ИНАКТИВАЦИЯ МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНОГО STAPHYLOCOCCUS AUREUS ИЗЛУЧЕНИЕМ ДИАПАЗОНА 400-470 НМ

О.В. Кузьмин[1,2], **Н.И. Фасхутдинова**[1,2]
[1]Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия
[2]Laser BioMed LLC, Краснодар, Россия

Резюме

Staphylococcus aureus является одной из основных причин внутрибольничных инфекций, часто вызывая послеоперационные инфекционные раневые осложнения. Широкое распространение в стационарах, а также появление во внебольничной среде клинических изолятов *Staphylococcus aureus*, устойчивых к метициллину (methicillin-resistant Staphylococcus aureus, MRSA), оставляет врачей без эффективных средств контроля над инфекцией. Осложнения, вызываемые MRSA, приводят к увеличению сроков госпитализации и показателей летальности. 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.

Противомикробное действие излучения диапазона 400-470 нм в последнее время привлекает много внимания. Излучение коротковолнового видимого диапазона спектра имеет явное преимущество перед излучением в ультрафиолетовой области UVC (100-280 нм) и UVB (280-315 нм) 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 затруднительной. И хотя исследования находятся в зачаточном 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 400-470 нм может быть весьма перспективна для профилактики и лечения ожоговых и хирургических раневых инфекций. В данной статье анализируется эффективность использования излучения диапазона 400-470 нм для инактивации штаммов бактерий MRSA.

Ключевые слова: MRSA, каротиноиды, стафилоксантин, антиоксидант, порфирины.

Для цитирования: Кузьмин О.В., Фасхутдинова Н.И. Инактивация метициллинрезистентного Staphylococcus aureus излучением диапазона 400-470 нм // Biomedical Photonics. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 37-43.

Контакты: Кузьмин О.В., e-mail: kuzmin@laser-biomed.com

400-470 NM RADIATION INACTIVATION OF METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Kuzmin O.V.[1,2], **Faskhutdinova N.I.**[1,2]
[1]Kuban State University, Krasnodar, Russia
[2]Laser BioMed LLC, Krasnodar, Russia

Abstract

Staphylococcus aureus is one of the major reasons for nosocomial infections that often cause post-surgery wound infectious complications. Prevalence in hospitals as well as occurrence in the community of the clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) leave health professionals without effective means of control over the infection. Complications caused by MRSA lead to longer hospital stay and higher lethality rates. Due to the infected wounds treatment issues and high mortality rate it is important to introduce efficient alternatives to traditional means of treating and preventing wound infections into the clinical practice of inpatient surgical units and burn care facilities. It should be hard for bacteria to develop resistance to these treatment methods and measures of preventive care. Antimicrobial action of the 400-470 nm radiation attracts a lot of attention lately. Shortwave visible radiation has distinct advantages over UVC and UVB given the generally acknowledged skin injury risks and risks of development of cancer resulting from the ultraviolet exposure. In comparison with the photodynamic therapy the 400-470 nm radiation does not require exogenous photosensitizers with their challenging delivery to a biofilm lying deep within a tissue. Despite research being in its infancy, *in vitro* and *in vivo* studies performed to inactivate clinically significant isolates of bacteria characterized by antibiotic resistance suggest that the phototherapy technology using the 400-470 nm radiation has the potential to treat and prevent surgical and burn wound infections. In this paper effectiveness of 400-470 nm radiation for the inactivation of strains of MRSA is analyzed.

Key words: MRSA, biosynthesis, carotenoids, staphyloxanthin, antioxidant, porphyrins.

For citations: Kuzmin O.V., Faskhutdinova N.I. 400-470 nm radiation inactivation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus, *Biomedical Photonics*, 2017, T. 6, No. 4, pp. 37-43 (in Russian).

Contacts: Kuzmin O.V., e-mail: kuzmin@laser-biomed.com

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Введение

В последнее десятилетие проблема внутрибольничных инфекций приобрела глобальное значение для всех стран мира. Это обусловлено значительным ростом числа госпитальных штаммов микроорганизмов, обладающих устойчивостью к широкому ряду антимикробных препаратов. Несмотря на значительный недоучет, в Российской Федерации ежегодно регистрируется около 30 тыс. случаев внутрибольничных инфекций. По ориентировочным расчетам ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, в 2015 г. экономический ущерб для РФ только от 35 наиболее актуальных нозологических форм инфекционных заболеваний превысил 549 млрд. руб. (2014 г. – 468 млрд. руб., 2013 г. – 440 млрд. руб.) [1]. Среди возбудителей внутрибольничных инфекций одно из первых мест принадлежит микроорганизмам рода *Staphylococcus*, из которых наиболее патогенным является *Staphylococcus aureus*, способный вызывать более 100 нозологических форм заболеваний.

