УФ излучение в диапазоне 250–370 нм, в котором около 60% мощности излучается на резонансной линии ртути 253.7 нм, обеспечивающей максимальное бактерицидное действие. Устройства на основе РЛНД имеют простые системы питания и просты в обслуживании, что способствует их широкому распространению. Максимум линии излучения РЛНД на λ = 253.7 нм (рис.1, кривая *1*) находится вблизи длинноволнового (первого) максимума интегрального спектра поглощения ДНК (кривая *2*) и немного отстоит от первого максимума спектра инактивирующего действия (кривая *3*). Серьёзным недостатком указанных ламп является наличие в них ртути. При разгерметизации колбы происходит загрязнение ртутью окружающей среды, что недопустимо в случае как медицинских, так и биологических применений. В настоящее время широко используют амальгамные лампы, но и их утилизация сопряжена с рядом проблем. В связи с этим в странах ЕС с 2011 г. идёт поэтапное сокращение использования ламп, содержащих ртуть.

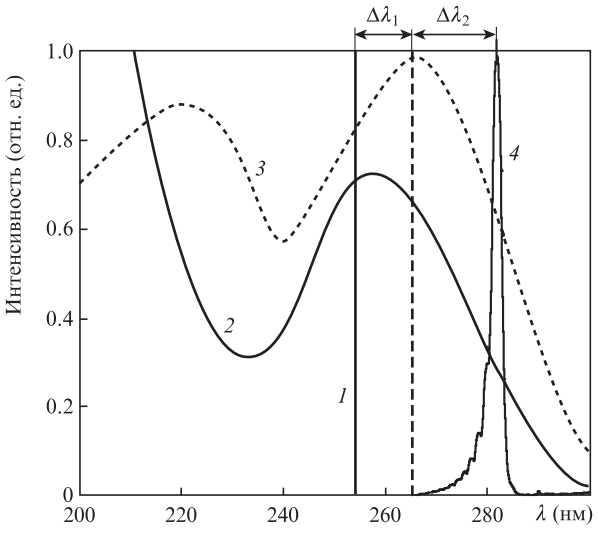

Рис.1. Некоторые спектральные характеристики биологических объектов и источников воздействующего на них излучения: *1* – атомарная линия ртути в РЛНД на $\lambda = 253.7$ нм; *2* – спектр поглощения ДНК [21]; *3* – спектр инактивирующего действия УФ излучения на бактерию *Escherichia coli* [20]; *4* – спектр излучения B → X-полосы XeBr-эксилампы барьерного разряда.

Долгое время считалось, что альтернативы РЛНД нет. Однако в наших работах 2002–2013 гг. была показана возможность их замены эксилампами. Для исследований были разработаны различные модели эксиламп, некоторые из которых представлены на рис.2.

Устройства серии BD_P (barrier discharge, portable) – это портативные устройства, содержащие коаксиальную эксилампу барьерного разряда, помещённую в кожух и снабжённую воздушным охлаждением и отражателем (рис.2,*а*). Такие источники излучения имеют сравнительно небольшие габариты, 240 × 80 × 80 мм, выходное окно с размерами 60 × 90 мм и вес 0.7–0.8 кг. В разные годы в наших микробиологических исследованиях применялись эксилампы этой серии на молекулах $XeBr^*$ ($\lambda = 282$ нм), $KrCl^*$ ($\lambda = 222$ нм), $KrBr^*$ ($\lambda = 206$ нм) и Cl_2^* ($\lambda = 257.8$ нм), обеспечивающие энергетическую светимость на поверхности окна до 30, 20, 10 и 2 мВт/см^2 соответственно. Увеличивая размеры модели и скорость прокачки воздуха через корпус, а также закрывая облучатель, авторы [22] создали мощный УФС рециркулятор для обеззараживания воздуха.

