

PHOTOINACTIVATION *in vitro* OF *Staphylococcus aureus*  
BY VISIBLE LIGHT OF DIFFERENT WAVELENGTHS

*Pavlo Virych*<sup>1,2</sup>, *Oksana Nadtoka*<sup>1,3</sup>, *Petro Virych*<sup>4,5</sup>, *Viktor Martynyuk*<sup>1,6</sup>,  
*Vasyl Krysa*<sup>7</sup>, *Bogdan Krysa*<sup>4,8</sup>, *Nataliya Kutsevol*<sup>1,9</sup>

ФОТОІНАКТИВАЦІЯ *in vitro* *Staphylococcus aureus*  
СВІТЛОМ РІЗНИХ ДІЛЯНОК ВИДИМОГО СПЕКТРУ

*Павло Вірич*, *Оксана Надтока*, *Петро Вірич*, *Віктор Мартинюк*,  
*Василь Крися*, *Богдан Крися*, *Наталія Куцевол*

**Abstract.** Photodynamic therapy is an alternative method of inactivation of pathogenic microorganisms. The advantages of this approach are the lack of selectivity and the development of sustainability. Hard ultraviolet irradiation is used to sterilize surfaces and some medical devices. It is equally harmful to prokaryotic and eukaryotic cells, which limits its scope. However, light with longer wavelengths also has an antimicrobial effect. It is possible due to presence of specific substances in bacterial cells such as photosensitizers, which have absorption maxima in the parts of the electromagnetic spectrum that they are irradiated. Due to the ability of photosensitizers to interact with surrounding molecules the free radicals are generated.

The target of study was determination of the antimicrobial effect of light irradiation with wavelengths of 390, 460, 530 nm. The synergistic effect of red light (660 nm) in combination with 0.0001% methylene blue on inhibition of growth of *Staphylococcus aureus in vitro* was observed.

Wild strains of *Staphylococcus aureus* were obtained on yolk-salt agar. The sensitivity of microorganisms to the light irradiation was evaluated in a suspension of bacteria. Mueller-Hinton medium was used for suspension preparation. The suspension was incubated in a water bath for 20 minutes at 37°C. Each experiment has control one for assessing the rate of bacterial reproduction.

<sup>1</sup> Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup> sphaenodon@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1463-1992>

<sup>3</sup> oksananadtoka@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-1868-3885>

<sup>4</sup> SE “Kolomyichenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Ukraine

<sup>5</sup> annelida@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-6201-3892>

<sup>6</sup> mavispublisher@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5311-3565>

<sup>7</sup> Ivano-Frankivsk national medical university, Ukraine. kwm5@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-3697-3157>

<sup>8</sup> bodja.ua@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7822-785X>

<sup>9</sup> kutsevol@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1468-4111>

Suspension was irradiated with monochromatic light at 390, 460, 530 and 660 nm (Lika-Led, Photonika Plus, Cherkasy) with an emission of 0.1 J/s and a time discretization of 2 min. The calculation of the dose of radiation (J/ml) in 10 ml bacteria suspension was carried out. The bactericidal effectiveness of light (%) was evaluated by comparing the irradiated samples with controls, which were not exposed to light.

The number of colonies forming units (CFU) of *S. aureus* in the suspension was calculated in a Goryaev chamber. Bacteria were contrasted with  $3.5 \cdot 10^{-3}$  M acridine orange for 3 minutes. Mathematical and statistical data analysis was performed in the Originlab 8.0 software package. The experiment was repeated three times.

Light irradiation with a wavelength of 390 nm and energy of 0.1 J/s has showed good bactericidal efficiency. It was shown, that irradiation dose of 10–11 J/ml leads to death of 50% CFU in bacterial suspension. At lower irradiation dose about 40% of microorganisms were death. An increase of energy leads to increase in the bactericidal activity of light.

It was found that an irradiation dose of 1.5 J/ml of blue light at 460 nm initiates the death of bacteria and contributes to the inactivation of 4–5% CFU. A further increasing of dose to 10 J/ml provides a decrease the number of CFU up to 60%. An irradiation with green light at 530 nm causes similar 460 nm effects. The required irradiation dose for the death of bacteria in suspension is 2.5–3 J/ml. An increase the last one contributes to a dramatic decrease in the number of CFU up to 35%. A further increase in the total irradiation energy is less effective. The maximum bactericidal effect is 50% at a dose of 14–16 J/ml. Methylene blue has a weak bactericidal effect at concentrations above 0.01%. It was found that at a dose of 1–1.5 J/ml (660 nm) and the presence of 0.0001% methylene blue in the suspension, the number of CFU is reduced by 25%. The maximum effect of 55–60% at a 4.5–5 J/ml was achieved.