Эпидемиологическая ситуация осложняется в связи с широким распространением в стационарах, а также появлением и во внебольничной среде клинических изолятов *S. aureus*, устойчивых к метициллину (methicillin-resistant Staphylococcus aureus, MRSA). Наибольшая частота выделения MRSA отмечается в реанимационных, ожоговых, травматологических и хирургических отделениях стационаров. Одной из основных причин этой закономерности является концентрация в таких стационарах пациентов с нарушениями целостности кожных покровов и поврежденным иммунологическим барьером. Основным местом локализации инфекции являются послеоперационные и ожоговые раны, при этом первичные и вторичные бактериемии наблюдаются примерно у 20% инфицированных больных. Развитие бактериемии значительно увеличивает вероятность летального исхода. Особенно высокая смертность, обусловленная бактериемией, наблюдается среди пациентов, находящихся в ожоговых отделениях и отделениях интенсивной терапии, где она может достигать 50%. Риск развития летального исхода возрастает почти в три раза среди пациентов, у которых бактериемия обусловлена MRSA, по сравнению с пациентами, инфицированными метициллинчувствительными штаммами *S. aureus* [2].

Высокой жизнеспособности *S. aureus* способствует синтезируемый бактерией стафилоксантин, который представляет собой тритерпеноид, C_{30}-каротиноид. Он расположен в клеточной мембране и действует как антиоксидант.

Биосинтез стафилоксантина S. aureus

S. aureus имеет золотистый или желтый цвет (рис. 1), обусловленный пигментами из группы каротиноидов, основным из которых является стафилоксантин – β-D-глюкопиранозил-1-*O*-(4,4'-диаповевроспорен-4-окта)-6-*O*-(12-метилтетрадеканоат).

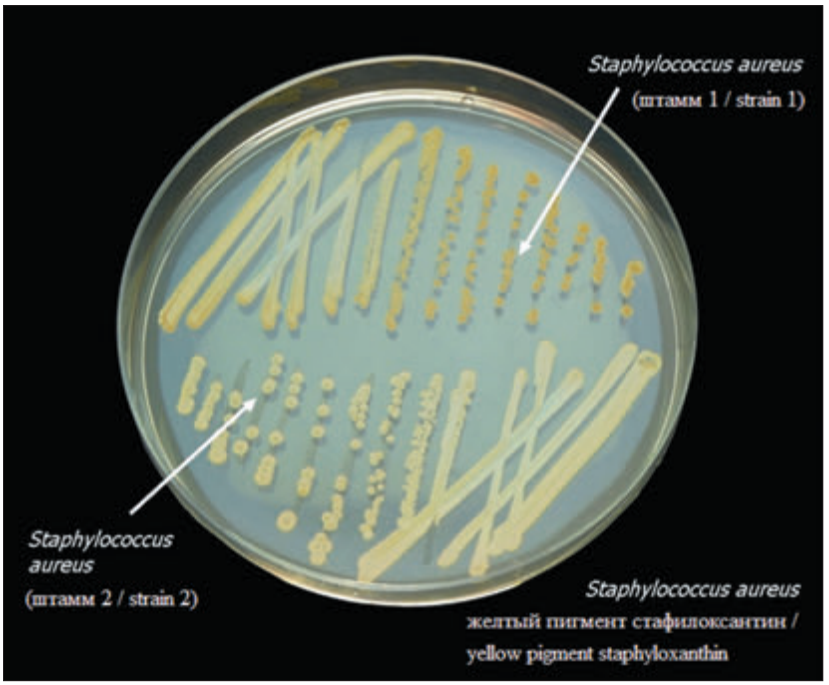

Рис. 1. Два штамма *Staphylococcus aureus* на триптическом соевом агаре. Выращивание 24 ч, аэробная атмосфера, 37°С (по данным сайта www.bacteriainphotos.com)
Fig. 1. Two strains of *Staphylococcus aureus* on Tryptic Soy Agar. Cultivation for 24 hours, aerobic atmosphere, 37°C (from www.bacteriainphotos.com)

