



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 196–201

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 196–201

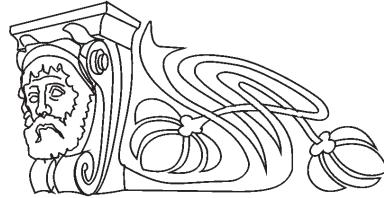
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-196-201>, EDN: EUHPDP

Научная статья

УДК 577.344.3. 57.033

Динамика формирования у *Staphylococcus aureus* толерантности к фиолетовому (405 нм) светодиодному излучению при многократном воздействии



Е. С. Тучина , М. В. Каневский, Эль-Хих Айя Нидаль, Ю. И. Сливина

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Тучина Елена Святославна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, kliany@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4498-2846>

Каневский Матвей Владимирович, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, matvejkanev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>

Эль-Хих Айя Нидаль, студент кафедры биохимии и биофизики, ayya0022@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1149-3966>

Сливина Юлия Игоревна, студент кафедры биохимии и биофизики, slivina_yulya08@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-1531-5451>

Аннотация. Проведено исследование формирования толерантности к низкоинтенсивному фиолетовому (405 нм, 80 мВт/см², 72 Дж/см²) светодиодному излучению у стандартного антибиотико-устойчивого штамма *Staphylococcus aureus* 2a. Изучено изменение численности в ходе 20 циклов облучения, исследована реакция бактериальных клеток на окислительный стресс – чувствительность к присутствию в среде перекиси водорода и активность каталазы. Показано, что с 1-го по 5-й цикл происходило достоверно незначительное сокращение выживаемости – с 85 до 82%, с 5-го по 10-й цикл облучения снижение числа клеток приобретало более выраженный характер – с 82 до 63%, затем, с 10-го по 15-й цикл отмечено восстановление численности до более высоких значений (65–76%), с 15-го по 20-й цикл значения выживаемости после облучения сохранялись на одном уровне (80%). Установлено, что, начиная с 15-го цикла облучения культура становится в 2 раза устойчивее к действию окислительных факторов. Полученные результаты показали, что к использованию метода фотодинамической терапии на практике необходимо подходить с осторожностью, поскольку формирование у тагретного микроорганизма толерантности к воздействию происходит к 15-му циклу облучения и может существенно ухудшить результаты лечения.

Ключевые слова: фиолетовое излучение, 405 нм, фотодинамическая терапия, антибиотико-устойчивые *Staphylococcus aureus*, каталаза, H₂O₂, толерантность к излучению

Для цитирования: Тучина Е. С., Каневский М. В., Эль-Хих Айя Нидаль, Сливина Ю. И. Динамика формирования у *Staphylococcus aureus* толерантности к фиолетовому (405 нм) светодиодному излучению при многократном воздействии // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 196–201. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-196-201>, EDN: EUHPDP

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

Article

Dynamics of formation of tolerance to blue (405 nm) led radiation in *Staphylococcus aureus* upon repeated exposure

Е. С. Тучина , М. В. Каневский, Эль-Хих Айя Нидаль, Ю. И. Сливина

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Elena S. Tuchina, kliany@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4498-2846>

Matvey V. Kanevsky, matvejkanev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>

El-Khih Ayya Nidal, ayya0022@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1149-3966>

Yulia I. Slivina, slivina_yulya08@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-1531-5451>

Abstract. In this work, we studied the development of tolerance to low-intensity violet (405 nm, 80 mW/cm², 72 J/cm²) LED radiation in a standard antibiotic-resistant strain of *Staphylococcus aureus* 2a. The change in numbers during 20 cycles of irradiation was studied, the reaction of bacterial cells to oxidative stress was studied – sensitivity to the presence of hydrogen peroxide in the environment and catalase activity. It was shown

that from cycles 1 to 5 there was a significantly insignificant reduction in survival rate – from 85% to 82%, from cycles 5 to 10 of irradiation the decrease in the number of cells became more pronounced – from 82 to 63%, then, from cycles 10 to 15, recovery was noted, showing numbers to higher values (65–76%), from cycle 15 to 20, the survival value after irradiation remained at the same level (80%). It has been established that, starting from the 15th irradiation cycle, the culture becomes 2 times more resistant to the action of oxidative factors. The results obtained showed that the use of the photodynamic therapy method in practice must be approached with caution, since the formation of tolerance to the effects in the target microorganism occurs by the 15th irradiation cycle and can significantly worsen the treatment results.