Photodynamic therapy is a low-energy light at wavelengths of 390, 460 and 530 nm provides inactivation over half CFU of *S. aureus* *in vitro*. Combination of methylene blue 0.0001% and red light (660 nm) irradiation provide a high bactericidal effectiveness at irradiation dose 4.5–5 J/ml.

**Keywords:** bacteria photoinactivation; photosensitizers; ultraviolet light; blue light; green light; red light; methylene blue

**Анотація.** Питання ефективної антисептичної обробки в медицині залишається актуальним і його вирішення спонукає до пошуку нових засобів впливу на патогенну мікрофлору. Фотодинамічна терапія є альтернативним до антибіотиків сучасним методом інактивації патогенних мікроорганізмів, що заснований на використанні різних фотобіологічних ефектів, що викликаються за допомогою поєданого застосування світлового випромінювання, кисню і фотосенсибілізатора. Перевагами такого підходу є відсутність селективності та розвитку резистентності бактерій. Як відомо, жорстке ультрафіолетове випромінювання застосовують для стерилізації поверхонь, медичних інструментів тощо. Світло даного діапазону хвиль однаково шкідливе як для прокаріотичних, так і для еукаріотичних клітин, що й обмежує сферу його застосування. За певних умов світло з більшою довжиною хвилі також може виявляти антимікробну дію. Якщо у бактеріальних клітинах присутні специфічні речовини — фотосенсибілізатори, які мають максимуми поглинання у ділянках електромагнітного спектру — при опроміненні такі сполуки взаємодіють із оточуючими молекулами, зокрема кисню, і генерують утворення токсичних для клітин вільних радикалів.

Досліджували дію світла з довжинами хвиль 390, 460, 530 нм та комплексний ефект червоного світла (660 нм) із фотосенсибілізатором метиленовим синім на інактивацію *in vitro* диких штамів *Staphylococcus aureus*. Мікроорганізми отримували на середовищі жовтково-сольового агару (ЖСА). Оцінку чутливості мікроорганізмів до дії світла відповідної довжини хвилі проводили у суспензії бактерій, яку готували у середовищі Мюллера-Хінтона.

Суспензію інкубували на водяній бані 20 хв при 37°C. Опромінення суспензії проводили монохроматичним світлом 390, 460, 530 та 660 нм (Lika-Led, Фотоніка Плюс, Черкаси) з емісією 0,1 Дж/с та часовою дискретизацією 2 хв. Розрахунок дози опромінення (Дж/мл) проводили відносно об'єму суспензії бактерій, що становила 10 мл. Ефективність бактерицидної дії світла (%) оцінювали при порівнянні опромінених зразків з контрольними, які перебували в аналогічних умовах, але не піддавалися дії світла.

Дослідження дії світла з довжиною хвилі 390 нм та енергією емісії 0,1 Дж/с показали високу бактерицидну ефективність при дозі опромінення 10–11 Дж/мл бактеріальної суспензії, в результаті чого гине 50% КУО. При менших дозах опромінення виявлено інактивацію близько 40% мікроорганізмів від початкової популяції. Наступне збільшення енергії сприяє лінійному зростанню бактерицидної активності світла. Виявлено, що при активації синім світлом 460 нм з дозою опромінення менше, ніж 1,5 Дж/мл, відбувається слабка ініціація загибелі бактеріальних клітин та інактивується лише 4–5% КУО. Подальше збільшення дози опромінення до 10 Дж/мл забезпечує лінійне зменшення кількості КУО до 40% від початкової популяції з виходом на плато. Дія зеленого світла з довжиною хвилі 530 нм має близьку до синього ефективність. Початкова доза опромінення, необхідна для ініціації загибелі бактерій у суспензії становить 2,5–3 Дж/мл, а її збільшення сприяє різкому зниженню кількості КУО на 35%. Подальше зростання сумарної енергії опромінення виявляє значно меншу ефективність. Максимальний бактерицидний ефект становить 50% при дозі 14–16 Дж/мл. Метиленовий синій виявляє слабкі бактерицидні ефекти при концентраціях вище 0,01%. У нашому дослідженні виявлено, що при дозі опромінення 1–1,5 Дж/мл та присутності у суспензії 0,0001% метиленового синього кількість КУО у знижується на 25%. Максимальний ефект комплексної дії світла та сенсibilізатора досягається при дозі опромінення 4,5–5 Дж/мл і становить 55–60%.

