Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2024. Т. 24, вып. 3. С. 216–227
Izvestiya of Saratov University. Physics, 2024, vol. 24, iss. 3, pp. 216–227
https://fizika.sgu.ru https://doi.org/10.18500/1817-3020-2024-24-3-216-227, EDN: IELOFE

Научная статья
УДК 577.344.3:57.033

Влияние штаммовых различий на устойчивость *Staphylococcus aureus* к фотодинамическому воздействию с использованием мезо-замещенных катионных порфиринов

Е. С. Тучина[1]✉, М. В. Корченова[1], А. А. Закоян[2], В. В. Тучин[1,3]

[1]Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83
[2]Научно-производственный центр «Армбиотехнология» НАН РА, Армения, 0056, г. Ереван, ул. Гюрджяна, д. 14
[3]Институт биохимии им. А. Н. Баха, Федеральный исследовательский центр РАН «Фундаментальные основы биотехнологии», Россия, 119071, г. Москва, Ленинский просп., д. 33

Тучина Елена Святославна, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биохимии и биофизики, kliany@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0003-4498-2846, AuthorID: 609310
Корченова Мария Владимировна, аспирант кафедры биохимии и биофизики, masha.korchenova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5398-4045, AuthorID: 1135847
Закоян Анна Артуровна, научный сотрудник, ann.zakoyan@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-2360-3539
Тучин Валерий Викторович, член-корреспондент РАН, доктор физико-математических наук, профессор, [1]заведующий кафедрой оптики и биофотоники Института физики, [3]ведущий научный сотрудник, tuchinvv@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7479-2694, AuthorID: 36048347000

Аннотация. В настоящей работе с целью количественного определения межштаммовых различий в реакциях бактериальных клеток на фотодинамическое воздействие было проведено исследование эффективности пиридилпорфириновых соединений в сочетании с светодиодным излучением в отношении трех штаммов *Staphylococcus aureus*.

Наибольшую чувствительность к действию излучения с длиной волны 405 нм, полушириной полосы 30 нм и плотностью мощности 80 мВт/см^2 продемонстрировали клетки клинического метициллин-резистентного штамма *S. aureus* 11, активированные пиридилпорфиринами. Показано, что при использовании фотосенсибилизаторов в концентрациях 0.01–0.03 мг/мл после 30 мин облучения снижение численности клеток данного штамма происходит на величину 4.8 lgKOE/мл. Установлено, что активность каталазы в клетках метициллин-резистентного штамма *S. aureus* 11 на 17% ниже по сравнению с активностью каталазы в клетках стандартного штамма *S. aureus* 209 P. Это косвенно свидетельствует о большей чувствительности штамма *S. aureus* 11 к активным формам кислорода, образующимся в ходе антимикробного фотодинамического воздействия.

Полученные сведения имеют важное прикладное значение, поскольку показывают, что чувствительность к фотодинамическому воздействию клеток разных штаммов золотистого стафилококка различается в пределах 1.7–2.3 lgKOE/мл.

Ключевые слова: антибактериальная фотодинамическая терапия, светодиодное излучение, 405 нм, пиридилпорфирины, *Staphylococcus aureus*

Благодарности: Авторы выражают признательность Национальной Академии Наук Республики Армения за предоставленную помощь в рамках «Программы поддержки молодых ученых» (проект No 22-YSIP-010), а также ведущему сотруднику лаборатории биоинженерии Института биохимии им. Г. Х. Буниатяна НАН Армении (Ереван, Армения) Г. В. Гюльханданяну за предоставленные образцы пиридилпорфиринов; сотрудникам кафедры биохимии и биофизики СГУ им. Н. Г. Чернышевского (Саратов, Россия) за содействие при проведении экспериментов; сотруднику кафедры оптики и биофотоники СГУ им Н. Г. Чернышевского (Саратов, Россия) Л. Е. Долотову за помощь при проведении измерений и настройке оборудования.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (проект № 13.2251.21.0009 от 29.09.2021 (договор № 075-15-2021-942)).

Для цитирования: *Тучина Е. С., Корченова М. В., Закоян А. А., Тучин В. В.* Влияние штаммовых различий на устойчивость *Staphylococcus aureus* к фотодинамическому воздействию с использованием мезо-замещенных катионных порфиринов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2024. Т. 24, вып. 3. С. 216–227. https://doi.org/10.18500/1817-3020-2024-24-3-216-227, EDN: IELOFE

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

© Тучина Е. С., Корченова М. В., Закоян А. А., Тучин В. В., 2024

Article

Influence of strain differences on resistance of *Staphylococcus aureus* to photodynamic action using meso-substituted cationic porphyrins

E. S. Tuchina [1]✉, M. V. Korchenova[1], A. A. Zakoyan[2], V. V. Tuchin[1,3]

[1]Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia
[2]Research and Production Center "Armbiotechnology", 14 Gyurjyan St., Yerevan 0056, Armenia
[3]A. N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences "Fundamentals of Biotechnology", 33 Leninsky Prospekt, 119071 Moscow, Russia

Elena S. Tuchina, kliany@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0003-4498-2846, AuthorID: 609310
Maria V. Korchenova, masha.korchenova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5398-4045, AuthorID: 1135847
Anna A. Zakoyan, ann.zakoyan@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-2360-3539
Valery V. Tuchin, tuchinvv@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7479-2694, AuthorID: 36048347000

Abstract. ***Background and Objectives***. Infections associated with antibiotic-resistant strains of microorganisms, including *Staphylococcus aureus*, pose the greatest danger in nasopharyngeal diseases and post-surgical complications. A number of studies have shown that there are interstrain differences in the sensitivity of clinically significant microorganisms to the damaging effects of antimicrobial photodynamic therapy. In this work, in order to quantify interstrain differences in the responses of bacterial cells to photodynamic exposure, we studied the effectiveness of pyridyl porphyrin compounds in combination with LED radiation against three strains of *Staphylococcus aureus*. ***Materials and Methods***. The objects of the study were: methicillin-sensitive museum strain *S. aureus* 209 P, methicillin-sensitive clinical strain *S. aureus* 5, methicillin-resistant clinical strain *S. aureus* 11. A LED with a maximum emission spectrum at a wavelength of λ = 405 nm and a half-width of 30 nm at a level of 0.1 of the maximum intensity, a power of 1.8 W and an integrated power density of 80 mW/cm^2 was used as a radiation source. In all experiments, the radiation mode was continuous. The irradiation time varied from 5 to 30 min (irradiation doses from 24 to 144 J/cm^2, respectively). Water-soluble meso-substituted cationic pyridylporphyrins were used as photosensitizers: meso-tetrakis(N-(2'-hydroxyethyl)pyridinium-4-yl)porphyrin chloride (H2TOE4PyP) and its Zn(II) derivatives – zinc-meso-tetrakis [4-N -(2'-oxyethyl) pyridyl] porphyrin (Zn-TOE4PyP), zinc-meso-tetrakis [3-N-butyl pyridyl] porphyrin (Zn-TBut3PyP). To assess the level of oxidative stress and the tolerance of microorganisms to it, two different methods were used: 1) a method for determining the minimum inhibitory concentration of hydrogen peroxide, and 2) a method for determining the activity of bacterial catalase. ***Results and Discussion***. The greatest sensitivity to the action of LED radiation was demonstrated by cells of the clinical methicillin-resistant strain *S. aureus* 11, activated by pyridyl porphyrins. It has been shown that when photosensitizers are used in concentrations of 0.01–0.03 mg/ml after 30 minutes of irradiation, a decrease in the number of cells of this strain occurs by 4.8 lgCFU/ml. It has been found that the activity of catalase in the cells of the methicillin-resistant strain *S. aureus* 11 is 17% lower compared to the activity of catalase in the cells of the standard strain *S. aureus* 209 P. This indirectly indicates the greater sensitivity of the strain *S. aureus* 11 to reactive oxygen species, formed during antimicrobial photodynamic exposure. ***Conclusion***. It has been found that the differences in population reduction between strains range from 1.7 to 2.3 lgCFU/ml at the maximum irradiation dose, depending on the pyridylporphyrin modification used. It has been shown that the antibiotic-resistant strain *S. aureus* 11, which is highly sensitive to the action of ROS in the form of hydrogen peroxide and incapable of active production of catalase, is most susceptible to the complex action of LED radiation (405 nm) in combination with photosensitizers in the form of zinc- meso-tetrakis[3-N-butyl pyridyl]porphyrin (Zn-TBut3PyP).

