

**ОПОСЕРЕДКОВАНА МЕТИЛЕНОВИМ СИНІМ ФОТОДИНАМІЧНА  
ІНАКТИВАЦІЯ МУЗЕЙНОГО ТА КЛІНІЧНОГО ШТАМІВ  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.**

<sup>1</sup>Радченко О.С., <sup>1</sup>Степура Л.Г., <sup>1</sup>Горбенко К.І., <sup>2</sup>Гамалія М.Ф.

<sup>1</sup>ІННЦ “Інститут біології” Київського національного університету імені Тараса Шевченка,  
вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна,  
тел./факс: +38(044)521-35-98, decanat\_bf@univ.kiev.ua

<sup>2</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології  
імені Р.Є. Кавецького НАН України,  
вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна,  
тел.: 38(044)259-01-83, факс 38 (044) 258-16-56, nauka@onconet.kiev.ua

*Фотодинамічну інактивацію музейного і клінічного штамів Staphylococcus aureus здійснювали за концентрації метиленового синього 6-40 мкг/мл і лазерного опромінення (660 нм, щільність потужності 25 мВт/см<sup>2</sup>), упродовж 10, 20 та 30 хвилин, дози 15,3, 30,6 та 46 Дж/см<sup>2</sup>, відповідно. Встановлено, що коливання концентрації фарбника в діапазоні 10-40 мкг/мл суттєво не впливає на ефективність фотоінактивації. Виживання клітин залежить від дози опромінення, оптимальне значення якої становило 30,6 Дж/см<sup>2</sup>. Динаміка ураження клітин випробуваних штамів Staphylococcus aureus була схожа, а діапазон її складав 3,5-4,9 порядки. При концентрації фарбника в межах 2-20 мкг/мл відмічена певна різниця в інтенсивності інактивації досліджених штамів: максимальний ефект на Staphylococcus aureus ATCC 6538 спостерігався за 6 мкг/мл (-5,6 lg), а на Staphylococcus aureus 48011 - за 10 мкг/мл (-4,96 lg). Присутність у середовищі сироватки крові призводила до помірного блокування антимікробного фотодинамічного ефекту.*

**Ключові слова:** фотодинамічна дія, фотосенсибілізатор метиленовий синій, Staphylococcus aureus.

### **Вступ**

Широке використання у медичній практиці і розповсюдження у довкіллі різноманітних природних (антибіотики) та синтетичних (ксенобіотики) речовин, що володіють антимікробними властивостями, породжують формування у мікроорганізмів множинної резистентності до протимікробних препаратів. Тому, на сьогодні є дуже актуальною розробка нових підходів до проблеми ефективного контролю розвитку патогенних мікроорганізмів.

Один з таких нових методів боротьби з антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів є антитимікробна фотодинамічна терапія (ФДТ). Запроваджені також поняття фотоактивована дезінфекція та фотодинамічна інактивація. В основі цих підходів лежить застосування фарбника-фотосенсибілізатора, зазвичай порфіриновмісної сполуки, яка при фотоактивації видимим світлом відповідної довжини хвилі генерує *реактивні*

*форми кисню*, цитотоксичні для бактеріальних клітин: синглетний кисень і вільні радикали [5, 6, 11]. Формування у мікроорганізмів резистентності до ФДТ - процес малоймовірний, тому що реактивні форми кисню мають різноманітні мішені дії: різні структури клітини і різні метаболічні шляхи [4].

Існують два можливі молекулярні механізми реалізації ФДТ. Згідно механізму першого типу, збуджений світлом фотосенсибілізатор спричиняє утворення вільних радикалів, котрі реагують з ліпідами і білками мікробної клітини, а це призводить до ланцюгової реакції накопичення додаткових окиснених продуктів. За механізмом другого типу, енергія з триплетного стану збудженого фотосенсибілізатора передається молекулярному кисню, внаслідок чого утворюється високореактивний синглетний кисень. Синглетний кисень може як безпосередньо реагувати з молекулами клітин, що знаходяться близько до

нього, так і утворювати додаткові кисневі радикали [3, 11].