Опромінення *in vitro* диких штамів *Staphylococcus aureus* світлом з довжинами хвиль 390, 460 і 530 нм забезпечує інактивацію більш ніж половини КУО у суспензії клітин. Завдяки комплексній дії червоного світла (660 нм), яке має найвищу проникну здатність у тканини, та сенсibilізатора метиленового синього при концентрації 0,0001% досягається висока бактерицидна активність при дозі опромінення 4,5–5 Дж/мл.

*Ключові слова:* фотоінактивація бактерій; фотосенсibilізатори; ультрафіолетове світло; синє світло; зелене світло; червоне світло; метиленовий синій

## Вступ

З початком відкриття антибіотиків спостерігався значний прогрес у лікуванні інфекційних захворювань, викликаних бактеріальними збудниками. Згодом з'явилися резистентні штами, які не чутливі до дії природних антибіотиків [1]. З розвитком органічної хімії розпочався пошук альтернативних засобів інактивації мікроорганізмів. Серед них потенційно ефективними антибактеріальними засобами можуть бути оксиди металів (цинку, титану) [2, 3], наночастинки срібла [4], золота [5] тощо. У медицині для стерилізації поверхонь та інструментів застосовують ультрафіолетове випромінювання. Його перевагою є відсутність у мікроорганізмів селективності та розвитку резистентності. Але такий метод не застосовують при лікуванні бактеріальної контамінації тканин людини. Світло із більшою довжиною хвилі також виявляє антимікробну дію. Цей метод інактивації мікроорганізмів отримав назву фотодинамічної терапії. Його ефективність забезпечується наявністю у бактеріальних клітинах специфічних ре-

човин — фотосенсибілізаторів, які мають максимуми поглинання у ділянках електромагнітного спектру, яким опромінюється клітина. Завдяки здатності такої сполуки взаємодіяти з оточуючими молекулами, в тому числі кисню, генеруються токсичні для клітин вільні радикали [6]. Останні можуть взаємодіяти з мембранами клітин та іншими мішенями, порушуючи їх функції [7].

Крім ендогенних фотосенсибілізаторів, можливе застосування екзогенних сполук. Фотосенсибілізатор повинен мати необхідні структурні особливості, в тому числі фізичні, хімічні та біологічні. Відома значна кількість оптичних фотосенсибілізаторів, які ефективні *in vitro* та *in vivo*. Вони належать до похідних порфіринів, хлор- та фталоціаніну (толуїдиновий синій О, метиленовий синій, азур). Оптимальними фотосенсибілізаторами є тетрапіроли — порфірини та фталоціаніни [1]. Серед них варто відмітити ряд барвників: метиленовий синій [8], куркумін [9], толуїдиновий синій [10] тощо.

Завдяки поєднанню екзогенних та ендогенних фотосенсибілізаторів потенційно можливе ефективне лікування бактеріального зараження відкритих ран та виразок методом двопрменевої фотодинамічної терапії. Ми вивчали бактерицидну ефективність дії видимого світла при довжині хвиль 390, 460 та 530 нм, які потенційно мають мішені у бактеріальних клітинах, а також 660 нм, яке поглинає барвник метиленовий синій.

## Матеріали та методи

Дикі штами *Staphylococcus aureus* отримували на середовищі жовтково-сольового агару (ЖСА) наступного складу: м'ясо-пептонний агар (МПА) — 70%, хлорид натрію — 10%, жовткова емульсія в 0,9% NaCl — 20%, рН = 7,3.

Чутливість мікроорганізмів до дії світла відповідної довжини хвилі вивчали у суспензії бактерій, яку готували у середовищі Мюллера-Хінтона (г/л): гідролізат казеїну — 17,5, гідролізат серця — 2, крохмаль водорозчинний (ЧДА) — 1,5, рН=7,3. Суспензію, що перебувала на водяній бані протягом 20 хв при 37°C для адаптації мікроорганізмів до зміни умов, розливали по 10 мл у стандартні скляні пробірки об'ємом 20 мл. Кожен дослідний зразок мав контрольний аналог для оцінки швидкості розмноження бактерій та розрахунку відносно цього показника ефективності дії світла. Всі зразки перебували на водяній бані при 37°C протягом всього експерименту.

Опромінення суспензії проводили монохроматичним світлом з довжиною хвилі 390, 460, 530 та 660 нм (Lika-Led, Фотоніка Плюс, Черкаси), емісією 0,1 Дж/с та часовою дискретизацією 2 хв. Розрахунок дози опромінення (Дж/мл) проводили відносно об'єму суспензії бактерій 10 мл. Інактивацію колонієутворюючих одиниць (КУО) (%) оцінювали при порівнянні опромінених зразків відносно контрольних, які перебували в таких самих умовах, але не піддавалися дії світла.