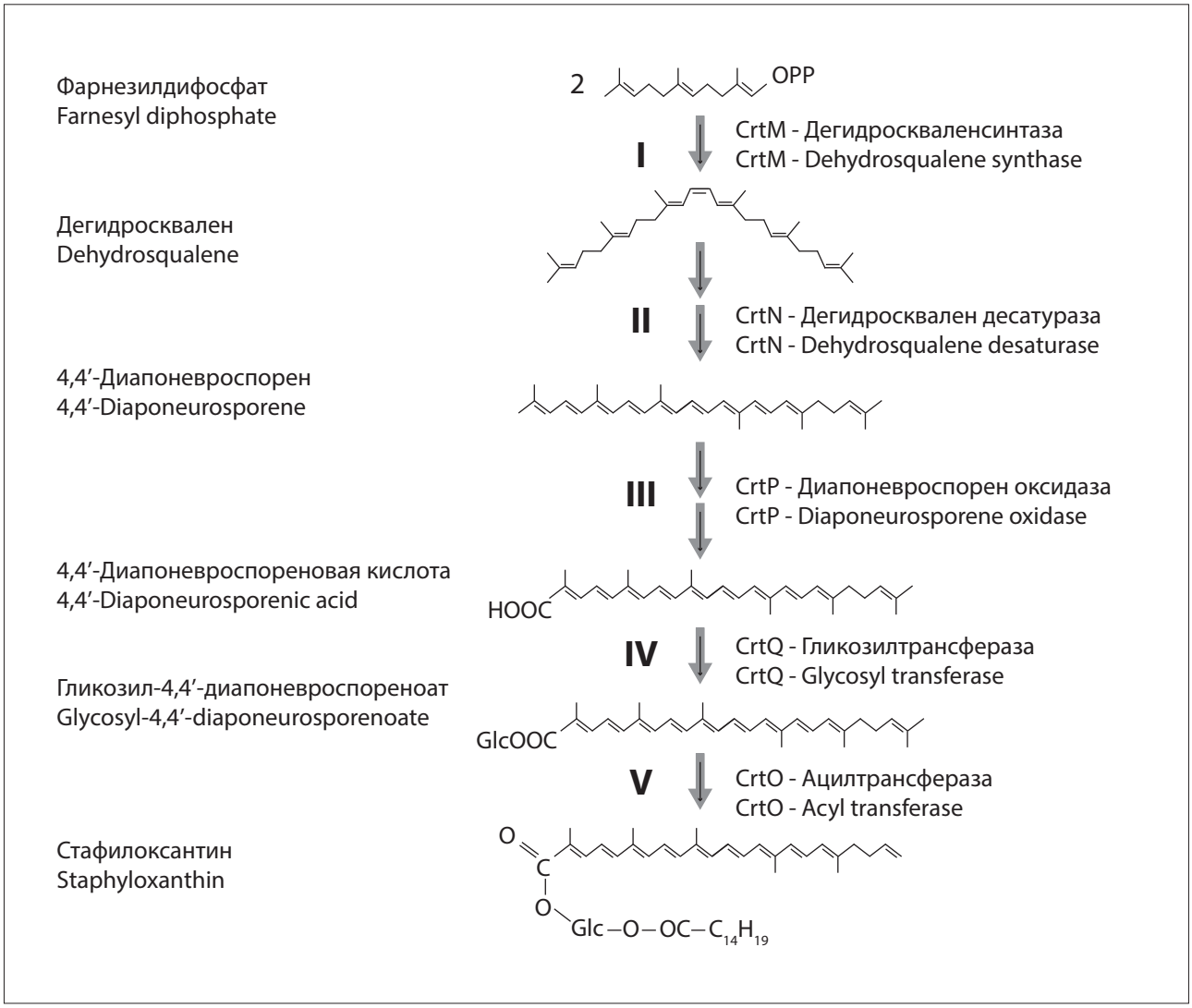

Рис. 2. Путь биосинтеза стафилоксантина (Pelz A. с соавт., 2005)
Fig. 2. Staphyloxanthin biosynthesis pathway (Pelz A. et al., 2005)

Синтез стафилоксантина является сложным биохимическим процессом. Он осуществляется в клетках бактерий и протекает с участием различных энзиматических систем, контролируемых многими генами. Постулированный путь биосинтеза стафилоксантина (рис. 2) начинается с конденсации двух молекул фарнезилдифосфата по типу «голова к голове» дегидросквален синтазой (CrtM) с образованием дегидросквалена (4,4'-диапофитоена). Дегидросквален десатураза (CrtN) дегидрирует дегидросквален с образованием первого желтого промежуточного соединения 4,4'-диапоневроспорена. Диапоневроспорен оксидаза (CrtP) представляет собой смешанную функциональную оксидазу, которая окисляет концевую метильную группу 4,4'-диапоневроспорена с образованием 4,4'-диапоневроспореновой кислоты. Гликозилтрансфераза (CrtQ) этерифицирует глюкозу в положении C_1" с карбоксильной группой 4,4'-диапоневроспореновой кислоты с получением гликозил-4,4'-диапоневроспореноата. На заключительной стадии, ацилтрансфераза (CrtO) этерифицирует глюкозу в положении C_6" с карбоксильной группой 12-метилтетрадекановой кислоты с образованием стафилоксантина [3].