Одним з найпоширеніших фотосенсибілізаторів є малотоксичний фарбник феноліазинового класу метиленовий синій, який за іншим призначенням широко застосовується у гістологічній практиці, але проявляє також фототоксичну дію на ракові клітини, віруси та гриби [9]. На даний час існує низка робіт, присвячених фотоінактивації *Staphylococcus aureus* з використанням різних концентрацій метиленового синього та широко варіюючих доз світлового випромінювання видимого спектра, але результати цих досліджень, навіть на планктонних клітинах *in vitro*, дуже різняться між собою. У роботі Tubby et al. [10] суспензію клітин метицилін-резистентного штаму *Staphylococcus aureus* опромінювали лазерним світлом 665 нм (щільність потужності 32 мВт/см<sup>2</sup>) з 1-20 мкМ метиленового синього упродовж 1, 2 та 5 хвилин. Дози опромінення були відповідно 1,93; 3,86 та 9,65 Дж/см<sup>2</sup>. Суспензія містила 10<sup>7</sup> колонієутворюючих одиниць (КУО)/мл. Встановлено, що при дозі 1,93 Дж/см<sup>2</sup> і концентрації метиленового синього 10 мкМ інактивація клітин склала 2 lg а при 20 мкМ – 4 lg. Збільшивши дозу опромінення до 9,65 Дж/см<sup>2</sup> вдалося досягти інактивацію 6 lg клітин. В іншій роботі [8] було показано, що на ступінь інактивації бактерій впливала не так концентрація метиленового синього (25, 50 чи 100 мкг/мл), як доза лазерного опромінення ( $\lambda = 660$  нм). Застосовували щільність потужності 0,091 Вт/см<sup>2</sup> при дозах 27,3; 54,6; 109,2 Дж/см<sup>2</sup>. Час експозиції був відповідно 5, 10 і 20 хв., а початкова кількість клітин 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> КУО/мл. При дозі опромінення 109,2 Дж/см<sup>2</sup> спостерігали інактивацію *Staphylococcus aureus* на 99,03%, а *Staphylococcus epidermidis* – на 98,95%. Інактивація *Escherichia coli* за цих же умов була на рівні 92,23%.

У дослідженнях Gueorgieva T. et al. [4] вивчали фотодинамічне ураження *Staphylococcus aureus* у присутності чотирьох фотосенсибілізаторів: метиленового синього, гематопорфірину і двох нових Ga- і Zn-фталоціанінів. Було продемонстровано, що за концентрації метиленового синього 5 мкМ при експозиції діодного лазера ( $\lambda = 660$  нм) 12 хвилин кількість живих клітин в 1 мл суспензії зменшувалася з 10<sup>8</sup> до 10<sup>3</sup>, тобто на 5 lg. Автори наступної публікації [7] проводили фотоінактивацію планктонних клітин *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter sp.* з використанням розчину наночастинок метиленового синього з поліакріламідом і червоного світла ртутно-ксенонової лампи з довжиною хвилі 650 нм. Встановлено, що при

дозі 136,8 Дж/см<sup>2</sup> кількість життєздатних планктонних клітин стафілококу зменшувалася з 6,12 до 1,95 lg КУО/мл, кишкової палички – з 6,16 до 3,27, синьогнійної палички – з 6,09 до 3,77, а ацинетобактера – з 6,09 до 3,92.

Беручи до уваги значне варіювання отриманих у наведених статтях результатів, зокрема і в залежності від використаного штаму тест-культури, метою даної роботи було визначити фотодинамічний ефект метиленового синього на два різні штами *Staphylococcus aureus* - музейний та клінічний.

### Матеріали та методи.

Об'єктами дослідження були музейний штам *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та клінічний штам *Staphylococcus aureus* 48011, виділений від хворого на лейкемію мієлоїдного походження в ДУ «Інститут гематології та трансфузіології АМН України». Бактерії культивували на щільному середовищі Water Plate Count Agar (Oxoid) упродовж доби за 37°C. Робочу суспензію клітин, густиною 0,4-0,6 одиниць McF (Денсиламетр II, «Erba Lachema, Чехія») готували у фізіологічному розчині або фосфатному буфері (pH 7,0).

Як фотосенсибілізатор використовували розчин метиленового синього з концентрацією 400 мкг/мл. Для його приготування фарбник розчиняли у стерильній дистильованій воді та стерилізували фільтруванням через мембранний фільтр 0,2 мкм (Parker-Domnick Hunter, США).