Оцінку ефективності комплексної дії метиленового синього та червоного світла 660 нм проводили аналогічно. Концентрація фотосенсибілізатора у розчині становила 0,0001%, який додавався за 10 хв до початку опромінення.

Підрахунок кількості колонієутворюючих одиниць *S. aureus* у суспензії проводили у камері Горяєва. Бактерії контрастували акридиновим помаранчевим при концентрації у суспензії  $3,5 \cdot 10^{-3}$  М протягом 3 хв. Барвник при зв'язуванні з нуклеїновими кислотами флуоресцює у зеленій 525 нм (ДНК) та червоній 650 нм (РНК) ділянках спектру при його збудженні синім світлом. Для дослідження флуоресценції суспензії бактерій використовували мікроскоп Olympus BX53 з люмінесцентним блоком X-Cite Series 120 Q і камерою-детектором Olympus DP72. Фотографували 10 великих квадратів камери Горяєва, підраховували кількість КУО та розраховували їх концентрацію в 1 мл за формулою:

$$N = \frac{m \cdot 4000}{q} \cdot 1000$$

Де  $m$  — загальна кількість КУО у великих квадратах камери,  $q$  — кількість обрахованих квадратів.

Досліди повторювали тричі. Математичну та статистичну обробку результатів проводили у програмному пакеті Originlab 8.0.

## Результати та обговорення

Лікування відкритих ран та виразок часто передбачає застосування антибактеріальних засобів з метою запобігання розмноженню мікроорганізмів та проникненню їх в організм. Більшість пошкоджень зовнішніх покривів створюють вологе середовище із значною кількістю поживних речовин, що ідеально підходить для росту бактерій. Ми імітували такі умови, інкубуючи *S. aureus* у рідкому середовищі Мюллера–Хінтона. Таким чином, початкова популяція клітин через 1,5–2 години подвоювалася. За такої швидкості розмноження імунна система організму намагається створити бар'єр для запобігання проникненню мікроорганізмів у кров. В результаті розвиваються гнійні виразки, які перешкоджають регенерації тканин. Використання бактерицидних агентів, таких як антибіотики, запобігає розмноженню мікроорганізмів. Разом з тим виникає інша проблема — частина популяції стає нечутливою до дії лікарського засобу. Причина такого ефекту полягає у присутності конкретних мішеней у бактеріальних клітинах, на які діє антибіотик. Навіть незначні зміни складу або структури таких молекул перешкоджають взаємодії лікарського засобу і сприяють розвитку резистентності мікроорганізму. Попередньо ми довели ефективність застосування гідрогелевих пов'язок з наночастинками срібла, що є одним з альтернативних антибіотикам методів неселективної інактивації мікроорганізмів [11].

Перевагами фотодинамічної терапії є дія на висококонсервативні (гемопорфірини, флавопротеїни) мішені або ж неспецифічний вплив на інші складові клітин. Таким чином, наслідки адаптаційних змін популяції мікроорганізмів до дії хімічного фактору практично повністю нівелюються.

Широко поширений метод стерилізації поверхонь ультрафіолетовим випромінюванням передбачає неселективну інактивацію мікроорганізмів. Проведені нами дослідження впливу світла на інактивацію диких штамів *S. aureus* у суспензії показали високу бактерицидну ефективність світла.

Так, при опроміненні бактеріальної суспензії світлом з довжиною хвилі 390 нм та енергією 0,1 Дж/с при дозі опромінення 10–11 Дж/мл гине 50% КУО (рис. 1).

