

Efeitos da terapia fotodinâmica na descontaminação de sangue

Thaila Q. Corrêa¹, Natália M. Inada², Sebastião Pratavieira², Cristina Kurachi³, Vanderlei S. Bagnato³

1. Estudante de Doutorado da Pós Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar; *thatrini@gmail.com

2. Pesquisadores do Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo – IFSC/USP

3. Orientadores e Docentes do Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo – IFSC/USP

Palavras Chave: *Terapia fotodinâmica, Sangue, Staphylococcus aureus.*

Introdução

A sepse, infecção na corrente sanguínea, é um problema de saúde relacionado, principalmente, à dificuldade de detectar bactérias, identificá-las e tratar os pacientes com antibióticos adequados na fase inicial de infecção¹. É desencadeada por alguma infecção grave que culmina na contaminação do sangue por bactérias. Estudos têm mostrado um aumento na incidência de sepse ao longo dos anos e isso se deve, sobretudo, ao aumento da resistência dos microrganismos aos antibióticos, uma vez que tais medicamentos são ainda utilizados erroneamente e vendidos de forma inadequada^{2,3}. Este estudo teve como objetivos descontaminar o sangue utilizando a terapia fotodinâmica (TFD) como técnica antimicrobiana e avaliar os efeitos dessa terapia sobre as células sanguíneas. O microrganismo-alvo foi o *Staphylococcus aureus*, bactéria Gram-positiva, um dos causadores da sepse. Foram analisados os efeitos isolados do fotossensibilizador (FS) Photogem[®], um derivado de hematoporfirina, e da luz no comprimento de onda 630 nm, além do efeito fotodinâmico nas células sanguíneas. Amostras de sangue na presença de Photogem[®] nas concentrações de 25, 50 e 100 µg/mL foram iluminadas com intensidade de 30 mW/cm² e doses de luz de 10, 15 e 20 J/cm². A avaliação quantitativa das células sanguíneas foi realizada por meio de hemogramas e a avaliação qualitativa e análise morfológica das células foi realizada por confecção de esfregaços sanguíneos corados com May Grünwald-Giemsa, analisados em microscopia óptica. Ensaios de hemólise foram executados para avaliar a porcentagem de hemólise em eritrócitos após cada tratamento. A sobrevivência de *S. aureus* foi avaliada por contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) em placas de Petri com meio de cultura TSA (Tryptic Soy Agar).

Resultados e Discussão

Os resultados das amostras sanguíneas avaliadas por hemogramas mostraram valores normais de viabilidade para as células do sangue na presença do Photogem[®] e nas doses de luz testadas. As imagens dos esfregaços sanguíneos confirmaram estes resultados, uma vez que não foram observadas mudanças morfológicas nas células nestas condições. Os experimentos *in vitro* com *S. aureus* mostraram 6 logs₁₀ de inativação fotodinâmica na concentração de 25 µg/mL de Photogem[®] e dose de luz de 15 J/cm² e 1 log₁₀ de inativação deste microrganismo em co-cultura com sangue, nas mesmas condições (Figura 1). Os eritrócitos das amostras sanguíneas que receberam irradiação na presença do Photogem[®] (TFD) sofreram hemólise (< 20%) nas maiores concentrações do FS e maiores doses de luz (Figura 2). Os resultados obtidos mostraram que o FS, na presença de sangue e microrganismo, apresentou maior afinidade pelo sangue, reduzindo a inativação de *S. aureus* neste ambiente.

Figura 1. Sobrevivência de *Staphylococcus aureus* em sangue nas condições controle, controle da luz, controle do fotossensibilizador e terapia fotodinâmica.

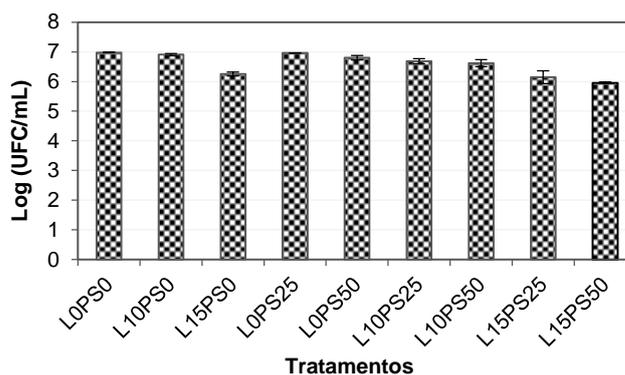
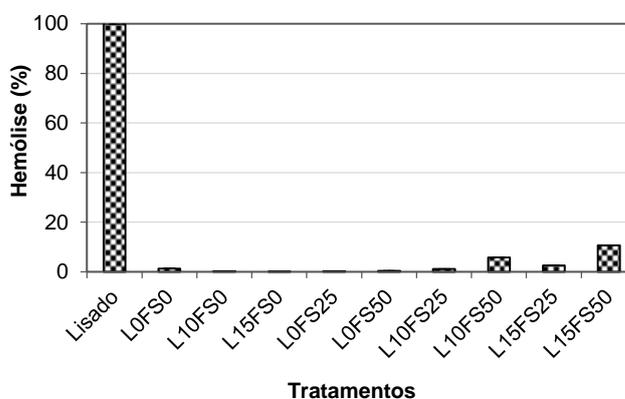


Figura 2. Porcentagem de hemólise dos eritrócitos nas condições controle, controle da luz, controle do fotossensibilizador e terapia fotodinâmica.



Conclusões

O Photogem[®] inativou, na presença de luz, cerca de 90% (1 log₁₀) das bactérias em co-cultura com o sangue, e a TFD não causou danos significativos nos eritrócitos. Esses resultados indicam que a TFD com o Photogem como FS pode ser um método eficaz e seguro de inativação bacteriana no sangue.

Agradecimentos



1. Angus, DC, van der Poll, T. Severe sepsis and septic shock. *New Engl. J. Med.* 2013; 369, 840-851.

2. Martin, GS. Sepsis, severe sepsis and septic shock: changes in incidence, pathogens and outcomes. *Expert review of anti-infective therapy.* 2012; 10(6), 701-706.

3. Uppu, DSSM, Ghosh, C., Haldar, J. Surviving sepsis in the era of antibiotic resistance: Are there any alternative approaches to antibiotic therapy? *Microbial Pathogenesis*, 2015; 80, 7-13.