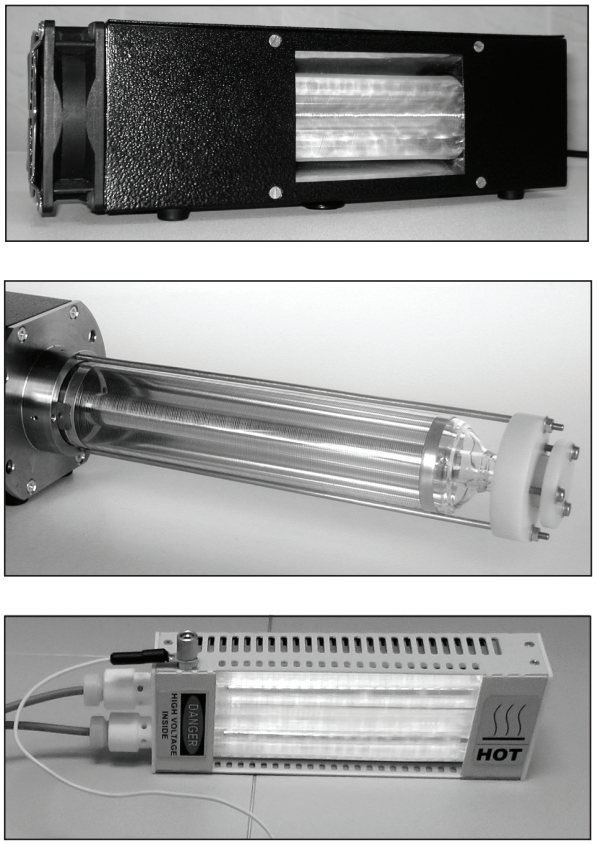

Рис.2. Внешний вид серий эксиламп, разработанных в ИСЭ СО РАН: BD_P (*а*), BD_E (*б*), 2BD_E (*в*).

Кроме того, для облучения воздуха в помещениях (в отсутствие людей) эффективнее использовать облучатели серий BD_E (barrier discharge, external), в которых эксилампа вынесена из корпуса (рис.2,*б*, *в*). Для улучшенной антимикробной обработки воздуха они могут дополнительно содержать блок нагнетания воздуха на поверхность эксилампы [23].

Как показали наши исследования, наиболее выраженным инактивирующим действием обладает излучение XeBr-, KrBr- и KrCl-эксиламп. Кривой *4* на рис.1 показан спектр излучения эксилампы на молекулах $XeBr^*$. В этом случае не менее 95% лучистого потока в УФ диапазоне спектра сосредоточено в B → X-полосе рабочей молекулы с максимумом на $\lambda = 282$ нм и полушириной $\Delta\lambda_{0.5} \sim 1.8$ нм. В 2006 г. мы обратили внимание на то, что максимум интенсивности указанной полосы излучения находится примерно на том же расстоянии от максимума спектра инактивирующего действия, что и резонансная линия РЛНД, т.е. $\Delta\lambda_1 \approx \Delta\lambda_2$ (см. рис.1). Кроме того, спектр эксилампы имеет коротковолновый «хвост» в диапазоне длин волн 260–282 нм, который покрывает половину первого пика поглощения ДНК и спектра действия [24]. Эти данные позволили предположить, что оба источника излучения (XeBr-эксилампа и РЛНД) обладают одинаковым инактивирующим действием. Последующая проверка на тест-культуре *Escherichia coli* (ATCC 25922) подтвердила эту гипотезу: оба источника излучения обеспечивали сопоставимый бактерицидный эффект при одинаковых энергетических экспозициях.

Последующие исследования сравнительного инактивирующего действия РЛНД и XeBr-эксилампы [25] мы провели на тестовых штаммах бактерий *E. coli* (501), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 2482), *S. aureus* (209P) и клинических изолятах *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*. Было показано, что излучение XeBr-эксилампы оказывает более выраженный бактерицидный эффект на грамотрицательные микроорганизмы (*E. coli*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*), чем излучение РЛНД. Культуры *S. aureus* и *C. albicans* демонстрировали одинаковую чувствительность к излучению обоих источников излучения. Разная чувствительность тестируемых культур могла быть обусловлена различием в строении клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Толщина клеточной стенки грамположительных бактерий (*S. aureus*) может составлять 40–80 нм, грамотрицательных – около 7–8 нм. [26, 27]. Кроме того, резистентность *S. aureus* к УФ излучению может повышать каротиноидный пигмент, синтезируемый этим микроорганизмом. *C. albicans* – дрожжеподобный грибок, относящийся к эукариотам, его ДНК защищена не только цито-

плазматической мембраной и клеточной стенкой, но и ядерной мембраной. Низкая чувствительность *K. pneumoniae* к излучению XeBr-эксилампы, возможно, связана с наличием капсулы, которая поглощает часть излучения, тем самым снижая число повреждений ДНК. Необходимо отметить, что разные штаммы одного вида также могут различаться чувствительностью к УФ излучению [28].