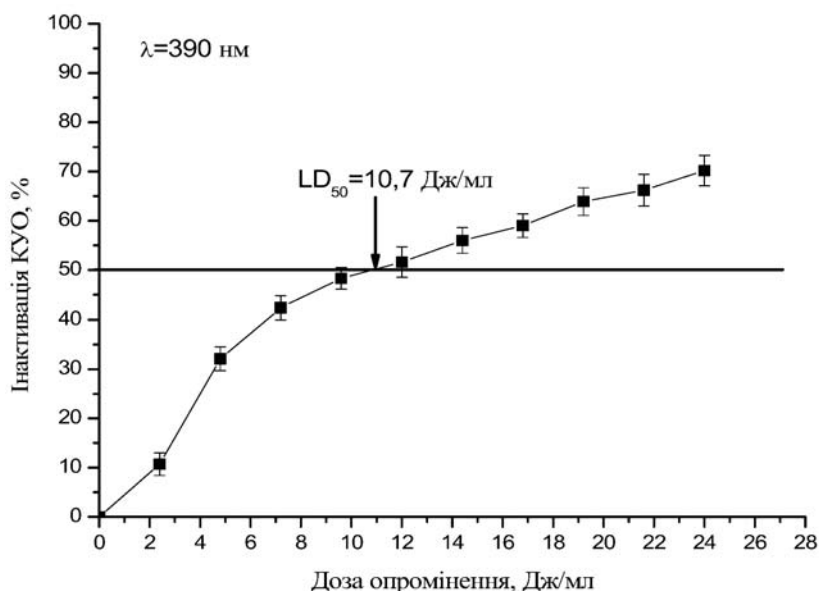


Рис. 1. Залежність бактерицидної активності дії світла з  $\lambda = 390$  нм на суспензію *S. aureus* від дози опромінення при  $E = 100$  мДж/с.

При малих дозах опромінення спостерігається висока бактерицидна активність світла, яка становить близько 40% від початкової кількості КУО. Наступне збільшення енергії сприяє практично лінійному зростанню бактерицидної активності світла.

Неспецифічна дія ультрафіолетового випромінювання забезпечується високою енергією фотонів, які при взаємодії з органічними молекулами здатні генерувати радикали. Вільні радикали далі можуть активно взаємодіяти з іншими молекулами, порушуючи нормальне функціонування системи в цілому, призводячи до загибелі клітин. Тому, опромінення світлом з довжиною хвилі 390 нм забезпечує ефективне зменшення КУО *S. aureus* у суспензії клітин.

Збільшення довжини хвилі передбачає зниження енергії фотонів та присутність у клітинах потенційних мішеней, які мають максимуми поглинання у цих ділянках спектру. Світло з довжиною хвилі 460 нм здатне поглинатися гемопорфіриновими групами складних протеїнів, ініціюючи каскад реакцій, спрямованих на генерацію вільних радикалів [12]. Виявлено, що доза опромінення менше 1,5 Дж/мл сприяє загибелі лише 4–5% КУО (рис. 2). Збільшення дози опромінення до 10 Дж/мл забезпечує практично лінійне зниження кількості КУО до 40% від початкової популяції з наступним виходом на плато. Збільшення дози опромінення вище 10 Дж/мл забезпечує інактивацію близько 60% від початкової кількості КУО *S. aureus*.

Світло синьої ділянки спектру специфічно поглинається різними складовими клітини: гемопорфіринами, флавопротеїнами тощо. Основний внесок забезпечують гемопорфірини, які беруть участь в окисно-відновних процесах клітин [12]. Залежно від структури, вони мають декілька максимумів поглинання. Основний з них знаходиться в ділянці 420–470 нм, а додаткові 510–580 нм. Цілком ймовірно, що бактерицидна активність світла з довжинами хвиль 460 нм і 530 нм забезпечується поглинанням саме цими молекулами.

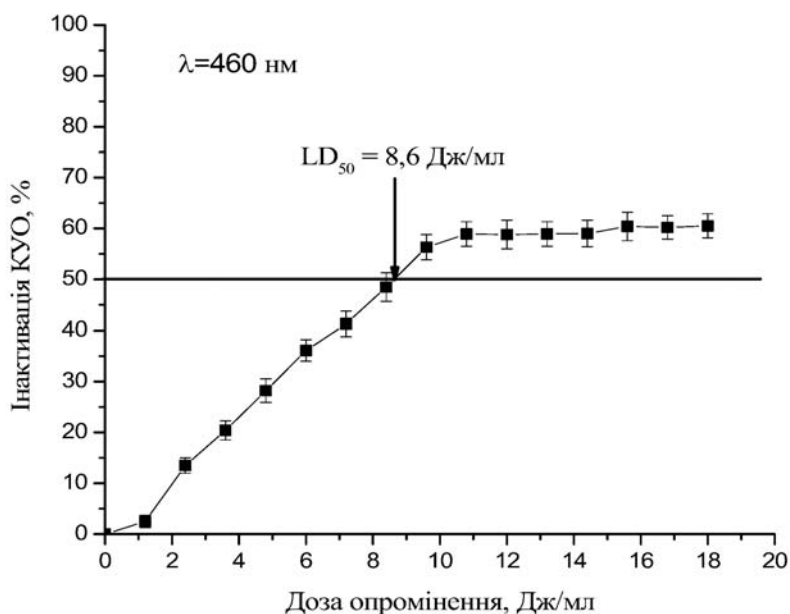


Рис. 2. Залежність бактерицидної активності дії світла з  $\lambda = 460$  нм на суспензію *S. aureus* від дози опромінення при  $E = 100$  мДж/с.