Keywords: violet radiation, 405 nm, photodynamic therapy, antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*, catalase, H_2O_2 radiation tolerance

For citation: Tuchina E. S., Kanevsky M. V., El-Khish Ayya Nidal, Slivina Yu. I. Dynamics of formation of tolerance to blue (405 nm) led radiation in *Staphylococcus aureus* upon repeated exposure. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 196–201 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-196-201>, EDN: EUHPDP

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

Введение

Способность бактерий с экспоненциально возрастающей скоростью развивать устойчивость к антибиотикам в последнее десятилетие приобрела угрожающие масштабы [1]. Во всем мире разрабатываются подходы по предотвращению появления полностью резистентных и неизлечимых антибиотиками инфекций. Одной из многообещающих альтернатив является антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ) – метод, который основан на генерации активных форм кислорода (АФК) при взаимодействии красителей и света [2].

АФДТ демонстрирует антимикробный эффект для клеток большинства клинически значимых микроорганизмов, а также обладает иммуномодулирующим и регенеративным потенциалом при воздействии на ткани макроорганизма. Важным достоинством метода является его низкая себестоимость, окупаемость и удобство проведения процедуры [3, 4].

Повреждающий эффект АФДТ связан с многоточечным воздействием АФК на компоненты бактериальных клеток (клеточную стенку, белки, липиды и генетический материал), и долгое время считалось, что лечение на основе света имеет низкий риск развития толерантности и/или резистентности. Тем не менее, самые последние исследования [3] показывают, что повторяющаяся сублетальная фотообработка может спровоцировать развитие толерантности у патогенных микроорганизмов.

В связи с этим целью настоящего исследования являлось изучение возможных механизмов формирования толерантности/резистентности у микроорганизмов *Staphylococcus aureus* к действию фиолетового (405 nm, 80 mW/cm², 72 Дж/cm²) излучения *in vitro*.

Материалы и методы

В качестве тест-культуры для проведения исследований по фотовоздействию использовали музейный штамм *Staphylococcus aureus* 2a, (коллекция культур ГИСК им. Л. А. Тарасевич, Москва, Россия). Данный штамм характеризовался низкой способностью продуцировать плазмокоагулазу, гемолизин и летициназу, при этом обладал устойчивостью к таким антибиотикам как амоксициллин и ванкомицин.

Источником излучения служил светодиодный прибор с максимумом спектра испускания $\lambda = 405 \pm 30$ nm, плотностью мощности 80 mW/cm². За один цикл облучения принимали однократное облучение бактериальной суспензии в течение 15 мин, сообщаемая доза излучения 72 Дж/cm².

Облучение бактериальных взвесей проводили в черных полистирольных планшетах. При постановке опытов использовали суточную бактериальную культуру, выращенную при температуре 37°C на ГРМ-агаре. Бактериальную взвесь готовили в стерильном физиологическом растворе, рабочая концентрация составляла 10³ микробных клеток (м.к.) в 1 мл. Контрольные и облученные взвеси бактерий помещали на поверхность плотной питательной среды для дальнейшего культивирования в течение 24 ч.

Выжившие (опытные) колонии использовались для подготовки инокулята для следующего экспериментального цикла (рис. 1).