Стафилоксантин может быть критическим фактором вирулентности инфекций, вызванных *S. aureus* из-за его способности нейтрализовать антисептические субстраты различных химических групп, таких как супероксид, перекись водорода, гипохлорная кислота, альдегидсодержащие препараты. Стафилоксантин позволяет бактерии детоксифицировать реактивные формы кислорода, генерируемые, главным образом, нейтрофилами. Мутантные колонии штамма *S. aureus* с отсутствием стафилоксантина быстро погибают под воздействием нейтрофилов [4].

Фотоинактивация MRSA

Традиционный подход к ликвидации раневой инфекции сводится к применению антибиотиков в комбинации с антисептическими средствами, которые стали малоэффективными из-за развития устойчивых видов бактерий. Кроме того, ограниченное проникновение лекарств в бактериальную биопленку приводит к снижению эффективности такого вида лечения. Очевидно, что растет потребность в новых инновационных подходах, ведущих к уничтожению бактерий. Одной из областей, представляющей интерес, является использование технологий обработки ран с использованием излучения коротковолнового видимого диапазона спектра.

Бактерицидное действие излучения УФ диапазона спектра хорошо известно, но даже минимальная передозировка УФ опасна для здоровой биоткани. Излучение коротковолнового видимого диапазона спектра имеет явное преимущество в связи с общепризнанными рисками повреждения кожи и развития раковых заболеваний вследствие воздействия ультрафиолета.

Противомикробное действие излучения диапазона 400-470 нм в последнее время привлекает много внимания. По данным отдельных авторов, по сравнению с фотодинамической терапией, подавление активности патогенных бактерий излучением диапазона 400-470 нм технически выполнить проще, поскольку при этом нет необходимости в использовании экзогенных фотосенсибилизаторов, доставка которых к микробам-мишеням, находящимся глубоко в примыкающей к ткани биопленке, является довольно затруднительной. Многочисленные исследования подтверждают существование терапевтического окна фиолетово-синего излучения для лечения бактериальных инфекций, где активность бактерий селективно подавляется, в то время как клетки тканей организма-хозяина сохраняют свою структуру. Механизм бактерицидного действия фиолетово-синего излучения пока не изучен, но объясняется тем, что излучение этого диапазона спектра поглощается продуцируемыми бактериями порфиринами, в результате чего повышается уровень свободных радикалов, которые могут разрушать цитоплазматические мембраны и ДНК бактерий. Порфирины имеют интенсивную полосу поглощения в видимом диапазоне спектра с максимумом около 400 нм, известной как полоса Соре или В, что является отличительной чертой порфиринового кольца и характерно для всех порфиринов, независимо от присутствующих боковых цепей. Излучение диапазона 400-470 нм также может вызывать гибель бактерий за счет его воздействия на светочувствительные пигменты, вырабатываемые бактериями [5].

Проведенные M. Maclean с соавт. исследования чувствительности штамма NCTC 4135 *S. aureus* к видимому свету с использованием высокоинтенсивной ксеноновой лампы и фильтрами LP, SP и BP продемонстрировали бактерицидный эффект, а также идентифицировали длины волн в диапазоне 400-420 нм, обладающие бактерицидным эффектом [6]. Результаты показали, что инактивация штамма NCTC 4135 *S. aureus* очевидна, и наиболее эффективной бактерицидной активностью обладает диапазон 405 нм. При облучении со световой дозой 23,5 Дж/см^2 суспензии NCTC 4135 *S. aureus* с плотностью популяции 2,0·10^5 КОЕ/мл удалось снизить популяцию на 2,4 $\log_{10}$. Хотя колонию бактерий полностью уничтожить не удалось, эксперименты с использованием узкополосных фильтров позволили оценить эффективность узкополосного света в пределах 10 нм в диапазоне 400-420 нм.

Первые исследования *in vivo* были проведены T. Dai с соавт., которые показали, что излучение фиолетового диапазона спектра быстро сокращает бактериальный груз инфекций, вызванных метициллинрезистентным золотистым стафилококком USA300 LAC (клон штамма CA-MRSA) на ранних и верифицированных стадиях [7].