При опроміненні зеленим світлом з довжиною хвилі 530 нм було отримано подібну до синього світла залежність. Доза опромінення зеленим світлом, яка необхідна для ініціації загибелі бактерій у суспензії становить 2,5–3 Дж/мл (рис. 3). Збільшення дози опромінення до 10 Дж/мл сприяє різкому підвищенню бактерицидної активності до 35% від початкової популяції КУО. Подальше зростання сумарної енергії опромінення не призводить до суттєвої зміни кількості КУО. Максимальний рівень інактивації КУО становить 50% при дозі опромінення 14–16 Дж/мл.

Таким чином, отримані результати бактерицидної активності світла з довжинами хвиль 390, 460 і 530 нм вказують на присутність у клітинах *S. aureus* внутрішніх фотосенсибілізаторів, які забезпечують виявлений ефект.

Незважаючи на бактерицидну ефективність низько енергетичного світла видимого діапазону, не можливо досягти повної стерилізації середовища. Це пояснюється присутністю декількох систем інактивації вільних радикалів, в тому числі кисню, та репараційних процесів ДНК.

При перевищенні допустимих рівнів реактивних форм кисню (РФК) відбувається індукція експресії ензимів детоксикації разом з низкою до-

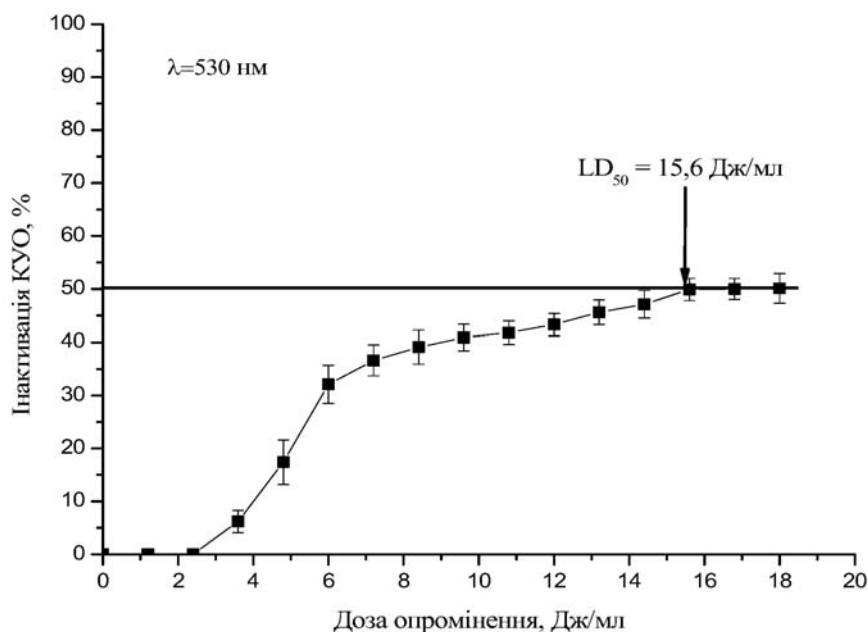


Рис. 3. Залежність бактерицидної активності дії світла з  $\lambda = 530$  нм на суспензії *S. aureus* від дози опромінення при  $E = 100$  мДж/с.

даткових систем, які відновлюють пошкодження і контролюють кількість  $Fe^{2+}$  [13]. Бактеріальні клітини містять значну кількість регуляторів, які чутливі до  $H_2O_2$ , органічних пероксидів  $ROO^*$ , гіпохлориту натрію ( $NaOCl$ ). До них належать транскрипційні фактори *OxyR*, *PerR* та *OhrR* [14]. У грам-позитивних бактерій, до яких належить і *S. aureus*, основні функції захисту від РФК виконує *PerR* [15]. Завдяки наявності таких систем, частина популяції мікроорганізмів здатна боротися з наслідками перевантаження клітин пероксидними радикалами та виживати при опроміненні світлом. Тим не менше, завдяки неспецифічній дії, такий підхід дозволяє інактивувати значну частину мікроорганізмів та забезпечує бактериостатичну дію відносно інших, сповільнюючи швидкість їх розмноження.

