

# OPTIMIZACIÓN DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA PARA EL HONGO *SPOROTHRIX SCHENCKII* CON ROSA DE BENGALA COMO FOTONSENSIBILIZADOR

Vania Déborah Vázquez-Palacios<sup>a</sup>, Alejandra Paula Espinosa-Téxis<sup>b</sup>, Mayra Félix Salazar-Morales<sup>a</sup>, Teresita Spezzia-Mazzocco<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica, Tonantzintla, Puebla, México

<sup>b</sup> Edificio IC 10. Ciudad Universitaria Colonia San Manuel, Puebla, Puebla México  
[deborah.vazquez@inaoep.mx](mailto:deborah.vazquez@inaoep.mx)

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo de investigación es evaluar y optimizar los procesos de Terapia fotodinámica antimicrobiana (TFDA) para la eliminación del hongo dimórfico *S. schenckii* el cual se asocia a la enfermedad esporotricosis. Para la aplicación de la TFDA se empleó rosa de bengala como fotosensibilizador y una cepa de *S. schenckii*, aislada de un paciente (cepa 10-1), un perro (cepa 303) y de naturaleza (cepa 521). Los resultados obtenidos al momento muestran una inhibición cercana al 50% empleando 5  $\mu$ M de rosa de bengala y 15 J/cm<sup>2</sup> de luz verde a 520 nm.

**Palabras Claves:** *Sporothrix Schenckii*, Rosa de Bengala, Terapia Fotodinámica Antimicrobiana

## ABSTRACT

The objective of this research work is to evaluate and optimize the processes of Therapy (TFDA) for the elimination of the dimorphic fungus *S. schenckii*, which is associated with the disease sporotrichosis. For the application of TFDA, rose bengal was used as a photosensitizer and a strain of *S. schenckii*, isolated from a patient (strain 10-1), a dog (strain 303) and from nature (strain 521). The results obtained to date show an inhibition close to 50% using 5  $\mu$ M of rose bengal and 15 J/cm<sup>2</sup> of green light at 520 nm.

**Key Words:** *Sporothrix Schenckii*, Rose Bengal, Antimicrobial Photodynamic Therapy

## 1. INTRODUCCIÓN

La esporotricosis es una enfermedad subcutánea que afecta a la piel y ganglios linfáticos, el agente que provoca estas lesiones es el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii* [2], esta enfermedad afecta principalmente al rostro y extremidades provocando lesiones fijas, verrugosas o linfangíticas [1]. En 1913 se publican los primeros casos en México, siendo esta la enfermedad subcutánea por micosis más frecuente en nuestro país, los estados que

presentan más casos de esporotricosis son Ciudad de México, Puebla, Jalisco, Michoacán, Estado de México y Guanajuato [4].

Hasta ahora, el tratamiento de la esporotricosis se realiza a través de la administración de medicamentos antifúngicos, sin embargo, esto puede llegar a ser tardado y costoso, además que hay reportes de resistencia [3]. Es por ello por lo que se propone el estudio de técnicas alternativas para disminuir los tiempos de tratamiento e incrementar la eficiencia de eliminación, posiblemente entre las más importantes se encuentre la Terapia Fotodinámica Antimicrobiana (TFDA).

## 2. TEORÍA

La esporotricosis es una enfermedad subcutánea presente en todo México con una alta prevalencia en 12 estados [2]. Esta enfermedad es causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, proliferando en climas templados y con humedad superior al 90% [2], esta enfermedad afecta principalmente al rostro y extremidades [1].

La terapia antifúngica para tratar esporotricosis es a través de la administración de medicamentos, sin embargo, hay reportes de resistencia a los fármacos.

Nuestra investigación propone disminuir los tiempos de tratamiento y poder inhibir el crecimiento de hongos mediante la TFDA utilizando rosa de bengala (RB) como fotosensibilizador (PS).

## 3. METODOLOGÍA Y RESULTADOS

### 3.1 Material biológico

Para los experimentos se trabajó con una cepa de *S. schenckii* de una colección, aislada de un paciente (cepa 10-1), un perro (cepa 303) y de naturaleza (cepa 521), del Laboratorio de Micología Médica del Instituto de ciencias de la Universidad Autónoma de Puebla (ICUAP-BUAP).

El hongo se cultivó en agar Mycosel (Becton Dickinson®, México) y posteriormente se sembró en 7 mL Caldo de infusión cerebro corazón (BHI por sus siglas en inglés) (MCD LAB Edo. de México; Sigma-Aldrich, St. Louis) a una temperatura de 37°C en una incubadora de agitación por 10 días.