Keywords: antibacterial photodynamic therapy, LED radiation, 405 nm, pyridyl porphyrins, Staphylococcus aureus

Acknowledgments: The authors express their gratitude to the National Academy of Sciences of the Republic of Armenia for the assistance provided within the framework of the Young Scientists Support Program (project No. 22-YSIP-010), as well as to the leading employee of the Bioengineering Laboratory of the G. Kh. Buniatyan Institute of Biochemistry of the NAS of Armenia (Yerevan, Armenia) G. V. Gyulhandanyan for providing the samples of pyridyl porphyrins; to the staff of the Department of Biochemistry and Biophysics of Saratov State University named after N. G. Chernyshevsky (Saratov, Russia) for assistance in conducting the experiments; to the employee of the Department of Optics and Biophotonics of Saratov State University named after N. G. Chernyshevsky (Saratov, Russia) L. E. Dolotov for assistance in conducting measurements and setting up the equipment.

Funding Sources. The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project No. 13.2251.21.0009 dated September 29, 2021 (Agreement No. 075-15-2021-942).

For citation: Tuchina E. S. , Korchenova M. V., Zakoyan A. A., Tuchin V. V. Influence of strain differences on resistance of *Staphylococcus aureus* to photodynamic action using meso-substituted cationic porphyrins. *Izvestiya of Saratov University. Physics*, 2024, vol. 24, iss. 3, pp. 216–227 (in Russian). https://doi.org/10.18500/1817-3020-2024-24-3-216-227, EDN: IELOFE

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Появление бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, в том числе таких возбудителей внутрибольничных инфекций, как *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aueruginosa*, *Acinetobacter baumannii* [1, 2], вызывает необходимость поиска альтернативных методов антибактериального воздействия. Одним из таких методов является антибактериальная фотодинамическая терапия (АФДТ), основанная на подавлении роста и последующей гибели окрашенных фотосенсибилизаторами (ФС) бактериальных клеток при действии оптического излучения соответствующей длины волны [3, 4].

Интерес к АФДТ как к методу лечения инфекционных заболеваний значительно возрос за последнее десятилетие [5–13]. Его применимость установлена в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов и простейших. Хорошо развитая химия тетрапиррольных соединений делает их универсальными стартовыми «платформами» для создания новых типов ФС [8, 10, 12]. Использование порфириновых соединений и их производных для АФДТ имеет ряд преимуществ: 1) они растворимы в воде и биологических жидкостях, 2) амфифильны и обладают способностью к многочисленным химическим модификациям, 3) характеризуются высоким квантовым выходом генерации синглетного кислорода (более 0.70) и высоким коэффициентом однофотонного поглощения ($\approx 5 \cdot 10^5$ М$^{-1}$·см$^{-1}$), 4) обладают относительно низкой токсичностью *in vitro* и *in vivo*, 5) их можно в разумные сроки вывести из организма и быстро удалить с поверхности кожи, чтобы избежать светочувствительной реакции, 6) они имеют высокое сродство с клеточными компонентами, мембранами, белками и ДНК [10–13].

В течение нескольких десятилетий производные порфирина с положительным зарядом использовались для повышения фоточувствительности бактериальных клеток. Благодаря электростатическому взаимодействию между ФС и мембраной бактериальной клетки возрастает количество связанных с клеткой молекул ФС, что и обеспечивает более выраженный фотодинамический эффект [5, 8, 10–13]. Было установлено, что заряд ФС является основным фактором, определяющим эффективность фотосенсибилизации [12, 13]. Катионные ФС могут эффективно взаимодействовать с отрицательно заряженными компонентами клеточной стенки, что приводит к лучшей фотоинактивации по сравнению с анионными или нейтрально заряженными соединениями. Число зарядов и их распределение в макроцикле порфиринов играют важную роль в антимикробной активности: наиболее эффективными ФС являются порфирины, содержащие три или четыре положительных заряда в молекуле [6, 10, 13]. При этом они могут быть использованы в очень низких концентрациях ($\sim 1 \cdot 10^{-6}$ М). В проведенном ранее исследовании было установлено, что концентрационный порог антимикробной активности катионных мезо-замещенных пиридилпорфиринов не выше 10^{-8} М [14].

В настоящее время инфекции, ассоциированные с антибиотико-резистентными штаммами микроорганизмов, в том числе *Staphylococcus aureus*, представляют наибольшую опасность при заболеваниях ЛОР-органов и при постхирургических осложнениях. В ряде исследований показано, что имеются межштаммовые различия в чувствительности клинически значимых микроорганизмов к повреждающему действию при АФДТ [15–21]. Сведения о чувствительности 80 различных изолятов *S. aureus* к комбинированному действию красного (624 нм) излучения и протопорфирина представлены в работе Grinholc с соавторами [15]. Близкие результаты описаны в статье Lipovsky [16], где приводится анализ изменения продукции эндогенных порфиринов и каротиноидов в бактериальных клетках под действием белого света (400–800 нм), а также их толерантности к перекиси водорода. Gulías с соавторами с использованием красного светодиодного излучения (625 нм) и красителя метиленового синего с концентрацией 31 μM [20] продемонстрировали межштаммовые различия в чувствительности микробной флоры к АФДТ для нескольких штаммов *Escherichia coli*.

В наших предыдущих исследованиях для двух штаммов *S. aureus*, различающихся своей устойчивостью к действию антибиотиков, были показаны различия в реакциях на фотодинамическое воздействие (ФДВ) [14, 22]. Однако, как следует из исследований, представленных в работах [14, 22], механизм устойчивости к антибиотикам не связан (или связан весьма опосредовано) с механизмом устойчивости к ФДВ. В связи с этим представляло интерес количественно изучить различия в реакциях трех штаммов *S. aureus* к ФДВ с использованием достаточно хорошо изученных катионных мезо-замещенных порфириновых соединений в качестве ФС, основываясь на показателях жизнеспособности бактериальных клеток в результате АФДТ и оксидативного стресса в контрольном эксперименте.

Материалы и методы

Объекты исследования

Объектами исследования служили: метициллин-чувствительный музейный штамм *S. aureus* 209 P (ГИСК им. Л. А. Трасевича, г. Москва), метициллин-чувствительный клинический штамм *S. aureus* 5, метициллин-устойчивый клинический штамм *S. aureus* 11. Все бактериальные штаммы выращивали при температуре 37°C на универсальных плотных (ГРМ-агар, г. Оболенск) и жидких (ГРМ-бульон,

пептон основной, г. Оболенск) питательных средах. Использовали также универсальные среды, обогащенные NaCl (5–7%) для повышения селективности роста используемых культур.

Источник и параметры оптического излучения

В качестве источника света использовали светодиодный источник излучения с максимумом спектра испускания на длине волны $\lambda = 405$ нм и полушириной полосы 30 нм по уровню 0.1 от максимума интенсивности, мощностью 1.8 Вт и интегральной плотностью мощности 80 мВт/см^2. Во всех экспериментах режим излучения был непрерывным. Время облучения варьировали от 5 до 30 мин (дозы облучения от 24 до 144 Дж/см^2 соответственно). Площадь пятна излучения составляла 22.5 см^2, диаметр пятна 5.3 см, площадь одной лунки планшета для облучения 0.8 см^2, единовременно облучались 20 лунок.