При опроміненні суспензії *S. aureus* світлом з довжиною хвилі 660 нм не було виявлено зміни кількості КУО у суспензії (рис. 4). Як відомо, довгохвильова ділянка видимого спектру електромагнітного випромінювання має занадто низьку енергію фотонів для неспецифічної дії на клітинні мішені та впливає на невелику кількість фотосенсибілізаторів, які мають максимуми поглинання в цій області.

Введення у систему зовнішнього фотосенсибілізатора у малих кількостях у комплексі зі світлом також забезпечує інактивуючу дію на мікроорганізми. Механізм фотодинамічної дії метиленового синього передбачає генерацію РФК. Тому, як і в попередньому випадку з внутрішніми фотосенсибілізаторами, такий вплив ініціює захисні системи клітин спрямовані на боротьбу з оксидативним стресом.

Метиленовий синій проявляє слабку бактерицидну активність при концентраціях вище 0,01% завдяки зв'язуванню з компонентами клітин-



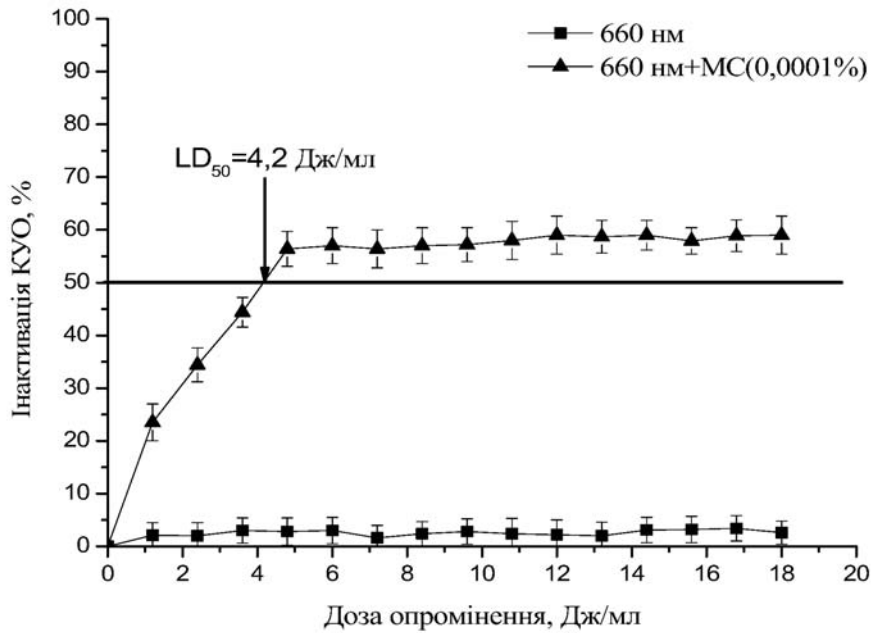


Рис. 4. Залежність бактерицидної активності комплексної дії світла з  $\lambda = 660$  нм та метиленового синього (0,0001%) на суспензію *S. aureus* від дози опромінення при  $E = 100$  мДж/с.

ної стінки бактерій та негативно-зарядженими складовими цитоплазми, перешкоджаючи їх нормальному функціонуванню. Зважаючи на те, що при високих кількостях він також здатен негативно впливати на еукаріотичні клітини, ми знизили його концентрацію до 0,0001%, яка практично не впливає на функціонування клітин, у тому числі й бактерій. Але завдяки здатності розпадатись під дією світла червоної ділянки спектру (650–680 нм) на радикали можливо досягти бактерицидного ефекту. Виявлено, що при дозі опромінення 1–1,5 Дж/мл кількість КУО у суспензії знижується на 25% (рис.4). Максимальний ефект опромінення досягається при дозі 4,5–5 Дж/мл і становить 55–60% інактивованих КУО.

Застосування комплексного підходу до фотоінактивації мікроорганізмів у присутності низьких концентрацій метиленового синього та червоного світла (660 нм) потребує значно меншої сумарної енергії світла ( $LD_{50} = 4,2$  Дж/мл) відносно синьої (460 нм,  $LD_{50} = 8,6$  Дж/мл) і зеленої (530 нм,  $LD_{50} = 15,6$  Дж/мл) ділянок спектру. Підхід дозволяє значно знизити світлове навантаження на тканини. Тривала дія світла може негативно впливати на клітинний метаболізм регенеруючих тканин та забезпечувати їх локальний нагрів. Тому, короткочасне опромінення червоним світлом ран, на які попередньо нанесено розчин метиленового синього ( $\sim 0,0001\%$ ), потенційно може інактивувати значну кількість мікроорганізмів з мінімальним негативним ефектом.