Учет изменения численности (КОЕ, %) бактериальных популяций проводили в каждом цикле облучения, определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) H_2O_2 и активности каталазы (АК) в 0-м, 10-м, 15-м и 20-м циклах. В ходе данных исследований работали с суточной культурой, предварительно выращенной из изолированной колонии.



Рис. 1. Схема проведения одного цикла облучения, включающая в себя: выращивание бактерий на питательной среде; приготовление суспензии, облучение светом с выбранными параметрами; дальнейший высев на питательную среду для подсчета колоний, оценки оксидативного стресса и последующего использования выросших колоний в новых циклах эксперимента

Fig. 1. Scheme of carrying out 1 cycle of irradiation, including: growing bacteria on a nutrient medium; preparing a suspension; irradiation with light with selected parameters; further seeding on a nutrient medium to count colonies, assess oxidative stress and subsequent use of the grown colonies in new cycles of the experiment

МИК H_2O_2 определяли методом двукратных последовательных разведений, при этом для засева использовали бактериальную суспензию с концентрацией 10^7 м.к./мл. Формирование толерантности к H_2O_2 проводили по методике, описанной у Lipovsky [4], для этого тест-культуры инкубировали в течение 1 ч с субингибирующей концентрацией H_2O_2 , а затем повторно определяли МИК.

Уровень каталазной активности в клетках трех исследуемых штаммов определяли спектрофотометрически по методике О. В. Бухарина с соавт. [5]. Каталазную активность (отн. ед.) оценивали для необлученных и облученных светоизлучением (СИ) в течение 15 мин тест-культур.

Эксперименты проводились в пятикратной повторности, данные обрабатывали с помощью пакета программ Statistica base (StatSoft, США).

Результаты и их обсуждение

Изучение динамики численности бактериальной популяции *S. aureus* 2а при последовательном повторном облучении СИ показало следующее. С 1-го по 5-й цикл происходило незначительно сокращение выживаемости – с 85 до 82%, с 5-го по 10-й цикл снижение числа клеток приобретало более выраженный характер – с 82 до 63%, затем, с 10-го по 15-й цикл отмечено восстановление численности до более высоких значений (65–76%), с 15 по 20 цикл значения выживаемости после облучения сохранялся на том же уровне (80%) (рис. 2).

При определении минимальной ингибирующей концентрации перекиси водорода было установлено, что с увеличением цикла

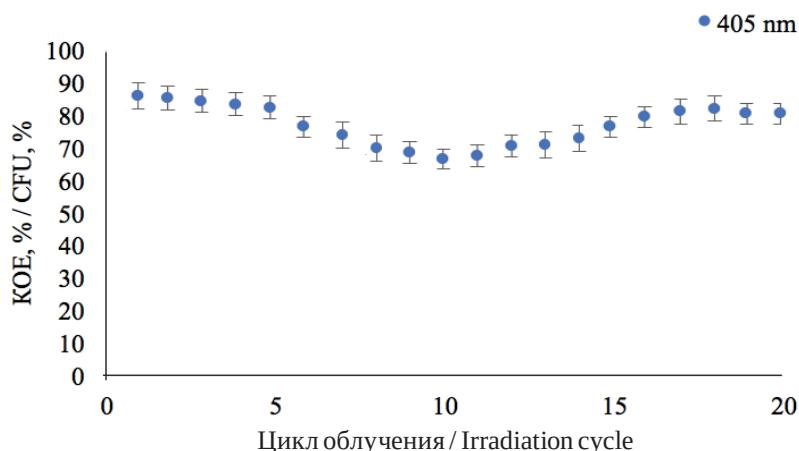


Рис. 2. Влияние светоизлучения (405 нм, 80 мВт/см², 72 Дж/см²) и цикла облучения на выживаемость *S. aureus* 2а

Fig. 2. Effect of LED (405 nm, 80 mW/cm², 72 J/cm²) and cycle of irradiation on survival rate of *S. aureus* 2а

облучения растет и МИК. Если для исходной культуры значение МИК составляло 0,000088 М, то уже к 10-му циклу облучения значение

МИК было равно 0,000176 М, а к 20-му циклу возрастало в 3 раза и составляло 0,000264 М (таблица).