Пиридилпорфирины и их фотофизические характеристики

В качестве фотосенсибилизаторов использовали следующие водорастворимые мезо-замещенные катионные пиридилпорфирины: мезо-тетракис(N-(2’-гидроксиэтил)пиридиний-4-ил)-порфиринхлорид (H_2TOE4PyP) и его Zn(II) производные – цинк-мезо-тетракис [4-N-(2’-оксиэтил)пиридил] порфирин (Zn-TOE4PyP), цинк-мезо-тетракис [3-N-бутил пиридил] порфирин (Zn-TBut3PyP) (рис. 1).

Физико-химические свойства используемых веществ подробно охарактеризованы в предыдущих исследованиях [23, 24] и представлены в табл. 1.

Постановка эксперимента

При постановке опытов использовали бактериальную культуру, предварительно выращенную в течение 24 ч при температуре 37°С на скошенном агаре. Бактериальную взвесь готовили в стерильном фосфатно-солевом буфере (PBS) методом серийных разведений, получая рабочую концентрацию 10^3 микробных клеток (м.к.) в 1 мл. Для обработки бактериальных клеток использовали растворы пиридилпорфиринов (конечные концентрации пиридилпорфиринов во взвесях составляли 0.01; 0.03; 0.07; 0.1 мкг/мл) в PBS, время предварительной инкубации перед началом облучения составляло 15 мин. Бактериальные суспензии в чистом PBS и в смеси с используемым пиридилпорфирином в нужной концентрации помещали в лунки черных полистирольных планшетов (Greiner Bio One, Австрия). Источник излучения размещали над планшетом на расстоянии 2.5 см, облучение проводили в течение 5, 10, 15 и 30 мин. Контрольные (необлученные) и подвергнутые воздействию излучения бактери-

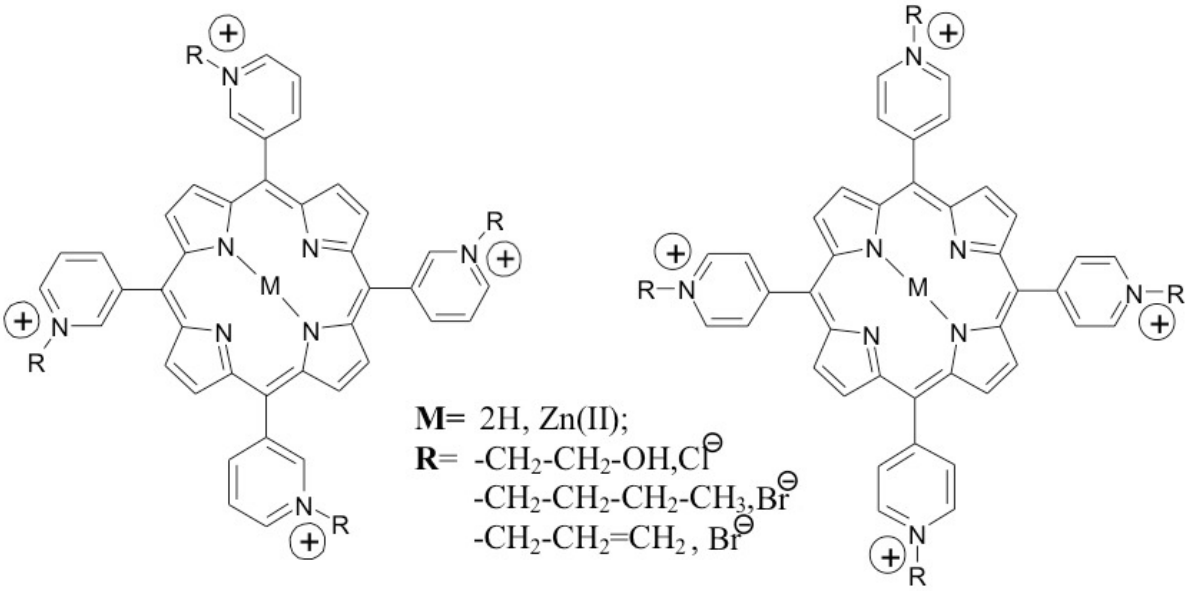

Рис. 1. Структурные формулы используемых пиридилпорфиринов [24]
Fig. 1. Structural formulas of the pyridyl porphyrins used [24]

Таблица 1 / Table 1

Физико-химические характеристики мезо-замещенных пиридилпорфиринов [23, 24]

Physicochemical characteristics of meso-substituted pyridyl porphyrins [23, 24]

Вещество / Substance	Максимум поглощения, λ, нм / Absorption maximum, λ, nm	Коэффициент молярной экстинкции, ε, $М^{-1}·см^{-1}$/ Molar extinction coefficient, ε, $M^{-1}·cm^{-1}$	Время флуоресценции, τ_s, нс / Fluorescence time τ_s, ns	Максимум флуоресценции, λ, нм / Максимум возбуждения, λ, нм / Fluorescence maximum, λ, nm / Excitation maximum, λ, nm	Квантовый выход, $Ф_Δ$ / Quantum efficiency, ФΔ
H_2TOE4PyP	423.5	$1.823·10^5$	4.3	710.0 / 424.0	0.77
Zn-TOE4PyP	439.4	$1.469·10^5$	1.5	637.0 / 440.0	0.85
Zn-TBut3PyP	429.5	$1.958·10^5$	1.3	610.0; 662.0 / 424.0	0.97

альные суспензии в объеме 20 мкл помещали в лунки плоскодонного полистирольного планшета, содержащие 100 мкл 0.5% пептона для дальнейшей инкубации.

Учет количественных показателей жизнеспособности бактерий

Учет результатов осуществляли путем измерения оптической плотности бактериальных суспензий на планшетном фотометре iMark (Bio Rad, США) на длине волны 660 нм через 24 ч после инкубации при 37°C по стандартной методике [25]. Число выживших бактериальных клеток (численность) выражали в единицах lgКОЕ/мл = = $\log 10^n$, где 10^n – число клеток в 1 мл среды, вычисленное на основании данных калибровочной кривой для каждого исследуемого штамма, а КОЕ – колониеобразующие единицы.

Для контроля чистоты культуры и динамики изменения численности проводили параллельный высев из лунок планшета на чашки Петри с ГРМ-агаром и последующим подсчетом числа КОЕ.

Оценка чувствительности бактерий к оксидативному стрессу

Для оценки уровня оксидативного стресса и толерантности к нему микроорганизмов в настоящее время существует ряд биохимических и молекулярно-биологических методик [15, 16]. На данном этапе исследования авторы статьи использовали: 1) метод определения минимальной ингибирующей концентрации пероксида водорода, 2) метод определения активности бактериальной каталазы, что в комплексе позволяет оценить чувствительность бактериальных клеток к долгоживущим активным формам кислорода (АФК).

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) H_2O_2 определяли методом двукратных последовательных разведений в модификации Lipovsky с соавторами [16], при этом для засева использовали бактериальную суспензию с концентрацией 10^7 м.к./мл.

Уровень каталазной активности в клетках трех исследуемых штаммов определяли фотометрически по методике О. В. Бухарина с соавт. [26]. Каталазную активность (отн. ед.) оценивали для необработанных пиридилпорфиринами культур, необлученных и обработанных излучением с длиной волны 405 нм в течение 15 мин.

Статистическая обработка данных

Эксперименты проводились в пятикратной повторности, данные обрабатывали с помощью пакета программ Statistica base (StatSoft, США). Достоверность отличий определяли с использованием коэффициента Стьюдента. Выборки считались достоверно отличными при $p < 0.05$. Применение коэффициента Стьюдента обусловлено принадлежностью наблюдаемых выборок нормальной генеральной совокупности. Проверку осуществляли методом Шапиро – Уилка по стандартным методикам [27]. Корреляционный анализ проводили по методу Пирсона, используя для сравнения данные минимальной ингибирующей концентрации пероксида водорода и процентного содержания каталазы в клетках микроорганизмов после 15 мин облучения.