Фотодинамічну інактивацію бактеріальних клітин здійснювали в одноразових стерильних чашках Петрі, діаметром 30 мм лазерним опроміненням (напівпровідниковий лазер, Фотоніка-плюс, м. Черкаси) при довжині хвилі 660 нм, щільності потужності 25 мВт/см<sup>2</sup>, упродовж 10, 20 та 30 хвилин, дози 15,3, 30,6 та 46 Дж/см<sup>2</sup>, відповідно).

Експерименти проводили за схемою [2] модифікованою нами. Суспензія, що опромінювалася, містила 10<sup>9</sup> -10<sup>10</sup> КУО/мл та 0,2-40 мкг/мл метиленового синього. КУО/мл визначали методом 10-кратних розведень з висівом 0,2 мл крайнього розведення газом на поверхню чашки Петрі з середовищем Water Plate Count Agar (Oxoid). Культури інкубували за 37°C, результати враховували через 24-48 годин. Контрольними були наступні зразки: контроль 1 - суспензія клітин у фізіологічному розчині без фотосенсибілізатора і без опромінення; контроль 2 – суспензія клітин у фізіологічному розчині без фотосенсибілізатора, але з опроміненням; контроль 3 – суспензія клітин у фізіологічному розчині з фотосенсибілізатором, але без опромінення. Результати обробляли статистично і наводили у вигляді десятичного логарифма показника виживання. Частку

клітин, що вижили, розраховували по відношенню  $N_t/N_0$ , де  $N_t$  – це число бактерій, що вижили, а  $N_0$  – початкова кількість бактерій, що містилася в суспензії [1].

Для з'ясування впливу білоквмісного середовища на фотодинамічний антимікробний ефект в суспензію бактеріальних клітин, приготовану на фосфатному буфері з 10 мкг/мл метиленового синього, вносили сироватку крові великої рогатої худоби у концентрації 10, 30 та 50%. Контролем слугувала суспензія клітин з метиленовим синім без сироватки, яка опромінювалася так само як і контрольні зразки за дози 30 Дж/см<sup>2</sup>.

### Результати та їх обговорення

Вживання музейного і клінічного штамів *Staphylococcus aureus* після фотодинамічної обробки за концентрації фотосенсибілізатора метиленового синього 6-40 мкг/мл і доз опромінення червоним світлом ( $\lambda=660$  нм) 0-46 Дж/см<sup>2</sup> наведено на рисунках 1 і 2. Значення КУО/мл в контрольних зразках не змінювалося.

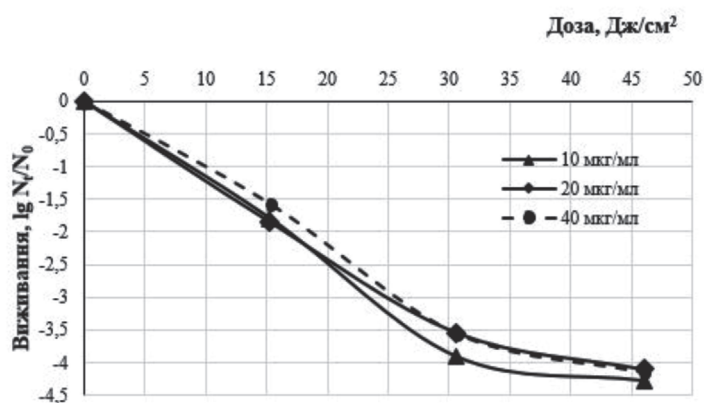


Рис. 1 Вживання *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 після фотодинамічної обробки ( $\lambda = 660$  нм) з метиленовим синім

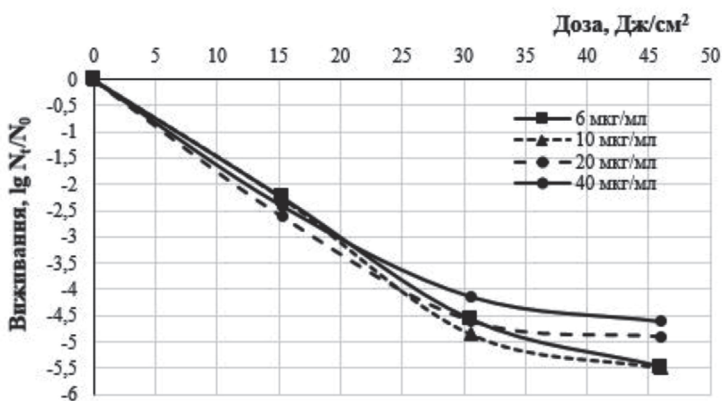


Рис.2 Вживання *Staphylococcus aureus* 48011 після фотодинамічної обробки ( $\lambda = 660$  нм) з метиленовим синім

