



Universidad Católica de Santa María

**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotecnológicas**

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Evaluación de la actividad fotodinámica antibacteriana de metaloporfirinas
de Zn (II) y Sn (IV) potenciadas con KI frente a patógenos de importancia
clínica en Colombia**

Tesis presentada por:

Morales Huanca, Maxwell Nestor

ORCID: 0009-0004-1947-6524

para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Asesor (a):

Mg. Candia Puma, Mayron Antonio

ORCID: 0000-0002-6328-3840

Arequipa - Perú

2026

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FARMACIA Y BIOQUIMICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 12 de Mayo del 2026

Dictamen: 011157-C-EPFyB-2026

Visto el borrador del expediente 011157, presentado por:

2017246861 - MORALES HUANCA MAXWELL NESTOR

Titulado:

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTODINÁMICA ANTIBACTERIANA DE METALOPORFIRINAS
DE ZN(II) Y SN(IV) POTENCIADAS CON KI FRENTE A PATÓGENOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA EN
COLOMBIA**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Título Profesional/Título de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

**29520165 - TORRES VELA FERNANDO ANTERO
DICTAMINADOR**



**29440909 - MOLINA RODRIGUEZ FREDY NICOLAS
DICTAMINADOR**



**43668681 - PAREDES FUENTES JULITZA LINDSEY
DICTAMINADOR**



Evaluación de la actividad fotodinámica antibacteriana de metaloporfirinas de Zn(II) y Sn(IV) potenciadas con KI frente a patógenos de importancia clínica en Colombia

INFORME DE ORIGINALIDAD

10%

INDICE DE SIMILITUD

9%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
2	repositorio.uniatlantico.edu.co Fuente de Internet	1%
3	repositorioinstitucional.buap.mx Fuente de Internet	<1%
4	repositorio.upch.edu.pe Fuente de Internet	<1%
5	patents.google.com Fuente de Internet	<1%
6	repositorio.uc.cl Fuente de Internet	<1%
7	fseneca.es Fuente de Internet	<1%
8	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	<1%

DEDICATORIA

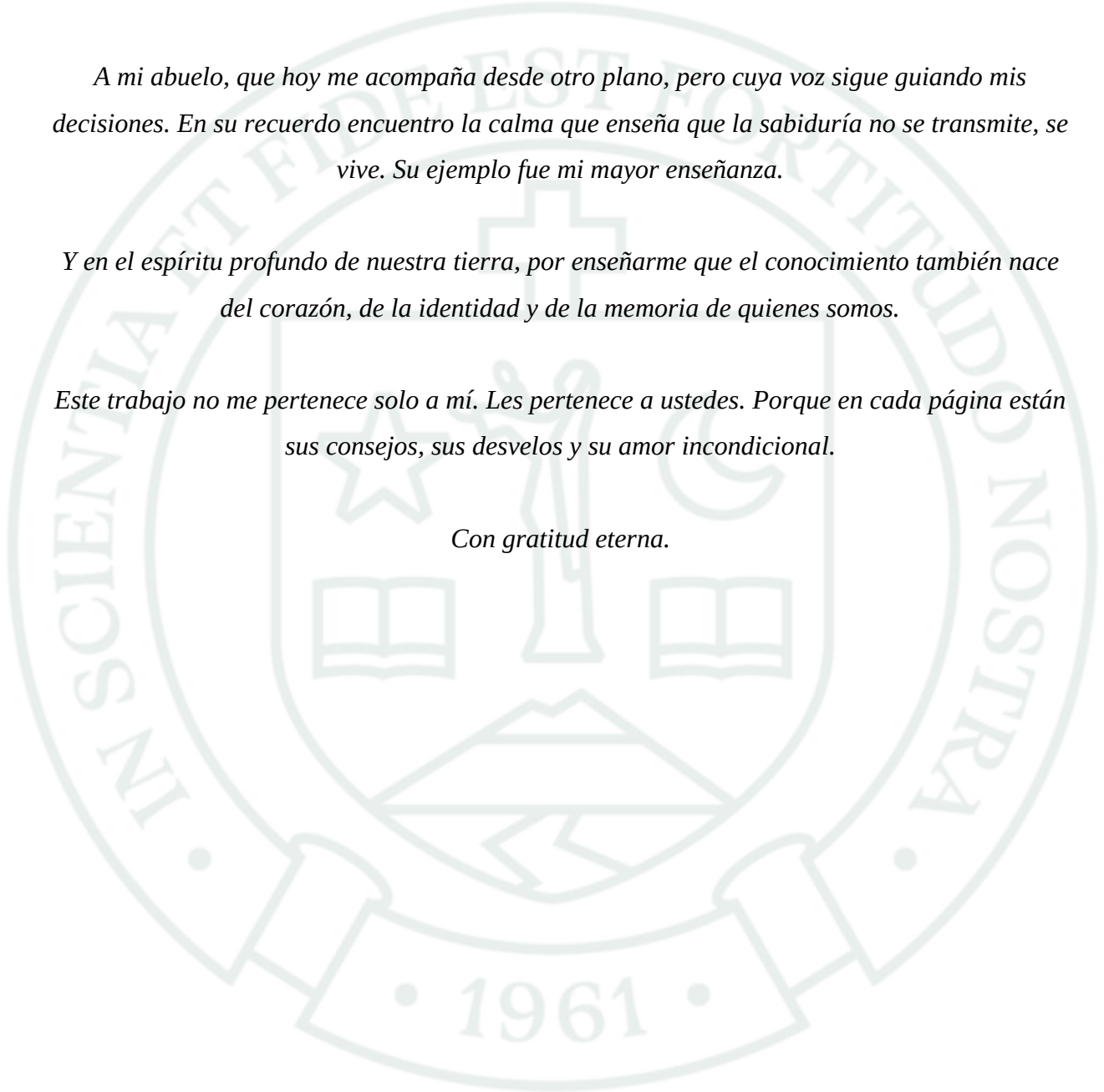
A mi madre, Gregoria Huanca Quispe; a mi padre, Néstor Morales Challco; y a mis hermanos, Marilyn Keiko Morales Huanca, Jossein Morales Huanca y Keitlyn Milagros Morales Huanca, cinco pilares que sostienen mi vida y mis sueños. A ustedes, que con su paciencia, sacrificio y amor silencioso hicieron posible cada paso de este camino.

A mi abuelo, que hoy me acompaña desde otro plano, pero cuya voz sigue guiando mis decisiones. En su recuerdo encuentro la calma que enseña que la sabiduría no se transmite, se vive. Su ejemplo fue mi mayor enseñanza.

Y en el espíritu profundo de nuestra tierra, por enseñarme que el conocimiento también nace del corazón, de la identidad y de la memoria de quienes somos.

Este trabajo no me pertenece solo a mí. Les pertenece a ustedes. Porque en cada página están sus consejos, sus desvelos y su amor incondicional.

Con gratitud eterna.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Ph.D. Fabián Espitia Almeida por su orientación y apoyo en el desarrollo de esta tesis. Su ayuda fue indispensable.

A mi familia por apoyarme incondicionalmente.

A todos los amigos que se cruzaron en mi camino. En especial a Laura, Nicolás, Alessandra y Pamela.

A las becas PAME-UDUAL y CRISCOS por brindarme la oportunidad de ser partícipe de su programa y, por consiguiente, a la Dirección de Cooperación y Relaciones Internacionales (DICRRII) de la UCSM.



RESUMEN

La creciente crisis de resistencia antimicrobiana representa uno de los desafíos sanitarios más urgentes del siglo XXI, con proyecciones que estiman hasta 10 millones de muertes anuales y pérdidas económicas de 100 billones de dólares para 2050. Frente al agotamiento progresivo de los antibióticos convencionales, incluso las combinaciones de tercera línea como ceftolozana/tazobactam, meropenem/vaborbactam y plazomicina, la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) emerge como una estrategia disruptiva basada en mecanismos fotoquímicos no específicos que minimizan el desarrollo de resistencia bacteriana.

En este estudio se evaluó la actividad fotodinámica antibacteriana de cuatro metaloporfirinas sintéticas, TCarbPP-Zn, TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV), funcionalizadas con grupos (4-carboxifenil) o (4-bromofenil) y coordinadas con Zn (II) o Sn (IV), frente a cuatro patógenos clínicos prioritarios: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus warneri*. Se investigó sistemáticamente el efecto potenciador del yoduro de potasio (KI, 100 mM) bajo irradiación lumínica controlada (40 J/cm², 7.5 mW/cm², 90 min), con el objetivo de generar especies reactivas de yodo (RIS) que complementen el daño oxidativo producido por las especies reactivas de oxígeno (ROS) intrínsecas de los fotosensibilizadores.

Los resultados demostraron que las metaloporfirinas poseen actividad fotodinámica intrínseca frente a los cuatro patógenos evaluados, aunque insuficiente para alcanzar niveles clínicamente relevantes. La adición de KI bajo irradiación produjo una potenciación estadísticamente significativa en todos los sistemas, alcanzando inhibiciones superiores al 94%, con valores máximos de $99.14 \pm 0.99\%$ para TCarbPP-Zn frente a *S. warneri*, y confirmando que el sistema metaloporfirina+KI constituye un agente de aPDT de alta eficacia. Este efecto fue estrictamente fotodependiente para tres de los cuatro compuestos (TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV)), validando su selectividad espacial como requisito de seguridad clínica. No obstante, TCarbPP-Zn exhibió toxicidad oscura pronunciada en combinación con KI, constituyendo una limitación importante para su aplicación terapéutica. Las porfirinas coordinadas con Zn (II) demostraron superioridad fotodinámica consistente sobre sus análogos Sn (IV). El sistema potenciado logró superar la barrera de permeabilidad de *P. aeruginosa*, patógeno de prioridad crítica según la OMS, alcanzando inhibiciones superiores al 97%.

En conjunto, los resultados posicionan a TBrPP-Zn como el compuesto de mayor potencial traslacional por combinar eficacia fotodinámica robusta con ausencia de dark toxicity, y validan la estrategia metaloporfirina+KI como una alternativa terapéutica promisorio frente a la crisis global de resistencia antimicrobiana.

Palabras clave: terapia fotodinámica antimicrobiana, metaloporfirinas, yoduro de potasio.



ABSTRACT

The escalating antimicrobial resistance crisis represents one of the most pressing health challenges of the 21st century, with projections estimating up to 10 million annual deaths and economic losses of \$100 trillion by 2050. Faced with the progressive exhaustion of conventional antibiotics, including third-line combinations such as ceftolozane/tazobactam, meropenem/vaborbactam, and plazomicin, antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) emerges as a disruptive strategy based on non-specific photochemical mechanisms that minimize the development of bacterial resistance.

This study evaluated the antibacterial photodynamic activity of four synthetic metalloporphyrins, TCarbPP-Zn, TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn, and TBrPP-Sn (IV), functionalized with (4-carboxyphenyl) or (4-bromophenyl) groups and coordinated with Zn(II) or Sn(IV), against four priority clinical pathogens: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Staphylococcus warneri*. The potentiating effect of potassium iodide (KI, 100 mM) was systematically investigated under controlled light irradiation (40 J/cm², 7.5 mW/cm², 90 min), with the aim of generating reactive iodine species (RIS) that complement the oxidative damage produced by the intrinsic reactive oxygen species (ROS) of the photosensitizers.

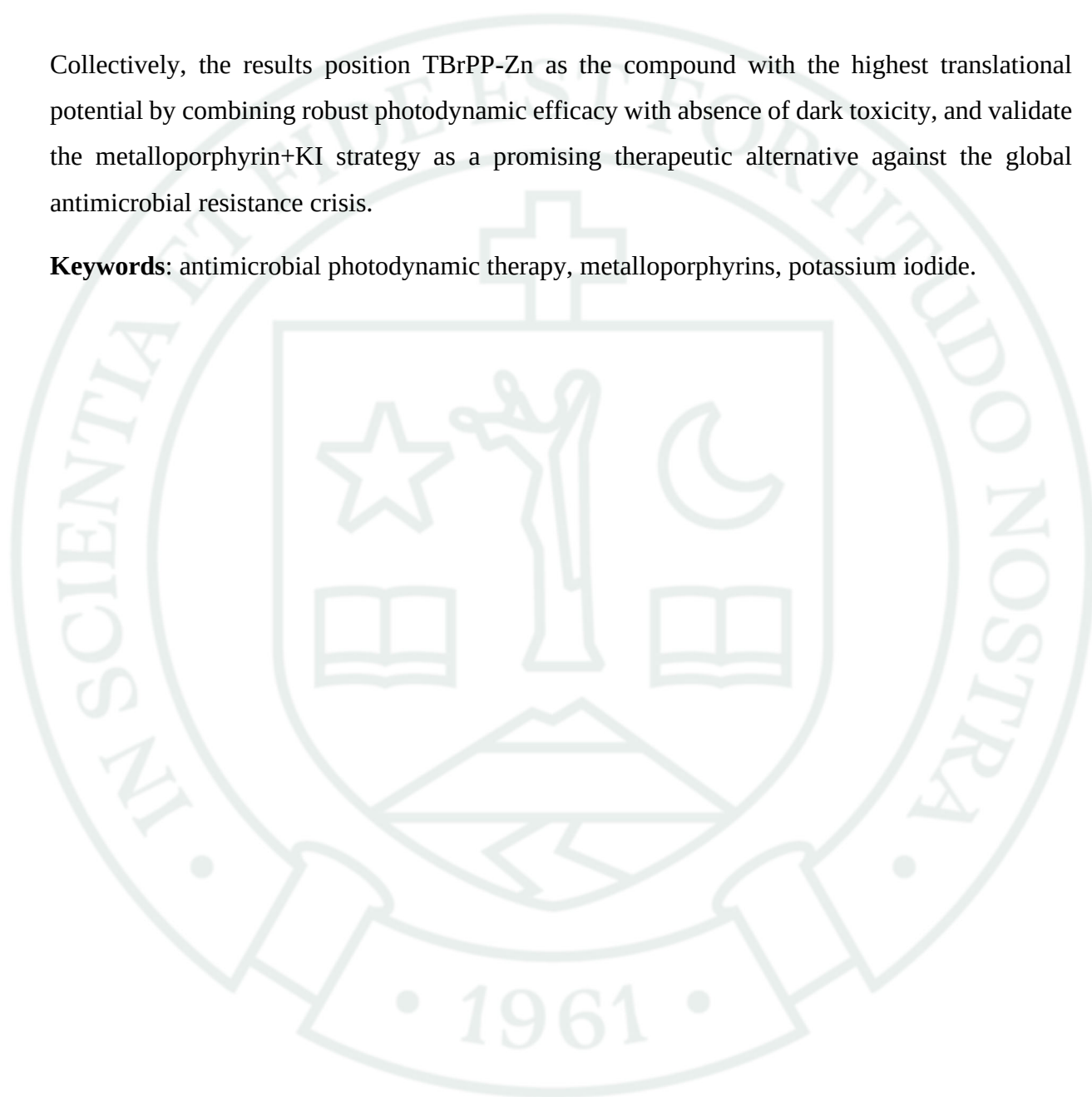
The results demonstrated that the metalloporphyrins possess intrinsic photodynamic activity against all four evaluated pathogens, although insufficient to reach clinically relevant levels. The addition of KI under irradiation produced a statistically significant potentiation in all systems, achieving inhibitions exceeding 94%, with maximum values of $99.14 \pm 0.99\%$ for TCarbPP-Zn against *S. warneri*, and confirming that the metalloporphyrin+KI system constitutes a highly effective aPDT agent. This effect was strictly photodependent for three of the four compounds (TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn, and TBrPP-Sn (IV)), validating their spatial selectivity as a clinical safety requirement.

However, TCarbPP-Zn exhibited pronounced dark toxicity in combination with KI, constituting an important limitation for its therapeutic application. The Zn (II)-coordinated porphyrins demonstrated consistent photodynamic superiority over their Sn (IV) analogues, confirming the advantage of the zinc d¹⁰ electronic configuration for efficient singlet oxygen generation. Regarding macrocycle functionalization, the bromo groups (TBrPP-Zn) provided the best balance between high phototherapeutic efficacy and absolute absence of dark toxicity, while the

carbazolyl groups maximized potency but compromised photoselectivity. Gram-positive bacteria showed greater basal susceptibility in darkness, consistent with the absence of an outer membrane; however, the potentiated system managed to overcome the permeability barrier of *P. aeruginosa*, a pathogen of critical priority according to the WHO, achieving inhibitions exceeding 97%.

Collectively, the results position TBrPP-Zn as the compound with the highest translational potential by combining robust photodynamic efficacy with absence of dark toxicity, and validate the metalloporphyrin+KI strategy as a promising therapeutic alternative against the global antimicrobial resistance crisis.

Keywords: antimicrobial photodynamic therapy, metalloporphyrins, potassium iodide.



ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN1

HIPÓTESIS3

OBJETIVOS.....4

CAPÍTULO I.....6

1. ANTECEDENTES.....7

1.1. Terapia fotodinámica antimicrobiana.....7

1.2. Porphirinas y metaloporphirinas como fotosensibilizadores en aPDT.....7

1.3. Trabajo previo de Espitia-Almeida: síntesis y evaluación de metaloporphirinas.....8

1.4. Yoduro de potasio como agente potenciador en aPDT9

CAPÍTULO II11

2. Marco Teórico12

2.1. La Resistencia Antimicrobiana: Un Desafío Global12

2.2. Fundamentos de la Terapia Fotodinámica17

2.3. Terapia fotodinámica antibacteriana23

2.4. Fotosensibilizadores: La Clave de la aPDT29

2.6. Patógenos Bacterianos de Importancia Clínica en Colombia41

CAPÍTULO III45

3. MATERIALES Y MÉTODOS46

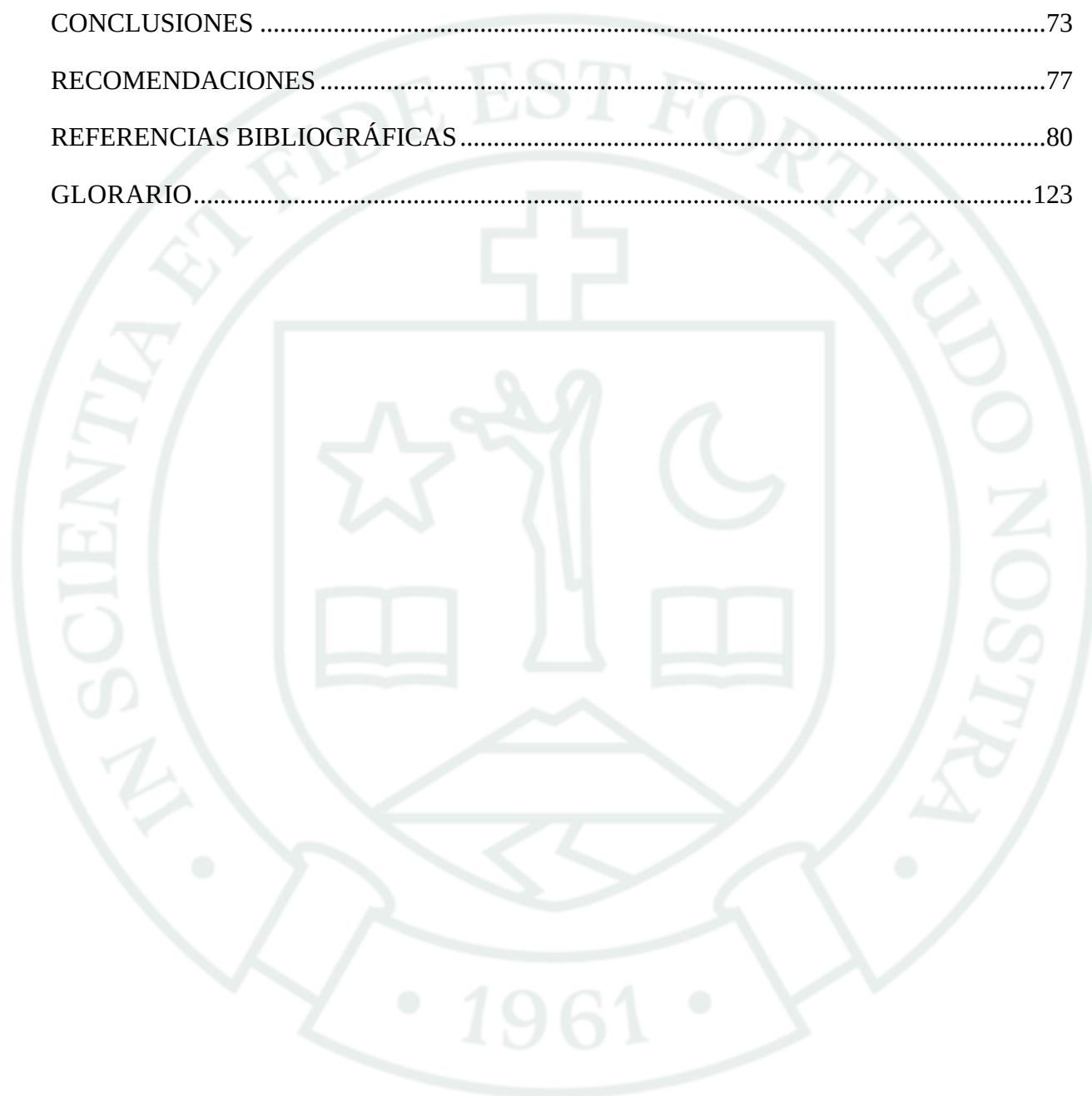
3.1. Lugar de ejecución46

3.2. Materiales46

3.3. Métodos.....50

3.4. Ensayo de tratamiento fotodinámico en microplaca52

CAPÍTULO IV	53
4. Resultados y Discusión	54
4.1. Resultados	54
4.2. Discusión.....	68
CONCLUSIONES	73
RECOMENDACIONES	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
GLOSARIO.....	123