Результаты и их обсуждение

Показано, что само светодиодное излучение (405 нм) незначительно влияет на численность всех исследованных штаммов. Снижение численности происходило в пределах 1 lgКОЕ/мл как для

стандартного штамма *S. aureus* 209 P, так и для двух клинических штаммов, что можно связать с примерно одинаковым содержанием эндогенных порфиринов в бактериальных клетках.

Выраженные различия между штаммами проявлялись при использовании в качестве ФС пиридилпорфиринов. Для *S. aureus* 209 P снижение численности клеток не опускалось ниже значения 3.4 lgKOE/мл для всех исследуемых концентраций. Облучение светом культуры в течение 5 мин в присутствии порфиринов вызывало снижение численности на 0.2–0.5 lgKOE/мл для концентрации 0.01 мкг/мл и на 1.1–1.3 для концентрации 0.1 мкг/мл. После облучения в течение 10–15 мин было отмечено сокращение числа клеток еще на 1.3–1.5 lgKOE/мл для концентрации 0.01 мкг/мл и на 1.5–1.9 lgKOE/мл для концентрации 0.1 мкг/мл. Повышение экспозиции от 15 до 30 мин давало небольшое увеличение эффективности ФДВ, а именно на 0.5–0.9 lgKOE/мл для H_2TOE4PyP, на 1.3–1.6 lgKOE/мл для Zn-TOE4PyP и на 1.3–1.7 lgKOE/мл для Zn-TBut3PyP для всех концентраций.

При использовании различных концентраций ФС установлено также, что при световых экспозициях 5–15 мин для концентрации 0.03 мкг/мл снижение численности достоверно не отличалось от показателей, полученных при использовании более высокой концентрации 0.1 мкг/мл; небольшое (на 0.7 lgKOE/мл) снижение численности бактерий было отмечено для концентрации 0.1 мкг/мл после 30 мин воздействия (рис. 2).

Клинический штамм *S. aureus* 5 демонстрировал сходную чувствительность к комплексному действию излучения и пиридилпорфиринов. При использовании H_2TOE4PyP и световой экспозиции от 5 до 30 мин снижение численности происходило на 1.8–3.1 lgKOE/мл, при этом наилучший результат снова был отмечен при использовании концентрации ФС 0.03 мкг/мл. При обработке клеток ФС Zn-TOE4PyP показано, что снижение численности доходит до 2.2 lgKOE/мл после 30 мин воздействия, существенно не отличаясь при использовании других концентраций ФС. ФС Zn-TBut3PyP по эффективности для данного штамма превышал Zn-TOE4PyP, снижение численности происходило на 1.5–3.8 lgKOE/мл (рис. 3).

Из трех исследованных штаммов наиболее выраженную чувствительность к ФДВ с использованием пиридилпорфиринов демонстрировал штамм *S. aureus* 11. Применение H_2TOE4PyP начиная с 10 мин облучения приводило к сокращению численности бактерий на 1–2 lgKOE/мл в зависимости от концентрации ФС, максимальные различия в численности бактерий в зависимости от этого параметра заметны после 15 мин облучения. Для 30 мин облучения при использовании ФС H_2TOE4PyP снижение численности не превышало 3.5 lgKOE/мл и имело достоверные

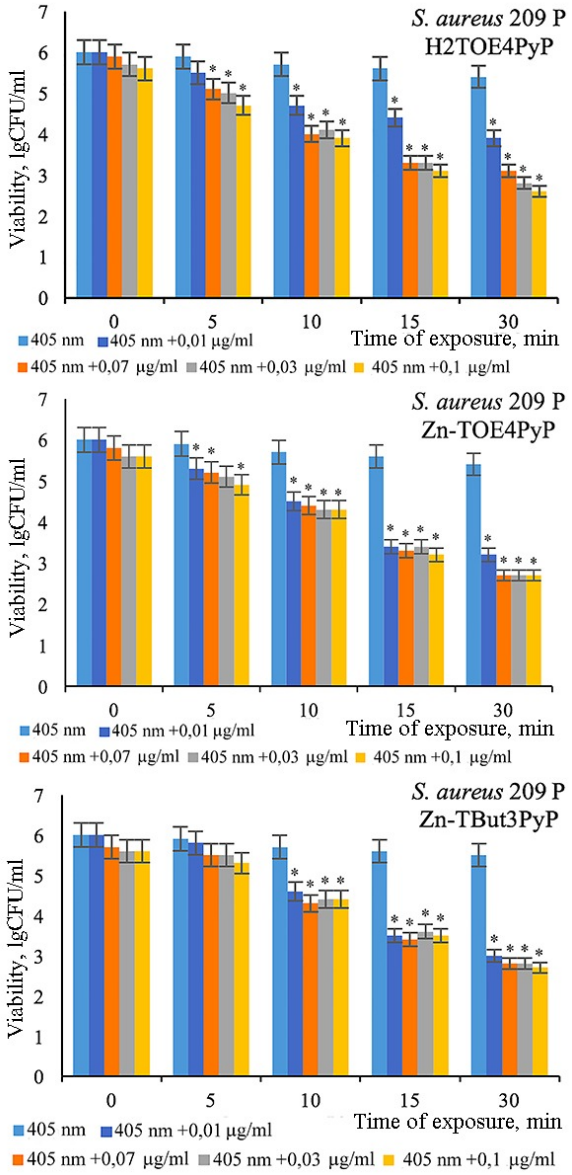

Рис. 2. Диаграммы численности бактерий штамма *S. aureus* 209 P при фотодинамическом воздействии; * – наличие достоверных различий по отношению к контролю (0 мин) при уровне значимости $p < 0.05$ (цвет онлайн)

Fig. 2. Diagrams of the degree of survival of bacteria strain *S. aureus* 209 P under photodynamic exposure; * – presence of reliable differences in relation to the control (0 min) at a significance level of $p < 0.05$ (color online)

различия на уровне 0.5 lgKOE/мл для концентраций 0.01 и 0.1 мкг/мл. Обработка клеток Zn-TOE4PyP и последующее облучение в течение 10–30 мин в случае штамма *S. aureus* 11 обеспечивала сокращение численности бактериальной популяции на 3.5–4.9 lgKOE/мл. Использование Zn-TBut3PyP при ФДВ не демонстрировало столь же выраженного эффекта, однако и в этом случае происходило снижение численности стафилококков (рис. 4).

Снижение численности микроорганизмов (*S. mutans*, *P. aureuginosa*) на 1–1.5 lgKOE/мл при изменении концентрации ФС в 3 раза показано для таких красителей, как метиленовый синий и толуидиновый синий [28, 29]. Отсутствие усиления эффективности ФДВ при увеличе-