В качестве источника излучения использовали светодиодную матрицу с длиной волны 415 нм. В экспериментах *in vitro* использовали суспензию USA300 LAC с плотностью популяции 10^7 КОЕ/мл, подавление бактериальной активности на 4,75 $\log_{10}$ было достигнуто после воздействия излучения со световой дозой 168,3 Дж/см^2. Морфологические и структурные изменения, индуцированные в клетках USA300 LAC после воздействия излучения на 415 нм исследовали трансмиссионным электронным микроскопом (рис. 3).

Для исследований *in vivo* авторы использовали взрослых самцов мышей инбредной линии BALB/c, в возрасте 7-8 нед и весом 16-18 г. Перед бактериальной инокуляцией мышам делали две внутрибрюшинные инъекции циклофосфамида, обладающего выраженным иммуносупрессивным действием, что уменьшило количество нейтрофилов в периферической крови, делая мышей более уязвимыми для инфекции.

Далее мышей анестезировали, кожу выбривали и истирали, используя лезвие скальпеля, удаляя при этом большую часть эпидермиса. В рану размером ~ 1,2x1,2 см каждой мыши инокулировали одну каплю подготовленной бактериальной суспензии. Одной партии мышей инокулировали в раны бактериальную суспензию USA300 LAC, содержащую 3·10^6 КОЕ/мл, другой партии – суспензию USA300 LAC, содержащую 3·10^5 КОЕ/мл. Для мониторинга в реальном масштабе времени степени заражения мышей использовалась биолюминесцентная визуализация.

Мышей, в рану которых инокулировали бактериальную суспензию, содержащую 3·10^6 КОЕ/мл, выдерживали 30 мин, после чего рану облучали светодиодной матрицей. Сокращение бактериальной люминес-

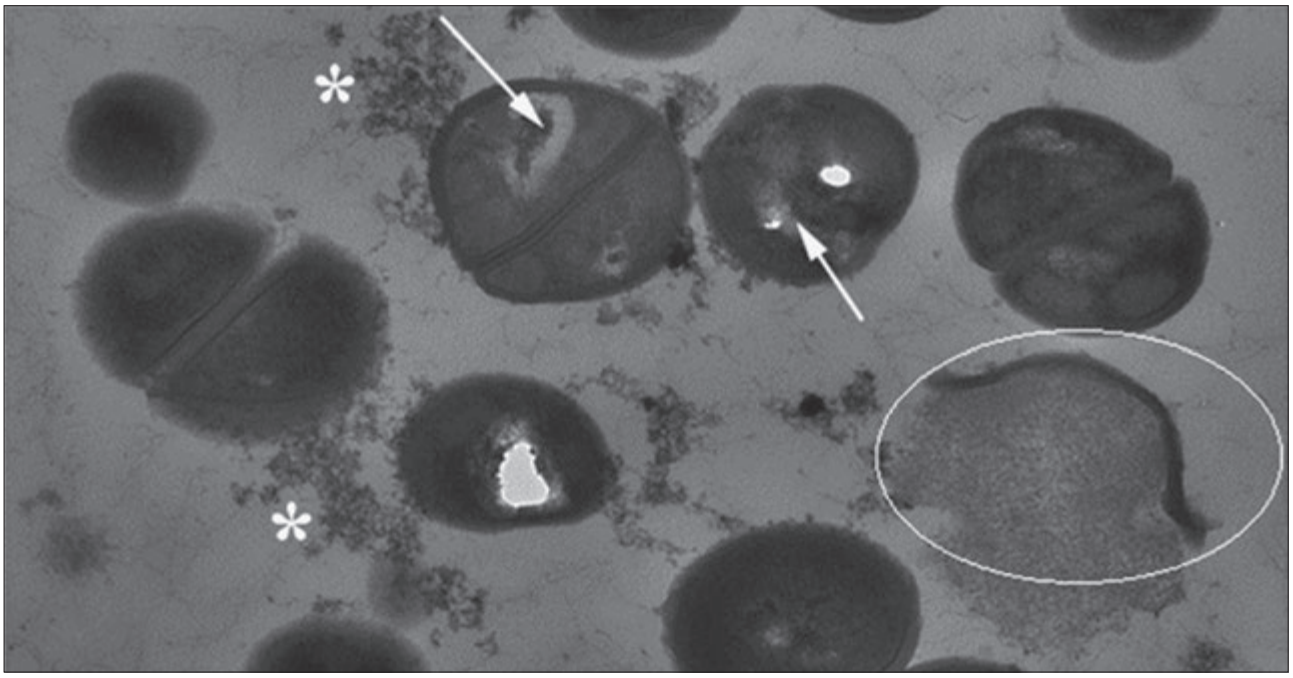

Рис. 3. Изображение, полученное с помощью трансмиссионного электронного микроскопа (TEM). Клетки MRSA: стрелки – нарушение цитоплазматического содержимого; звездочки – клеточный мусор; овал – нарушение целостности и разрушение клеточных стенок бактерий (Dai T. с соавт., 2013)
Fig. 3. Transition electron microscopy (TEM) image. MRSA cells: arrows – disruption of cytoplasmic contents; asterisks – cell debris; oval – disruption and breakage of bacterial cell wall (Dai T. et al., 2013)