## Висновки

Фотодинамічна терапія з використанням низькоенергетичного світла з довжинами хвиль 390, 460 і 530 нм забезпечує інактивацію понад 50% КУО *S. aureus* у суспензійній культурі. Завдяки введенню в систему 0,0001% метиленового синього та опромінення її червоним світлом з довжиною хвилі 660 нм досягається висока бактерицидна здатність при значно нижчій сумарній дозі опромінення. Даний спосіб інактивації бактерій має мінімальний негативний ефект для живих тканин і сприяє швидкому загоєнню ран.

## Література

- [1] Mahmoudi, H., A. Bahador, M. Pourhajibagher, and M.Y. Alikhani. 2018. Antimicrobial photodynamic therapy: an effective alternative approach to control bacterial infections. *Journal of lasers in medical sciences* 9, N3 (2018): 154–160. doi:10.15171/jlms.2018.29
- [2] Agarwal, H., S. Menon, S.V. Kumar, and S. Rajeshkumar. 2018. Mechanistic study on antibacterial action of zinc oxide nanoparticles synthesized using green route. *Chemico-biological interactions* 286 (2018): 60–70. doi:10.1016/j.cbi.2018.03.008
- [3] Kadiyala, U., N.A. Kotov, and J. S. VanEpps. 2018. Antibacterial Metal Oxide Nanoparticles: Challenges in Interpreting the Literature. *Current pharmac. design* 24, N8:896–903. doi:10.2174/1381612824666180219130659
- [4] Tang, S, and J. Zheng. 2018. “Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects”. *Advanced healthcare materials* 13, N7:e1701503. doi:10.1002/adhm.201701503
- [5] Penders, J., M. Stolzoff, D. J. Hickey, M. Andersson, and T. J. Webster. 2017. Shape-dependent antibacterial effects of non-cytotoxic gold nanoparticles. *International journal of nanomedicine* 12:2457–2468. doi:10.2147/IJN.S124442
- [6] Tegos, G.P., and M.R. Hamblin. 2006. Phenothiazinium antimicrobial photosensitizers are substrates of bacterial multidrug resistance pumps. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 50, N1:196–203. doi:10.1128/aac.50.1.196-203.2006
- [7] Darabpour, E., N. Kashef, and S. Mashayekhan. 2016. Chitosan nanoparticles enhance the efficiency of methylene blue-mediated antimicrobial photodynamic inactivation of bacterial biofilms: An in vitro study. *Photodiagnosis and photodynamic therapy* 14:211–217. doi:10.1016/j.pdpdt.2016.04.009
- [8] Leung, B., et al. 2020. Development of thermosensitive hydrogel containing methylene blue for topical antimicrobial photodynamic therapy. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology* 203:111776. doi:10.1016/j.jphotobiol.2020
- [9] Lee, H.J., S.M. Kang, S.H. Jeong, K.H. Chung, and B.I. Kim. 2017. Antibacterial photodynamic therapy with curcumin and Curcuma xanthorrhiza extract against *Streptococcus mutans*. *Photodiagnosis and photodynamic therapy* 20:116–119. doi:10.1016/j.pdpdt.2017.09.003

- [10] Shen, J., et al. 2019. In Vitro Effect of Toluidine Blue Antimicrobial Photodynamic Chemotherapy on Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus Isolated from Ocular Surface Infection. *Translational vision science & technology* 8, N3:45. doi:10.1167/tvst.8.3.45
- [11] Virych, P., O. Oksana Nadтока, P. Virych, V. Martynyuk, and N. Kutsevol. 2020. Biochemical and medical studies of bactericidal activity of hydrogels with silver nanoparticles. *Interdisciplinary Studies of Complex Systems* 16:47–59. doi: 10.31392/iscs.2020.16.047
- [12] Amos-Tautua, B.M., S.P. Songca, and O.S. Oluwafemi. 2019. Application of Porphyrins in Antibacterial Photodynamic Therapy. *Molecules (Basel, Switzerland)* 24, N13:2456. doi:10.3390/molecules24132456
- [13] Pomposiello, P.J., and B. Demple. 2002. Global adjustment of microbial physiology during free radical stress. *Advances in microbial physiology* 46:319–341.
- [14] Hillion, M., and H. Antelmann. 2015. Thiol-based redox switches in prokaryotes. *Biological chemistry* 396, N5:415–444. doi:10.1515/hsz-2015-0102
- [15] Mongkolsuk, S., and J.D. Helmann. 2002. Regulation of inducible peroxide stress responses. *Molecular microbiology* 45, N1:9–15. doi:10.1046/j.1365-2958.2002.03015.x