Чувствительность клеток *S. aureus* 2a к оксидативному стрессу

Table. Sensitivity of *S. aureus* 2a cells to oxidative stress

Цикл облучения Irradiation cycle	МИК H_2O_2 , М MIC H_2O_2 , M		Активность каталазы, отн. ед. Catalase activity, rel. units	
	Исходная Initial	Через 1 час инкубации After 1 h incubation	До облучения Before radiation	После облучения After radiation
0	0,000088	0,000088	0,55	0,57
10-й	0,000176	0,000176	0,63	0,76
15-й	0,000176	0,000352	0,68	1,32
20-й	0,000264	0,000528	0,87	1,65

В дальнейшем изучали способность клеток *S. aureus* 2a формировать толерантность к H_2O_2 . При этом показано, что ни исходная культура, ни прошедшая 10 циклов облучения не обладали такой способностью, значения МИК оставались на одном уровне. Инкубация в течение 1 ч в присутствии сублетальной концентрации H_2O_2 приводила к формированию устойчивости только у культур, прошедших от 15 до 20 циклов облучения, МИК возрастала в 2 раза (см. таблицу).

При изучении уровня активности каталазы после воздействия на бактериальные суспензии СИ в течение 15 мин также заметны различия в зависимости от цикла облучения. Значение показателя АК у исходного штамма после действия СИ достоверно не отличалось от контрольного. 10-й цикл облучения характеризовался незначительным повышением данного показателя – 0,76 отн. ед. против 0,63 отн. ед. в контроле. Выраженное повышение АК в контроле отмечено после 15-го цикла облучения, при этом после воздействия СИ данный показатель возрастал в 1,89 раза (см. таблицу).

Таким образом, адаптация к окислительному стрессу у штамма *S. aureus* 2a начинает формироваться только после 10-го цикла облучения, что проявляется в том числе в восстановлении численности бактериальной популяции близкой к контрольным значениям.

Использование методов фотодинамического, фототермического, фотокатализитического воздействия является весьма перспективным, поскольку, как считалось ранее, основано на процессах, к которым микроорганизмы не способны сформировать резистентность. К этим механизмам относятся: генерация активных форм кислорода и свободных радикалов и/или

локальный нагрев микроокружения клетки, деструкция клеточной стенки и мембранны за счет перекисного окисления липидов [7–10].

Золотистый стафилококк ответственен за множество хронических и рецидивирующих инфекций, что зачастую связано с его резистентностью к антибиотикам [1, 7]. В ответ на действие излучения и АФК в бактериальных клетках активизируются защитные механизмы, которые включают: каталазу (KatA), супероксиддисмутазы (SODA/M) и золотой пигмент стафилоксантина. Известна способность бактерий временно увеличивать частоту мутаций в ответ на стресс окружающей среды, что увеличивает вероятность полезных (адаптивных) мутаций, которые повышают выживаемость. Имеются данные [6–8], что частота этих мутаций увеличивается в ответ на H_2O_2 посредством SOS-ответа. Нейтрализация других АФК возможна путем повышения экспрессии генов антиоксидантных ферментов, активации репаративных механизмов нукleinовых кислот [7–11].

Однако в литературе существуют неоднозначные мнения в отношении развития резистентности к АФДТ. Лишь некоторые исследования смогли продемонстрировать увеличение выживаемости в летальных условиях облучения. Критические расхождения возникают из-за различий в методологии, различий используемых комбинаций света и фотосенсибилизатора, а также того, что исследуются многие виды и штаммы микроорганизмов.