ценции более, чем на 2 $\log_{10}$ было достигнуто после воздействия излучения со световой дозой 41,4 Дж/см^2 (46-минутная экспозиция при мощности излучения 15,0 мВт/см^2). Мышей, бактериальная инокуляция ран которых составляла $3{\cdot}10^5$ КОЕ/мл, перед обработкой излучением выдерживали в течение 24 ч. Для сокращения бактериальной инфекции более чем на 2 $\log_{10}$ потребовалась световая доза облучения 108 Дж/см^2 (экспозиция в течение 120 мин при мощности излучения 15,0 мВт/см^2). Поскольку в ранах обеих групп мышей инфекция полностью не была устранена, бактериальный рост, отмеченный рецидивом бактериальной люминесценции, наблюдался в ранах через 24 ч после светотерапии.

Интересным результатом настоящего исследования является то, что фотоинактивация бактериальной популяции *in vivo* была более эффективной, чем инактивация бактериальной популяции *in vitro*. Это различие T. Dai с соавт. связывают с окружающей средой *in vivo*, которая, возможно, благоприятствует метаболизму бактериальных клеток и способствует биосинтезу внутриклеточных порфиринов, делая бактерии более светочувствительными.

Было также установлено, что раны, обработанные через 24 ч после бактериальной инокуляции, были более устойчивыми к фототерапии, чем обработанные через 30 мин после инокуляции инфекции, поскольку бактериальные клетки могли распространиться в более глубокие слои ткани, такие как дерма, где светопроницаемость была ослаблена.

Чтобы предотвратить рост бактерий, особенно у нейтропенических мышей (используемых для имитации пациентов с ослабленным иммунитетом), где отсутствует защита хозяина, более длинная обработка раны излучением требуется даже после того, как бактериальная люминесценция почти полностью устранена. Другим вариантом предотвращения повторного роста может быть синергетическая комбинация антибиотиков с фототерапией.

Возможность подавления роста MRSA на 100% *in vitro* была продемонстрирована V. Bumah с соавт. [8]. Они культивировали бактериальные суспензии, содержащие $5{\cdot}10^6$ КОЕ/мл и $7{\cdot}10^6$ КОЕ/мл штамма USA300 MRSA, а затем культуральные планшеты облучали светодиодными матрицами с длиной волны 405 нм и 470 нм.

При популяции колонии бактерий $5{\cdot}10^6$ КОЕ/мл для 100% подавления роста понадобилось двойное облучение со световой дозой 60 Дж/см^2 как на 405 нм, так и на 470 нм.

Популяция колонии бактерий $7{\cdot}10^6$ КОЕ/мл требовала нескольких или более высоких световых доз облучения для подавления MRSA. Наилучший результат дало тройное облучение со световой дозой 45-60 Дж/см^2 независимо от длины волны, но оно не привело к полному подавлению бактериального роста. 100%-

ное подавление роста было достигнуто при облучении на 470 нм со световой дозой 220 Дж/см^2. Полностью подавить рост бактерий излучением на 405 нм удалось только двукратным облучением со световой дозой 220 Дж/см^2, повторяемым с интервалом 6 ч.

Анализ эффективности использования излучения диапазона 400-470 нм для инактивации штаммов бактерий MRSA

Безусловно, вышеперечисленные исследования доказывают перспективность использования излучения диапазона 400-470 нм для инактивации штаммов MRSA.

Однако во всех исследованиях авторы связывают антибактериальное действие излучения с присутствием в *S. aureus* эндогенных порфиринов.

Бактерии *S. aureus* вырабатывают порфирины: копропорфирин (главным образом, тип III) в среду и уропорфирин (главным образом, тип I) внутри клеток [9]. Наиболее интенсивная полоса поглощения перечисленных порфиринов находится в диапазоне 350-420 нм с максимумами на 385 и 400 нм (рис. 4).

Если в инактивации MRSA участвуют порфирины, то, исходя из спектров поглощения порфиринов, самым эффективным должно быть излучение на 405 нм, затем излучение на 415 нм. Однако V. Bumah с соавт. в своих исследованиях показали, что синее излучение на 470 нм, слабо поглощаемое порфиринами, эффективнее инактивирует MRSA, чем фиолетовое излучение на 405 нм и 415 нм.