Як видно з рис.1, концентрація барвника у діапазоні 10-40 мкг/мл суттєво не впливала на ефективність фотоінактивції музейного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Вживання клітин залежало тільки від дози опромінення. Так, при дозі 15,3 Дж/см<sup>2</sup> кількість живих клітин зменшувалася на 1,6-1,9 порядки, при 30,6 Дж/см<sup>2</sup> – на 3,5-3,9 порядки, а при 46 Дж/см<sup>2</sup> – на 4,1-4,3 порядки. Оптимальною можна вважати дозу 30,6 Дж/см<sup>2</sup>. Збільшення ж дози опромінення понад 30,6 Дж/см<sup>2</sup> покращувало фотодинамічний ефект несуттєво – всього на 0,4-0,6 порядки.

На рис.2 наведено результати аналогічних експериментів з клінічним штамом *Staphylococcus aureus* 48011. Як бачимо, ті ж самі закономірності мали місце і у цьому випадку: фотодинамічний ефект залежав не від концентрації метиленового синього (у діапазоні 6-40 мкг/мл), а від дози опромінення. Штам *Staphylococcus aureus* 48011 загалом був чутливішим, ніж музейний ATCC 6538. Так, при дозі опромінення 15,3 Дж/см<sup>2</sup> кількість живих клітин цього штаму зменшувалася на 2,3-2,6 порядки, при 30,6 Дж/см<sup>2</sup> – на 4,6-4,9 порядки, а при 46 Дж/см<sup>2</sup> – на 4,6-5,5 порядки. За оптимальну можна також прийняти дозу 30,6 Дж/см<sup>2</sup>, тому що збільшення її покращувало фотодинамічний ефект максимум на 0,9 порядки.

Таким чином, за фотодинамічної обробки суспензії клітин бактерій *Staphylococcus aureus* лазерним опроміненням ( $\lambda=660$  нм) в дозі 30,6 Дж/см<sup>2</sup>, у присутності метиленового синього в концентрації 10-40 мкг/мл кількість життєздатних клітин зменшувалася на 3,5-4,9 порядки.

Прийнявши максимальний досягнутий в експериментах протимікробний ефект за 100%, ми оцінили рівень інактивності клітин при різних дозах опромінення. При цьому концентрація метиленового синього складала 10 мкг/мл (рис. 3).

Як видно з рис.3, динаміка загибелі бактеріальних клітин обох штамів *Staphylococcus aureus* була схожа.

Так, при дозі 15,3 Дж/см<sup>2</sup> інактивувалося 41,16 % *Staphylococcus aureus* 48011 і 41,92% *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, при 30,6 Дж/см<sup>2</sup> – 88,34 і 91,33 %. Підвищення дози опромінення до 46 Дж/см<sup>2</sup> збільшувало кількість загиблих клітин на 11,66 і 8,67%, відповідно.

Для визначення мінімальної концентрації фотосенсибілізатора метилено-



вого синього, який спричиняє фотодинамічний ефект, застосовували опромінення з дозою 30,6 Дж/см<sup>2</sup>, а концентрація фарбника варіювала від 40 до 0,2 мкг/мл. Отримані результати наведено на рис. 4.

Як видно з рис.4, за концентрації метиленового синього 0,2 мкг/мл достовірний фотодинамічний ефект щодо обох штамів стафілококу не спостерігався, а за 0,6 і 1 мкг/мл був незначним (0,8-2,8 порядки). Подальше збільшення концентрації фарбника по-різному впливало на *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 і *Staphylococcus aureus* 48011.

Інтенсивність загибелі клітин штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 при підвищенні концентрації фотосенсибілізатора з 2 до 6 мкг/мл різко зростала до 4,4-5,6 lg. Збільшення концентрації метиленового синього до 10 мкг/мл і вище призводило до зменшення інтенсивності інактивації. Максимальний ефект (-5,6 lg) спостерігався за концентрації 6 мкг/мл. Загибель клітин *Staphylococcus aureus* 48011 за концентрації фарбника до 4 мкг/мл практично не збільшувалась і становила 2,7-3,1 lg; з 6 до 40 мкг/мл вона трималася на рівні 3,9-4,9 lg. Максимальний бактерицидний ефект спостерігався за концентрації 10 мкг/мл (інактивація на 4,9 порядки).