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sustituyentes de las porfirinas sintéticas.....	36
Tabla 2. Propiedades fotofísicas y rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_f) de los derivados porfirínicos y metaloporfirínicos en acetato de etilo.....	40
Tabla 3. Constantes de degradación cinética (k_{exp}) y rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete ($\phi\Delta$) de los compuestos estudiados en dmf.....	41
Tabla 4. Perfil epidemiológico y blancos de ros de los patógenos seleccionados.	42
Tabla 5. Preparación de soluciones madre (8mm) de metaloporfirinas en dmso puro.	51
Tabla 6. Preparación de la solución de trabajo de metaloporfirinas a partir de stock 8 mm.	51
Tabla 7. Preparación de la solución madre de yoduro de potasio (ki)	51
Tabla 8. Curva de crecimiento de <i>e. Coli</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) sin irradiación.	92
Tabla 9. Porcentaje de inhibición de <i>e. Coli</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) sin irradiación.....	92
Tabla 10. Curva de crecimiento de <i>e. Coli</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	93
Tabla 11. Porcentaje de inhibición de <i>e. Coli</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).....	93
Tabla 12. Curva de crecimiento de <i>e. Coli</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) sin irradiación.....	94
Tabla 13. Porcentaje de inhibición de <i>e. Coli</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) sin irradiación.	94
Tabla 14. Curva de crecimiento de <i>e. Coli</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).....	95
Tabla 15. Porcentaje de inhibición de <i>e. Coli</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	95
Tabla 16. Curva de crecimiento de <i>pseudomonas aeruginosa</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) sin irradiación.....	96
Tabla 17. Porcentaje de inhibición de <i>pseudomonas aeruginosa</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) sin irradiación.	96

Tabla 18. Curva de crecimiento de <i>pseudomonas aeruginosa</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	97
Tabla 19. Porcentaje de inhibición de <i>pseudomonas aeruginosa</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	97
Tabla 20. Curva de crecimiento de <i>pseudomonas aeruginosa</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) sin irradiación.	98
Tabla 21. Porcentaje de inhibición de <i>pseudomonas aeruginosa</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) sin irradiación.	98
Tabla 22. Curva de crecimiento de <i>pseudomonas aeruginosa</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	99
Tabla 23. Porcentaje de inhibición de <i>pseudomonas aeruginosa</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	99
Tabla 24. Curva de crecimiento de <i>staphylococcus aureus</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m)sinirradiación.	100
Tabla 25. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus aureus</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) sin irradiación.	100
Tabla 26. Curva de crecimiento de <i>staphylococcus aureus</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	101
Tabla 27. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus aureus</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	101
Tabla 28. Curva de crecimiento de <i>staphylococcus aureus</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) sin irradiación	102
Tabla 29. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus aureus</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) sin irradiación.	102
Tabla 30. Curva de crecimiento de <i>staphylococcus aureus</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	103
Tabla 31. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus aureus</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	103

Tabla 32. Curva de crecimiento de <i>staphylococcus warneri</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) sin irradiación.....	104
Tabla 33. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus warneri</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) sin irradiación.	104
Tabla 34. Curva de crecimiento de <i>staphylococcus warneri</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).....	105
Tabla 35. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus warneri</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).....	105
Tabla 36. Curva de crecimiento de <i>staphylococcus warneri</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) sin irradiación.	106
Tabla 37. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus warneri</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) sin irradiación.....	106
Tabla 38. Curva de crecimiento de <i>staphylococcus warneri</i> tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	107
Tabla 39. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus warneri</i> a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ m) en presencia de ki (100 mm) con irradiación (40 j/cm ² , 90 min).	107
Tabla 40. Porcentaje de inhibición de <i>escherichia coli</i> a 1.5 h de tratamiento con metaloporfirinas (50 μ m) bajo diferentes condiciones de iluminación y presencia de yoduro de potasio (ki, 100 mm).	109
Tabla 41. Análisis de varianza de dos vías (two-way anova) para evaluar el efecto del fotosensibilizador y el tratamiento sobre la inhibición de <i>escherichia coli</i>	110
Tabla 42. Porcentaje de inhibición de <i>pseudomonas aeruginosa</i> a 1.5 h de tratamiento con metaloporfirinas (50 μ m) bajo diferentes condiciones de iluminación y presencia de yoduro de potasio (ki, 100 mm).	112
Tabla 43. Análisis de varianza de dos vías (two-way anova) para evaluar el efecto del fotosensibilizador y el tratamiento sobre la inhibición de <i>pseudomonas aeruginosa</i>	113
Tabla 44. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus aureus</i> a 1.5 h de tratamiento con metaloporfirinas (50 μ m) bajo diferentes condiciones de iluminación y presencia de yoduro de potasio (ki, 100 mm).	115

Tabla 45. Análisis de varianza de dos vías (two-way anova) para evaluar el efecto del fotosensibilizador y el tratamiento sobre la inhibición de <i>staphylococcus aureus</i>	116
Tabla 46. Porcentaje de inhibición de <i>staphylococcus warneri</i> a 1.5 h de tratamiento con metaloporfirinas (50 µm) bajo diferentes condiciones de iluminación y presencia de yoduro de potasio (ki, 100 mm).	118
Tabla 47. Análisis de varianza de dos vías (two-way anova) para evaluar el efecto del fotosensibilizador y el tratamiento sobre la inhibición de <i>staphylococcus warneri</i>	119
Tabla 48. Comparaciones múltiples de tukey para <i>escherichia coli</i> . Diferencias de medias e intervalos de confianza del 99.90%.....	120
Tabla 49. Comparaciones múltiples de tukey para <i>pseudomonas aeruginosa</i> . Diferencias de medias e intervalos de confianza del 99.90%.....	121
Tabla 50. Comparaciones múltiples de tukey para <i>staphylococcus aureus</i> . Diferencias de medias e intervalos de confianza del 99.90%.	121
Tabla 51. Comparaciones múltiples de tukey para <i>staphylococcus warneri</i> . Diferencias de medias e intervalos de confianza del 99.90%.....	122

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema representativo de la distribución global de genes de resistencia a antibióticos en plantas de tratamiento de aguas residuales.	13
Figura 2. Protocolo clínico de terapia fotodinámica (pdt) para tumores sólidos localizados.....	18
Figura 3. Secuencia de eventos biológicos en terapia fotodinámica (pdt).	20
Figura 4. Secuencia de eventos biológicos en terapia fotodinámica (pdt).	21
Figura 5. Esquema del mecanismo de acción de la terapia fotodinámica antimicrobiana (apdt).	22
Figura 6. Estructura representativa de una porfirina y su cavidad interna.	30
Figura 7. Representación esquemática de la topología β -sustituida, las cuales se presentan naturalmente.....	31
Figura 8. Representación esquemática de la topología meso-sustituida y su funcionalización selectiva.	32
Figura 9. Porphirinas tetra-sustituidas preparadas a partir de aldehídos aromáticos y pirrol.	35
Figura 10. Esquema de metalación de porfirina central con zn^{2+} y sn^{4+}	36
Figura 11. Espectros de absorción uv-vis de las porfirinas libres de metal tbrpp (línea roja) y tcarbpp (línea negra). Se aprecia la intensa banda solet y las cuatro bandas q características de la simetría d_{2h}	37
Figura 12. Espectros uv-vis de las metaloporfirinas de tcarbpp coordinadas con zn (ii) y sn (iv). Se observa el colapso a dos bandas q por el aumento de simetría.....	39
Figura 13. Espectros uv-vis de las metaloporfirinas de tbrpp coordinadas con metales. La metalación restaura la degeneración orbital reflejada en la región q.	39
Figura 14. Esquema de las medidas del fotorreactor compacto diseñado por el equipo de investigación espitia-almeida para irradiación de muestras bacterianas.....	48
Figura 15. Fotorreactor casero con controladores de temperatura e irradiancia.	49
Figura 16. Caracterización de histéresis del sensor dht22.	49
Figura 17. Esquema del lazo de control de temperatura.	50

Figura 18. Inhibición bacteriana de escherichia coli durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (apdt) mediada por diferentes fotosensibilizadores.....	55
Figura 19. Curvas de crecimiento de escherichia coli en función del tiempo bajo diferentes condiciones experimentales durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (apdt).	58
Figura 20. Inhibición bacteriana de pseudomonas aeruginosa durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (apdt) mediada por diferentes fotosensibilizadores.....	59
Figura 21. Curvas de crecimiento de pseudomonas aeruginosa en función del tiempo bajo diferentes condiciones experimentales durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (apdt).	61
Figura 22. Inhibición bacteriana de staphylococcus aureus durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (apdt) mediada por diferentes fotosensibilizadores.....	62
Figura 23. Curvas de crecimiento de staphylococcus aureus en función del tiempo bajo diferentes condiciones experimentales durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (apdt).	64
Figura 24. Inhibición bacteriana de staphylococcus warneri durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (apdt) mediada por diferentes fotosensibilizadores.....	65
Figura 25. Curvas de crecimiento de staphylococcus warneri en función del tiempo bajo diferentes condiciones experimentales durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (apdt).	67

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXOS A DATOS EXPERIMENTALES	92
A.1 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	92
A.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10195.....	96
A.3 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 5923	100
A.4 <i>Staphylococcus warneri</i> ATCC 27836	104
ANEXO B ESTADÍSTICA Análisis descriptivo	108
B.1 Datos completos de inhibición bacteriana para <i>Escherichia coli</i>	108
B.2 Datos completos de inhibición bacteriana para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	111
B.3 Datos completos de inhibición bacteriana para <i>Staphylococcus aureus</i>	114
B.4 Datos completos de inhibición bacteriana para <i>Staphylococcus warneri</i>	117
B.5 Análisis estadístico: Comparaciones múltiples de Tukey	120

INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana (RAM) constituye una de las amenazas más críticas para la salud pública global del siglo XXI. Según la OMS, la RAM podría convertirse en la principal causa de mortalidad mundial en las próximas décadas, con más de 2.8 millones de casos y 35,000 muertes anuales solo en Estados Unidos (1–3). La proliferación de cepas multirresistentes (MDR) y extremadamente resistentes (XDR) ha comprometido seriamente antibióticos de tercera línea como carbapenémicos, colistina e inhibidores de β -lactamasas, haciendo imperativa la búsqueda de terapias alternativas que operen mediante mecanismos fundamentalmente distintos a los antibióticos convencionales (2, 4–6).

La inactivación fotodinámica antimicrobiana (aPDI) emerge como una estrategia terapéutica no antibiótica prometedora, basada en tres componentes esenciales: un fotosensibilizador (PS), una fuente de luz de longitud de onda apropiada y oxígeno molecular (7, 8).

Tras la absorción de fotones, el PS alcanza su estado excitado singlete (S_1) y, mediante cruce intersistema (ISC), transita al estado triplete (T_1), desde el cual operan dos vías fotoquímicas: el mecanismo Tipo I genera especies radicalarias ($\cdot O^{-2}$, $\cdot OH$, H_2O_2) mediante transferencia electrónica, mientras que el mecanismo Tipo II produce oxígeno singlete (1O_2) por transferencia de energía a 3O_2 (9–11). La generación simultánea de múltiples especies reactivas de oxígeno (ROS) causa daño multiobjetivo en membranas, proteínas y ácidos nucleicos bacterianos, inherentemente refractario al desarrollo de resistencia (12, 13). Las metaloporfirinas constituyen una familia de PS de segunda generación con propiedades fotofísicas superiores, caracterizadas por su estructura macrocíclica tetrapirrólica, fuerte absorción en la región visible (banda Soret 400–430 nm y bandas Q 500–700 nm) y propiedades fotofísicas ajustables (7, 14). La naturaleza del ion metálico central modula críticamente la eficiencia del ISC, la vida del estado triplete y el Φ_Δ : Zn (II), con configuración d^{10} diamagnética, facilita ISC eficiente sin desactivación no radiativa adicional, mientras que Sn (IV) puede reducir la planaridad del sistema π -conjugado (12, 15).

La funcionalización periférica en posiciones meso proporciona un control adicional: las porfirinas carboxifenil-funcionalizadas presentan mayor solubilidad acuosa e interacción electrostática con membranas bacterianas a pH fisiológico debido a sus grupos carboxilo ionizables ($pK_a \approx 3.5$ – 4.5), mientras que las porfirinas bromadas se benefician del efecto de átomo pesado externo, que potencia el ISC mediante acoplamiento spin-órbita e incrementa Φ_Δ (15). A pesar de estos avances, estudios comparativos sistemáticos que evalúen series

coordinadas de metaloporfirinas carboxifenil-funcionalizadas versus bromadas bajo condiciones fotoquímicas idénticas permanecen escasos, particularmente en combinación con estrategias de potenciación química.

El yoduro de potasio (KI) ha demostrado potenciar marcadamente la actividad fotodinámica antimicrobiana de diversos PS mediante la generación de especies yodo-reactivas (RIS), I₂, ácido hipoiódico (HOI), radicales I•, que amplifican el efecto bactericida a través de un mecanismo de oxidación en cascada sobre lípidos insaturados, tioles membranales y nucleobases (16, 17). Críticamente, la generación de RIS es estrictamente fotodependiente, preservando la selectividad espacial requerida para aplicaciones clínicas seguras (12). El presente estudio evaluó cuatro metaloporfirinas, TCarPP-Zn, TCarPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV), a 50 µM, con y sin KI (100 mM), bajo irradiación LED azul ($\lambda_{\text{máx}} = 470 \text{ nm}$, 40 J/cm², 7.4 mW/cm², 90 min), contra cepas de referencia ATCC de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus warneri*. Estas especies abarcan la diversidad estructural de la envoltura celular bacteriana, Gram-negativas con membrana externa permeable (*E. coli*, *P. aeruginosa*) y Gram-positivas con gruesa pared de peptidoglucano (*S. aureus*, *S. warneri*), y representan patógenos de prioridad crítica según la OMS, incluyendo cepas MDR y agentes de infecciones nosocomiales y asociadas a dispositivos médicos (2, 3, 5, 6, 18). Los objetivos específicos fueron: (i) determinar porcentajes de inhibición bacteriana en condiciones oscuras e irradiadas con y sin KI; (ii) cuantificar el efecto potenciador de KI para cada combinación PS-bacteria; (iii) verificar la fotodependencia estricta del sistema PS+KI; (iv) comparar el rendimiento fotodinámico de complejos Zn(II) versus Sn(IV) y macrociclos carboxifenil-funcionalizados versus bromados; y (v) analizar la susceptibilidad diferencial en relación con la arquitectura de la envoltura celular. Se espera que estos hallazgos contribuyan al diseño racional de sistemas metaloporfirina-KI optimizados para aplicaciones aPDI en el contexto de la crisis global de resistencia antimicrobiana (16, 17, 19).

HIPÓTESIS

Dado que en múltiples estudios se demuestra la capacidad de producción de oxígeno singlete y este media la muerte microbiana en conjunto con ROS, es probable que las cuatro metaloporfirinas de Sn^{4+} y Zn^{2+} funcionalizadas con grupos (4-carboxifenil) y (4-bromofenil), en combinación con yoduro de potasio (KI) bajo irradiación lumínica, exhiban actividad fotodinámica antibacteriana potenciada frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 5923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10195 y *Staphylococcus warneri* ATCC 27836, patógenos de alta relevancia clínica, demostrando un mecanismo de acción dual mediado por la generación de oxígeno singlete y especies reactivas de yodo.



OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la actividad fotodinámica antibacteriana de cuatro metaloporfirinas de Zn (II) y Sn (IV): TCarbPP-Zn, TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV). Y su potenciación con yoduro de potasio (KI), frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 5923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10195 y *Staphylococcus warneri* ATCC 27836 como patógenos de importancia clínica, determinando el efecto del ion metálico central, la funcionalización del macrociclo y la fotodependencia del sistema sobre la eficacia y selectividad del tratamiento.

Objetivos Específicos

1. **Caracterización de la actividad fotodinámica basal:** Determinar el porcentaje de inhibición bacteriana de las cuatro metaloporfirinas evaluadas en condiciones de oscuridad y bajo irradiación lumínica (40 J/cm^2 , 7.5 mW/cm^2 , 90 min) en ausencia de KI, frente a las cuatro especies bacterianas seleccionadas, estableciendo la actividad fotodinámica intrínseca de cada compuesto como línea base del estudio.
2. **Evaluación del efecto potenciador del KI:** Comparar la actividad antibacteriana de los sistemas metaloporfirina+KI bajo irradiación lumínica respecto a los fotosensibilizadores solos, cuantificando el incremento en el porcentaje de inhibición atribuible exclusivamente a la potenciación química por yoduro de potasio (100 mM) en cada combinación fotosensibilizador-bacteria evaluada.
3. **Determinación de la fotodependencia del sistema:** Establecer si la actividad antibacteriana del sistema metaloporfirina+KI es estrictamente dependiente de la irradiación lumínica, mediante la comparación estadística entre las condiciones fotosensibilizador+KI con luz y fotosensibilizador+KI en oscuridad, identificando la presencia o ausencia de toxicidad oscura (dark toxicity) para cada compuesto y especie bacteriana.
4. **Análisis del efecto del ion metálico central:** Comparar la actividad fotodinámica antibacteriana de las metaloporfirinas coordinadas con Zn^{2+} frente a sus análogos estructurales coordinados con Sn^{4+} , en condiciones equivalentes de irradiación y potenciación, determinando la influencia del ion metálico central sobre la eficacia del sistema en el conjunto de patógenos evaluados.

5. **Evaluación del efecto de la funcionalización del macrociclo:** Comparar la actividad fotodinámica antibacteriana y el perfil de fotoselectividad de las porfirinas funcionalizadas con grupos Carboxifenil (TCarbPP) frente a las funcionalizadas con grupos bromofenil (TBrPP), para cada metal central evaluado, determinando la influencia de la naturaleza del sustituyente en posición meso sobre la eficacia y la toxicidad oscura del sistema.
6. **Análisis de susceptibilidad diferencial según la estructura celular:** Analizar las diferencias en susceptibilidad a la actividad fotodinámica antibacteriana entre las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *P. aeruginosa*) y Gram positivas (*S. aureus* y *S. warneri*), relacionando los patrones de inhibición observados con las características estructurales de la pared celular de cada grupo bacteriano y con la capacidad de penetración del sistema fotosensibilizador-KI.



CAPÍTULO I

1. ANTECEDENTES

1.1. Terapia fotodinámica antimicrobiana

La terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT, del inglés antimicrobial photodynamic therapy) ha emergido como una alternativa terapéutica no antibiótica de elevado potencial clínico. Su principio de acción se fundamenta en la activación lumínica de un fotosensibilizador (PS) que, al absorber fotones de longitud de onda apropiada, genera especies reactivas de oxígeno (ROS) con capacidad bactericida a través de dos mecanismos fotoquímicos complementarios (7, 20). En el mecanismo tipo II, el PS en estado triplete excitado transfiere energía al oxígeno molecular basal para producir oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), una especie altamente reactiva capaz de oxidar lípidos, proteínas y ácidos nucleicos bacterianos (9, 10).

En el mecanismo tipo I, el PS excitado transfiere electrones directamente a sustratos biológicos, generando radicales libres ($\text{O}_2^{\bullet-}$, $\bullet\text{OH}$, H_2O_2) que amplifican el daño oxidativo multiobjetivo (11, 20).

Una ventaja fundamental de la aPDT sobre los antibióticos convencionales es que el daño simultáneo sobre múltiples blancos celulares hace improbable el desarrollo de resistencia específica mediante mutaciones puntuales (12, 21). Hamblin (22) fue uno de los primeros en sistematizar esta propiedad, señalando que la aPDT representa una herramienta de «luz brillante» frente a microorganismos resistentes que los antibióticos ya no pueden controlar. Estudios posteriores han confirmado su eficacia frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, hongos y virus, posicionándola como una estrategia de amplio espectro con aplicabilidad en infecciones de piel, heridas crónicas e infecciones nosocomiales (13, 23, 24).