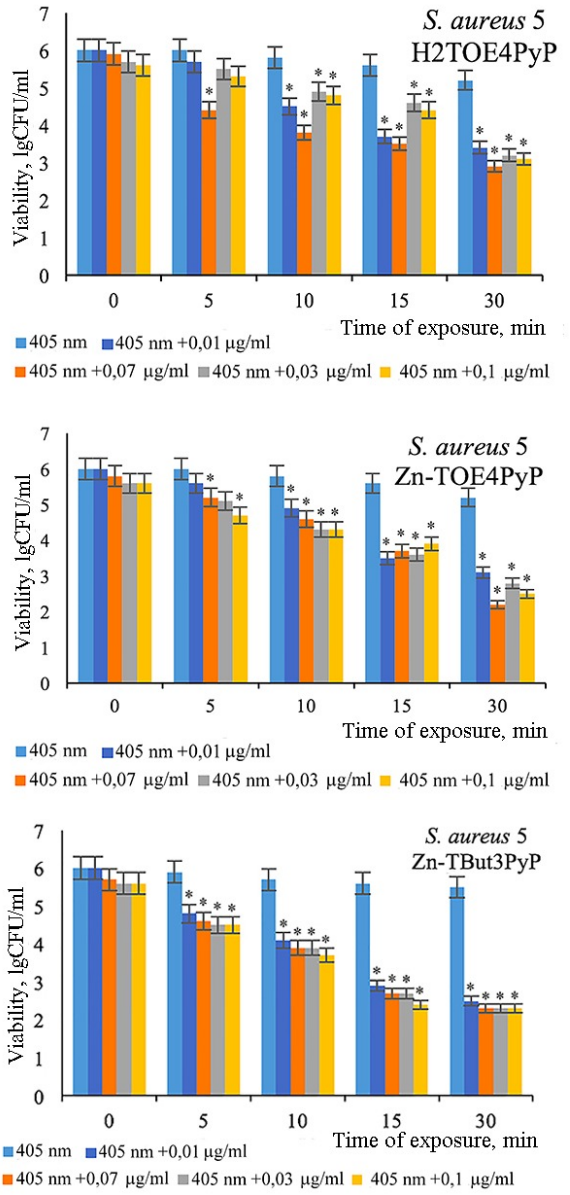

Рис. 3. Диаграммы численности бактерий штамма *S. aureus* 5 при фотодинамическом воздействии; * – наличие достоверных различий по отношению к контролю (0 мин) при уровне значимости $p < 0.05$ (цвет онлайн)

Fig. 3. Diagrams of the degree of survival of bacteria strain *S. aureus* 5 under photodynamic exposure; * – presence of reliable differences in relation to the control (0 min) at a significance level of $p < 0.05$ (color online)

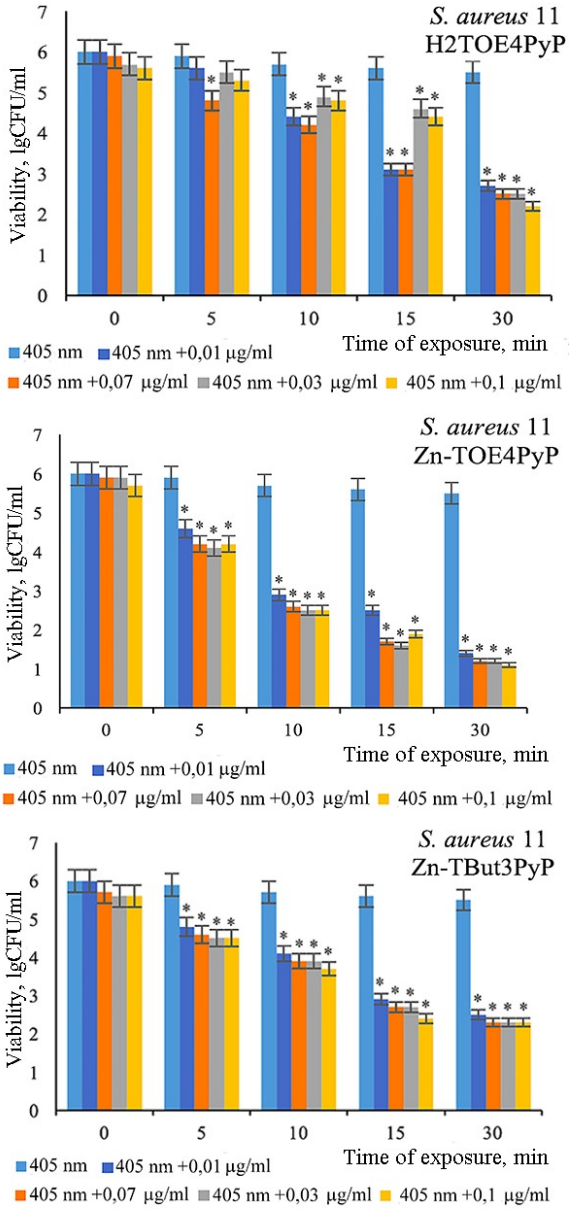

Рис. 4. Диаграммы численности бактерий штамма *S. aureus* 11 при фотодинамическом воздействии; * – наличие достоверных различий по отношению к контролю (0 мин) при уровне значимости $p < 0.05$ (цвет онлайн)

Fig. 4. Diagrams of the degree of survival of bacteria strain *S. aureus* 11 under photodynamic exposure; * – presence of reliable differences in relation to the control (0 min) at a significance level of $p < 0.05$ (color online)

нии концентрации ФС может быть связано с избыточным поглощением фотонов в сильно поглощающей среде и ослаблением потока фотонов в окружении микроорганизмов. Действительно при высоких концентрациях возможно достижение определенного порога насыщения, когда весь объем красителя не может проникнуть внутрь бактериальной клетки, а избыток ФС снаружи блокирует доступ квантов света к внутриклеточным мишеням [30–32]. «Выгорание» растворенного в среде кислорода за счет высокой концентрации красителя при постоянном потоке фотонов также может быть лимитирующим фактором для повышения эффективности АФДТ с ростом концентрации [33, 34]. По данным Demidova, Hamblin [31], эффективность АФДТ зависит от числа клеток в суспензии и возрастает с уменьшением числа бактериальных клеток при неизменной концентрации ФС. В данном исследовании была использована рабочая концентрация бактерий 10^3 м.к./мл, для которой избыток ФС по отношению к количеству бактериальных клеток возникает при концентрациях пиридилпорфиринов выше 0.03 мкг/мл.

Экспериментально доказано существование вторичной продукции долгоживущих молекул пероксида водорода в фотосенсибилизированных клетках, где происходят преимущественно фотохимические реакции II типа с первичной продукцией коротко живущих радикалов типа $^1O_2$ [30]. Интервал между кратковременным облучением и накоплением H_2O_2 зависит от дозы излучения и при малоинтенсивном воздействии может превышать 1 час. Замедленное образование H_2O_2 указывает на то, что фотодинамическая реакция запускает комплекс темновых процессов, затрагивающих системы, ответственные за поддержание окислительного статуса клетки [33–35].

Следовательно, основные внутриклеточные повреждения могут быть ассоциированы не только со сверхбыстрым непосредственным действием синглетного кислорода, но и с образовавшимися в ходе ФДВ долгоживущими активными формами кислорода (АФК), способными долгое время сохраняться в клетке и накапливаться.

В работе Feuerstein с соавторами [36] было продемонстрировано наличие синергического эффекта от одновременного действия синего света (450–490 нм) и пероксида водорода. Известно, что в клетках облученных бактерий H_2O_2 генерируется по фотореакции I типа и, таким образом, может служить доступным маркером для оценки возможной устойчивости бактериальной культуры к ФДВ. Одним из ферментов, участвующих в деградации пероксида водорода в клетках стафилококков, является бактериальная каталаза А. Экспрессия генов данного фермента зависит от многих факторов, включающих как видовые особенности, так и физико-химические условия окружающей среды, и, в том числе, возрастает при ФДВ синего излучения [2, 29, 35–38].

Основываясь на этих фактах, была проведена оценка способности бактериальных клеток адаптироваться к окислительному стрессу, возникающему при воздействии излучения (405 нм) без участия экзогенных ФС. Первым шагом был анализ определения МИК H_2O_2 для каждого штамма (табл. 2). Установлено, что наибольшей устойчивостью обладает клинический штамм *S. aureus* 5, МИК H_2O_2 для которого составляла 264 μM. Стандартный штамм *S. aureus* 209 P был в 1.5 раза менее устойчив к действию пероксида водорода, МИК для него составляла 176 μM. Наиболее восприимчив к действию пероксида (в 3 раза по сравнению с *S. aureus* 5) был клинический штамм *S. aureus* 11, определенное для него значение МИК H_2O_2 равнялось 88 μM.