Окрема серія експериментів була присвячена дослідженню впливу білкового субстрату на фотодинамічну активність метиленового синього. Внесення в суспензію клітин, що опромінювалися, сироватки крові суттєво зменшувало фотодинамічний ефект. Результати, наведені на рис.5, показують, що в присутності 10% сироватки інактивація клітин *Staphylococcus aureus* 48011 склала всього 0,74 порядки (тобто 22% від контролю); при 30% сироватки – 0,56 поряд-

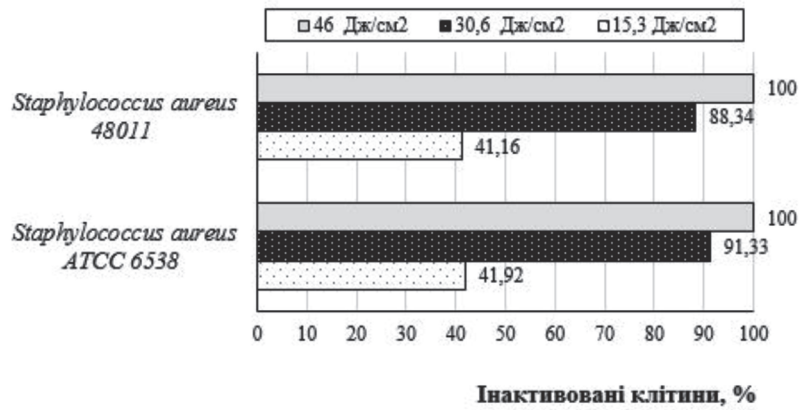


Рис.3 Вплив дози опромінення на рівень фотодинамічної інактивації *Staphylococcus aureus* ( $\lambda = 660$  нм, метиленовий синій 10мкг/мл)

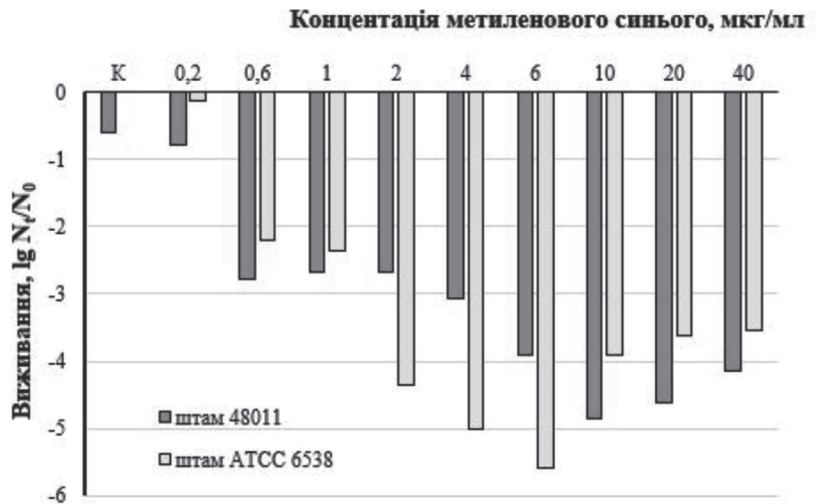


Рис. 4 Вживання різних штамів *Staphylococcus aureus* за фотоінактивації з метиленовим синім (режим опромінення:  $\lambda = 660$  нм, доза 30,6 Дж/см<sup>2</sup>)

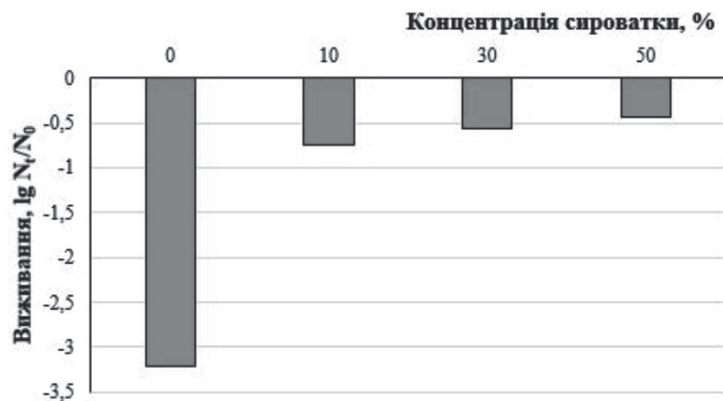


Рис. 5 Вплив сироватки крові на виживання клінічного штаму *Staphylococcus aureus* 48011 після фотодинамічної обробки ( $\lambda = 660$  нм, доза 30,6 Дж/см<sup>2</sup>) з 10 мкг/мл метиленового синього

ки (17 % від контролю), а при 50% сироватки – 0,43 порядки (13% від контролю).