1.2. Porphirinas y metaloporphirinas como fotosensibilizadores en aPDT

Entre los fotosensibilizadores de segunda generación, las porfirinas y sus complejos metálicos han sido ampliamente estudiados por su estructura macrocíclica tetrapirrólica, sus propiedades de absorción en el espectro visible y su versatilidad química para la modificación estructural (7, 14). Los primeros fotosensibilizadores clínicamente aprobados, como el Photofrin® (porfímero sódico) (25), validaron el potencial terapéutico de esta familia de compuestos; sin embargo, sus limitaciones en términos de selectividad, solubilidad acuosa y sensibilización cutánea prolongada impulsaron el desarrollo de análogos de segunda generación con perfiles foto físicos mejorados (8, 26).

La incorporación de iones metálicos en el núcleo porfirínico genera metaloporfirinas con propiedades fotoquímicas modulables según la naturaleza del metal central (19). AmosTautua et al. (27) revisaron exhaustivamente la aplicación de porfirinas en aPDT bacteriana, documentando que la actividad antimicrobiana depende de factores como la carga del fotosensibilizador, el carácter anfifílico del macrociclo y la eficiencia de generación de O_2 . En este marco, Orlandi et al. (28) demostraron que derivados porfirínicos anfifílicos exhiben actividad de inactivación fotodinámica bacteriana mediada por interacción directa con la membrana, cuya eficacia depende del perfil de anfifilicidad conferido por los sustituyentes periféricos. Por su parte, Li et al. (29) construyeron nanomateriales fotoactivados basados en porfirinas de paladio con capacidad de inactivación bacteriana potenciada, evidenciando que la variación del centro metálico abre rutas adicionales de optimización.

Machado et al. (30) evaluaron la aPDT porfirínica frente a bacterias multirresistentes aisladas de infecciones tegumentarias en animales, incluyendo cultivos mixtos, obteniendo reducciones bacterianas significativas bajo irradiación, mientras que Alenezi et al. (31) documentaron la optimización de fotosensibilizadores basados en porfirinas de Zn para aPDT eficiente, sentando las bases comparativas para el uso de complejos de Zn (II) en este campo. En conjunto, estos antecedentes señalan que las metaloporfirinas constituyen una plataforma química con alto potencial para el desarrollo de agentes de aPDT, y que la elección del ion metálico central y de los sustituyentes en posición meso son variables determinantes de su eficacia fotodinámica.

1.3. Trabajo previo de Espitia-Almeida: síntesis y evaluación de metaloporfirinas

El antecedente más directo del presente trabajo es la investigación desarrollada por el Dr. Fabián Espitia-Almeida, quien sintetizó y caracterizó las cuatro metaloporfirinas evaluadas en este estudio. En su tesis doctoral (15), Espitia-Almeida evaluó la fototoxicidad in vitro de fotosensibilizadores tipo porfirinas y metaloporfirinas frente a parásitos del género *Leishmania*, en el marco del grupo de investigación de la Universidad de Nariño. Este trabajo constituyó la plataforma sintética y de caracterización fisicoquímica de los compuestos, estableciendo sus propiedades de absorción, la generación de 1O_2 y su actividad fotodinámica sobre modelos biológicos no bacterianos.

Posteriormente, Espitia-Almeida et al. (15) reportaron la síntesis, caracterización y actividad fotodinámica de Sn (IV)–porfirinas frente a *Leishmania panamensis*, confirmando

la capacidad de las metaloporfirinas de Sn (IV) para generar $^1\text{O}_2$ y ejercer actividad fototóxica sobre organismos eucariotas de relevancia clínica. Este resultado evidenció que los complejos de Sn (IV) con el macrociclo porfirínico presentan actividad fotodinámica funcional, aunque con limitaciones fotofísicas relativas respecto a otros centros metálicos.

En 2023, Espitia-Almeida et al. (32) documentaron la actividad fotodinámica antimicrobiana de una porfirina tetra-sustituida de Zn frente a bacterias de importancia clínica, incluyendo *E. coli* y *S. aureus*, reportando inhibiciones superiores al 90% bajo condiciones de irradiación controladas, lo que validó la extrapolación de la plataforma porfirínica hacia aplicaciones antibacterianas.

Las metaloporfirinas evaluadas en el presente trabajo, 5,10,15,20-tetraquis-(4-carboxifenil) porfirina Zn (II) (TCarPP-Zn), 5,10,15,20-tetraquis-(4-carboxifenil) porfirina Sn (IV)Cl₂ (TCarPP-Sn (IV)), 5,10,15,20-tetraquis-(4-bromofenil) porfirina Zn (II) (TBrPP-Zn) y 5,10,15,20-tetraquis(4-bromofenil) porfirina Sn (IV)Cl₂ (TBrPP-Sn (IV)), fueron sintetizadas por el Dr. Espitia Almeida y su caracterización estructural y fotofísica se detalla en la sección de metodología.

El presente trabajo constituye la primera evaluación sistemática de su actividad fotodinámica antibacteriana en combinación con yoduro de potasio como agente potenciador, extendiendo así la línea de investigación iniciada en el grupo de trabajo al contexto de la resistencia antimicrobiana bacteriana.

1.4. Yoduro de potasio como agente potenciador en aPDT

El uso del yoduro de potasio (KI) como potenciador químico en aPDT representa una estrategia de desarrollo relativamente reciente con evidencia experimental creciente. Niu et al. (16) demostraron que la combinación de KI con fotosensibilizadores bajo irradiación produce una potenciación marcada de la actividad antibacteriana frente a bacterias Gramnegativas resistentes a antibióticos, mediante la generación de especies reactivas de yodo (ERY), I₂, ácido hipoiodoso (HOI) y radicales I $\cdot$, producidas por la oxidación foto catalítica del ion yoduro (I $^-$) por las ROS generadas por el PS excitado. Estos autores evidenciaron además que las ERY, de menor tamaño molecular que el PS, son capaces de difundir a través de los canales de porina de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas, alcanzando blancos intracelulares inaccesibles al fotosensibilizador solo (16).

Liu et al. (12) habían documentado previamente que la aPDT actúa sobre múltiples blancos celulares bacterianos simultáneamente como membranas, ADN y proteínas lo que dificulta el desarrollo de resistencia específica; la incorporación de las RIS como agentes adicionales amplía aún más este espectro de acción multiobjetivo. Tanu et al. (17) revisaron recientemente los mecanismos, sinergias y avances clínicos de la aPDT en infecciones por microorganismos multirresistentes, destacando el papel de los sistemas de potenciación química como estrategia para superar los umbrales de actividad insuficientes de algunos fotosensibilizadores frente a patógenos con alta resistencia intrínseca. La estricta fotodependencia del efecto potenciador del KI, que requiere la excitación fotónica del PS como paso iniciador, ha sido señalada como una propiedad de seguridad fundamental para aplicaciones clínicas, dado que preserva la selectividad espacial del tratamiento (12, 33).



CAPÍTULO II

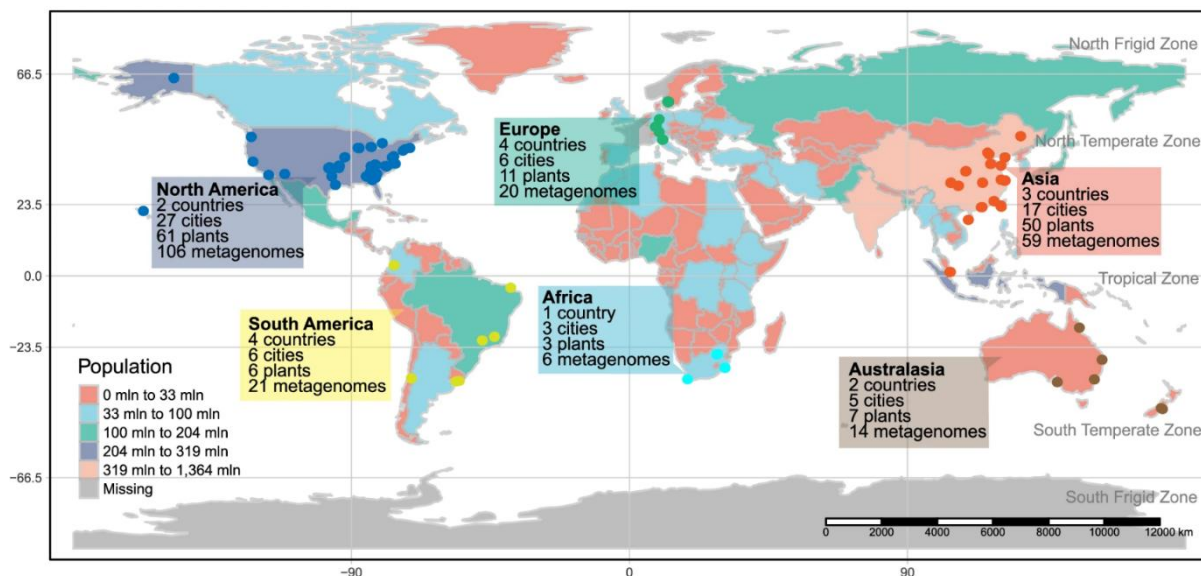
2. Marco Teórico

2.1. La Resistencia Antimicrobiana: Un Desafío Global

La más reciente edición del informe mundial sobre vigilancia de resistencia a antimicrobianos, publicado en 2025 desarrollado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), concluyo que en promedio uno de cada seis casos de infección bacteriana fue causado por patógenos resistentes a tratamientos antibióticos estándar aunque existe cierta variabilidad por regiones (región de Asia Sudoriental y del Mediterráneo Oriental hasta 1 de cada 3 infecciones eran resistentes, mientras que en la región Africana esta proporción fue de alrededor de 1 de cada 5 infecciones). El informe destaca que las bacterias gramnegativas, como *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, son responsables de gran parte del aumento de la resistencia, con un aumento de resistencia en más del 40 % a cefalosporinas de tercera generación, y en algunos lugares de África alcanzando más del 70 %.(34) Con proyecciones preocupantes que estiman hasta 10 millones de muertes anuales además de causar daños económicos similares a la crisis financiera de 2008, con proyecciones de hasta 100 billones de dólares para 2050.(35)

En un estudio global reciente publicado en Nature Communications, se analizó la presencia y distribución de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) en lodos activados de plantas de tratamiento de aguas residuales ubicadas en seis continentes.(36) Los resultados demostraron que estos genes están ampliamente distribuidos y son altamente diversos en todo el mundo, identificándose incluso un conjunto común de genes presente en todas las plantas evaluadas, tal como se muestra en la Figura 1 ; mostrando el resistoma core universal, la variación geográfica entre continentes y la asociación con elementos genéticos móviles. Es importante destacar que el estudio no analiza cepas bacterianas resistentes específicas, sino la presencia de los genes responsables de la resistencia, los cuales pueden encontrarse en distintas bacterias y transferirse entre ellas mediante mecanismos de intercambio genético. Estos hallazgos evidencian que las plantas de tratamiento de aguas residuales actúan como reservorios y puntos de intercambio de genes de resistencia,

Figura 1. Esquema representativo de la distribución global de genes de resistencia a antibióticos en plantas de tratamiento de aguas residuales.



*Tomado de Zhu et al. (2025) (36).

reflejando el impacto de la actividad humana en la diseminación global de la resistencia antimicrobiana.

El origen de esta crisis no es únicamente microbiológico, sino también ecológico, económico y sociopolítico. La presión de selección inducida por el uso masivo y a menudo irracional de antimicrobianos en medicina humana, veterinaria y agricultura ha propiciado la emergencia de “superbacterias”, capaces de evadir no solo un fármaco, sino cascadas completas de mecanismos terapéuticos (2, 3).

La ineficacia creciente de los antibióticos de tercera línea, incluidos combinaciones de última generación como ceftolozana/tazobactam, ceftazidima/avibactam, meropenem/vaborbactam y plazomicina, se ha evidenciado recientemente frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus warneri*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estos fármacos, aunque diseñados para superar resistencias a carbapenémicos y colistina, han mostrado fracasos terapéuticos en infecciones por cepas con mecanismos combinados de resistencia, como la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), carbapenemasas y alteraciones en porinas (37).

En el caso de *P. aeruginosa*, se ha reportado resistencia a ceftolozana/tazobactam en hasta un 15% de aislamientos provenientes de infecciones nosocomiales, especialmente en pacientes con tratamiento previo de líneas antimicrobianas múltiples (6). Asimismo, *E. coli*

productora de NDM-5 ha mostrado resistencia a meropenem/ vaborbactam y plazomicina en modelos de neumonía intrahospitalaria, limitando las opciones terapéuticas efectivas (4).

En cepas de *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), incluso la combinación de ceftarolina/avibactam ha mostrado reducción de eficacia en presencia de mutaciones en la proteína PBP2a, lo que sugiere que incluso los antibióticos de más reciente generación están siendo comprometidos por la evolución bacteriana (5).

Estos hallazgos refuerzan la urgencia de desarrollar nuevas estrategias antimicrobianas más allá de los fármacos convencionales, dado que incluso las opciones de tercera línea están perdiendo eficacia frente a patógenos ESKAPE prioritarios (5, 6, 37).

En este contexto, la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) emerge no como una alternativa complementaria, sino como una estrategia disruptiva, debido a su mecanismo de acción basado en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), particularmente oxígeno singlete, capaces de inducir daño oxidativo directo sobre lípidos, proteínas y ácidos nucleicos de los microorganismos (20, 27). A diferencia de los antibióticos convencionales, cuya acción depende de blancos moleculares específicos como la síntesis de pared celular o proteínas, la aPDT actúa mediante procesos fotoquímicos no específicos, lo que reduce significativamente la probabilidad de desarrollo de resistencia mediada por mutaciones o adquisición de genes (23).

Esta capacidad de burlar los mecanismos clásicos de resistencia ha sido ampliamente respaldada en la literatura, donde se demuestra que el estrés oxidativo masivo generado durante la aPDT produce daño simultáneo en múltiples estructuras celulares, imposibilitando respuestas adaptativas eficientes por parte de los microorganismos (24).

En particular, investigaciones recientes del grupo de Espitia et al. han evidenciado la alta eficacia de porfirinas sintéticas frente a bacterias multirresistentes, incluyendo aquellas con capacidad de formar biopelículas (15). Estas estructuras biofílmicas representan un desafío crítico en la clínica, ya que pueden incrementar la resistencia bacteriana hasta mil veces frente a antibióticos convencionales (28, 30). Sin embargo, la aPDT ha demostrado ser capaz de penetrar y desestabilizar dichas matrices, logrando una inactivación significativa de estos patógenos (28, 30, 32).

Así, la resistencia antimicrobiana (RAM) no solo constituye un problema clínico aislado, sino un reflejo del agotamiento del modelo terapéutico tradicional basado en antibióticos, como lo evidencian reportes globales que documentan la creciente ineficacia incluso de

antibióticos de última línea frente a patógenos multirresistentes (2, 37, 38). En este escenario, la integración de tecnologías como la aPDT se posiciona como una alternativa necesaria, al introducir un paradigma terapéutico basado en mecanismos físicos y fotoquímicos, en lugar de la inhibición enzimática o de la síntesis proteica, características de los antibióticos clásicos (3, 14).

2.1.1. Epidemiología y Resistencia Bacteriana en América Latina

La resistencia bacteriana constituye un desafío sanitario crítico para América Latina y el Caribe. Un estudio de la OMS (2019) que analizó 35 países reveló que la región registró aproximadamente 569,000 muertes asociadas a infecciones bacterianas resistentes, de las cuales 141,000 fueron directamente atribuibles a la resistencia antimicrobiana. Aunque la región representa el 13% de la población mundial, concentra el 11.1% de las muertes globales por resistencia bacteriana, evidenciando una carga de morbilidad desproporcionada que refleja deficiencias en sistemas de salud, acceso limitado a antibióticos y prácticas prescriptoras inadecuadas (39). En la región, seis bacterias concentraron la mayor carga de mortalidad vinculada a la resistencia antimicrobiana: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*. En conjunto, estos microorganismos estuvieron implicados en aproximadamente 45 000 fallecimientos asociados a este fenómeno (40).

La evidencia científica disponible para América Latina documenta consistentemente que las infecciones por bacterias resistentes generan costos hospitalarios incrementales sustanciales, predominantemente mediados por la prolongación de la estancia hospitalaria. La variabilidad entre países refleja diferencias en la organización de los sistemas de salud, disponibilidad de recursos y prevalencia de resistencia.

La adherencia a estrategias de gestión de antimicrobianos puede reducir costos de hospitalización hasta en más de la mitad, lo cual sugiere que los costos sin gestión son actualmente elevados y vinculados a resistencia bacteriana (41). En el caso de neonatos se evidencia que las infecciones resistentes generan costos directos más altos que las no resistentes, especialmente cuando están asociadas a patógenos difíciles de tratar como *Acinetobacter* y *Pseudomonas* (42). La evidencia demuestra que los Programas de Administración de Antimicrobianos (ASP) son intervenciones costo-efectivas en hospitales. Una revisión sistemática reportó que, tras su implementación, el gasto en

antibióticos disminuyó de 2 078 USD a 1 630 USD por 100 días-paciente, lo que representa un ahorro promedio de 448 USD (25 %). De forma consistente, estudios en América Latina evidenciaron ahorros mensuales significativos asociados a estos programas, alcanzando 42 061 USD en México, 26 453 USD en Colombia y 3 761 USD en Argentina, lo que resalta su valor para la gestión hospitalaria regional (43). Para mitigar esta problemática se ha optado por estrategias antimicrobianas que integran diversos enfoques terapéuticos y tecnológicos, entre los que destacan las combinaciones β -lactámico / inhibidor de β -lactamasa, la terapia con bacteriófagos, el uso de péptidos antimicrobianos, la aplicación de sistemas CRISPR-Cas para el control bacteriano, el empleo de inteligencia artificial en el descubrimiento de nuevos antibióticos, la implementación de programas de administración antimicrobiana (ASP) y los enfoques terapéuticos basados en el microbioma(40).

Dada la obsolescencia de diversos antibióticos, la investigación actual se ha volcado hacia el desarrollo de terapias alternativas con mecanismos de acción físicos y químicos. Entre estas, destaca el uso de sistemas láser para la inactivación térmica y fotodinámica de patógenos (44). Asimismo, la aplicación de ozono ha demostrado ser eficaz mediante la oxidación directa de la arquitectura molecular bacteriana (45). Por otra parte, el uso de nanopartículas metálicas representa una estrategia disruptiva, ya que estas pueden perforar las membranas celulares y generar un estrés oxidativo masivo contra el cual las bacterias tienen escasas defensas (46). Estas modalidades, junto con la fagoterapia o el uso de virus bacteriófagos (47), conforman un arsenal emergente diseñado para eludir los mecanismos de resistencia convencionales.

En este escenario aPDT surge como una solución disruptiva: su mecanismo de acción basado en especies reactivas de oxígeno (ROS) y oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) no selecciona resistencia genética, ya que los blancos moleculares son lípidos de membrana, proteínas y ácidos nucleicos, evitando así los mecanismos clásicos de resistencia bacteriana (20, 48).

Particularmente, las metaloporfirinas de Zn (II) y Sn (IV) sintetizadas y caracterizadas por Espitia-Almeida et al. han demostrado capacidad de generar rendimientos cuánticos de $^1\text{O}_2$ superiores al 0,70, valores que duplican los reportados para porfirinas libres de metal (49). Esta evidencia justifica con fuerza la evaluación sistemática de estas moléculas frente a los patógenos prioritarios identificados por el OMS, posicionando la aPDT como una estrategia terapéutica complementaria capaz de revertir la tendencia creciente de RAM en Latinoamérica.

2.2. Fundamentos de la Terapia Fotodinámica

2.2.1. Historia de la Terapia Fotodinámica

La Terapia Fotodinámica (PDT) tiene sus raíces en prácticas milenarias que utilizaban la luz solar para tratar enfermedades de piel (7). Sin embargo, su desarrollo científico comenzó en 1900 cuando Oscar Raab, quien demostró que la combinación de acridina roja y luz producía muerte celular mediante transferencia de energía luminosa al compuesto químico en presencia de oxígeno, fenómeno que Von Tappeiner bautizó como "acción fotodinámica" en 1907 y que permitió las primeras aplicaciones médicas con eosina y luz blanca para tumores cutáneos. La consolidación experimental se basó en la propiedad de localización tumoral selectiva de la hematoporfirina, identificada entre 1911 y 1948, lo que condujo a Lipson y Schwartz (1960) a establecer las bases de la PDT moderna con derivados de hematoporfirina; tras la erradicación tumoral en modelos animales (1975) y el primer ensayo clínico humano en cáncer de vejiga (1976), la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) aprobó en 1995 Photofrin como primer fotosensibilizador comercial(50). Actualmente, la PDT ha expandido su espectro terapéutico más allá de la oncología mediante la PDT antimicrobiana de Weber, que utiliza tecnología láser de precisión para combatir patógenos multirresistentes (51).