При изучении уровня активности каталазы после воздействия на бактериальные суспензии излучения в течение 15 мин также заметны различия в реакциях трех исследованных штаммов. *S. aureus* 5 демонстрировал высокие уровни каталазной активности – на 47% больше, чем до облучения. В случае с *S. aureus* 11 значения каталазной активности до и после облучения достоверно не отличались (см. табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

Чувствительность бактериальных клеток к оксидативному стрессу
Sensitivity of bacterial cells to oxidative stress

Штамм/ Strain	МИК H_2O_2, μM / MIC H_2O_2, μM	Активность каталазы под действием 15 мин излучения, % / Catalase activity under the influence of 15 min of radiation, %
S. aureus 209 P	176 ± 8.8	115 ± 4.5
S. aureus 5	264 ± 11.9	147 ± 5.1
S. aureus 11	88 ± 3.7	98 ± 4.9

Как видно из полученных данных, штамм *S. aureus* 5 обладал устойчивостью к окислительным свойствам пероксида водорода благодаря активности каталазы. Напротив, штамм *S. aureus* 11 обладал высокой чувствительностью к перекисному окислению, и уровень каталазы в его клетках не изменялся под действием излучения.

При оценке уровня корреляции по таким параметрам, как чувствительность культуры к пероксиду водорода и активность каталазы, коэффициент Пирсона между штаммами составлял 0.98 (высокий уровень корреляции). Таким образом, можно утверждать, что устойчивость культуры к повреждающему действию пероксида водорода, образующегося в результате фотодинамического процесса с участием эндогенных фотосенсибилизаторов, напрямую зависит от уровня активности бактериальной каталазы.

Из рис. 6 видно, что даже при неполном совпадении максимумов спектров испускания светодиода и поглощения довольно много фотонов взаимодействуют с молекулам ФС, и, судя по динамике снижения численности бактериальных клеток (рис. 3–5), этого достаточно для возникновения фотодинамических процессов. При этом возникает синергетический эффект от участия как эндогенных порфиринов [39–45], так и экзогенных пиридилпорфиринов, усиливая повреждающее действие излучения на клетки на 45–55%.

На предыдущих этапах работы [14, 22] было показано, что использование ФС в концентрации 0.1 мкг/мл более эффективно по сравнению с концентрацией 0.01 мкг/мл. Но для рационализации использования метода и снижения токсической нагрузки на макроорганизм предпочтительнее использовать максимально низкую концентрацию ФС, вызывающую стойкий антибактериальный эффект. Как было показано, для всех используемых пиридилпорфиринов концентрация 0.03 мкг/мл является достаточной для уничтожения бактериальных клеток на уровне 3–4 lgKOE/мл. Сравнивая полученные результаты с имеющимися в литературе [8, 10, 12, 13], можно сделать вывод, что используемые в данной работе концентрации ФС (0.08–1.06 μM) на 1–3 порядка ниже, чем представленные в исследованиях других авторов, но при этом обеспечивают выраженный фотодинамический эффект.

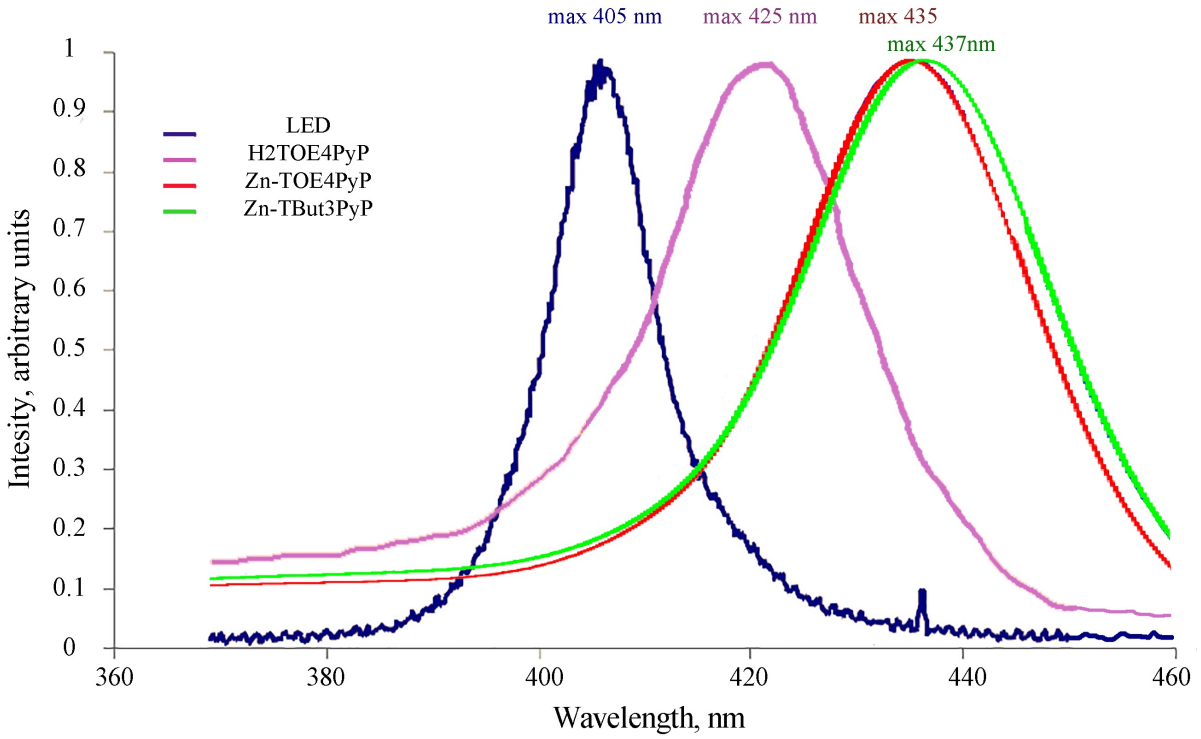

Рис. 6. Спектр излучения светодиодного источника света со средней длиной волны 405 нм и шириной полосы 30 нм по уровню 0.1; спектры поглощения исследуемых пиридилпорфиринов с указанием длин волн центров полос поглощения (цвет онлайн)

Fig. 6. Emission spectrum of an LED light source with an average wavelength of 405 nm and a bandwidth of 30 nm at level 0.1; absorption spectra of the studied pyridyl porphyrins, indicating the wavelengths of the centers of absorption bands (color online)

Более тонкие различия в чувствительности штаммов к комбинированному действию пиридилпорфиринов и светодиодного излучения (405 нм), по всей видимости, зависят от строения молекулы используемого пиридилпорфирина и индивидуальных особенностей клеток конкретного штамма.

Как видно из табл. 1, значения квантового выхода образования синглетного кислорода у Zn-производных Zn-TOE4PyP и Zn-TBut3PyP (0.85–0.97) значительно выше, чем у исходного порфирина H_2TOE4PyP (0.77), что связано с увеличением эффективности внутримолекулярной конверсии при включении атома металла в макроцикл. При этом значение константы скорости тушения в возбужденных триплетных состояниях выше для Zn-TBut3PyP ($1.958 \cdot 10^5$ $М^{-1} \cdot см^{-1}$) по сравнению с Zn-TOE4PyP ($1.469 \cdot 10^5$ $М^{-1} \cdot см^{-1}$). Таким образом, усиление антибактериальных свойств используемых порфиринов под действием светодиодного излучения (405 нм) растет в ряду H_2TOE4PyP > Zn-TOE4PyP > Zn-TBut3PyP, что соотносится с предыдущими исследованиями [14, 22].

Наибольший интерес представляют впервые полученные в этом исследовании сведения относительно различий в чувствительности трех штаммов золотистого стафилококка к ФДВ с использованием пиридилпорфиринов и светодиодного излучения (405 нм). При этом показаны не только различия в выживаемости (наиболее чувствительным был метициллин-резистентный *S. aureus* 11), но и в способности сопротивляться оксидативному стрессу (где *S. aureus* 11 также имел наименьшие показатели).

Заключение

Фотодинамическая терапия является областью междисциплинарных исследований, ее эффективность доказана для широкого и разнообразного спектра заболеваний, включая заживление хронических и острых ран, гнойных абсцессов и постхирургических осложнений [3, 9], в том числе при имплантировании различных устройств [45, 46]. При этом может быть использовано как лазерное излучение, так и светодиодные технологии, а также устройства, излучающие широкополосный видимый свет [5, 7, 12, 22, 42].