Ещё одним источником УФС излучения является эксилампа барьерного разряда на смеси $Kr-Br_2$, которую упрощённо называют KrBr-эксилампой [16]. Она излучает две сильные полосы: B → X-полосу эксиплекса $KrBr^*$ (λ = 207 нм) и D′ → A′-полосу возбужденного димера Br_2^* (λ = 291 нм) (рис.3). Варьируя соотношения составов газов Kr и Br_2 в смеси, а также величину общего давления, можно получать спектр излучения, максимально приближенный к спектру поглощения ДНК (рис.1, кривая *2*). В 2004 г. было проведено исследование бактерицидного действия такой эксилампы на тест-культуры *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Penicillium expansum*, в том числе осуществлено его сравнение с бактерицидным действием XeBr-эксилампы [28]. Результаты подтвердили более эффективное бактерицидное действие излучения KrBr-эксилампы.

В работе [29] была изучена реакция культуры живых клеток яичника китайского полевого хомяка Chinese Hamster Ovary (CHO-K1) на воздействие УФС излучения XeBr-эксилампы, а также проведено сравнение этих данных с результатами действия XeBr-эксилампы на бактерии. Клетки CHO-K1 являются фибробластами – клетками базального типа, включёнными во многие процессы в организме, в частности в процесс заживления ран. Мы полагали, что получение таких данных в перспективе может привести к появлению новых методов в медицине.

Эксперименты показали, что инактивирующее воздействие УФ излучения на живую клетку существенно отличается от его воздействия на бактерию. В отличие от бактерий, ДНК живой клетки в случае прямого попадания на неё УФС излучения повреждается незначительно. Повреждения происходят в результате опосредованной цепочки превращений: 1) фотон + субстрат → радикалы; 2) радикалы + компоненты клетки (в т.ч. и ДНК) → окисление и инактивация компонентов клетки. Инактивация затруднена ещё и тем, что клетка вырабатывает антиоксиданты и способна регулировать скорость их формирования в своей внутренней среде. Таким образом, было показано, что фибробласты более резистентны к УФС излучению, чем бактерии. С практической точки зрения это означает, что УФС облучение может стать средством селективной бактериальной стерилизации ран без инактивации живых клеток тела. Для этого необходимо использовать дозы облучения, достаточные для инактивации бактерий (и вирусов) и недостаточные для инактивации живых клеток.

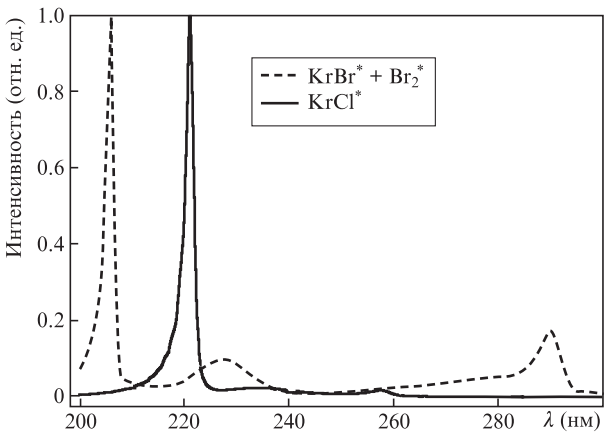

Рис.3. Спектры излучения KrBr- и KrCl-эксилампы барьерного разряда.

Отдельное направление поисков было посвящено определению вирулицидного действия излучения УФС эксилампы. В 2011 г. для сравнения вирулицидного действия УФ излучения РЛНД и XeBr-эксилампы использовали бактериофаг MS2 (штамм ВКПМ РН-1505), размножающийся на культуре *E. coli* K 12 F+ (штамм ВКПМ В-3254) [30]. Было показано, что УФ излучение обоих источников эффективно инактивировало бактериофаг MS2, но его чувствительность к действию УФС излучения XeBr-эксилампы была выше. С оптической точки зрения это можно объяснить тем, что её спектр излучения (рис.1, кривая *4*) включает длины волн, на которых активно поглощают белки [27], в частности аминокислоты с жёсткой структурой (триптофан, тирозин, фенилаланин) и нуклеиновые кислоты. Поэтому мы предположили, что полученный эффект обусловлен повреждением белков, образующих оболочку фага и защищающих геном, а также повреждением РНК бактериофага.