2.2.2. Mecanismo de acción mediados por la Terapia Fotodinámica (PDT)

La Terapia Fotodinámica (PDT) constituye una estrategia terapéutica aprobada clínicamente para el tratamiento de diversos tipos de cáncer, incluyendo tumores sólidos localizados (7). Se fundamenta en la capacidad de ciertas moléculas, conocidas como fotosensibilizadores (PS), de absorber energía luminosa y transferirla al oxígeno molecular, generando especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de inducir daño celular. Los actores involucrados son:

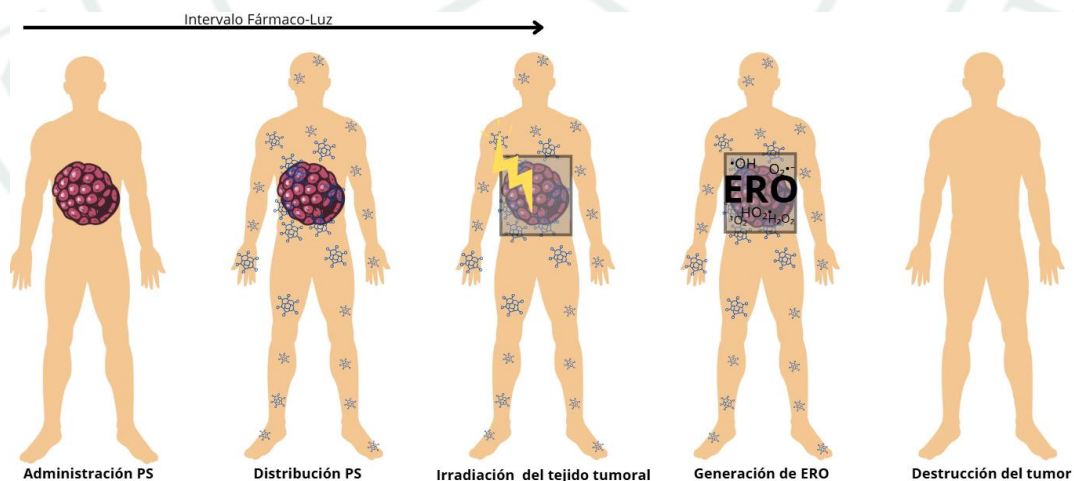
- **Fotosensibilizador (PS):** molécula que absorbe fotones y se excita (metaloporfirinas, ftalocianinas, clorinas, bacterioclorinas) (29–31).
- **Fuente de luz:** láseres, LED o lámparas de xenón, ajustados a la ventana terapéutica (600-800 nm) (13, 33, 52).
- **Oxígeno molecular (O₂):** en su estado fundamental triplete O₂ (³Σ_g⁻) (23).
- **Células diana:** tejido tumoral o microorganismos patógenos (12, 13, 15).

- **Aplicador clínico:** médico, odontólogo o microbiólogo que controla dosis y tiempo de irradiación.

El protocolo estándar para la aplicación clínica de PDT en tumores sólidos localizados se desarrolla en las siguientes etapas secuenciales:

1. Administración del Fotosensibilizador: Inyección intravenosa o tópica del agente foto sensibilizante (ej. Photofrin®, Foscan®, Visudyne®) (25, 53).
2. Periodo de Incubación: Intervalo de tiempo (generalmente 24-72 horas para fotosensibilizadores sistémicos como Photofrin®, o 0.5-4 horas para aplicación tópica) para acumulación selectiva del PS en el tejido tumoral (7, 54).
3. Irradiación con Luz: Aplicación de luz laser o LED de longitud de onda específica (630-800 nm dependiendo del PS), donde la ventana foto terapéutica óptima se encuentra típicamente entre 600-800 nm (26, 33, 55, 56).
4. Activación Fotodinámica: Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), principalmente oxígeno singlete (1O_2) a través de mecanismos de Tipo II (9, 57).
5. Destrucción Tumoral: Muerte celular por apoptosis/necrosis y daño vascular (11, 58).

Figura 2. Protocolo clínico de Terapia Fotodinámica (PDT) para tumores sólidos localizados.



*Adaptado de Correia et al. (2021) (7).

Esto se ejemplifica en la Figura 2, el esquema muestra las etapas secuenciales: (1) Administración sistémica del fotosensibilizador, (2) Acumulación selectiva en tejido tumoral tras el periodo de incubación, (3) Irradiación con luz de longitud de onda

específica, (4) Activación del fotosensibilizador y generación de oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), (5) Destrucción del tumor por mecanismos directos (apoptosis/necrosis) e indirectos (daño vascular e inflamación)

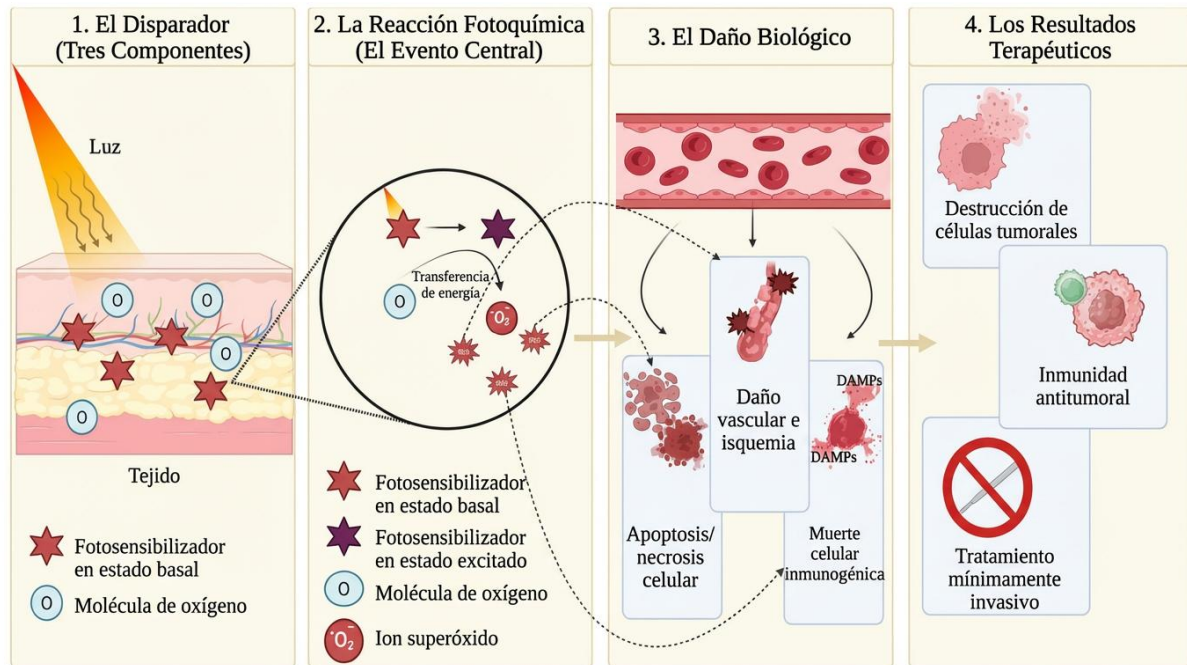
La eficacia terapéutica de PDT se basa en tres mecanismos principales (58, 59):

1. Mecanismo Directo: La generación de $^1\text{O}_2$ induce daño oxidativo en membranas celulares, mitocondrias y otros orgánulos, activando vías de apoptosis y necrosis celular (9). Cuando el PS se acumula en mitocondrias o citoplasma, generalmente inicia apoptosis mediante la vía intrínseca mitocondrial; cuando se localiza en la membrana plasmática, puede conducir a necrosis (11, 60).
2. Mecanismo Vascular: El daño al endotelio vascular tumoral resulta en oclusión vascular, isquemia y muerte celular secundaria por privación de nutrientes (58). Este efecto vascular puede potenciarse utilizando intervalos drug-light cortos (minutos u horas) cuando el PS aún está presente en los vasos sanguíneos (61).
3. Mecanismo Inmune: La PDT no solo destruye células tumorales por daño fotoquímico local; también activa la inmunidad adaptativa. El daño oxidativo altera la homeostasis del tejido, desencadena una respuesta inflamatoria con liberación de DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns) y atrae células del sistema inmune innato, favoreciendo la activación de células dendríticas (58, 62). Los macrófagos procesan los restos tumorales y presentan sus antígenos a linfocitos T CD4, que activan T CD8 citotóxicos capaces de eliminar células tumorales incluso a distancia, generando una respuesta antitumoral sistémica y duradera, potencialmente asociada a un efecto abscopal. Este efecto depende de la aplicación: la PDT tópica con alta fluencia puede causar inmunosupresión, mientras que la no tópica suele estimular la respuesta inmune (7).

Todos estos mecanismos son representados en la Figura 3, en el panel 3. (Panel 1) Los tres componentes esenciales (luz, fotosensibilizador y oxígeno) convergen sobre el tejido diana. (Panel 2) La reacción fotoquímica donde el fotosensibilizador excitado por la luz transfiere energía al oxígeno, generando especies reactivas de oxígeno (ROS). (Panel 3) Tres vías biológicas paralelas: daño celular directo (localización en orgánulos que conduce a apoptosis/necrosis), efectos vasculares (daño endotelial que causa isquemia) y activación inmune (liberación de DAMPs (Patrones Moleculares Asociados

a Daño) que inician la respuesta inmune). (Panel 4) Resultados terapéuticos: destrucción tumoral, inmunidad antitumoral e invasividad mínima.

Figura 3. Secuencia de eventos biológicos en Terapia Fotodinámica (PDT).



*Adaptado de AInglot et al., 2026 (56).

2.2.3. Principios físicos y químicos

Cuando un fotosensibilizador (PS) absorbe luz, pasa de su estado fundamental (S_0) a un estado excitado singlete (S_n) mediante una transición radiativa prácticamente instantánea ($\sim 10^{-15}$ s) (9). La molécula rápidamente decae al estado singlete más bajo (S_1) a través de conversión interna (transición no radiativa entre estados de igual multiplicidad de spin) y relajación vibracional (disipación de energía vibracional al solvente en $\sim 10^{-12}$ s) (11, 63), como se ilustra en el diagrama de Jablonski la cual es presentada en la Figura 4 donde las flechas rectas representan transiciones radiativas, las onduladas representan transiciones no radiativas. Los niveles vibracionales ($v=0,1,2,\dots$) se indican con líneas horizontales.

Desde el estado S_1 , el fotosensibilizador puede seguir tres caminos principales:

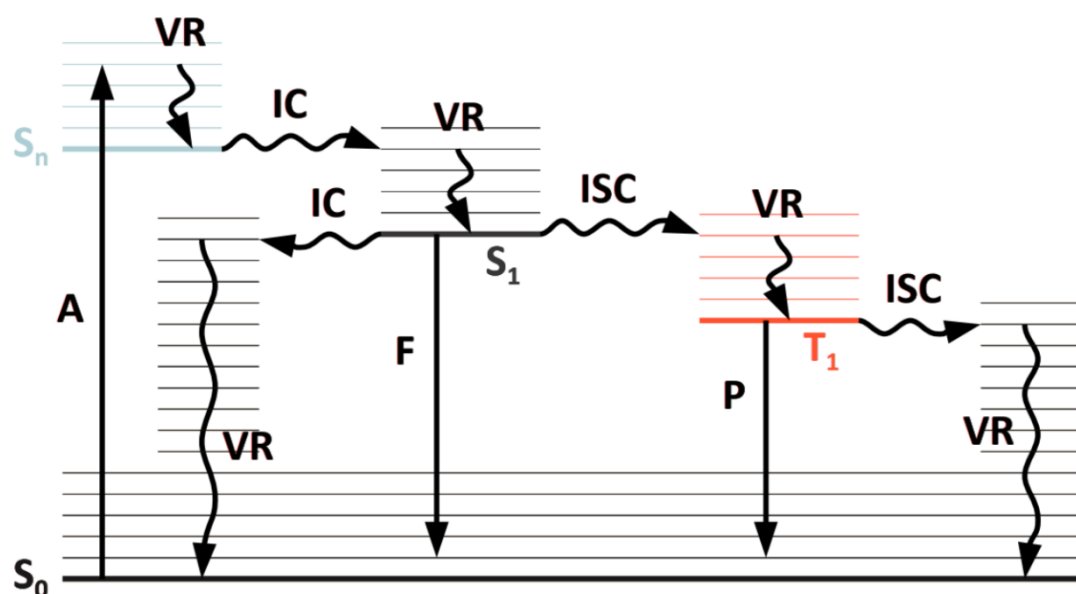
- **Conversión interna (IC):** puede volver al estado fundamental liberando energía en forma de calor; este proceso es más eficiente cuando la diferencia energética entre estados es pequeña (63).

- **Cruce intersistema (ISC):** puede pasar al estado triplete (T_1) mediante una transición no radiativa entre estados de diferente multiplicidad de spin; este proceso está favorecido por el efecto del átomo pesado (a mayor número atómico del metal central, como Zn, Sn o Pd, mayor es el acoplamiento spin-órbita y más probable resulta el ISC) y por las reglas de El-Sayed (transiciones entre estados de diferente configuración orbital, como $1 n\pi^* \rightarrow 3 \pi\pi^*$, son más favorables) (63).
- **Fluorescencia:** emisión de un fotón de menor energía que el absorbido, retornando al estado fundamental ($S_1 \rightarrow S_0 + h\nu$) (9, 20, 63).

Una vez en el estado triplete (T_1), la molécula presenta un tiempo de vida considerablemente más largo que en el estado singlete debido a que la transición hacia el estado fundamental es espín-prohibida. Desde T_1 , el fotosensibilizador puede:

- Emitir fosforescencia ($T_1 \rightarrow S_0 + h\nu$), aunque con baja probabilidad (9, 20).
- Retornar al estado fundamental mediante ISC inverso.
- Iniciar las reacciones fotodinámicas de fotosensibilización (9, 20).

Figura 4. Secuencia de eventos biológicos en Terapia Fotodinámica (PDT).



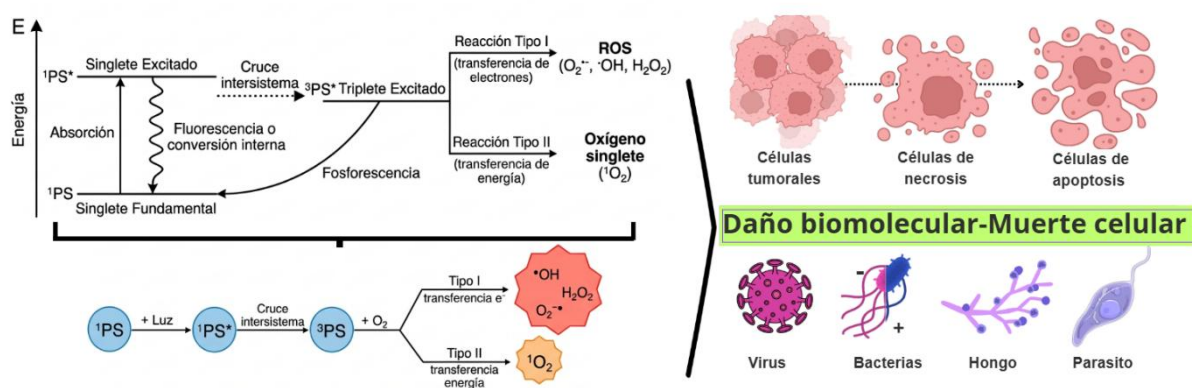
*Adaptado de Arpa González, E. M. (2020). Photophysics and photochemistry of small biomolecules.

El mecanismo dominante es el **Tipo II**, donde el fotosensibilizador en estado triplete transfiere energía al oxígeno molecular triplete (3O_2) para generar oxígeno singlete (1O_2), una especie altamente reactiva y citotóxica. Este proceso es cuánticamente permitido

(conservación del spin total) y por tanto muy eficiente, aprovechando la larga vida del estado T_1 para permitir la difusión y encuentro con el oxígeno molecular (9, 20).

Como mecanismo secundario existe el **Tipo I**, donde el fotosensibilizador en estado triplete reacciona directamente con el sustrato biológico mediante transferencia de electrones o de hidrógeno, generando radicales libres que posteriormente pueden formar especies reactivas de oxígeno como el anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$), el radical hidroxilo ($HO^{\bullet}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (9, 20, 64).

Figura 5. Esquema del mecanismo de acción de la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT).



*Figura adaptada de la tesis doctoral de Espitia Almeida (15).

A continuación, en la Figura 5, se muestra de manera esquemática el mecanismo de acción de la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT), destacando el papel de las especies reactivas de oxígeno en el daño celular. En la imagen se muestra en la parte izquierda: Diagrama de estados de energía (arriba) mostrando la excitación del fotosensibilizador (PS) desde el estado singlete fundamental (1PS) hasta el singlete excitado ($^1PS^*$), seguido del cruce intersistema al estado triplete ($^3PS^*$); y diagrama de flujo didáctico (abajo) ilustrando la absorción de luz, generación del estado triplete y las dos vías de reacción con oxígeno molecular: Tipo I (transferencia de electrones generando ROS: $O_2^{\bullet -}$, $^{\bullet}OH$, H_2O_2) y Tipo II (transferencia de energía generando oxígeno singlete, 1O_2). Parte derecha: Consecuencias del daño biomolecular y muerte celular, mostrando la progresión de células tumorales sanas hacia necrosis y apoptosis (arriba), y los diferentes microorganismos susceptibles al tratamiento (virus, bacterias, hongos y parásitos) en la parte inferior.

2.3. Terapia fotodinámica antibacteriana

Tras la foto excitación, el fotosensibilizador en estado triplete genera ROS, principalmente oxígeno singlete, oxidan lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, conduciendo a la muerte celular (26).

La Terapia Fotodinámica Antimicrobiana (aPDT) ejerce su efecto citotóxico principalmente mediante la oxidación de lípidos de membrana, dado que los fotosensibilizadores lipofílicos se localizan en las membranas celulares y subcelulares donde las especies reactivas de oxígeno atacan los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados; una explicación específica de este daño membranal es la peroxidación lipídica inducida por la unión del fotosensibilizador (catiónico) con el lipopolisacárido de carga negativa, alterando la fluidez y organización membranal hasta inducir muerte celular. Este mecanismo resulta particularmente ventajoso porque la focalización en la membrana externa permite eliminar bacterias sin necesidad de acumulación intracelular del fotosensibilizador, además de que la aPDT puede permeabilizar el envoltorio celular bacteriano o inactivar enzimas celulares, facilitando la penetración y acción de antibióticos y generando un efecto sinérgico cuando se combinan ambas terapias (12, 65).

Aunque el ADN, ARN y las proteínas pueden oxidarse durante la aPDT, estos no parecen ser los blancos primarios de muerte debido a los mecanismos celulares de reparación y respuesta al estrés. La alta susceptibilidad de *Deinococcus radiodurans* respalda que el daño crítico ocurre principalmente a nivel de membrana, especialmente con cortos tiempos de pre-irradiación y bajas dosis de energía. Futuros análisis enfocados en la producción directa de ROS y el daño oxidativo intracelular permitirán comprender con mayor precisión el perfil de ROS y las rutas de daño bacteriano en la APDT (65). Los mecanismos específicos de daño inducidos por la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) varían según el tipo de microorganismo, debido a las diferencias estructurales y bioquímicas en sus envolturas celulares y orgánulos internos. No obstante, en todos los casos el evento inicial común es la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), principalmente oxígeno singlete, que oxidan lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

- Bacterias Gram (+): En bacterias Gram positivas, la gruesa capa de peptidoglicano no representa una barrera significativa para la difusión de fotosensibilizadores. Las ROS generadas inducen peroxidación lipídica en la membrana plasmática y daño oxidativo en la pared celular, provocando pérdida de integridad estructural y lisis celular (12, 16, 21, 66–68).

- Bacterias Gram (–): En bacterias Gram negativas, la membrana externa rica en lipopolisacáridos (LPS) constituye la primera diana del daño fotodinámico. La aPDT provoca permeabilización de esta membrana externa, seguida de daño oxidativo en la membrana interna, alteración del gradiente transmembrana y colapso metabólico celular (12, 65–68).
- Hongos: En células fúngicas, la aPDT produce alteraciones en la pared celular compuesta por quitina y β -glucanos, además de daño intracelular significativo. Se ha demostrado afectación mitocondrial, DNA, despolarización de membranas internas y procesos de muerte celular tipo apoptosis inducidos por estrés oxidativo (17, 24, 67).
- Virus: En virus con envoltura lipídica, las ROS inducen peroxidación de dicha envoltura, mientras que en virus desnudos el daño se dirige principalmente hacia proteínas de la cápside. En ambos casos, se produce además oxidación y fragmentación de ácidos nucleicos virales, impidiendo su capacidad infectiva (67, 69, 70).
- Parásitos: En parásitos como Leishmania, la aPDT se ve favorecida por la acumulación selectiva de porfirinas endógenas o fotosensibilizadores exógenos. El daño oxidativo afecta principalmente a las mitocondrias y otras estructuras sensibles al estrés oxidativo, pudiendo además desencadenar respuestas inmunomoduladoras en el hospedero (15, 71, 72).
- Biofilms: En comunidades microbianas organizadas como biofilms, la aPDT no solo afecta a las células individuales, sino que degrada la matriz extracelular polimérica (EPS), incluyendo polisacáridos, proteínas y ADN extracelular (eDNA). Esto facilita la penetración profunda del fotosensibilizador y la luz, permitiendo una desestructuración efectiva del biofilm (73, 74).