J. S. Guffey с соавторами предположили, что *S. aureus* может быть способен адаптироваться к облучению синим светом. В результате этих экспериментов было показано, что начиная с 5-го цикла облучения клетки бактерий снижили



чувствительность к АФДТ [11]. В исследованиях R. M. Amin с соавторами клетки возбудителя гнойно-воспалительных заболеваний *Pseudomonas aeruginosa* демонстрировали снижение чувствительности к сублетальному АДФТ после 9 циклов фотоинактивации [12]. В ряде работ других авторов [14–16] для достижения толерантности/резистентности требовалось до 15–17 циклов облучения, в этих исследованиях были использованы такие условно-патогенные микроорганизмы, как метициллин-чувствительный и метициллин-резистентный *S. aureus*, *Enterococcus faecium* и *Streptococcus agalactiae*.

В данном исследовании показано, что до 10-го цикла облучения происходит снижение числа колоний *S. aureus* 2a, при этом культура характеризуется чувствительностью к перекиси и низкими значениями активности каталазы. Рост устойчивости к оксидативному стрессу сопровождается менее выраженным снижением численности бактериальных популяций, что отмечено после 15-го цикла облучения.

Заключение

Немалой проблемой в принятии новых научных фактов, в частности, в вопросе возможного развития толерантности/резистентности микроорганизмов к оптическому излучению, является авторитет крупных исследователей из зарубежных научных групп. Так, в недавних обзорах, посвященным механизмам повреждающего действия АФДТ [17, 18], постулируется невозможность развития подобного процесса. К мнению этих ученых присоединяется большинство авторов, не столкнувшихся в эксперименте с явлением снижения восприимчивости бактериальной культуры к сублетальным дозам облучения.

Полученные в ходе работы результаты показали, что к использованию метода фотодинамической терапии на практике необходимо подходить с осторожностью, поскольку формирование у тагретного микроорганизма толерантности к воздействию происходит к 15-му циклу облучения и может существенно ухудшить результаты лечения. Тем не менее, проведенное исследование может стать основой для реализации комплексного подхода по решению проблемы толерантности/резистентности микроорганизмов к действию оптического излучения, призванного обеспечить как эффективное уничтожение бактерий, так и отсутствие у них резистентности к методу.

Список литературы

1. Kussell E., Kishony R., Balaban N. Q., Leibler S. Bacterial persistence: A model of survival in changing environments // Genetics. 2005. Vol. 169. P. 1807–1814.
2. Mahmoudi H., Bahador A., Pourhajibagher M., Alikhani M. Y. Antimicrobial photodynamic therapy: An effective alternative approach to control bacterial infections // J. Lasers Med. Sci. 2018. Vol. 9. P. 154–162. <https://doi.org/10.15171/jlms.2018.29>
3. Youf R., Müller M., Balasini A., Thétiot F., Müller M., Hascoët A., Jonas U., Schönher H., Lemercier G., Montier T. Antimicrobial photodynamic therapy: Latest developments with a focus on combinatory strategies // Pharmaceutics. 2021. Vol. 13. P. 1995–2016. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13121995>
4. Lipovsky A., Nitzan Y., Friedmann H., Lubart R. Sensitivity of *Staphylococcus aureus* strains to broadband visible light // Photochemistry and Photobiology. 2009. Vol. 85. P. 255–260.
5. Бухарин О. В., Сгибнев А. В., Черкасов С. В., Иванов Ю. Б. Способ выявления у бактерий ингибиторов каталазы микроорганизмов. Патент РФ на изобретение № 2180353 от 10.03.2002.
6. McKenzie G. J., Harris R. S., Lee P. L., Rosenberg S. M. The SOS response regulates adaptive mutation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97. P. 6646–6651.
7. Anderson K. L., Roberts C., Disz T., Vonstein V., Hwang K., Overbeek R., Olson P. D., Projan S. J., Dunman P. M. Characterization of the *Staphylococcus aureus* heat shock, cold shock, stringent, and SOS responses and their effects on log-phase mRNA turnover // J. Bacteriol. 2006. Vol. 188. P. 6739–6756.
8. Galhardo R. S., Hastings P. J., Rosenberg S. M. Mutation as a stress response and the regulation of evolvability // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 2007. Vol. 42. P. 399–435.
9. Kwiatkowski S., Knap B., Przystupski D., Saczko J., Kędzierska E., Knap-Czap K., Kotlinska J., Michel O., Kotowski K., Kulbacka J. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations // Biomed. Pharmacother. 2018. Vol. 106. P. 1098–1107.
10. Pieranski M., Sitkiewicz I., Grinholc M. Increased photoinactivation stress tolerance of *Streptococcus agalactiae* upon consecutive sublethal phototreatments // Free Radic. Biol. Med. 2020. Vol. 160. P. 657–669.
11. Guffey J. S., Payne W., Jones T., Martin K. Evidence of resistance development by *Staphylococcus aureus* to an *in vitro*, multiple stage application of 405 nm light from a supraluminous diode array // Photomed. Laser Surg. 2013. Vol. 31. P. 179–182.
12. Amin R. M., Bhayana B., Hamblin M. R., Dai T. Antimicrobial blue light inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* by photo-excitation of endogenous porphyrins: *In vitro* and *in vivo* studies // Lasers Surg. Med. 2016. Vol. 48. P. 562–568.
13. Massier S., Rince A., Maillet O., Feuilloley M. G., Orange N., Chevalier S. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to a pulsed light-induced stress // J. Appl. Microbiol. 2012. Vol. 112. P. 502–511.