Применение бактериофагов для безопасного тестирования источников излучения вместо оригинальных вирусных организмов является распространённой практикой [31]. В Национальном институте стандартов и технологий (NIST) с помощью перестраиваемого лазера серии NT242 Ekspla были получены точные характеристики спектров действия УФ излучения для пяти бактериофагов в диапазоне 210–290 нм с шагом 10 нм и погрешностью 1 нм [32]. Спектр инактивирующего действия здесь был определён как функция $S(\lambda)$, отображающая реакцию организма на идентичные дозы УФ излучения при воздействии на него излучений с различными монохроматическими длинами волн. Причём для РЛНД (λ = 253.7 нм) величина S была взята за единицу [33]. Полученные спектры показаны на рис.4. Было отмечено, что для спектров

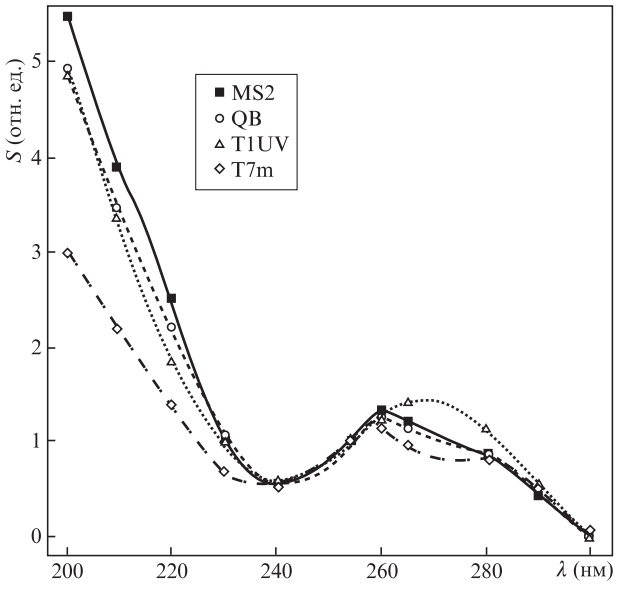

Рис.4. Спектры инактивирующего действия для бактериофагов MS2, QB, T1UV и T7m (восстановлено по данным [32]). Точки для λ = 200 и 300 нм получены путём экстраполяции.

инактивирующего действия всех бактериофагов характерно заметное увеличение чувствительности к УФ излучению на длинах волн короче 240 нм.

Причин повышенной чувствительности фагов к излучению в диапазоне $200 < \lambda < 240$ нм по сравнению с излучением на $\lambda = 253.7$ нм может быть несколько. Одно из предположений состоит в том, что коротковолновое УФ излучение повреждает не только нуклеиновую кислоту вируса (ДНК или РНК), но и белки, образующие капсид (оболочку вируса). Эти белки не только защищают нуклеиновую кислоту вируса, но и обеспечивают адсорбцию (прикрепление) вируса к клетке-хозяину. Аминокислоты, образующие эти белки, поглощают энергию на $\lambda < 230$ нм более эффективно, чем ДНК [34]. Следовательно, правомерна гипотеза о том, что повреждение фаговых белков коротковолновым УФС излучением может повлиять на их прикрепление к клеткам-хозяевам, т.е. повлиять на потерю ими способности к заражению.

Из сказанного следует, что наилучшую инактивацию вирусов (по сравнению с РЛНД) будут обеспечивать источники УФС излучения, спектр которых сосредоточен в диапазоне длин волн $200 < \lambda < 240$ нм. Такими источниками являются эксилампы на молекулах $KrBr^*$ и $KrCl^*$, спектры излучения которых показаны на рис.3. Оба спектра имеют интенсивные $B \rightarrow X$-полосы с максимумами на $\lambda = 207$ и 222 нм и полуширинами 2.18 и 2.04 нм соответственно.

Как мы указывали выше, такие источники могут использоваться для селективной обработки ран, поскольку живые клетки тела человека имеют меньшую чувствительность к УФС излучению, чем вирусы и бактерии. Это положение было проверено в 2015 г. в Центре радиологических исследований (Нью-Йорк, США) с помощью созданных нами KrCl- и KrBr-эксиламп (модель BD_P, см. рис.2,*а*). Было подтверждено, что сравнительно низкие дозы коротковолновой части УФС излучения ($207 < \lambda < 222$ нм) эффективно инактивировали бактерии и вирусы, не повреждая клетки кожи млекопитающих [35]. Кроме того, было показано, что ультрафиолет KrCl-эксилампы (модель BD_P) при дозах 2 мДж/см^2 инактивирует более 95% вирусов гриппа H1N1 в виде аэрозоля, и сделан вывод о том, что данная эксилампа является перспективным, безопасным и недорогим инструментом для контроля распространения инфекционных заболеваний, передающихся воздушно-капельным путём [35].