2.3.1. Características ideales de un fotosensibilizador para aPDT

a) Alta eficiencia de oxígeno singlete:

Un fotosensibilizador (PS) eficiente debe exhibir alto rendimiento cuántico de oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), idealmente $\Phi_{\Delta} \geq 0.60$, para garantizar la producción efectiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de dañar las estructuras bacterianas (7, 26). Según estudios recientes, los PS de tercera generación alcanzan valores de

Φ_{Δ} superiores a 0.85, superando a los fotosensibilizadores clínicos tradicionales (75). Este alto rendimiento cuántico es esencial porque la generación de $^1\text{O}_2$ ocurre predominantemente mediante mecanismos de Tipo II en la mayoría de los casos de aPDT, aunque se ha reportado que las especies Gram-negativas pueden ser más susceptibles al radical hidroxilo ($\text{OH}^{\bullet}$) generado por mecanismos de Tipo I (17, 76).

b) Absorción intensa en la ventana terapéutica (600–800 nm):

El PS ideal debe presentar absorción intensa en la región de 600–800 nm, conocida como la “ventana terapéutica” o “ventana óptica del tejido” (7, 13). Esta región es óptima porque la luz con longitudes de onda entre 600–800 nm penetra más profundamente en los tejidos biológicos, alcanzando profundidades de 2–3 cm, mientras que longitudes de onda menores a 600 nm son absorbidas por la hemoglobina y mayores a 850 nm no poseen suficiente energía para excitar el oxígeno a su estado singlete (7). Los fotosensibilizadores de segunda generación, como las ftalocianinas y bacterioclorinas, absorben en el rango de 675–800 nm, permitiendo un mayor alcance terapéutico en tejidos profundos (13, 75).

c) Toxicidad residual nula en oscuridad:

Una característica fundamental del PS ideal es la ausencia de toxicidad en ausencia de luz. El fotosensibilizador debe ser completamente inerte en la oscuridad y únicamente ejercer efectos citotóxicos tras la activación fotónica (7, 13). Esta propiedad es crítica para evitar daños a las células hospederas sanas durante el tratamiento. Estudios con complejos no porfirínicos han demostrado que, en ausencia de luz, no se observan efectos citotóxicos significativos en líneas celulares, confirmando que cualquier toxicidad observada puede atribuirse exclusivamente a la foto activación (60). Asimismo, los FS de tercera generación diseñados con estrategias de diana molecular muestran selectividad preferencial por células microbianas sobre células de mamíferos hospederos, minimizando los efectos adversos sistémicos (13, 17).

2.3.2. Ventajas de la aPDT sobre los antibióticos tradicionales

La terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) representa una alternativa terapéutica con múltiples ventajas comparativas frente a los antibióticos convencionales, particularmente relevante en el contexto de la creciente crisis de resistencia antimicrobiana documentada por la OMS (34, 38, 48). A continuación, se detallan las principales ventajas:

- a) **Espectro antimicrobiano amplio y no selectivo:** La aPDT demuestra actividad efectiva contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, hongos, virus, protozoos y parásitos, incluyendo cepas multirresistentes (7, 15, 24, 71). El mecanismo de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante fotosensibilizadores tipo porfirinas y metaloporfirinas (27, 49, 77) permite atacar múltiples blancos celulares simultáneamente, sin distinguir entre patógenos sensibles o resistentes a antibióticos convencionales (21, 30, 65).
- b) **Baja probabilidad de inducción de resistencia:** A diferencia de los antibióticos que actúan sobre dianas específicas (ribosomas, DNA girasa, enzimas de síntesis de pared celular), la aPDT genera daño oxidativo no específico sobre lípidos, proteínas y ácidos nucleicos mediante oxígeno singlete y radicales hidroxilos (12, 17). Este mecanismo multitarget dificulta el desarrollo de mutaciones de resistencia, ya que no existe una diana única que pueda modificarse (12, 66). La ausencia de toxicidad en oscuridad de los fotosensibilizadores y el intervalo droga-luz demasiado corto para adaptaciones bacterianas contribuyen a esta ventaja (14, 53).
- c) **Ausencia de resistencia cruzada con antibióticos:** Los mecanismos de resistencia bacteriana convencionales: bombas de eflujo, enzimas modificadoras, alteración de porinas y modificaciones de sitios diana (40). No protegen contra el daño oxidativo inducido por ROS (24, 31). La aPDT puede restaurar la susceptibilidad de cepas resistentes como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), Enterococos resistentes a vancomicina (VRE) y *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (16, 29, 31, 32).
- d) **Efectividad contra biopelículas:** La aPDT puede penetrar y eliminar células embebidas en biopelículas, estructuras que confieren resistencia a los antibióticos convencionales (73, 74).
- e) **Perfil de seguridad favorable:** Al tratarse de una terapia tópica o localizada, se minimizan los efectos adversos sistémicos asociados a antibióticos de amplio espectro (61, 62). Los fotosensibilizadores clínicamente aprobados como Photofrin (porfímero sódico) han demostrado baja toxicidad sistémica cuando se utilizan según protocolos establecidos (25, 78).
- f) **Efectos inmunomoduladores adicionales:** Además de la erradicación directa de patógenos, la aPDT estimula respuestas inmunes locales y puede neutralizar factores

de virulencia microbianos mediante oxidación de aminoácidos sensibles (histidina, cisteína, tirosina, triptófano, metionina) (57, 62). Esta acción dual favorece la resolución de infecciones crónicas y la cicatrización de heridas (11, 58).

- g) **Versatilidad tecnológica y combinación:** La aPDT puede combinarse sinérgicamente con antibióticos convencionales, aumentando la susceptibilidad bacteriana y permitiendo reducir dosis de ambos agentes (23, 56). Las innovaciones en nanotecnología (nano emulsiones, nanopartículas metálicas, fullerenos catiónicos) y fuentes de luz avanzadas mejoran la eficiencia de entrega y activación de fotosensibilizadores (29, 56, 58).

2.3.3. Limitaciones de la terapia fotodinámica y terapia fotodinámica antimicrobiana

Se presenta varias limitaciones importantes que afectan su eficacia clínica y aplicación práctica.

- a) **Dependencia del oxígeno molecular:** La aPDT requiere la presencia de oxígeno molecular para generar especies reactivas de oxígeno (ROS), por lo que su eficacia se ve reducida en condiciones de hipoxia tisular o tumoral. Esta limitación deriva directamente del mecanismo de acción fotodinámico basado en la transferencia de energía al oxígeno (Tipo I y II). Muchos tumores presentan bajos niveles de oxígeno, lo que limita la producción de ROS y genera resultados subóptimos (8, 12).
- b) **Penetración limitada de la luz:** La eficacia de la aPDT está restringida a áreas accesibles a la luz, generalmente no más de unos pocos milímetros de profundidad. La absorción y dispersión de la radiación en tejidos biológicos limita la activación de la foto sensibilizante en estructuras internas, confinando el uso de aPDT a lesiones superficiales o subsuperficiales y reduciendo su efectividad en infecciones profundas o lesiones internas (33, 67).
- c) **Difusión rápida y acumulación inadecuada de la foto sensibilizante:** La rápida difusión de la foto sensibilizante lejos del sitio objetivo disminuye la concentración local efectiva y, por ende, la eficacia del tratamiento. Además, la absorción inadecuada de foto sensibilizantes por las bacterias resulta en fotosensibilización insuficiente para inducir letalidad microbiana. La fotosensibilizantes pueden

acumularse en tejidos sanos, causando daño no intencionado, y la naturaleza heterogénea de los tumores o biofilms puede resultar en distribución desigual del agente, generando tratamientos incompletos y posible recurrencia (12, 67, 79).

- d) **Tinción tisular y fotosensibilidad prolongada:** Algunos fotosensibilizantes causan tinción de tejidos sanos, representando un problema estético y clínico que limita la aceptación del tratamiento. Posteriormente, los agentes fotosensibilizantes pueden renderizar la piel y ojos extremadamente sensibles a la luz durante varias semanas tras el tratamiento, requiriendo estricta evitación de luz solar y fuentes brillantes para prevenir reacciones fototóxicas severas (67, 79).
- e) **Toxicidad secundaria:** La generación indiscriminada de especies reactivas de oxígeno puede provocar efectos secundarios no deseados en tejidos circundantes, siendo una preocupación crítica en aplicaciones clínicas donde la selectividad es fundamental (8, 12).
- f) **Efectos antimicrobianos de corta duración:** Los efectos antimicrobianos de la aPDT suelen ser de corta duración, lo que puede requerir aplicaciones repetidas para mantener la supresión de la población microbiana. Existe también evidencia de que algunas células bacterianas pueden adaptarse al estrés oxidativo inducido por aPDT, desarrollando mecanismos de resistencia (8, 79).
- g) **Limitaciones en cáncer metastásico:** La aPDT no es aplicable para tratar cáncer metastásico, ya que requiere exposición directa a la luz para activar el fotosensibilizante, siendo inefectiva contra células cancerosas diseminadas a través del torrente sanguíneo o sistema linfático a órganos distantes (79).
- h) **Selección de fuentes de luz y barreras prácticas:** La elección de la fuente de luz afecta la eficacia de activación del fotosensibilizante, con distintas longitudes de onda y modos de entrega (LED, láser, etc.) presentando ventajas y desventajas específicas según el tejido, profundidad y fotosensibilizante utilizado. Adicionalmente, existen desafíos prácticos como la dificultad para determinar variables óptimas de tratamiento, resistencia institucional a adoptar nuevas terapias, y altos costos de capital para establecer centros de aPDT (33, 79).

2.3.4. Potenciación de la Acción Fotodinámica mediante el uso de Yoduro de Potasio (KI)

La incorporación de yoduro de potasio (KI) como adyuvante inorgánica potencia significativamente la eficacia de la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) mediante la generación de especies reactivas de yodo (RIS). El mecanismo fundamental reside en una reacción de adición en la que el oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) reacciona con el anión yoduro (I^-) para formar el intermediario peroxiyoduro (HOOI^-). Este intermediario es inestable y se descompone en yodo molecular (I_2), anión triyoduro (I_3^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). (80, 81)

Es importante destacar que la transferencia de un solo electrón entre el oxígeno singlete y el yoduro es termodinámicamente inviable. Por ello, la citotoxicidad adicional observada en presencia de KI proviene principalmente de la formación de yodo molecular, el cual actúa como un potente agente bactericida de amplio espectro, capaz de penetrar membranas celulares y oxidar componentes críticos como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. (81)

Esta sinergia permite alcanzar incrementos significativos en la inactivación bacteriana, incluso en condiciones anaeróbicas. Asimismo, posibilita la reducción de las dosis necesarias de fotosensibilizadores como el azul de metileno o la temoporquina, minimizando efectos secundarios clínicos asociados a la fotosensibilidad prolongada sin comprometer la eficacia antimicrobiana (26, 80).

2.4. Fotosensibilizadores: La Clave de la aPDT

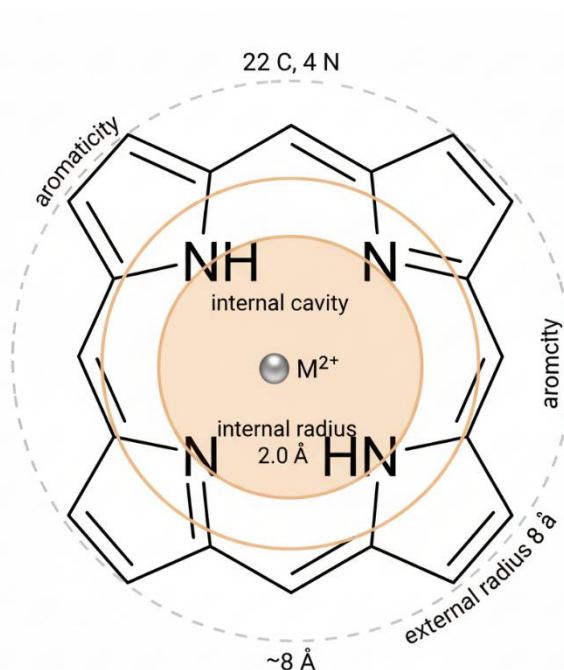
2.4.1. Porfirinas y Metaloporfirinas

Las porfirinas son macrociclos tetrapirrólicos planos formados por la unión de cuatro anillos de pirrol mediante puentes metínicos; la conjugación π de 18 electrones les confiere aromaticidad, planaridad y una rica química de coordinación. Esta arquitectura permite anclar sustituyentes meso- β con precisión atómica, modulando propiedades electrónicas, estéricas y de solubilidad sin alterar el núcleo aromático. Por ello, la funcionalización selectiva es la herramienta clave para dirigir la absorción hacia la ventana terapéutica (600–800 nm) y aumentar la afinidad por membranas bacterianas cargadas negativamente (15).

Cuando un ion metálico se inserta en la cavidad N4 se forma una metaloporfirina, compuesto indispensable en procesos biológicos esenciales: el grupo hemo (Feporfirina) transporta O_2 en hemoglobina y cataliza reacciones redox en citocromos P450; la clorofila

(Mg-porfirina) captura fotones para la fotosíntesis; y la vitamina B12 (Co-porfirina) participa en la síntesis de ADN/ARN (15, 82). Estos ejemplos validan la biocompatibilidad intrínseca del esqueleto porfirínico y justifican su uso como fotosensibilizadores antimicrobianos. El radio interno de la cavidad es de 2.00–2.10 Å, mientras que el radio externo supera los 8 Å cuando se incluyen sustituyentes meso-β; esta dimensión permite la inserción de iones metálicos y la posterior funcionalización selectiva, tal como se muestra en la Figura 6 (83).

Figura 6. Estructura representativa de una porfirina y su cavidad interna.



*Elaboración propia.

2.4.1.1. Clasificación topológica y estructural: meso vs β sustitución

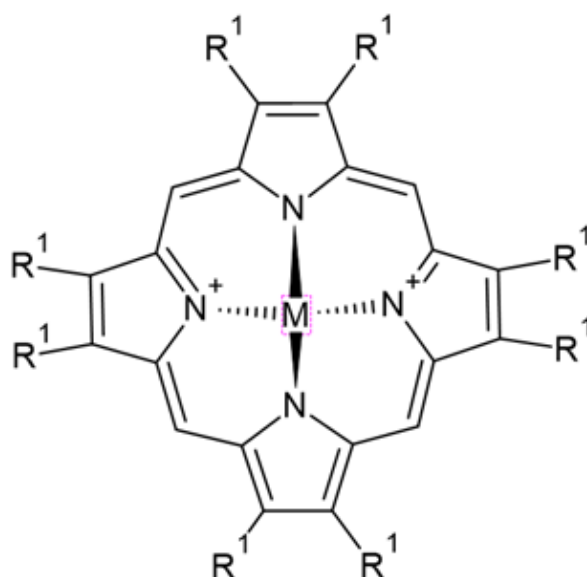
El macrociclo porfirínico posee dos posiciones periféricas distintivas para la funcionalización, cuya ocupación determina drásticamente las propiedades ópticas, conformacionales y la simetría de la molécula (Figuras 7 y 8).

- **Porfirinas β-sustituidas:** Los sustituyentes se localizan en los carbonos periféricos de los anillos pirrólicos (posiciones C-2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 y 18). Esta disposición imita la topología de las porfirinas naturales (67), como la protoporfirina IX. A diferencia de las sustituciones voluminosas en otras posiciones, la funcionalización en β tiende a mantener la planicidad del anillo macrocíclico al minimizar las

repulsiones estéricas (84). Además, la incorporación de cadenas alquílicas o hidroxialquílicas en estas posiciones modula la lipofilicidad del fotosensibilizador, lo que favorece su interacción y penetración en bicapas lipídicas bacterianas (67, 85, 86).

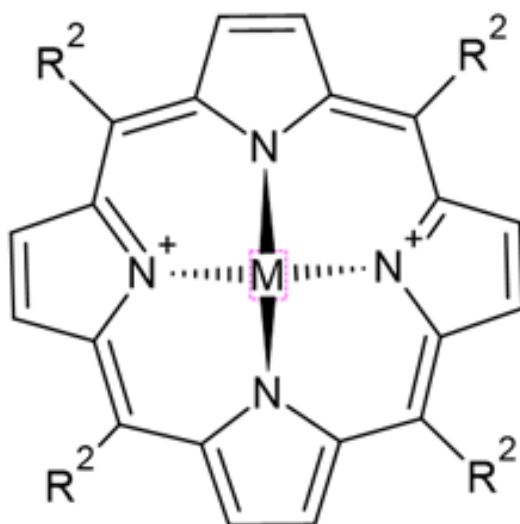
- **Porfirinas meso-sustituidas:** Los grupos se insertan en los puentes metino (C-5, 10, 15 y 20) que conectan los pirroles. La condensación clásica de pirrol y aldehído permite sintetizar estas estructuras con un alto control sobre su simetría (C_{4v} , D_{2d} , C_{2v}). Dado que los sustituyentes en meso ejercen una influencia electrónica directa y fuerte sobre el sistema π del anillo, es posible sintonizar las bandas de absorción (entre 600 y 750 nm) utilizando grupos electrodonadores (red-shift) o electroaceptores (blue-shift) (87). Asimismo, estas posiciones son altamente compatibles con estrategias de modificación postsintética, como la química “click” (CuAAC) y acoplamientos catalizados por paladio, facilitando el anclaje de péptidos, PEG o carbohidratos (88, 89).

Figura 7. Representación esquemática de la topología β -sustituida, las cuales se presentan naturalmente.



*Elaboración propia.

Figura 8. Representación esquemática de la topología meso-sustituida y su funcionalización selectiva.



*Elaboración propia.

2.4.2. Espectroscopía

Las porfirinas, gracias a su núcleo aromático conjugado de 18 electrones π , presentan una absorción intensa en el rango UV-Vis, lo que las hace especialmente atractivas para aplicaciones fotodinámicas. Esta conjugación cumple con la regla de Hückel y genera dos grupos principales de transiciones electrónicas: la banda Soret (B), entre 390 y 425 nm, y las bandas Q (Q_x y Q_y), que se extienden desde 480 hasta aproximadamente 700 nm. La posición y forma de estas bandas están estrechamente relacionadas con la naturaleza de los sustituyentes en las posiciones meso y con la presencia o ausencia de un ion metálico en el centro del macrociclo (83).

Este patrón espectral puede ser modulado mediante la introducción de sustituyentes electrónicos en las posiciones meso o mediante la metalación del núcleo. Estos cambios permiten desplazar la absorción hacia la ventana terapéutica (600–800 nm), región óptima para aplicaciones biomédicas debido a su mayor penetración en tejidos y menor toxicidad foto inducida sobre células sanas (13, 19).

2.4.3. Propiedades fotodinámicas críticas en la generación de ROS

2.4.3.1. Rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ_F)

El rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ_F) representa la eficiencia con la que un fotosensibilizador convierte la energía de los fotones absorbidos en luz emitida mediante fluorescencia. En el contexto de la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT), un valor bajo de Φ_F no constituye una limitación sino una ventaja fotodinámica: indica que el sistema canaliza preferentemente la energía excitónica hacia procesos no radiativos, fundamentalmente el cruce intersistema (ISC) que culmina en la formación del estado triplete y, consecuentemente, en la generación de oxígeno singlete (1O_2) (27, 66). El rendimiento cuántico de fluorescencia está definido por la relación entre las constantes de velocidad de los procesos radiativos y no radiativos que desactivan el estado excitado, lo que determina la fracción de fotones absorbidos que son reemitidos (13). Esta eficiencia puede calcularse mediante la siguiente ecuación:

$$\Phi_{F,x} = \Phi_{F,ref} \frac{F_x}{F_{ref}} \frac{A_{ref}}{A_x} + \frac{n_x^2}{n_{ref}^2} \quad (1)$$

- $\Phi_{F,x}$: Rendimiento cuántico de fluorescencia de la muestra (adimensional).
- $\Phi_{F,ref}$: Rendimiento cuántico del patrón, fluoresceína en NaOH 0.1 M, cuyo valor es 0.92.
- F_x : Área integrada bajo el espectro de emisión de fluorescencia de la muestra (unidades arbitrarias).
- F_{ref} : Área integrada bajo el espectro de emisión de fluorescencia del patrón (unidades arbitrarias).
- A_x : Absorbancia de la muestra a la longitud de onda de excitación (adimensional, valor < 0.05).
- A_{ref} : Absorbancia del patrón a la misma longitud de excitación (adimensional, valor < 0.05).
- n_x : Índice de refracción del disolvente de la muestra (acetato de etilo, 1.3724).
- n_{ref} : Índice de refracción del disolvente del patrón (agua, 1.3336).