Таким чином, проведеними дослідженнями встановлено, що концентрація фарбника метиленового синього в діапазоні 10-40 мкг/мл суттєво не впливає на ефективність фотоінактивації музейного і клінічного штамів *Staphylococcus aureus*. Виживання клітин у цьому випадку залежить від дози опромінення, оптимальне значення якої становило 30,6 Дж/см<sup>2</sup>. Динаміка ураження клітин випробуваних штамів *Staphylococcus aureus* була

схожа, а діапазон її складав 3,5-4,9 порядки. Відмічена певна різниця в інтенсивності інактивації досліджених штамів стафілокока в залежності від концентрації фарбника в межах 2-20 мкг/мл: максимальний ефект на *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 спостерігався за концентрації 6 мкг/мл (-5,6 lg), а на *Staphylococcus aureus* 48011 - за концентрації 10 мкг/мл (-4,96 lg). Присутність у середовищі сироватки крові призводила до помірному блокуванню антимікробного фотодинамічного ефекту.

### Литература

1. Потапченко Н.Г. Сочетанное действие УФ-излучения ( $\lambda = 254$  нм) и ионов меди и серебра на выживаемость *Escherichia coli* / Потапченко Н.Г., Савлук О.С., Илляшенко В.В. // Хим. и технол. воды. - 1992. - Т1. 14, №12. - С.935-940
2. Alves A. Charge effect on the photoinactivation of gram-negative and gram-positive bacteria by cationic meso-substituted porphyrins / Alves A., Costa L., Carvalho C.M.B., et al., // BMC Microbiology. - 2009. - № 9, P. 70-83
3. Gamaleia N. Photodynamic activity of nanogold-doped Fotolon: free radicals versus singlet oxygen / Gamaleia N., Dolinsky G., Shishko E., et al. // Forum on Immunopathological diseases and therapeutics.-2011.- Vol.2, №3.-P.237-246
4. Gueorgieva T. Susceptibility of *S.aureus* to methylene blue haemoporphyrin, phtalocyanines photodynamic effects / Gueorgieva T., Dimitrov S., Dogandhiyska V., et al // Journal of IMAB.- 2010, Vol.16, №4.- P. 51-53
5. Grinholc M. Multiresistant strains are as susceptible to photodynamic inactivation as their naive counterparts: photoporphyrin IX-mediated photoinactivation reveals differences between methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* strains / Grinholc M., Rapacka-Zdonchuk A., Rybak B., et al // Photomed Laser Surg.- 2014.- Vol.32, № 3.- P. 121-129
6. Hamblin M. R. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? / Hamblin M. R., Hasan T. // Photochemical and Photobiological Sciences.- 2004.- Vol. 3, № 5, P 436-450
7. Jianfeng Wu Eradication of bacteria suspension and biofilm using methylene blue-loaded dynamic nanoplatfroms / Jianfeng Wu, Hao Xu, Wei Tang, et al // Antimicrobial agents and chemotherapy.- 2009.- Vol.53, №7.- P. 3042-3048
8. Kashef N. Photodynamic inactivation of drug-resistant bacteria isolated from diabetic foot ulcers / Kashef N., Esmaceli D.G., Siroosy M., et al // Iranian Journal Microbiology.- 2011.- Vol.3, № 1.- P.6-41
9. Tardivo J.P. Methylene blue in photodynamic therapy: from basic mechanisms to clinical applications / Tardivo J.P., Giglio A.D., de Oliveira C.S., et al // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.- 2005.- Vol.2. № 3- P.175-191
10. Tubby S. Inactivation of staphylococcal virulence factors using a light-activated antimicrobial agent / Tubby S., Wilson M., Nair S. P. // BMC Microbiology, 2009.- Vol. 9, article 211
11. Xiu-jun Fu Antimicrobial Photodynamic Therapy for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection / Xiu-jun Fu, Yong Fang, Min Yao // Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International.- 2013.- Vol. 9, Article ID 159157

### ОПОСРЕДОВАННАЯ МЕТИЛЕНОВЫМ СИНИМ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ МУЗЕЙНОГО И КЛИНИЧЕСКОГО ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

<sup>1</sup>Радченко О.С., <sup>1</sup>Степура Л.Г., <sup>1</sup>Горбенко Е.И., <sup>2</sup>Гамалея Н.Ф.