В 2020 г., во время вспышки COVID-19, той же группой авторов было показано, что излучение KrCl-эксилампы (модель BD_P) эффективно против двух типов коронавирусов [36]. Авторы заключили, что непрерывное воздействие KrCl-эксилампы в общественных местах при рекомендуемом в настоящее время установленном пределе воздействия (3 мДж$\cdot$см$^{-2}\cdot$ч$^{-1}$) привело бы к вирусной инактивации 99.9% в течение ~25 мин для бета-коронавируса HCoV-OC43. А поскольку все коронавирусы человека имеют одинаковый геномный размер, можно ожидать, что эффективность инактивации излучением KrCl-эксиламп будет сопоставима с эффективностью инактивации других коронавирусов, например SARS-CoV2.

Таким образом, методы получения люминесценции эксимерных и эксиплексных молекул, первоначально нашедшие широкое применение в лазерной физике, сначала дали жизнь новому семейству источников спонтанного излучения, а в настоящее время заложили основы для разработки фотонных источников для инактивации микроорганизмов. Такие источники излучения могут стать альтернативой классическим ртутным лампам низкого давления. К настоящему времени доказан бактерицидный эффект KrCl-, KrBr- и XeBr-эксиламп. Кроме того, имеющиеся данные позволяют говорить о перспективности KrCl- и KrBr-эксиламп для получения вирулицидного эффекта, выраженного сильнее, чем у ртутных ламп низкого давления. Всё сказанное является научной базой для постановки новых научных и опытно-конструкторских исследований.

Авторы выражают глубокую признательность за плодотворное сотрудничество коллективам соавторов из лаборатории оптических излучений Института сильноточной электроники СО РАН (Россия, Томск), кафедры цитологии и генетики Томского государственного университета, факультета инженерной биомедицины Эйндховенсокго университета (Нидерланды, Эйндховен) и кафедры микробиологии и вирусологии Сибирского государственного медицинского университета (Россия, Томск).

Настоящая работа выполнена при частичной поддержке государственного задания ИСЭ СО РАН по теме №13.1.4.