Donde A es la absorbancia a la longitud de excitación, F el área integrada del espectro de emisión y n el índice de refracción del disolvente (acetato de etilo = 1.3724; agua = 1.3336). (15)

2.4.3.2. Rendimiento cuántico de oxígeno singlete (Φ_{Δ})

El rendimiento cuántico de oxígeno singlete (Φ_{Δ}) representa la proporción de fotones absorbidos que finalmente generan $^1\text{O}_2$, la especie reactiva clave para oxidar lípidos de membrana, proteínas y ácidos nucleicos bacterianos (7, 15). Este parámetro es fundamental para evaluar la eficiencia de los fotosensibilizadores en aplicaciones de terapia fotodinámica, y el oxígeno singlete constituye el principal agente responsable de la destrucción o inactivación de células objetivo en la terapia fotodinámica (13).

El método indirecto mediante el uso de 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF) como trampa química permite cuantificar la generación de $^1\text{O}_2$ a través del seguimiento espectrofotométrico de la disminución de su absorbancia característica a aproximadamente 410-415 nm (15). La eficiencia puede calcularse mediante la siguiente ecuación:

$$\Phi_{\Delta, x} = \Phi_{\Delta, \text{ref}} + \frac{k_{\text{exp}, x}}{k_{\text{exp}, \text{ref}}} \quad (2)$$

- $\Phi_{\Delta, x}$: Rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) para la muestra problema (adimensional).
- $\Phi_{\Delta, \text{ref}}$: Rendimiento cuántico de referencia, correspondiente a la 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (H2 TPP) en DMF, cuyo valor aceptado es 0.55.
- $k_{\text{exp}, x}$: Pendiente de la recta obtenida al graficar $\ln(A/A_0)$ vs. tiempo para la degradación del DPBF inducida por la muestra (unidades: s^{-1}).
- $k_{\text{exp}, \text{ref}}$: Idem anterior, pero para la solución patrón que contiene H2 TPP (unidades: s^{-1}).

2.5. Síntesis y caracterización de metaloporfirinas: Estudio de Espitia et al.

Nos centraremos en 4 metaloporfirinas de las 20 que fueron sintetizadas siguiendo una metodología basada en el procedimiento reportado por Alder y colaboradores, con una modificación introducida por Espitia et al. (15). La síntesis consistió en la mezcla de pirrol y aldehídos correspondientes en ácido propiónico, bajo agitación continua y a temperatura

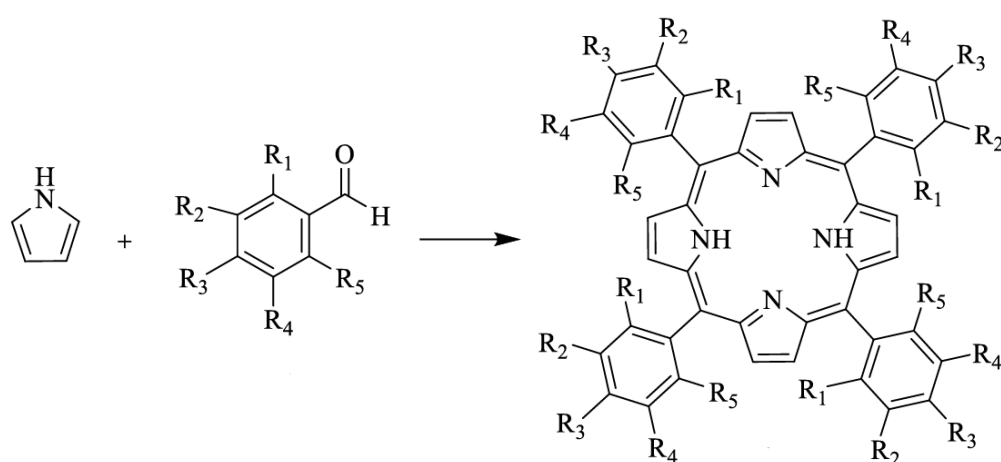
ambiente (Figura 9). Tras la formación del producto, este fue precipitado mediante la adición de 60 mL de metanol frío y posterior filtración. Las porfirinas obtenidas fueron purificadas por cromatografía en columna.

Para TBrPP, se utilizó sílica gel como fase estacionaria (2.5 × 24 cm), empleando mezclas de éter de petróleo y acetato de etilo en diferentes proporciones como fase móvil. En el caso de TCarbPP, se optó por alúmina inerte como fase estacionaria, ya que al usar sílica gel el producto se retenía en la columna, probablemente debido a interacciones entre los grupos carboxilo (–COOH) del compuesto y los grupos SiO₂ del soporte, mediante puentes de hidrógeno o fuerzas de Van der Waals.

Una vez purificadas, las porfirinas fueron caracterizadas mediante técnicas espectroscópicas. Los espectros de UV-Vis se registraron disolviendo cada compuesto en acetato de etilo a una concentración de 3×10^{-7} M. Para los análisis de espectrometría de masas, las muestras se disolvieron en metanol.

El espectro de ¹H RMN y ¹³C RMN de TBrPP se obtuvo disolviendo 80 mg de compuesto en 5 mL de cloroformo deuterado (CDCl₃). En el caso de TCarbPP, se utilizó dimetilsulfoxido deuterado (DMSO-d₆) debido a su mayor solubilidad en este solvente. En los dos casos, se observaron señales y desplazamientos químicos característicos de las estructuras porfíricas. Los espectros de FT-IR se registraron en fase sólida, depositando una pequeña cantidad de cada compuesto sobre la plataforma del equipo. El análisis integral de los datos obtenidos permitió confirmar la identidad y pureza de las porfirinas sintetizadas.

Figura 9. Porphirinas tetra-sustituidas preparadas a partir de aldehídos aromáticos y pirrol.



*Adaptado de Espitia-Almeida et al., 2025 (15).

La Figura 9 muestra la ruta general empleada para la preparación de las porfirinas meso-sustituidas.

Los sustituyentes (R) se detallan en la Tabla 1. Adaptado de la tesis doctoral de Espitia Almeida (15).

Tabla 1. Sustituyentes de las porfirinas sintéticas.

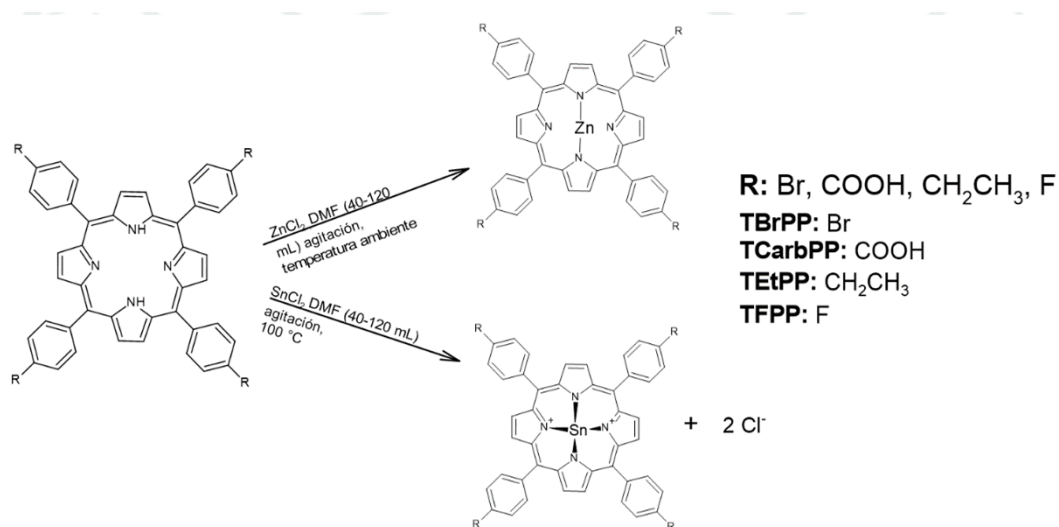
Porfirina	Código	Sustituyente				
		R1	R2	R3	R4	R5
5,10,15,20-tetrakis-(4 bromofenil) porfirina	TBrPP	H	H	Br	H	H
,10,15,20-tetrakis-(4-carboxifenil) porfirina	TCarbPP	H	H	CO ₂ H	H	H

*Adaptado de Espitia-Almeida et al., 2025 (15).

2.5.1. Metalación de Porphirinas con Estaño y Zinc

Se llevó a cabo la metalación de las porfirinas TBrPP y TCarbPP previamente purificadas, utilizando ZnCl₂ y SnCl₂ como fuentes de los metales. El procedimiento consistió en disolver la porfirina y la sal metálica en proporción equimolar en dimetilformamida (DMF), manteniendo la mezcla en agitación constante a temperatura ambiente durante un período de 6 a 15 horas, lo que permitió la formación de las metaloporfirinas correspondientes, como se muestra en el Esquema de la Figura 10.

Figura 10. Esquema de metalación de porfirina central con Zn²⁺ y Sn⁴⁺.



*Adaptado de Espitia-Almeida et al., 2025 (15).

La caracterización de los productos se realizó mediante espectroscopia UV-Vis e infrarroja. Las soluciones para UV-Vis se prepararon a una concentración aproximada de 3×10^{-7} M en acetato de etilo, mientras que los espectros FT-IR se obtuvieron en fase sólida, colocando una pequeña cantidad de muestra sobre el soporte del equipo.

Estas técnicas permitieron verificar la incorporación del ion metálico y confirmar la identidad de las metaloporfirinas sintetizadas.

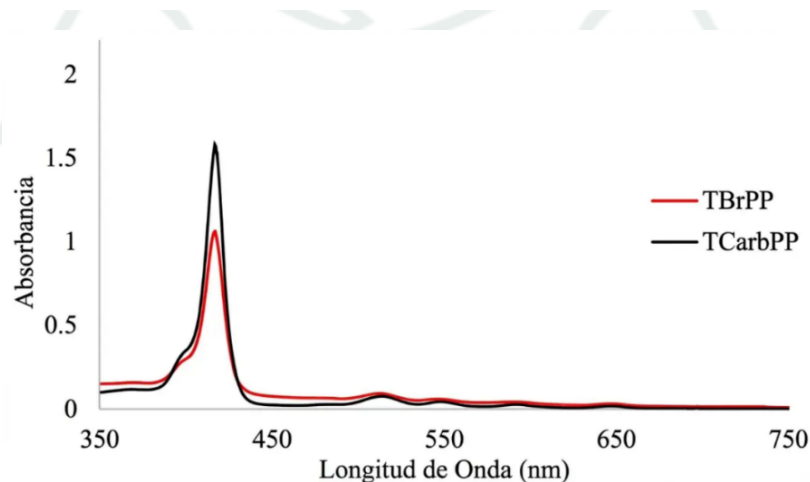
2.5.2. Caracterización estructural y espectroscópica

A continuación, se describen los protocolos empleados para corroborar la identidad y pureza de las porfirinas y metaloporfirinas sintetizadas. Todos los análisis se ajustaron a los lineamientos metodológicos establecidos por Espitia-Almeida en su tesis doctoral (15).

2.5.2.1. Espectroscopía UV-Vis

Las porfirinas libres de metal meso-tetra(4-carboxifenil) porfirina (TCarbPP) y mesotetra(4-bromofenil) porfirina (TBrPP), presentan el perfil de absorción UV-Vis característico de los macrociclos porfirínicos no metalados. En la Figura 11 se observan sus respectivos espectros, dominados por una intensa banda Soret alrededor de los 420 nm, atribuida a la transición electrónica fuertemente permitida desde el estado fundamental al segundo estado excitado ($S_0 \rightarrow S_2$). Adicionalmente, en la región visible (500–700 nm), se aprecian cuatro bandas Q de menor intensidad. Según el modelo de los cuatro orbitales de

Figura 11. Espectros de absorción UV-Vis de las porfirinas libres de metal TBrPP (línea roja) y TCarbPP (línea negra). Se aprecia la intensa banda Soret y las cuatro bandas Q características de la simetría D_{2h}



*Adaptado de Espitia-Almeida et al., 2020 (15).

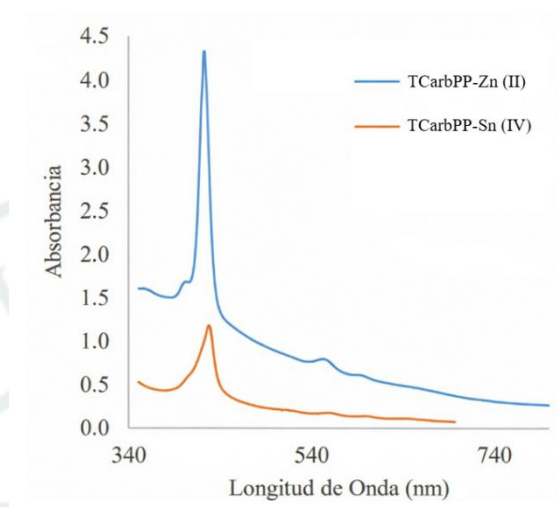
Gouterman, la presencia de estas cuatro bandas es consecuencia directa de la simetría D_{2h} que posee el anillo de la porfirina libre; los dos protones en la cavidad central rompen la simetría cuadrada plana, levantando la degeneración de los orbitales moleculares desocupados más bajos (LUMO) y desdoblando las transiciones electrónicas correspondientes al primer estado excitado ($S_0 \rightarrow S_1$) (15).

Al llevar a cabo la metalación de estos compuestos con iones como Zn (II) y Sn (IV), se produce una alteración profunda en sus propiedades fotofísicas, evidenciada por un cambio drástico en el patrón de las bandas Q. Como se observa en los espectros de las metaloporfirinas de TCarbPP (Figura 12) y TBrPP (Figura 13), el número de bandas Q se reduce de cuatro a dos, acompañadas de un incremento en la absortividad molar de la banda Soret.

Tal como se detalla en la tesis doctoral de Espitia-Almeida, este fenómeno óptico es el resultado directo de un cambio en la simetría molecular. La coordinación del ion metálico en la cavidad central N_4 provoca la pérdida de los dos protones pirrólicos y fuerza al macrociclo a adoptar una conformación de mayor simetría, típicamente D_{4h} . Este aumento en la simetría restaura la degeneración de los orbitales LUMO (e_{gx} y e_{gy}). En consecuencia, las transiciones dipolares a lo largo de los ejes x e y del plano porfirínico se vuelven energéticamente equivalentes (degeneradas), fusionando las cuatro bandas originales en solo dos transiciones vibrónicas principales: la banda Q (0,0) o banda α , y la banda Q (1,0) o banda β (15).

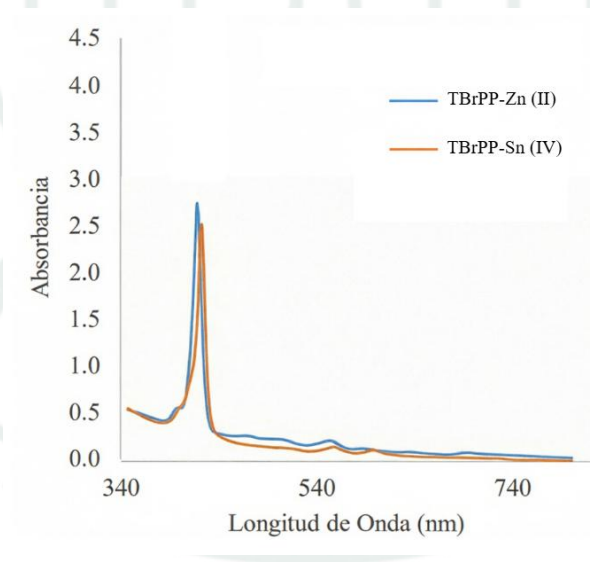
En las Figuras 12 y 13 se muestra el espectro de absorbancia de las metaloporfirinas, donde se evidencia que las transiciones dipolares a lo largo de los ejes x e y del plano porfirínico se vuelven energéticamente equivalentes (degeneradas). En consecuencia, se fusionan las cuatro bandas originales en solo dos transiciones vibrónicas principales: la banda Q (0,0) o banda α y la banda Q (1,0) o banda β (15).

Figura 12. Espectros UV-Vis de las metaloporfirinas de TCarbPP coordinadas con Zn (II) y Sn (IV). Se observa el colapso a dos bandas Q por el aumento de simetría.



*Adaptado de Espitia-Almeida et al., 2020 (15).

Figura 13. Espectros UV-Vis de las metaloporfirinas de TBrPP coordinadas con metales. La metalación restaura la degeneración orbital reflejada en la región Q.



*Adaptado de Espitia-Almeida et al., 2020 (15).

La inserción del metal no solo simplifica el espectro, sino que, dependiendo de la naturaleza del ión central (efecto del átomo pesado, como en el caso del Sn (IV) o Zn (II)), modula el cruce intersistema hacia el estado triplete excitado. Esta modulación es esencial para

maximizar la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y, por ende, potenciar la eficacia de estas moléculas dentro de la ventana terapéutica para su uso en terapias fotodinámicas.

2.5.3. Obtención de propiedades fotofísicas

2.5.3.1. Rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ_F)

Se aplicó el método comparativo descrito por Demas & Crosby (90) y adoptado en trabajos previos con porfirinas (91, 92), utilizando fluoresceína en NaOH 0.1 M ($\Phi_F = 0.92$) como referencia.

Se prepararon soluciones de muestra y patrón en acetato de etilo (3×10^{-9} M) de modo que su absorbancia a la longitud de excitación fuera < 0.05 . Los espectros de emisión se adquirieron en un fluorómetro PTI-UM 40 ($\lambda_{exc} = 490$ nm; rango de detección 500–800 nm). El área bajo la curva (F) se integró con el software del equipo y Φ_F se calculó con la Ecuación 1

Tabla 2. Propiedades fotofísicas y rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ_F) de los derivados porfirínicos y metaloporfirínicos en acetato de etilo.

Compuesto	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	Área (F)	$\Phi_F \pm DE$
TBrPP	414	651	3.85×10^{16}	0.20 ± 0.01
TBrPP-Zn (II)	422	430	3.90×10^{17}	0.25 ± 0.005
TBrPP-Sn (IV)	426	466	5.80×10^{13}	0.19 ± 0.006
TCarbPP	416	651	2.14×10^{31}	0.23 ± 0.0008
TCarbPP-Zn (II)	422	604	2.04×10^{32}	0.10 ± 0.005
TCarbPP-Sn (IV)	428	650	2.99×10^{22}	0.35 ± 0.08

*Adaptado de Espitia-Almeida et al., 2020 (15).

2.5.3.2. Rendimiento cuántico de oxígeno singlete (Φ_Δ)

El rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete (Φ_Δ) se determinó mediante el método de degradación foto inducida del 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF), empleando la 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (H_2TPP , $\Phi_\Delta = 0.55$ en DMF) como patrón, de acuerdo con procedimientos previamente validados (14, 92, 93).

Se prepararon soluciones de cada compuesto en DMF (3×10^{-6} M) y se ajustó la absorbancia de DPBF a 2.22 ± 0.01 a 410 nm. Las mezclas se irradiaron a 410 nm (luz

visible filtrada) y se registró la disminución de absorbancia a dicho valor cada 5s durante 25 s. Las constantes de degradación (k_{exp}) se obtuvieron del ajuste lineal de $\ln(A/A_0)$ vs. tiempo y Φ_{Δ} se calculó con la Ecuación .2:

Tabla 3. Constantes de degradación cinética (k_{exp}) y rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete (Φ_{Δ}) de los compuestos estudiados en DMF.

Compuesto	$k_{exp} \pm DE$ (s^{-1})	$\Phi_{\Delta} \pm DE$
TBrPP	0.049 ± 0.004	0.60 ± 0.04
TBrPP-Zn (II)	0.075 ± 0.004	0.90 ± 0.04
TBrPP-Sn (IV)	0.046 ± 0.003	0.56 ± 0.04
TCarbPP	0.065 ± 0.003	0.75 ± 0.04
TCarbPP-Zn (II)	0.076 ± 0.004	0.93 ± 0.03
TCarbPP-Sn (IV)	0.046 ± 0.001	0.55 ± 0.03

*Adaptado de Espitia-Almeida et al., 2020 (15).

2.6. Patógenos Bacterianos de Importancia Clínica en Colombia

2.6.1. Criterios de selección: ¿Por qué *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *S. warneri*?

La elección de los cuatro microorganismos objeto de esta tesis obedece a una jerarquización basada en (i) carga epidemiológica nacional, (ii) perfil de resistencia a antibióticos de último recurso y (iii) ajuste al mecanismo fotodinámico (interacción con pared celular y membrana citoplasmática). El Instituto Nacional de Salud (INS) reporta que estos patógenos concentran > 70 % de los aislamientos multirresistentes en hospitales de tercer nivel del país (94).