14. Grinholc M., Rodziewicz A., Forys K., Rapacka-Zdonczyk A., Kawiak A., Domachowska A., Golunski G., Wolz C., Mesak L., Becker K. Antimicrobial photodynamic therapy with fulleropyrrolidine: Photoinactivation mechanism of *Staphylococcus aureus*, *in vitro* and *in vivo* studies // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015. Vol. 99. P. 4031–4043.
15. Cieplik F., Späth A., Regensburger J., Gollmer A., Tabenski L., Hiller K. A., Bäumler W., Maisch T., Schmalz G. Photodynamic biofilm inactivation by SAPYR – an exclusive singlet oxygen photosensitizer // Free Radic. Biol. Med. 2013. Vol. 65. P. 477–487.
16. Paronyan M. H., Koloyan H. O., Avetisyan S. V., Aganyants H. A., Hovsepyan A. S. Study of the possible development of bacterial resistance to photodynamic inactivation // Biol. J. Armen. 2019. Vol. 71. P. 17–22.
17. Kashef N., Hamblin M. R. Can microbial cells develop resistance to oxidative stress in antimicrobial photodynamic inactivation? // Drug Resist. Updat. 2017. Vol. 31. P. 31–42.
18. Al-Mutairi R., Tovmasyan A., Batinic-Haberle I., Benov L. Sublethal photodynamic treatment does not lead to development of resistance // Front. Microbiol. 2018. Vol. 9. P. 1699.