1. Curtis W.E. *Proc. Roy. Soc. Lnd.*, **A89**, 146 (1913).
2. Houtermans F.G. *Helv. Phys. Acta*, **33**, 933 (1960).
3. Басов Н.Г., Данилычев В.А., Попов Ю.М., Ходкевич Д.Д. *Письма в ЖЭТФ*, **12**, 473, (1970) [*JETP Lett*., **12**, 329 (1970)].
4. Boichenko A.M., Tarasenko V.F., Yakovlenko S.I. *Laser Phys*., **10**, 1159 (2000).
5. *Эксимерные лазеры*. Под ред. Ч.Роудза (М.: Мир, 1981).
6. Golde M.F., Thrush B.A. *Chem. Phys. Lett*., **29**, 487 (1974).
7. Михкельсоо В.Т., Трещалов А.Б., Пеэт В.Э., Ялвисте Э.Х., Белоконь А.А., Брайнин Б.И., Хритов К.М. *Квантовая электроника*, **14**, 1404 (1987) [*Sov. J. Quantum Electron*, **17**, 890 (1987)].
8. Визирь В.А., Скакун В.С., Сморудов Г.В, Соснин Э.А., Тарасенко В.Ф., Фомин Е.А., Червяков В.В. *Квантовая электроника*, **22**, 519 (1995) [*Quantum Electron*., **25**, 494 (1995)].
9. Борисов В.М., Водчиц В.А., Ельцов А.В., Христофоров О.Б. *Квантовая электроника*, **25**, 308 (1998) [*Quantum Electron*., **28**, 297 (1998)].
10. Шуаибов А.К., Миня А.И., Грицак Р.В., Гомоки З.Т. *Квантовая электроника*, **45**, 185 (2015) [*Quantum Electron*., **45**, 185 (2015)].
11. Sosnin E.A., Tarasenko V.F., Lomaev M.I. *UV and VUV Excilamps* (Germany: LAP LAMBERT Acad. Publ., 2012).
12. Бойченко А.М., Скакун В.С., Тарасенко В.Ф., Фомин Е.А., Яковленко С.И. *Квантовая электроника*, **20**, 7 (1993) [*Quantum Electron*., **23**, 3 (1993)].
13. Eliasson B., Kogelschatz U. *Appl. Phys. B*, **B46**, 299 (1988).
14. Sosnin E.A., Oppenländer T., Tarasenko V.F. *J. Photochem. Photobiol. C*, **7**, 145 (2006).
15. Lomaev M.I., Sosnin E.A., Tarasenko V.F. *Progr. Quantum Electron*., **36**, 51 (2012).
16. Авдеев С.М., Ерофеев М.В., Скакун В.С., Соснин Э.А., Суслов А.И., Тарасенко В.Ф., Шитц Д.В. *Квантовая электроника*, **38**, 702 (2008) [*Quantum Electron*., **38**, 702 (2008)].
17. Авдеев С.М., Соснин Э.А., Тарасенко В.Ф. *Квантовая электроника*, **37**, 107 (2007) [*Quantum Electron*., **37**, 107 (2007)].
18. Соснин Э.А., Тарасенко В.Ф. *Фотоника*, № 1, 60 (2015).
19. Köllner K., Wimmershoff M.B., Hintz C., Landthaler M., Hohenleutner U. *Br. J. Dermatol*., **152**, 750 (2005).
20. Von Sonntag G., in: *Process Technologies for Water Treatment Process Technologies for Water Treatment. Earlier Brown Boveri Symposia* (Ed. S.Stuki) (Boston, MA: Springer, 1987, p. 159).

21. Oppenländer T. *Photochemical Purification of Water and Air* (Weincheim: Wiley-Vch Verlag, 2003).
22. Соснин Э.А, Тарасенко В.Ф., Авдеев С.М., Жданова О.С. Патент RU 2440147 C1. Опубликовано 20.01.2012. Бюл. №2.
23. Соснин Э.А., Тарасенко В.Ф., Авдеев С.А., Шитц Д.В., Скакун В.С. Патент RU 62224. Опубл. 27.05.2007. Бюл. № 15.
24. Авдеев С.М., Величевская К.Ю., Соснин Э.А., Тарасенко В.Ф., Лаврентьева Л.В. *Светотехника*, **4**, 41 (2008).
25. Жданова О.С., Соснин Э.А., Красноженов Е.П., Авдеев С.М., Тарасенко В.Ф., Грицута А.В. *Журнал инфекционной патологии*, **17**, 62 (2010).
26. Malanovic N., Lohner K. *Biochim. Biophys. Acta*, **1858**, 936 (2016).
27. Владимиров Ю.А., Потапенко А.Я. *Физико-химические основы фотобиологических процессов* (М.: Высшая школа, 1989).
28. Sosnin E.A., Avdeev S.M., Kyznetsova E.A., Lavrent'eva L.V. *Instrum. Experiment. Techniq*., **48**, 663 (2005).
29. Erofeev M.V., Kieft I.E., Sosnin E.A., Stoffels E. *IEEE Transact. Plasma Sci*., **34**, 1359 (2006).
30. Жданова О.С., Красноженов Е.П., Соснин Э.А., Авдеев С.М., Тарасенко В.Ф., Грицута А.В. *Вестник науки Сибири*, **1**, 328 (2012).
31. Ronto G., Gaspar S., Berces A. *J. Photochem. Photobiol. B*, **12**, 285 (1992).
32. Beck S.E., Wright H.B., Hargy T.M., Larason T.C., Linden K.G. *Water Res*., **70**, 27 (2015).
33. Sutherland J.C. *J. Photochem Photobiol*., **76**, 164 (2002).
34. Jagger J. *Introduction to Research in Ultraviolet Photobiology* (New York.: Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1967).
35. Welch D., Buonanno M., Grilj V., Shuryak I., Crickmore C., Bigelow A.W., Randers-Pehrson G., Johnson G.W., Brenner D.J. *Sci. Rep*., **8**, 2752 (2018).
36. Buonanno M., Welch D., Shuryak I., Brenner D.J *Sci. Rep*., **10**, 10285 (2020).