В настоящей работе были получены данные об эффективности пиридилпорфириновых соединений для АФДТ с использованием низкоинтенсивного светодиодного излучения (405 нм, 80 мВт/см^2, 24–144 Дж/см^2) в отношении трех штаммов *S. aureus*. Установлено, что различия в снижении численности между штаммами составляют от 1.7 до 2.3 lgКОЕ/мл при максимальной дозе облучения в зависимости от используемой модификации пиридилпорфирина. Показано, что антибиотико-резистентный штамм *S. aureus* 11, обладающий высокой чувствительностью к действию АФК в виде пероксида водорода и не способный к активной продукции каталазы, был наиболее восприимчив к комплексному действию светодиодного излучения (405 нм) в сочетании с ФС в виде цинк-мезо-тетракис[3-N-бутил пиридил]порфирина (Zn-TBut3PyP).

Список литературы/References

1. Baptista M. D., Cadet J., Di Mascio P., Ghogare A. A., Greer A., Hamblin M. R., Lorente C., Núñez S. C., Ribeiro M. S., Thomas A. H., Vignoni M., Yoshimura T. M. Type I and Type II Photosensitized Oxidation Reactions: Guidelines and Mechanistic Pathways. *Photochemistry and Photobiology*, 2017, vol. 93, no. 4, pp. 912–919. https://doi.org/10.1111/php.12716
2. Youf R., Müller M., Balasini A., Thétiot F., Müller M., Hascoët A., Jonas U., Schönherr H., Lemercier G., Montier T. Antimicrobial Photodynamic Therapy: Latest Developments with a Focus on Combinatory Strategies. *Pharmaceutics*, 2021, vol. 13, no. 12, article no. 1995. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13121995
3. Feng Y., Tonon C. C., Ashraf S., Hasan T. Photodynamic and Antibiotic Therapy in Combination against Bacterial Infections: Efficacy, Determinants, Mechanisms, and Future Perspectives. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2021, vol. 177, article no. 113941. https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113941
4. Hu X., Huang Y.-Y., Wang Y., Wang X., Hamblin M. R. Antimicrobial Photodynamic Therapy to Control Clinically Relevant Biofilm Infections. *Frontiers in Microbiology*, 2018, vol. 9, pp. 1–24. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01299
5. Ragàs X., He X., Agut M., Roxo-Rosa M., Gonsalves A. R., Serra A. C., Nonell S. Singlet Oxygen in Antimicrobial Photodynamic Therapy: Photosensitizer-Dependent Production and Decay in *E. coli*. *Molecules*, 2013, vol. 18, pp. 2712–2725. https://doi.org/10.3390/molecules18032712
6. Mondal D., Bera S. Porphyrins and phthalocyanines: Promising molecules for light-triggered antibacterial nanoparticles. *Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, 2014, vol. 5, pp. 1–14. https://doi.org/10.1088/2043-6262/5/3/033002
7. Simões C., Gomes M. C., Neves M. G., Cunha A., Tomé J. P. C., Tomé A. C., Cavaleiro J. A. S., Almeida A., Faustino M. A. F. Photodynamic Inactivation of *Escherichia coli* with Cationic Meso-Tetraarylporphyrins – The Charge Number and Charge Distribution Effects. *Catal. Today*, 2016, vol. 266, pp. 197–204. https://doi.org/10.1016/j.cattod.2015.07.031

8. Kou J., Dou D., Yang L. Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its Applications. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, pp. 81591–89603. https://doi.org/10.18632/oncotarget.20189
9. Sun C., Jora M., Solivio B., Limbach P. A., Addepalli B. The Effects of Ultraviolet Radiation on Nucleoside Modifications in RNA. *ACS Chem. Biol.*, 2018, vol. 13, pp. 567–572. https://doi.org/10.1021/acschembio.7b00898
10. Lin Y., Zhou T., Bai R., Xie Y. Chemical approaches for the enhancement of porphyrin skeleton-based photodynamic therapy. *J. of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2020, vol. 35, no. 1, pp. 1080–1099. https://doi.org/10.1080/14756366.2020.1755669
11. Tuchin V. V., Genina E. A., Tuchina E. S., Svetlakova A. V., Svenskaya Y. I. Optical clearing of tissues: Issues of antimicrobial phototherapy and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2022, vol. 180, article no. 114037. https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.114037
12. Savelyeva I. O., Zhdanova K. A., Gradova M. A., Gradov O. V., Bragina N. A. Cationic Porphyrins as Antimicrobial and Antiviral Agents in Photodynamic Therapy. *Current Issues in Molecular Biology*, 2023, vol. 45, no. 12, pp. 9793–9822. https://doi.org/10.3390/cimb45120612
13. Shatila F., Tieman G. M. O., Musolino S. F., Wulff J. E., Buckley H. L. Antimicrobial Photodynamic Inactivation of Planktonic and Biofilm Cells by Covalently Immobilized Porphyrin on Polyethylene Terephthalate Surface. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2023, vol. 178, article no. 105567. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2023.105567
14. Korchenova M. V., Tuchina E. S., Shvayko V. Y., Gulkhandanyan A. G., Zakoyan A. A., Kazaryan R. K., Gulkhandanyan G. V., Dzhagarov B. M., Tuchin V. V. Photodynamic effect of radiation with the wavelength 405 nm on the cells of microorganisms sensitised by metalloporphyrin compounds. *Quantum Electronics*, 2016, vol. 46, no. 6, pp. 521–527. https://doi.org/10.1070/qel16110
15. Grinholc M., Szramka B., Kurlenda J., Graczyk A., Bielawski K. P. Bactericidal effect of photodynamic inactivation against methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* is strain-dependent. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2008, vol. 90, pp. 57–63. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2007
16. Lipovsky A., Nitzan Y., Friedmann H., Lubart R. Sensitivity of *Staphylococcus aureus* Strains to Broadband Visible Light. *Photochemistry and Photobiology*, 2009, vol. 85, pp. 255–260. https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2008.00429.x
17. Kossakowska M., Nakonieczna J., Kawiak A., Kurlenda J., Bielawski K. P., Grinholc M. Discovering the mechanisms of strain-dependent response of *Staphylococcus aureus* to photoinactivation: Oxidative stress toleration, endogenous porphyrin level and strain's virulence. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2013, vol. 10, pp. 348–355. https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2013.02.004
18. Bartolomeu M., Rocha S., Cunha A., Neves M. G., Faustino M. A., Almeida A. Effect of Photodynamic Therapy on the Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*, 2016, vol. 7, pp. 267–278. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00267
19. Zhang Q.-Z., Zhao K.-Q., Wu Y., Li X.-H., Yang C., Guo L.-M. 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy and its strain-dependent combined effect with antibiotics on *Staphylococcus aureus biofilm*. *PLoS ONE*, 2017, vol. 12, no. 3, article no. e0174627. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174627
20. Gulías Ò., McKenzie G., Bayó M., Agut M., Nonell S. Effective Photodynamic Inactivation of 26 *Escherichia coli* Strains with Different Antibiotic Susceptibility Profiles: A Planktonic and Biofilm Study. *Antibiotics*, 2020, vol. 9, no. 3, article no. 98. https://doi.org/10.3390/antibiotics9030098
21. Li G., Lai Z., Shan A. Advances of Antimicrobial Peptide-Based Biomaterials for the Treatment of Bacterial Infections. *Adv. Sci.*, 2021, vol. 10, article no. 2206602. https://doi.org/10.1002/advs.202206602
22. Gyulkhandanyan A. G., Paronyan M. H., Gyulkhandanyan A. G., Ghazaryan K. R., Parkhats M. V., Dzhagarov B. M., Korchenova M. V., Lazareva E. N., Tuchina E. S., Gyulkhandanyan G. V., Tuchin V. V. Meso-substituted cationic 3-and 4-N-Pyridylporphyrins and their Zn(II) derivatives for antibacterial photodynamic therapy. *J. Innov. Opt. Health Sci.*, 2022, vol. 15, article no. 2142007. https://doi.org/10.1142/S1793545821420074
23. Tovmasyan A. G., Babayan N. S., Sahakyan L. A., Shahkhatuni A. G., Gasparyan G. H., Aroutiounian R. M., Ghazaryan R. K. Synthesis and *in vitro* anticancer activity of water-soluble cationic pyridylporphyrins and their metallocomplexes. *J. of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2008, vol. 12, no. 10, pp. 1100–1110. https://doi.org/10.1142/s1088424608000467
24. Gyulkhandanyan G. V., Sargsyan A. A., Paronyan M. H., Sheyranyan M. A. Absorption and fluorescence spectra parameters of cationic porphyrins for photodynamic therapy of tumors. *Biolog. Journal of Armenia*, 2020, vol. 3, no. 72, pp. 72–76.
25. Krasnikova L. V., Gunkova P. I. *Obschaya i pischevaya mikrobiologya* [General and food microbiology]. St. Petersburg, University ITMO, 2016. 135 p.
26. Bukharin O. V., Sgibnev A. V., Cherkasov S. V. Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. *Sposob vyyavleniya u bakteriy ingibitorov katalazy mikroorganismov* [Method for identifying microorganism catalase inhibitors in bacteria]. Patent RF no. 2180353, 2002 (in Russian).
27. Gashev S. N., Betlyaeva F. H., Lupinos M. Yu. *Matematicheskie metody v biologii: analis biologicheskikh dannykh v sisteme Statistica* [Mathematical methods in biology: Analysis of biological data in the Statistica system]. Moscow, Yurayt, 2017. 208 p.
28. Balhaddad A. A., AlQranei M. S., Ibrahim M. S., Weir M. D., Martinho F. C., Xu H. H. K., Melo M. A. S. Light Energy Dose and Photosensitizer Concentration Are Determinants of Effective Photo-Killing against Caries-Related Biofilms. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, no. 20, article no. 7612. https://doi.org/10.3390/ijms21207612