Спектр поглощения стафилоксантина (рис. 5) имеет широкую полосу поглощения от 350 до 550 нм с максимумами на 463 нм и 490 нм. Излучение на 405 нм и 415 нм попадает в край полосы поглощения, в то время как излучение на 470 нм поглощается стафилоксантином наиболее эффективно.

Поэтому логично предположить, что в инактивации MRSA в качестве основного фоторецептора выступает именно стафилоксантин, поскольку прослеживается линейная связь между поглощенной стафилоксантином световой дозой излучения на 470 нм и эффективностью воздействия – снижением популяции колонии бактерий MRSA.

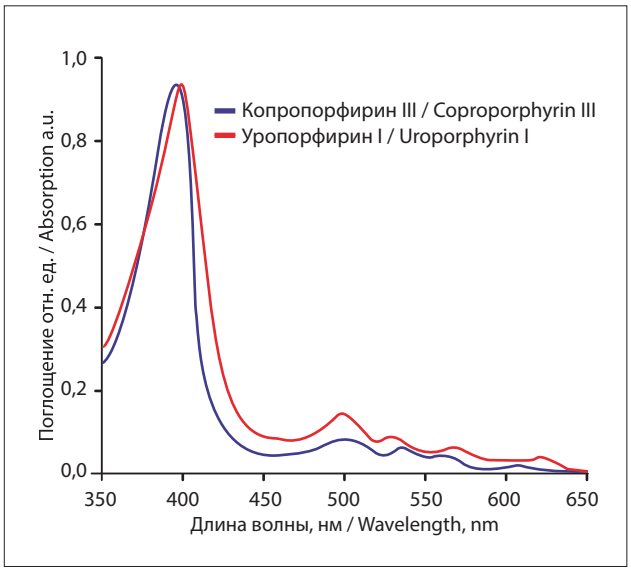

Рис. 4. Спектры поглощения порфиринов (De la Fuente R. с соавт., 1986)
Fig. 4. Porphyrins absorption spectra (De la Fuente R. et al., 1986)

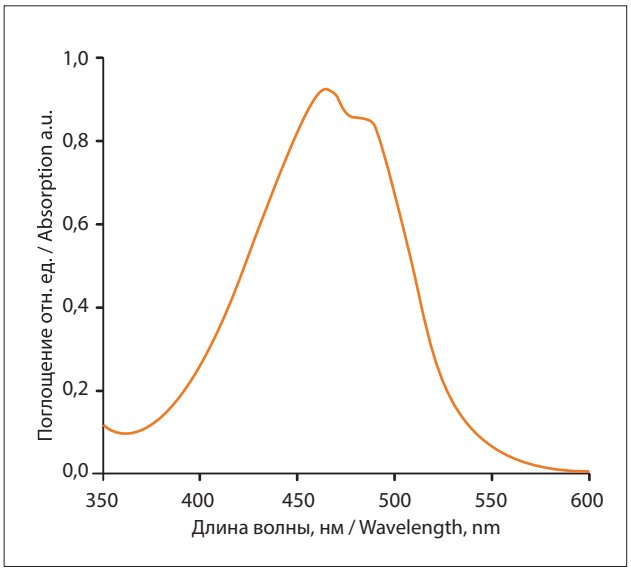

Рис. 5. Спектр поглощения стафилоксантина (Kim S.H., Lee P.C., 2012)
Fig. 5. Staphyloxanthin absorption spectrum (Kim S.H., Lee P.C., 2012)

T. Dai с соавт. облучали популяцию колонии бактерий 10^7 КОЕ/мл светодиодной матрицей на 415 нм. Подавление бактериальной активности на 4,75 $\log_{10}$ было достигнуто после воздействия излучения со световой дозой 168,3 Дж/см^2.

Исследования V. Bumah с соавт. были более успешны: популяцию колонии бактерий $7{\cdot}10^6$ КОЕ/мл удалось полностью инактивировать облучением на 470 нм со световой дозой 220 Дж/см^2 и только двукратным облучением с той же световой дозой излучения на 405 нм, повторяемой с интервалом 6 ч.

Если же в инактивации MRSA участвуют и продуцируемые бактериями порфирины, то воздействие сочетанного излучения на 385-400 нм и 460-470 нм будет много эффективнее при более низких дозах облучения.