<sup>1</sup>ННЦ "Институт биологии" Киевського національного університету імені Тараса Шевченка,  
ул. Владимирская, 64/13, Киев, 01601, Украина,  
тел./факс: +38(044)521-35-98, decanat\_bf@univ.kiev.ua

<sup>2</sup>Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии  
имени Р.Е. Кавецкого НАН Украины, ул. Васильковская, 45, Киев, 03022, Украина,  
тел.: 38(044)259-01-83, факс 38(044)258-16-56, nauka@onconet.kiev.ua

Фотодинамическую инактивацию музейного и клинического штаммов *Staphylococcus aureus* осуществляли при концентрации метиленового синего 6-40 мкг/мл и лазерном облучении при 660 нм, плотности мощности 25 мВт/см<sup>2</sup>, в течение 10, 20 и 30 минут, дозы 15,3, 30,6 и 46 Дж/см<sup>2</sup>, соответственно. Установлено, что изменение концентрации красителя в диапазоне 10-40 мкг/мл существенно не влияет на эффективность фотоинактиваации. Выживание клеток зависит от дозы облучения, оптимальное значение которой составляло 30,6 Дж/см<sup>2</sup>. Динамика поражения клеток

испытанных штаммов *Staphylococcus aureus* была сходной, а диапазон ее составлял 3,5-4,9 порядка. При концентрации красителя в пределах 2-20 мкг/мл отмечена некоторая разница в интенсивности инактивации исследованных штаммов: максимальный эффект на *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 наблюдался при 6 мкг/мл (-5,6 lg), а на *Staphylococcus aureus* 48011 - при 10 мкг/мл (-4,96 lg). Присутствие в среде сыворотки крови приводило к значительному блокированию антимикробного фотодинамического эффекта.

**Ключевые слова:** фотодинамическое действие, фотосенсибилизатор метиленовый синий, *Staphylococcus aureus*.

**METHYLENE BLUE-MEDIATED PHOTODYNAMIC INACTIVATION  
OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS COLLECTION AND CLINICAL STRAINS**

Radchenko O., Stepura L., Gorbenko K., Gamaleia N.

<sup>1</sup>ESC "Institute of Biology" Taras Shevchenko National University of Kyiv; 64/13, Volodymyrska Street, Kyiv, Ukraine, 01601, decanat\_bf@univ.kiev.ua, Tel/Fax: +38044 521-35-98

<sup>2</sup>RE Kavetsky IEPOR NAS of Ukraine, 45, Vasylkivska street, Kyiv, Ukraine, 03022, nikolai.gamaleia@ukr.net  
Tel 38044 258-16-58

Photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* collection and clinical strains was studied using methylene blue (6-40 µg/ml) and laser irradiation ( $\lambda=660$  nm, energy density of 25 mW/cm<sup>2</sup>, exposure time 10, 20 and 30 min, doses 15,3; 30,6 and 46 J/cm<sup>2</sup>, respectively). It was shown that the bactericidal effect was not dependent on the concentration of methylene blue in a range of 10-40 µg/ml but it was dependent on the light dose. The optimal dose for bacterial number reduction was 30.6 J/cm<sup>2</sup>. The dynamics of cell damage was similar for examined strains and reached 3.5-4.9 lg. A certain difference in the damage intensity of the two strains at methylene blue range 2-20 µg/ml was found: the maximum effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 was observed with the photosensitizer concentration 6 µg/ml (5.6 lg reduction) and on *Staphylococcus aureus* 48011 - with 10 µg/ml (4,96 lg reduction). In the presence of blood serum the photodynamic effect was considerably reduced.

**Keywords:** Photodynamic effect, photosensitizer methylene blue, *Staphylococcus aureus*