### 3.2 Metodología

Los procedimientos aquí mencionados se llevaron a cabo en el laboratorio de Terapia Fotodinámica del Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica (INAOE).

Los hongos se dejaron crecer en medio BHI líquido por 10 días a 37°C, tomamos medio con hongos y añadimos el rosa de bengala a una concentración de 5  $\mu$ M teniendo una relación 1/1 dejando el tiempo necesario para que sea absorbido, después la muestra se lavó dos veces

centrifugando con PBS a 7000 rpm durante 4 minutos, una vez lavadas las muestras se colocaron en microplacas de 96 pozos y se irradiaron con  $15 \text{ J/cm}^2$  de luz verde a 520 nm utilizando un dispositivo de focos led, todos los experimentos fueron realizados por triplicado y utilizando grupos control: Control (L-F-), Control de toxicidad (L-F+), Control de luz (L+F-) y Tratamiento (L+F+). Se utilizó la técnica de densidad óptica (DO) para determinar la inhibición en el crecimiento del hongo.

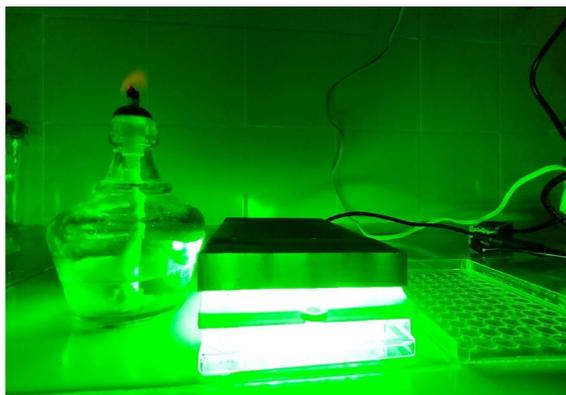
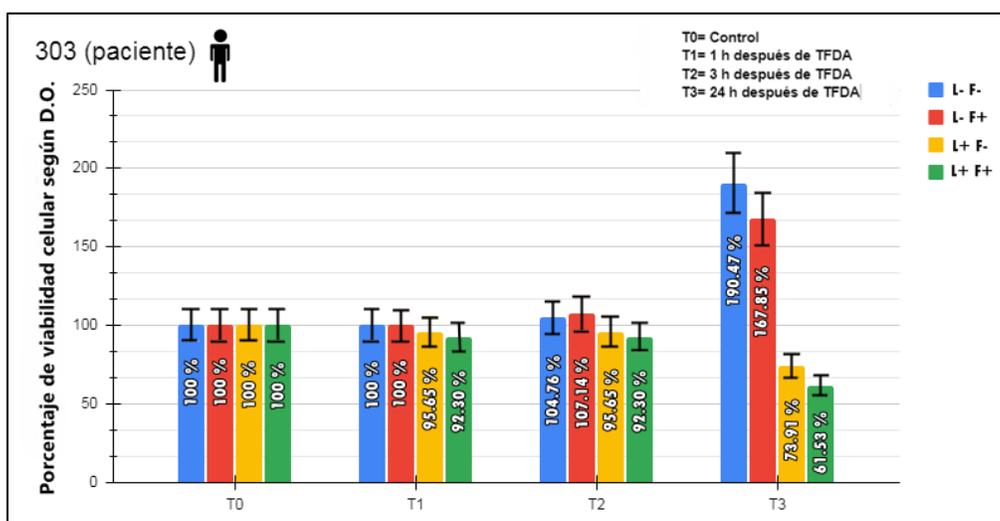