References

1. Kussell E, Kishony R, Balaban N. Q., Leibler S. Bacterial persistence: A model of survival in changing environments. *Genetics*, 2005, vol. 169, pp. 1807–1814.
2. Mahmoudi H., Bahador A., Pourhajibagher M., Alikhani M. Y. Antimicrobial photodynamic therapy: An effective alternative approach to control bacterial infections. *J. Lasers Med. Sci.*, 2018, vol. 9, pp. 154–162. <https://doi.org/10.15171/jlms.2018.29>
3. Youf R., Müller M., Balasini A., Thétiot F., Müller M., Hascoët A., Jonas U., Schönher H., Lemercier G., Montier T. Antimicrobial photodynamic therapy: Latest developments with a focus on combinatory strategies. *Pharmaceutics*, 2021, vol. 13, pp. 1995–2016. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13121995>
4. 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.
5. Bukharin O. V., Sgibnev A. V., Cherkasov S. V., Ivanov Yu. B. A method for identifying microbial catalase inhibitors in bacteria. RF patent for invention No. 2180353 dated March 10, 2002 (in Russian).
6. McKenzie G. J., Harris R. S., Lee P. L., Rosenberg S. M. The SOS response regulates adaptive mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, vol. 97, pp. 6646–6651.
7. Anderson K. L., Roberts C., Disz T., Vonstein V., Hwang K., Overbeek R., Olson P. D., Projan S. J., Dunman P. M. Characterization of the *Staphylococcus aureus* heat shock, cold shock, stringent, and SOS responses and their effects on log-phase mRNA turnover. *J. Bacteriol.*, 2006, vol. 188, pp. 6739–6756.
8. Galhardo R. S., Hastings P. J., Rosenberg S. M. Mutation as a stress response and the regulation of evolvability. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2007, vol. 42, pp. 399–435.
9. Kwiatkowski S., Knap B., Przystupski D., Saczko J., Kędzierska E., Knap-Czap K., Kotlinska J., Michel O., Kotowski K., Kulbacka J. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomed. Pharmacother.*, 2018, vol. 106, pp. 1098–1107.
10. Pieranski M., Sitkiewicz I., Grinholc M. Increased photoinactivation stress tolerance of *Streptococcus agalactiae* upon consecutive sublethal phototreatments. *Free Radic. Biol. Med.*, 2020, vol. 160, pp. 657–669.
11. Guffey J. S., Payne W., Jones T., Martin K. Evidence of resistance development by *Staphylococcus aureus* to an *in vitro*, multiple stage application of 405 nm light from a supraluminous diode array. *Photomed. Laser Surg.*, 2013, vol. 31, pp. 179–182.
12. Amin R. M., Bhayana B., Hamblin M. R., Dai T. Antimicrobial blue light inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* by photo- excitation of endogenous porphyrins: *In vitro* and *in vivo* studies. *Lasers Surg. Med.*, 2016, vol. 48, pp. 562–568.
13. Massier S., Rince A., Maillot O., Feuilloley M. G., Orange N., Chevalier S. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to a pulsed light-induced stress. *J. Appl. Microbiol.*, 2012, vol. 112, pp. 502–511.
14. Grinholc M., Rodziewicz A., Forys K., Rapacka-Zdonczyk A., Kawiak A., Domachowska A., Golunski G., Wolz C., Mesak L., Becker K. Antimicrobial photodynamic therapy with fulleropyrrolidine: Photoinactivation mechanism of *Staphylococcus aureus*, *in vitro* and *in vivo* studies. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2015, vol. 99, pp. 4031–4043.
15. Cieplik F., Späth A., Regensburger J., Gollmer A., Tabenski L., Hiller K. A., Bäumler W., Maisch T., Schmalz G. Photodynamic biofilm inactivation by SAPYR – an exclusive singlet oxygen photosensitizer. *Free Radic. Biol. Med.*, 2013, vol. 65, pp. 477–487.
16. Paronyan M. H., Koloyan H. O., Avetisyan S. V., Aganyants H. A., Hovsepyan A. S. Study of the possible development of bacterial resistance to photodynamic inactivation. *Biol. J. Armen.*, 2019, vol. 71, pp. 17–22.
17. Kashef N., Hamblin M. R. Can microbial cells develop resistance to oxidative stress in antimicrobial photodynamic inactivation? *Drug Resist. Updat.*, 2017, vol. 31, pp. 31–42.
18. Al-Mutairi R., Tovmasyan A., Batinic-Haberle I., Benov L. Sublethal photodynamic treatment does not lead to development of resistance. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9, pp. 1699.

Поступила в редакцию: 20.01.2024; одобрена после рецензирования 25.01.2024; принята к публикации 03.02.2024
The article was submitted 20.01.2024; approved after reviewing 25.01.2024; accepted for publication 03.02.2024