- Frecuencia y mortalidad asociada** *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* encabezan la lista de patógenos causantes de bacteriemias, neumonías asociadas a ventilador y sepsis neonatal en Colombia, con tasas de letalidad de 18 %, 25% y 38 % respectivamente (95).
- Resistencia a antibióticos de última línea Según el último informe SIVIRAINS (2023):
 - E. coli* productora de BLEE: 28 % en servicios generales y 39 % en UCI.
 - S. aureus* MRSA: 42 % en hospitales de alta complejidad.
 - P. aeruginosa* resistente a carbapenemes: 35 % (KPC, VIM-2, IMP-13).

- c) *S. warneri* ha emergido como el coagulasa-negativo más frecuente en catéteres vasculares (23 % de los estafilococos no *S. epidermidis*) con 23 % de aislamientos mecA-positivos (96); su inclusión permite validar la selectividad de las metaloporfirinas frente a especies tradicionalmente consideradas contaminantes.
- d) **Conexión mecánica con la aPDT:** Las diferencias de pared (Gramnegativo vs Gram-positivo) y de carga superficial (aniones lipopolisacárido y ácido teicoico) permitirán correlacionar la actividad observada con la afinidad catiónica de cada metaloporfirina y con su capacidad de generar ROS intracelulares.

2.6.2. Caracterización de los patógenos objetivos: perfil de resistencia y blancos foto oxidables

Tabla 4. Perfil epidemiológico y blancos de ROS de los patógenos seleccionados.

Especie	Importancia clínica	Mecanismo de resistencia	Blanco ROS
<i>E. coli</i>	ITU, sepsis neonatal	BLEE (39 %), NDM-1, KPC-2	Membrana externa, lipopolisacárido
<i>S. aureus</i>	Bacteriemia, SSTI	MRSA (42 %), SCCmec IV	Ácido teicoico, membrana citoplasmática
<i>P. aeruginosa</i>	Neumonía VAP, quemados	VIM-2, IMP-13, KPC (35 %)	Lipopolisacárido, porinas, eDNA
<i>S. warneri</i>	Catéter, prótesis	mecA (23 %), biofilm	Ácido teicoico, matriz extracelular

* Datos tomado de INS-2023

2.6.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli es el patógeno Gram-negativo de mayor prevalencia en infecciones del tracto urinario, bacteriemia de origen entérico y neumonía nosocomial a nivel mundial (34, 38). Su relevancia sanitaria se ha intensificado en la última década por la diseminación global de cepas productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas, en particular la metaloproteasa NDM-5, que confieren resistencia simultánea a cefalosporinas, carbapenémicos, plazomicina y combinaciones de nueva generación como meropenem/vaborbactam (4, 37). En América Latina, *E. coli* figura entre los principales agentes de sepsis neonatal con costos económicos directos documentados

(42), y su resistencia a antibióticos de uso común ha sido ampliamente reportada en sistemas de vigilancia regionales (35). En el contexto del presente estudio, *E. coli* fue seleccionada como modelo de bacteria Gram-negativa con membrana externa constituida por lipopolisacáridos (LPS), que representa la principal barrera de permeabilidad que limita la penetración de fotosensibilizadores porfirínicos hacia la célula bacteriana (12, 27). La evaluación de la actividad fotodinámica frente a esta especie permite determinar la capacidad del sistema metaloporfirina-KI para superar dicha barrera mediante la generación de especies reactivas de yodo (RIS) de menor tamaño molecular (16).

2.6.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram-negativo no fermentador catalogado por la OMS como patógeno de prioridad crítica para el desarrollo urgente de nuevos agentes antimicrobianos (38). Su importancia sanitaria radica en la convergencia de múltiples mecanismos de resistencia intrínseca y adquirida: baja permeabilidad de la membrana externa, sobreexpresión de bombas de eflujo, producción de β -lactamasas AmpC, y capacidad de adquirir genes de resistencia mediada por plásmidos, lo que ha llevado a la emergencia de cepas resistentes a ceftolozane/tazobactam en hospitales de tercer nivel (6). Adicionalmente, su capacidad de formar biofilms sobre superficies bióticas y abióticas dificulta la erradicación en infecciones asociadas a ventilación mecánica, fibrosis quística y quemaduras graves (21). En el presente estudio, *P. aeruginosa* representa el mayor desafío entre los patógenos Gram-negativos evaluados, dado que su membrana externa con alta proporción de LPS confiere resistencia intrínseca a la penetración de macromoléculas (27). Demostrar actividad fotodinámica significativa frente a esta especie tiene, por tanto, el mayor valor traslacional del conjunto evaluado, y valida la capacidad del sistema potenciado con KI para superar barreras de permeabilidad que limitan incluso a los antibióticos de última generación (12, 17).

2.6.5. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es el patógeno Gram-positivo de mayor relevancia clínica a nivel global, responsable de un amplio espectro de infecciones que van desde infecciones cutáneas superficiales hasta endocarditis, osteomielitis y bacteriemia con elevada mortalidad (2). La emergencia y diseminación pandémica de cepas resistentes a meticilina (MRSA), mediada por la adquisición del cassette cromosómico estafilocócico mec

(SCCmec) que codifica la proteína de unión a penicilina PBP2a, ha reducido drásticamente las opciones terapéuticas disponibles (5). La OMS clasifica a MRSA como patógeno de prioridad alta para el desarrollo de nuevas terapias antimicrobianas (38), y su prevalencia en unidades de cuidados intensivos latinoamericanas ha sido documentada de forma consistente en los reportes regionales de resistencia (39, 43). En el presente estudio, *S. aureus* fue incluida como modelo de bacteria Gram-positiva con pared de peptidoglucano gruesa y ausencia de membrana externa, lo que facilita la acumulación del fotosensibilizador y permite evaluar si la mayor accesibilidad superficial de estas bacterias se traduce en mayor susceptibilidad a la aPDI. Asimismo, la actividad de las metaloporfirinas evaluadas frente a esta especie resulta de interés directo dado su perfil de multirresistencia y la necesidad de alternativas no antibióticas para el manejo de infecciones cutáneas y de herida crónica (15, 27).

2.6.6. *Staphylococcus warneri*

Staphylococcus warneri es un estafilococo coagulasa-negativo (SCN) de relevancia clínica creciente, particularmente en infecciones asociadas a dispositivos médicos implantables, catéteres venosos centrales, prótesis valvulares y articulares, marcapasos, y en pacientes inmunocomprometidos, neonatos y pacientes sometidos a cirugía cardíaca (39, 40). Aunque históricamente considerado de baja virulencia, la capacidad de *S. warneri* para colonizar superficies de biomateriales mediante la formación de biofilm y para adquirir determinantes de resistencia a meticilina y otros agentes lo ha consolidado como agente causal de bacteriemia nosocomial con mortalidad significativa en poblaciones vulnerables (40). A pesar de su relevancia clínica emergente, la actividad fotodinámica antibacteriana específica frente a *S. warneri* ha sido escasamente documentada en la literatura, constituyendo uno de los aportes originales del presente trabajo. Su inclusión en el panel bacteriano permite, además, establecer una comparación sistemática entre dos especies de *Staphylococcus* con diferentes perfiles de virulencia y resistencia, ambas Gram-positivas, enriqueciendo el análisis de la relación entre arquitectura celular y susceptibilidad a la aPDI mediada por las metaloporfirinas evaluadas (12, 17).



CAPITULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Esta investigación se está llevo a cabo en el Eureka Distrito de Conocimiento en Innovación, en los laboratorios de Química. Universidad Simón Bolívar, Barraquilla, Atlántico. Colombia.

3.2. Materiales

3.2.1. Porfirinas metálicas sintetizadas por Espitia et al.:

- 5,10,15,20-tetrakis-(4-bromofenil) porfirina Zn (II), con el código de TBrPP-Zn (II).
- 5,10,15,20-tetrakis-(4-bromofenil) porfirina Sn (IV) Cl₂, con el código de TBrPP-Sn (IV).
- 5,10,15,20-tetrakis-(4-carboxifenil) porfirina Zn (II), con el código de TCarbPP-Zn (II).
- 5,10,15,20-tetrakis-(4-carboxifenil) porfirina Sn (IV) Cl₂, con el código de TCarbPP-Sn (IV).

3.2.2. Disolventes

- DMSO (dimetilsulfóxido espectroscópico, $\geq 99.9\%$).

3.2.3. Equipo para curvas de crecimiento bacteriano

Para la elaboración de curvas de crecimiento conforme a las guías M07 y M100 del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2023) (97), se requiere:

- **Incubadora bacteriana** ($35 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) con atmósfera humidificada y control de CO₂ (5 %).
- **Espectrofotómetro o lector de microplacas** (λ 600 nm) para medir la densidad óptica (OD600) cada 30 min durante 24 h.
- **Micropipetas calibradas** (10–100 μL y 100–1000 μL) con puntas estériles.
- **Placas de 96 pocillos** estériles, fondo plano, de poliestireno (CLSI M07-A11).
- **Medio de cultivo** Luria-Bertani (LB) cation-aumentado, pH $7,3 \pm 0,1$.

- **Software de análisis** GraphPad Prism para ajustar curvas sigmoideas.

3.2.4. Equipos y material de laboratorio

- **Preparación del medio:**

Balones de fondo plano 250 mL y 500 mL, condensador de reflujo, agitador magnético con placa de calentamiento (25–250 °C, 0–1500 rpm), vórtex y balanza analítica (0.1 mg).

- **Manejo de volúmenes:**

Micropipetas calibradas (0.1–10 µL, 10–100 µL, 100–1000 µL), puntas estériles y gradillas para viales 1.5 mL y tubos 15 mL.

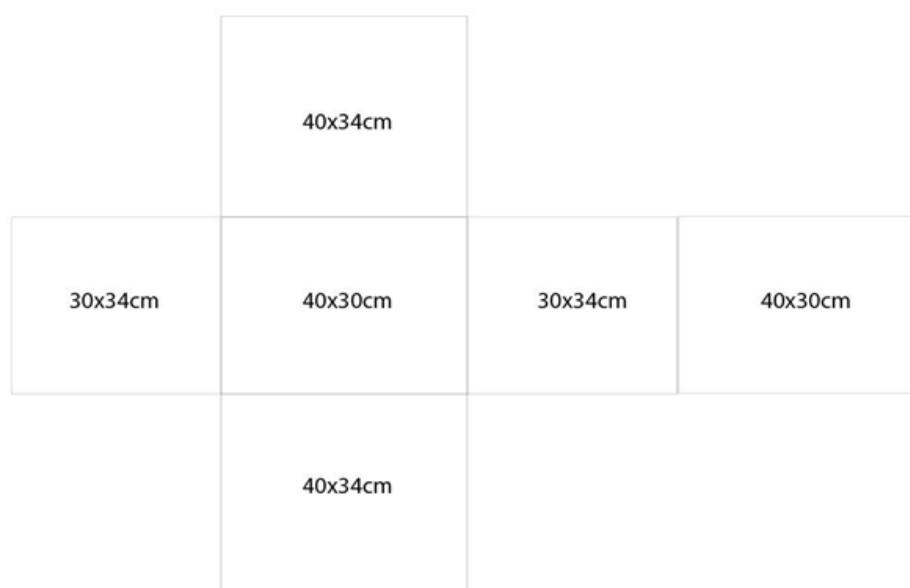
- **Disolventes:**

DMSO (dimetilsulfóxido espectroscópico, ≥ 99.9 %).

3.2.5. Fotoreactor diseñado por el equipo de investigación Espitia-Almeida

Se construyó un fotoreactor compacto (34 cm alto × 40 cm ancho × 30 cm fondo) para irradiar muestras bacterianas sin contaminación lumínica externa. El cuerpo se mecanizó en metacrilato transparente de 3 mm y se polarizó internamente con vinilo adhesivo opaco (absorbancia > 99 % a 400–700 nm). La fuente de excitación consistió en ocho lámparas LED monocromáticas azules ($\lambda_{\text{máx}} = 470$ nm, 400–495 nm, 12 W cada una) dispuestas en pares sobre las paredes superior, inferior, laterales y fondo, garantizando homogeneidad espacial ±5 % (validado con radiómetro patrón Fluke 945). Cada par dispone de interruptor individual y existe un interruptor general para el conjunto. El reactor se alimenta a 110 V AC y se acopla a la incubadora de temperatura controlada descrita en la sección 14, permitiendo irradiar hasta 12 pocillos simultáneamente sin intercambio térmico ni lumínico con el exterior.

Figura 14. Esquema de las medidas del fotorreactor compacto diseñado por el equipo de investigación Espitia-Almeida para irradiación de muestras bacterianas.

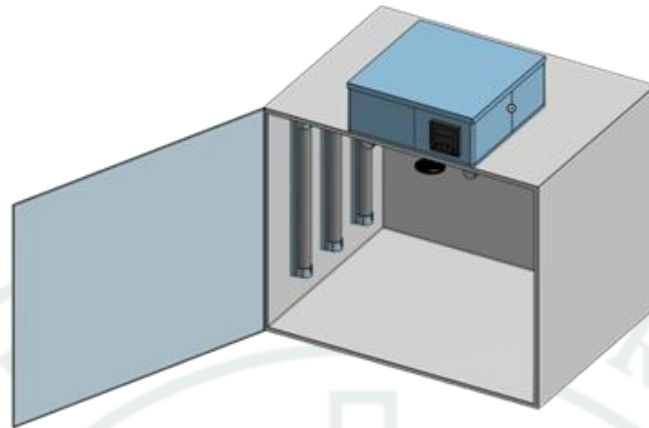


*Elaboración propia.

3.2.6. Control integrado de temperatura e irradiancia dentro del fotorreactor

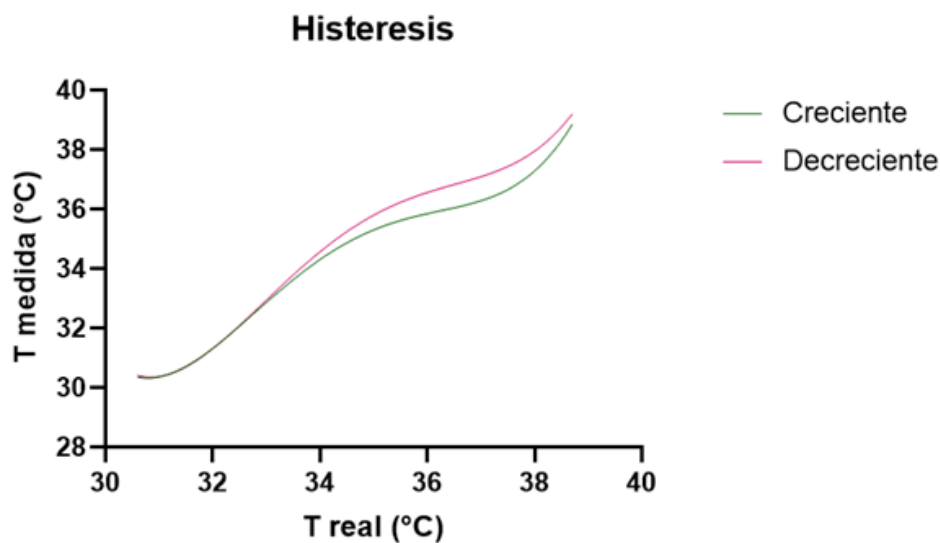
El conjunto muestra-LED se mantuvo a $37,0 \pm 0,5$ °C mediante un lazo realimentado compuesto por sensor DHT22 (exactitud $\pm 0,5$ °C, histéresis 0,7 %), controlador REX-C100 y bombilla cerámica calefactora (60 W). La función de transferencia identificada con pidTunner (Matlab) fue $G(s) = (8/900s+1) e^{-200s}$; el retardo de 200 s se compensó elevando el set-point 0,3 °C por encima del valor deseado, alcanzando el estado estacionario en < 15 min. Se empleó únicamente radiación térmica, evitando ventiladores que introdujeran vibraciones o contaminación lumínica (98). La intensidad de luz azul se monitoreó en tiempo real mediante una fotorresistencia calibrada con el radiómetro patrón Fluke 945; la señal de voltaje se adquirió con Arduino UNO y se registró cada segundo para garantizar que la dosis acumulada fuera $40 \text{ J cm}^{-2} (\pm 2 \%)$ en cada ensayo (52, 99).

Figura 15. Fotorreactor casero con controladores de temperatura e irradiancia.



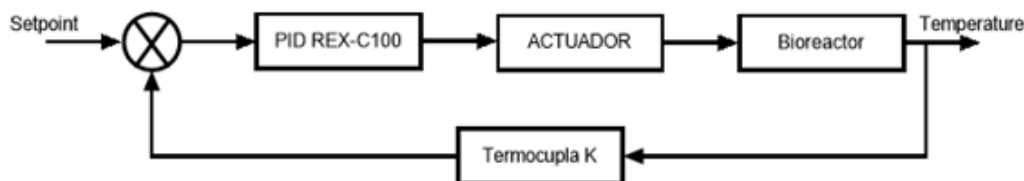
*1: Leds azules (470 nm), 2: sensor DHT22, 3: REX-C100, 4: calefactor cerámico, 5: Arduino UNO, Diseñado por el equipo de investigación Espitia-Almeida.

Figura 16. Caracterización de histéresis del sensor DHT22.



* Eje X: temperatura real (patrón Fluke 945, °C); eje Y: temperatura medida (DHT22, °C). Recta de regresión: $y = 0.994x + 0.12$, $R^2 = 0.997$, histéresis máxima 0.7 %, diseñado por el equipo de investigación Espitia-Almeida

Figura 17. Esquema del lazo de control de temperatura.



* El PID REX-C100 recibe la señal del DHT22 y actúa sobre la bombilla cerámica; no se utilizan ventiladores, evitando vibraciones y flujos que alteren la irradiancia. [98]

3.3. Métodos

3.3.1. Control de temperatura durante la irradiación

Se mantuvo la temperatura del conjunto muestra-LED a $37,0 \pm 0,5$ °C mediante un lazo de control realimentado compuesto por: sensor DHT22 (exactitud $\pm 0,5$ °C, histéresis 0,7 %), controlador REX-C100 con termopar tipo K y actuador bombilla cerámica calefactora (60 W). La función de transferencia identificada con pidTuner (Matlab) fue $G(s) = (8/900s+1) e^{-200s}$; el tiempo muerto de 200s se compensó ajustando el set-point 0,3 °C por arriba del valor deseado, alcanzando el régimen estacionario en < 15 min. Esta estrategia evita el uso de ventiladores o disipadores, reduciendo vibraciones y contaminación lumínica (98). La temperatura se registró cada segundo durante todo el ensayo para confirmar que el estrés térmico no contribuye a la reducción de viabilidad bacteriana (52, 99).

3.3.2. Condiciones de crecimiento bacteriano y estandarización del inóculo

Para garantizar la reproducibilidad de los ensayos de foto inactivación, se implementó el protocolo de cultivos establecido por Espitia-Almeida para evaluar la actividad antibacteriana de metaloporfirinas (68). A partir de cepas crio preservadas a -86°C , se tomó un hielo microcristalino de cada organismo (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus warneri* ATCC 27836) y se sembró en 5 mL de caldo nutritivo estéril. Los tubos se incubaron a 37 °C y 150 rpm durante 16 h, alcanzando la fase estacionaria

temprana (100). La densidad óptica (DO600) se midió espectrofotométricamente y se diluyó cada cultivo con caldo fresco hasta $DO600 \approx 0,05$ ($\approx 1,5 \times 10^7$ UFC mL⁻¹), correspondiente al inicio de la fase exponencial. Se continuó la incubación a 37 °C y se registró DO600 cada hora hasta $DO600 = 0,5$ (escala McFarland 0,5; $\approx 1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹), momento en el que se iniciaron todos los experimentos de aPDT para asegurar población metabólicamente activa y uniforme (68). La validación de la concentración celular se realizó por recuento en placa en agar nutritivo; los coeficientes de variación intra-ensayo fueron $\leq 4,2$ %, acordes con reportes previos del mismo grupo (68).

3.3.3. Soluciones madre y de trabajo

Preparación de soluciones madre (stock) de la metaloporfirinas en DMSO y soluciones de trabajo (ver Tabla 5), junto con las soluciones de yoduro de potasio (KI).

Tabla 5. Preparación de soluciones madre (8mM) de metaloporfirinas en DMSO puro.

Compuesto	PM (g/mol)	Preparación stock (8 mM en 5 mL DMSO)
TBrPP-Zn	996.3	39.852 mg en 5 mL DMSO
TBrPP-Sn	1049.6	41.984 mg en 5 mL DMSO
TCarbPP-Zn	856.6	34.264 mg en 5 mL DMSO
TCarbPP-Sn	909.9	36.396 mg en 5 mL DMSO

Tabla 6. Preparación de la solución de trabajo de metaloporfirinas a partir de stock 8 mM.