29. Zada L., Anwar S., Imtiaz S. *In vitro* study: Methylene blue-based antibacterial photodynamic inactivation of *Pseudomonas aeruginosa. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2024, vol. 108, article no. 169. https://doi.org/10.1007/s00253-024-13009-5
30. Fujii J., Soma Y., Matsuda Y. Biological Action of Singlet Molecular Oxygen from the Standpoint of Cell Signaling, Injury and Death. *Molecules*, 2023, vol. 28, article no. 4085. https://doi.org/10.3390/molecules28104085
31. Demidova T. N., Hamblin M. R. Effect of Cell-Photosensitizer Binding and Cell Density on Microbial Photoinactivation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, vol. 49, pp. 2329–2335. https://doi.org/10.1128/aac.49.6.2329-2335.2005
32. Jori G., Fabris C., Soncin M., Ferro S., Coppellotti O., Dei D., Roncucci G. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: Basic principles and perspective applications. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2006, vol. 38, pp. 468–481.
33. Gapeeva A. B., Scherbatyuk T. G. Modification of hypoxic conditions during photodynamic therapy. *Biological Membranes*, 2020, vol. 37, no. 3, pp. 163–174.
34. Bogdanov A. A., Klimenko V. V., Bogdanov An. A., Verlov N. A., Moiseenko V. M. Direct photogeneration of singlet oxygen in biological media for cancer therapy. *Practical Oncology*, 2023, vol. 24, no. 1, pp. 39–47.
35. Peskova N. N., Brilkina A. A., Gorokhova A. A., Shilyagina N. Y., Kutova O. M., Nerush A. S., Balalaeva I. V. The localization of the photosensitizer determines the dynamics of the secondary production of hydrogen peroxide in cell cytoplasm and mitochondria. *J. of Photochemistry and Photobiology B*, 2021, vol. 219, article no. 112208. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2021.112208
36. Feuerstein O., Moreinos D., Steinberg D. Synergic antibacterial effect between visible light and hydrogen peroxide on *Streptococcus mutans. J. Antimicrob. Chemother.*, 2006, vol. 57, pp. 872–876. https://doi.org/10.1093/jac/dkl070
37. Donegan N. P., Manna A. C., Tseng C. W., Liu G. Y., Cheung A. L. CspA regulation of *Staphylococcus aureus* carotenoid levels and σ B activity is controlled by YjbH and Spx. *Molecular Microbiology*, 2019, vol. 112, no. 2, pp. 532–551. https://doi.org/10.1111/mmi.14273
38. Seel W., Baust D., Sons D., Albers M., Etzbach L., Fuss J., Lipski A. Carotenoids are used as regulators for membrane fluidity by *Staphylococcus xylosus*. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, pp. 328–341. https://doi.org/10.1038/s41598-019-57006-5
39. Manrique-Moreno M., Jemioia-Rzeminska M., Múnera-Jaramillo J., López G.-D., Suesca E., Leidy C., Strzaika K. *Staphylococcus aureus* Carotenoids Modulate the Thermotropic Phase Behavior of Model Systems That Mimic Its Membrane Composition. *Membranes*, 2022, vol. 12, pp. 945–954. https://doi.org/10.3390/membranes12100945
40. Stadtman E. R., Levine R. L. Free Radical-Mediated Oxidation of Free Amino Acids and Amino Acid Residues in Proteins. *Amino Acids*, 2003, vol. 25, pp. 207–218. https://doi.org/10.1007/s00726-003-0011-2
41. Tuchina E. S., Permyakova N. F., Tuchin V. V. The effect of LED-light action on microbial colony forming ability of several species of staphylococcus. *Proc. SPIE 6535, Saratov Fall Meeting 2006: Optical Technologies in Biophysics and Medicine VIII*, 2007, vol. 6535, pp. 65351X1–7. https://doi.org/10.1117/12.741013
42. Hessling M., Spellerberg B., Hoenes K. Photoinactivation of bacteria by endogenous photosensitizers and exposure to visible light of different wavelengths – a review on existing data. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2017, vol. 364, no. 2, pp. 270–281. https://doi.org/10.3389/fmed.2021.642609
43. Plavskii V. Y., Mikulich A. V., Tretyakova A. I., Leusenka I. A., Plavskaya L. G., Kazyuchits O. A., Dobysh I. I., Krasnenkova T. P. Porphyrins and flavins as endogenous acceptors of optical radiation of blue spectral region determining photoinactivation of microbial cells. *J. Photochem. Photobiol. B*, 2018, vol. 183, pp. 172–183. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.04.021
44. Huang S., Lin S., Qin H., Jiang H., Liu M. The Parameters Affecting Antimicrobial Efficiency of Antimicrobial Blue Light Therapy: A Review and Prospect. *Biomedicines*, 2023, vol. 11, no. 4, article no. 1197. https://doi.org/10.3390/biomedicines11041197
45. Mkrtchyan L., Seferyan T., Parkhats M., Lepeshkevich S., Dzhagarov B., Shmavonyan G., Tuchina E., Tuchin V., Gyulkhandanyan G. The role of singlet oxygen and hydroxyl radical in the photobleaching of meso-substituted cationic pyridyl porphyrins in the presence of folic acid. *J. of Innovative Optical Health Sciences*, 2024, vol. 1, pp. 1–20. https://doi.org/10.1142/S1793545824400029
46. Khatoon Z., McTiernan C. D., Suuronen E. J., Mah T.-F., Alarcon E. I. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon*, 2018, vol. 4, no. 12, article no. e01067. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e01067

Поступила в редакцию 31.03.2024; одобрена после рецензирования 07.06.2024; принята к публикации 15.06.2024
The article was submitted 31.03.2024; approved after reviewing 07.06.2024; accepted for publication 15.06.2024