Обзор литературных источников позволяет сделать вывод о перспективности использования излучения диапазона 400-470 нм для инактивации MRSA и необходимости продолжения работ по оптимизации параметров излучения фиолетово-синего диапазона спектра для успешной инактивации MRSA при более низких дозах облучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оценка экономического ущерба, наносимого вакциноуправляемыми болезнями: Отчет о НИР ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. – М., – 2016. – 19 с.
2. Лазикова Г.Ф., Мельникова А.А., Фролова Н.В. Метициллинрезистентные стафилококки – возбудители внутрибольничных инфекций: идентификация и генотипирование: методические рекомендации / М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора – 2006. – 43 с.
3. Pelz A., Wieland K.P., Putzbach K., et al. Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from Staphylococcus aureus // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280(37). – P. 32493-32498.
4. Liu G.Y., Essex A., Buchanan J.T., et al. Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity // J. Exp. Med. – 2005. – Vol. 202(2). – P. 209-215.
5. Vatansever F., Ferraresi C., de Sousa M.V., et al. Can biowarfare agents be defeated with light? // Virulence. – 2013. – Vol. 4(8). – P. 796-825.
6. Maclean M., MacGregor S.J., Anderson J.G., Woolsey G. High-intensity narrow-spectrum light inactivation and wavelength sensitivity of Staphylococcus aureus // FEMS Microbiol. Lett. – 2008. – Vol. 285(2). – P. 227-232.
7. Dai T., Gupta A., Huang Y.Y., et al. Blue Light Eliminates Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Infected Mouse Skin Abrasions // Photomed. Laser Surg. – 2013. – Vol. 31(11). – P. 531-538.
8. Bumah V.V., Masson-Meyers D.S., Cashin S., Enwemeka C.S. Optimization of the antimicrobial effect of blue light on methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in vitro // Lasers Surg. Med. – 2015. – Vol. 47(3). – P. 266-272.
9. De la Fuente R., Schleifer K.H., Götz F., Köst H.-P. Accumulation of porphyrins and pyrrole pigments by Staphylococcus aureus ssp. anaerobius and its aerobic mutant // FEMS Microbiol. Lett. – 1986. – Vol. 35. – P. 183-188..

REFERENCES

1. *Otsenka ekonomicheskogo ushcherba, nanosimogo vaktsinoupravlyaemymi boleznyami. Otchet o NIR FBUN TsNII Epidemiologii Rospotrebnadzora* [Assessment of the economic costs caused by vaccines-controlled diseases. Research report Federal Budget Institution of Science "Central Research Institute of Epidemiology" of The Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance]. Moscow, 2016. 19 p. (in Russian)
2. Lazikova G.F., Mel'nikova A.A., Frolova N.V. *Metitsillinrezistentnye stafilokokki – vozbuditeli vnutribol'nichnykh infektsii: identifikatsiya i genotipirovanie. Metodicheskie rekomendatsii* [Methicillin-Resistant Staphylococci – healthcare-associated infections agents: identification and genotyping: methodological recommendations]. Moscow, Federal'nyi tsentr gigieny i epidemiologii Rospotrebnadzora, 2006. 43 p. (in Russian)
3. Pelz A., Wieland K.P., Putzbach K., Hentschel P., Albert K., Götz F. Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from Staphylococcus aureus, *J. Biol. Chem.*, 2005, Vol. 280(37), pp. 32493-32498.
4. Liu G.Y., Essex A., Buchanan J.T., Datta V., Hoffman H.M., Bastian J.F., Fierer J., Nizet V. Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity, *J. Exp. Med.*, 2005, Vol. 202(2), pp. 209-215.
5. Vatansever F., Ferraresi C., de Sousa M.V., Yin R., Rineh A., Sharma S.K., Hamblin M.R. Can biowarfare agents be defeated with light?, *Virulence*, 2013, Vol. 4(8), pp. 796-825.
6. Maclean M., MacGregor S.J., Anderson J.G., Woolsey G. High-intensity narrow-spectrum light inactivation and wavelength sensitivity of Staphylococcus aureus, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2008, Vol. 285(2), pp. 227-232.
7. Dai T., Gupta A., Huang Y.Y., Sherwood M.E., Murray C.K., Vrahas M.S., Kielian T., Hamblin M.R. Blue Light Eliminates Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Infected Mouse Skin Abrasions, *Photomed. Laser Surg.*, 2013, Vol. 31(11), pp. 531-538.
8. Bumah V.V., Masson-Meyers D.S., Cashin S., Enwemeka C.S. Optimization of the antimicrobial effect of blue light on methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in vitro, *Lasers Surg. Med.*, 2015, Vol. 47(3), pp. 266-272.
9. De la Fuente R., Schleifer K.H., Götz F., Köst H.-P. Accumulation of porphyrins and pyrrole pigments by Staphylococcus aureus ssp. anaerobius and its aerobic mutant, *FEMS Microbiol. Lett.*, 1986, Vol. 35, pp. 183-188.