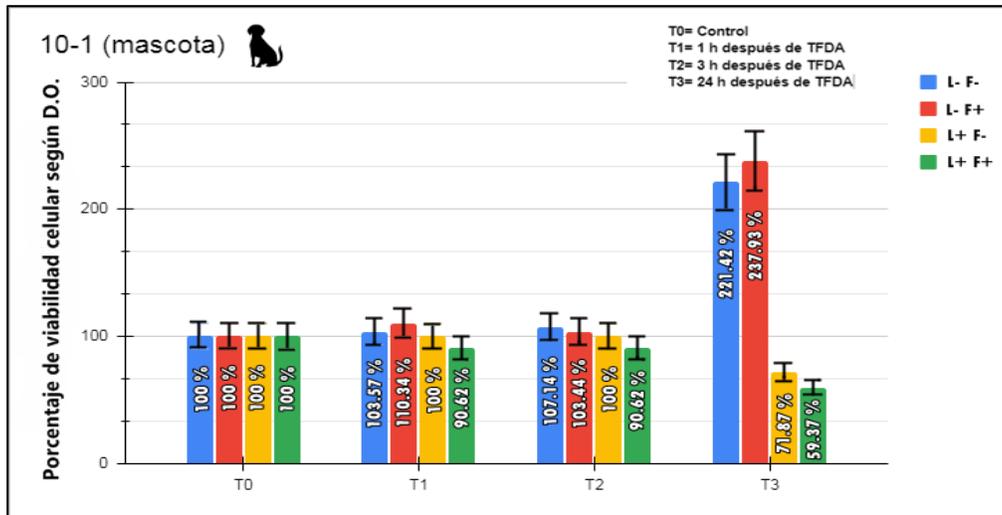
Figura 1. dispositivo de focos led

### 3.3 Resultados

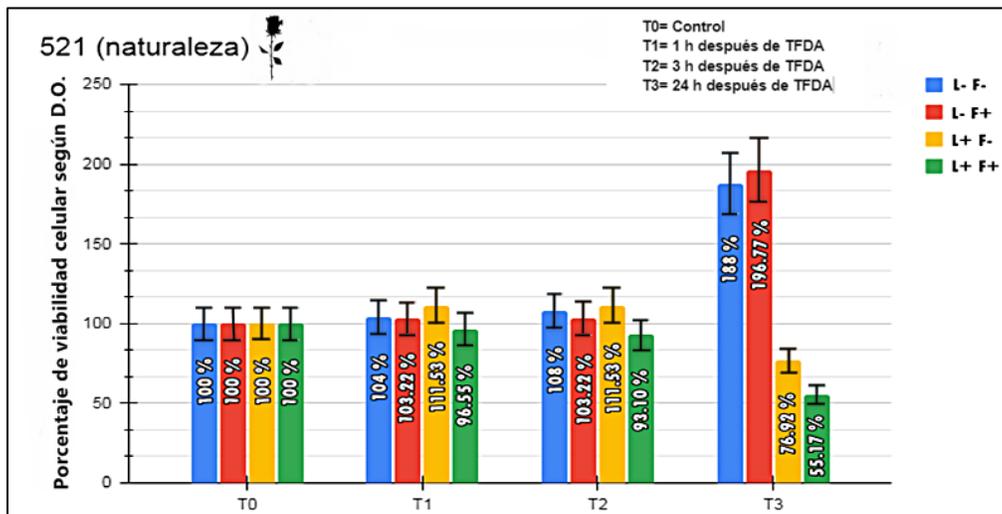
Los resultados obtenidos al momento muestran una inhibición cercana al 50% empleando  $5 \mu\text{M}$  de rosa de bengala y  $15 \text{ J/cm}^2$  de luz verde a 520 nm, 24 horas después de recibir la TFDA, en las gráficas siguientes se puede observar cómo las primeras horas la diferencia de DO de la biomasa entre los controles y la terapia es muy poca, pero 24 horas después es notorio el crecimiento del hongo en los grupos control, mientras que las muestras con TFDA disminuyeron en cuanto a la DO inicial y no presentaron signos de crecimiento como en los grupos control.



Gráfica 1. Prueba de TFDA con la cepa de paciente



Gráfica 2. Prueba de TFDA con la cepa de perro



Gráfica 3. Prueba de TFDA con la cepa de naturaleza

#### 4. CONCLUSIONES

Se evaluó la TFDA con rosa de bengala empleando 5  $\mu\text{M}$  de rosa de bengala y 15  $\text{J}/\text{cm}^2$  de luz verde a 520 nm en cepas obtenidas de paciente, perro y naturaleza ya que estas son las principales fuentes de contagio; evaluando la DO vemos la diferencia de crecimiento del hongo que ha recibido la TFDA con respecto a los grupos control. Con los resultados obtenidos podemos decir que la TFDA usando rosa de bengala como PS es capaz de mostrar una inhibición cercana al 50% del hongo *S. Schenckii*.

#### 5. REFERENCIAS

- [1] Arenas, R. (2014). *Micología médica ilustrada*. México D.F.: McGRAW-HILL.
- [2] Bonifaz, A. (2012). *Micología Médica Básica*. México, D.F.: McGRAW-HILL.
- [3] Chen R, Song Y, Zhen Y, et al. *5-Aminolevulinic acid-mediated photodynamic*

- therapy has effective antifungal activity against Sporothrix globosa in vitro.* Mycoses. 2020; 00:1–10. <https://doi.org/10.1111/myc.13171>
- [4] Zurabian, R., & Hernández Hernández, F. (2019). Esporotricosis: la micosis subcutánea más frecuente en México. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 48-55.