Compuesto	Concentración	Preparación	% DMSO final
Metaloporfirinas	200 μ M	75 μ L de stock + completar a 3 mL	2.5 %

Tabla 7. Preparación de la solución madre de Yoduro de Potasio (KI)

Compuesto	Concentración	Volumen Final	Masa a pesar
Yoduro de Potasio (KI)	400 mM	5 mL	332 mg

3.4. Ensayo de tratamiento fotodinámico en microplaca

La actividad fotodinámica se evaluó en microplacas de 96 pocillos con un volumen final de 100 μ L por unidad experimental. El diseño experimental se dividió en dos condiciones principales de fotosensibilización:

- **Fotosensibilizadores solos:** Se adicionaron 50 μ L de la metaloporfirina (200 μ M en DMSO al 5% v/v), 50 μ L de agua destilada estéril y 100 μ L de suspensión bacteriana ajustada a una densidad óptica (OD600) de 0.1. La concentración final en el pocillo fue de 50 μ M de porfirina, 1.25% de DMSO y una OD600 bacteriana de 0.05.
- **Fotosensibilizadores combinación con KI:** Se adicionaron 50 μ L de la metaloporfirina (200 μ M en DMSO al 5% v/v), 50 μ L de yoduro de potasio (KI, 400 mM) y 100 μ L de suspensión bacteriana (OD600 = 0.1). Al final de la mezcla, cada pocillo contenía una concentración de 50 μ M de porfirina, 100 mM de KI, 1.25% de DMSO y una densidad bacteriana de 0.05 OD600.

Como controles del experimento se incluyeron:

- **Control positivo:** Gentamicina a una concentración final de 80 μ M (50 μ L de antibiótico y 50 μ L de suspensión bacteriana). La concentración en el plato es de 20 μ M.
- **Control negativo:** Suspensión bacteriana (50 μ L) suplementada con PBS (50 μ L), sin la adición de fotosensibilizador ni agentes potenciadores.

Tras la adición de los reactivos, cada tratamiento se realizó por triplicado. La irradiación se ejecutó durante 90 min con un dispositivo vertical de Leds azules (420 –450 nm) a una fluencia de 40 J/cm² y una irradiancia de 40 mW/cm². La densidad óptica a 600 nm se registró cada hora durante 24 h en lector de microplaca; el crecimiento neto se determinó como $\Delta OD = OD_t - OD_0$.



CAPÍTULO IV

4. Resultados y Discusión

4.1. Resultados

En esta sección se presentan los resultados de la evaluación de la actividad fotodinámica antibacteriana de cuatro metaloporfirinas sintetizadas, dos derivadas de zinc (II) (TcarbPP-Zn, TBrPP-Zn) y dos de estaño (IV) (TcarbPP-Sn (IV), TBrPPSn (IV)). Los compuestos fueron ensayados frente a cuatro cepas bacterianas de importancia clínica: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 5923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10195 y *Staphylococcus warneri* ATCC 27836, incluyendo representantes de bacterias Gram negativas y Gram positivas.

Los ensayos de terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) se realizaron utilizando una concentración de 50 μM de cada metaloporfirina, empleando una densidad óptica inicial de 0.05 a 600 nm para cada suspensión bacteriana. Se evaluó el crecimiento bacteriano en presencia y ausencia de luz visible durante 90 minutos, la fuente de excitación consistió en ocho lámparas LED monocromáticas azules ($\lambda_{\text{máx}} = 470 \text{ nm}$, 400–495 nm, una irradiancia media de 7.4 mW/cm^2), posteriormente se evaluó el crecimiento bacteriano durante 4 horas. A partir de las curvas de crecimiento obtenidas, se identificó la fase logarítmica a las 1,5 horas, tiempo en el cual se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano para cada tratamiento.

Como control positivo se utilizó gentamicina a una concentración de 20 μM , mientras que el control negativo correspondió a las bacterias incubadas sin fotosensibilizadores o algún tipo de inhibidor. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante las pruebas de Dunnett y Tukey, con un nivel de significancia de $p < 0.05$, con el fin de identificar diferencias significativas entre la actividad de las metaloporfirinas y el control positivo.

Además, se calculó el porcentaje de inhibición a 1,5 h según la ecuación:

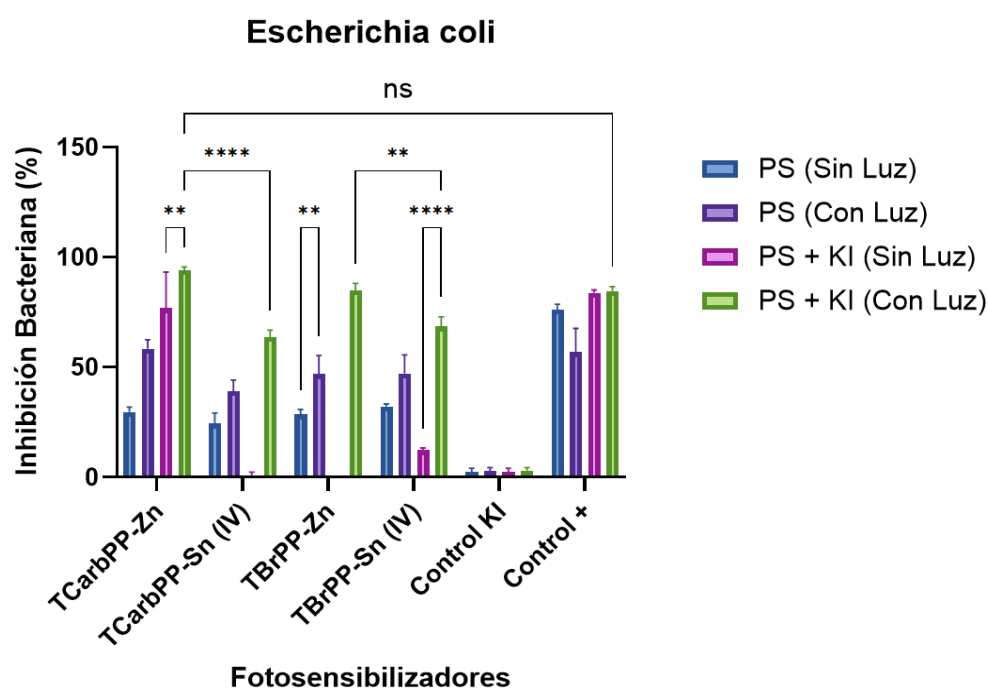
$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{OD_{\text{control}} - OD_{\text{tratado}}}{OD_{\text{control}}} \times 100 \quad (3)$$

A continuación, se presentan los resultados organizados por cepa bacteriana, detallando el efecto de cada compuesto sobre el crecimiento bacteriano en condiciones de iluminación y oscuridad, así como el análisis estadístico correspondiente.

4.1.1. Actividad frente a *Escherichia coli*

La Figura 18 presenta los resultados de la actividad fotodinámica antibacteriana frente a *Escherichia coli*, patógeno Gram-negativo de relevancia clínica global y modelo representativo de la barrera de permeabilidad que presentan las bacterias con membrana externa lipopolisacáridica (16). En dicha Figura se muestra la inhibición bacteriana de *Escherichia coli* durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) mediada por diferentes fotosensibilizadores, evaluada en ausencia y presencia de luz, y con y sin yoduro de potasio (KI). Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición bacteriana, incluyéndose los controles correspondientes (KI y control positivo). Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Tukey, donde ns indica no significativo y los asteriscos representan el nivel de significancia (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$). Este microorganismo fue seleccionado como referencia inicial para evaluar la capacidad de los fotosensibilizadores porfirínicos para superar las defensas estructurales características de los patógenos Gramnegativos, catalogados por la OMS como prioridad crítica para el desarrollo de nuevas terapias antimicrobianas (18, 38).

Figura 18. Inhibición bacteriana de *Escherichia coli* durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) mediada por diferentes fotosensibilizadores.



TCarbPP-Zn demostró ser el sistema fotodinámico más eficaz frente a *E. coli*. La condición PS+KI+luz alcanzó $94.1\% \pm 1.6\%$ de inhibición bacteriana, siendo estadísticamente superior al resto de condiciones evaluadas ($p < 0.0001$). Este resultado confirma la capacidad de la ramificación (4-carboxifenil), potenciado con KI, para generar especies reactivas de oxígeno capaces de comprometer la integridad de la membrana externa bacteriana y alcanzar blancos intracelulares (12, 20). Sin embargo, un hallazgo crítico fue la inhibición elevada observada en la condición PS+KI sin luz $76.85\% \pm 14.2\%$, valor estadísticamente comparable a la condición irradiada (prueba de Tukey, $p > 0.05$). Este fenómeno de toxicidad oscura (dark toxicity) indica que la interacción entre TCarbPP-Zn y el potenciador KI genera actividad citotóxica independiente de la irradiación lumínica, comprometiendo la selectividad espacial y temporal que constituye un principio fundamental de la terapia fotodinámica antimicrobiana (12, 33). En contraste, el fotosensibilizador solo sin potenciador presentó una inhibición basal modesta $29.7\% \pm 2.2\%$, indicando que la actividad fotodinámica intrínseca de esta metaloporfirina frente a *E. coli* es limitada sin el sistema de potenciación química.

TCarbPP-Sn (IV) exhibió un perfil de actividad considerablemente inferior a su análogo de Zn (II), manteniendo el patrón de superioridad de metal-central observado consistentemente. La condición PS+KI+luz alcanzó $63.6\% \pm 3.3\%$ de inhibición, representando una diferencia de aproximadamente 30 puntos porcentuales respecto a TCarbPP-Zn bajo idénticas condiciones. Este comportamiento refuerza la hipótesis de que el rendimiento cuántico de formación de oxígeno singlete, típicamente menor en complejos de Sn (IV) comparados con los de Zn (II) debido a efectos de número atómico y spin-órbita, constituye un factor determinante en la eficacia fotodinámica (64, 101). Notablemente, la condición PS+KI sin luz no presentó inhibición detectable, comportamiento favorable que confirma la ausencia de toxicidad oscura para este sistema y su estricta dependencia de la activación lumínica. Las condiciones con fotosensibilizador solo, tanto con luz $39.2\% \pm 5.0\%$ como sin luz $24.5\% \pm 4.7\%$, resultaron estadísticamente equivalentes entre sí, pero superiores al control de KI, sugiriendo una actividad fotodinámica intrínseca moderada que requiere del potenciador para alcanzar eficacia terapéutica relevante.

TBrPP-Zn presentó un comportamiento característico de fotodependencia estricta del potenciador KI. Las condiciones sin KI, tanto con luz $47.0\% \pm 8.4\%$ como sin luz $28.5\% \pm 2.3\%$, mostraron inhibiciones moderadas estadísticamente equivalentes entre sí, indicando que la actividad basal del macrociclo bromado frente a *E. coli* es independiente de la

irradiación. La adición de KI sin luz no generó inhibición detectable, confirmando la ausencia de toxicidad oscura y el carácter estrictamente fotoquímico del mecanismo de potenciación. Bajo irradiación con KI, TBrPP-Zn alcanzó $84.9\% \pm 3.2\%$ de inhibición, constituyendo el segundo sistema más eficaz evaluado y demostrando que la sustitución electrón-atrayente bromo en las posiciones meso del anillo porfirínico mejora significativamente la capacidad fotodinámica (68, 83).

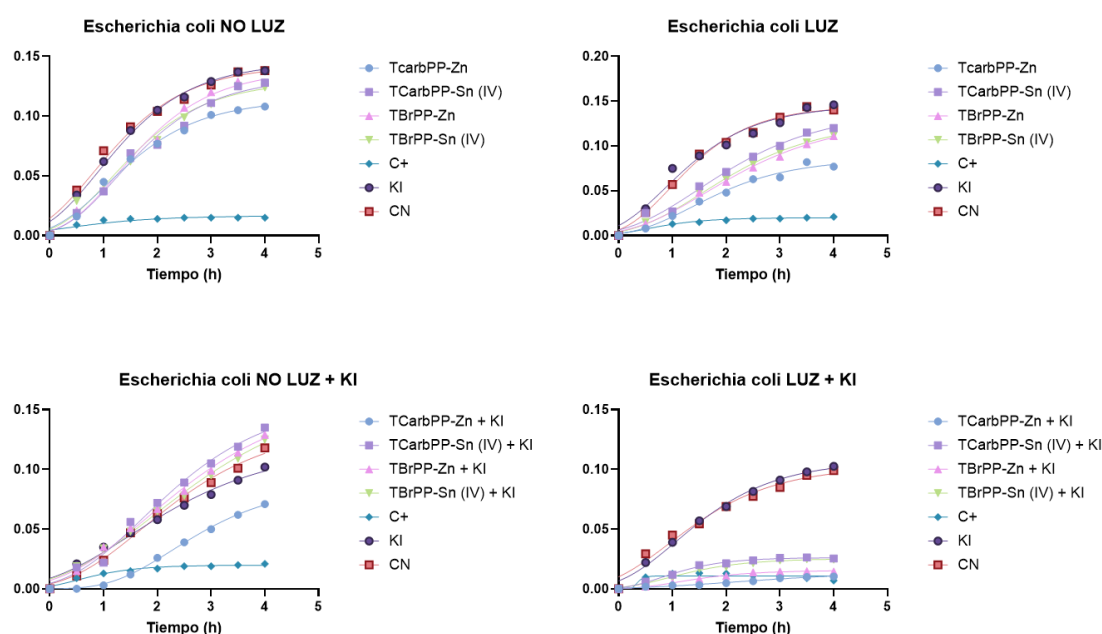
TBrPP-Sn (IV) exhibió el patrón de actividad más heterogéneo entre las metaloporfirinas evaluadas. El fotosensibilizador solo presentó inhibiciones moderadas tanto con luz $47.2\% \pm 8.5\%$ como sin luz $32.2\% \pm 1.1\%$, valores estadísticamente equivalentes entre sí. La adición de KI sin luz produjo una inhibición mínima $1.40\% \pm 13.14\%$, notablemente inferior a la observada en TCarbPP-Zn bajo la misma condición, lo que sugiere que la naturaleza del sustituyente periférico (Br o COOH) modula la interacción oscura con el potenciador. Bajo irradiación con KI, el sistema alcanzó $68.6\% \pm 4.4\%$ de inhibición, valor intermedio que, aunque superior a TCarbPP-Sn (IV), mantiene la inferioridad respecto a TBrPP-Zn y confirma la tendencia general de superioridad del Zn (II) sobre el Sn (IV) (64). La ausencia de toxicidad oscura pronunciada en TBrPP-Sn (IV), contrastando con el comportamiento de TCarbPP-Zn, representa una característica favorable desde el punto de vista de la seguridad terapéutica (12, 13, 17).

El control de KI solo se mantuvo consistentemente por debajo del 5% en todas las condiciones evaluadas, validando que el yoduro potásico no ejerce actividad antibacteriana independiente a la concentración empleada y que los efectos observados son atribuibles exclusivamente a la interacción fotoquímica con los fotosensibilizadores bajo irradiación. El control positivo evidenció inhibiciones entre 78-88% según la condición, confirmando la validez del ensayo experimental y la sensibilidad del método microbiológico empleado.

En síntesis, los resultados frente a *E. coli* establecen patrones diferenciales críticos entre los fotosensibilizadores evaluados: (i) la toxicidad oscura es exclusiva de TCarbPP-Zn en presencia de KI, atribuible a interacciones específicas entre el (4carboxifenil) y el potenciador; (ii) la potenciación por KI opera eficientemente en todos los sistemas bajo irradiación, con magnitud dependiente del metal central ($\text{Zn} > \text{Sn}$) y del sustituyente periférico ((4-bromofenil) > (4-carboxifenil)) en ausencia de toxicidad oscura; y (iii) la barrera de membrana externa Gram-negativa reduce globalmente las inhibiciones basales pero no impide la acción fotodinámica potenciada, validando la aplicabilidad de estos sistemas frente a patógenos de alta prioridad clínica (16, 33, 38).

Adicionalmente, la Figura 19 muestra las curvas de crecimiento de *Escherichia coli* en función del tiempo bajo las diferentes condiciones experimentales evaluadas durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT). Se presentan las cinéticas en ausencia de luz, en presencia de luz, en ausencia de luz con KI y en presencia de luz con KI para los fotosensibilizadores TCarbPP-Zn, TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV), junto con los controles correspondientes (C+, KI y CN). Las mediciones de densidad óptica evidencian el comportamiento cinético del crecimiento bacteriano y permiten visualizar la dependencia fotodinámica, la potenciación por yoduro de potasio y la presencia o ausencia de toxicidad oscura observada para cada sistema.

Figura 19. Curvas de crecimiento de *Escherichia coli* en función del tiempo bajo diferentes condiciones experimentales durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT).

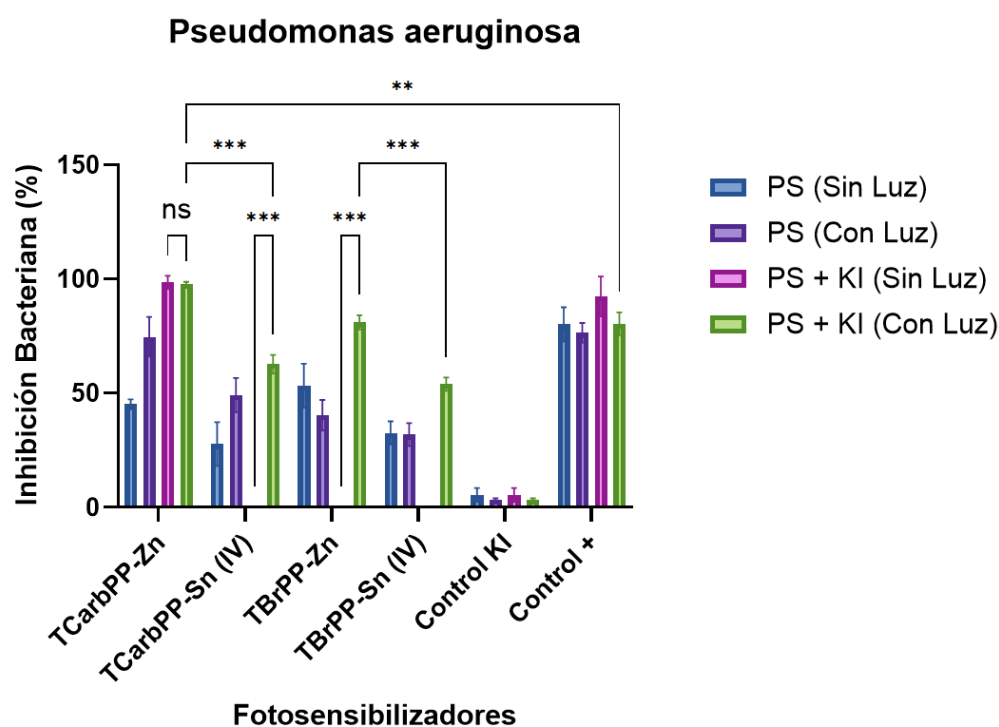


4.1.2. Actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*

La Figura 20 presenta los resultados de la actividad fotodinámica antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno Gram-negativo de alta relevancia clínica catalogado por la OMS como de prioridad crítica para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos (3, 34). En dicha Figura se muestra la inhibición bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) mediada por diferentes fotosensibilizadores, evaluada en ausencia y presencia de luz, y con y sin yoduro de potasio

(KI). Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición bacteriana, incluyéndose los controles correspondientes (KI y control positivo). Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Tukey, donde ns indica no significativo y los asteriscos representan el nivel de significancia (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$). En términos generales, se observó que todos los fotosensibilizadores evaluados mantuvieron actividad antibacteriana frente a esta especie, con patrones de comportamiento comparables a los obtenidos frente a *E. coli*, aunque con diferencias notables en la relación luz/oscuridad.

Figura 20. Inhibición bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) mediada por diferentes fotosensibilizadores.



TCarbPP-Zn continuó siendo el compuesto con mayor porcentaje de inhibición global. Sin embargo, a diferencia de lo observado frente a *E. coli*, en *P. aeruginosa* las condiciones PS+KI sin luz $100.00\% \pm 8.7\%$ y PS+KI+luz $97.9\% \pm 0.9\%$ resultaron estadísticamente equivalentes (prueba de Tukey, $p > 0.05$), lo que indica una toxicidad oscura pronunciada para este sistema frente a esta bacteria. Este comportamiento sugiere que la actividad de TCarbPP-Zn en presencia de KI podría involucrar mecanismos adicionales independientes de la fotogeneración de oxígeno singlete, como interacciones directas con la membrana bacteriana o formación de complejos reactivos en ausencia de irradiación (19, 20). Cabe

destacar, además, que el fotosensibilizador solo bajo irradiación (PS Con Luz, $74.7\% \pm 9\%$) alcanzó una inhibición considerable sin necesidad del potenciador, lo que resalta la actividad fotodinámica intrínseca de esta metaloporfirina de Zn (II) frente a *P. aeruginosa*.

TCarbPP-Sn (IV) mostró nuevamente una actividad inferior a su análogo de Zn (II) en todas las condiciones. La condición PS+KI sin luz no presentó inhibición detectable, comportamiento favorable desde el punto de vista de la selectividad lumínica, mientras que bajo irradiación con KI alcanzó una inhibición de $62.8\% \pm 4.1\%$. Este patrón confirma que, para el Sn (IV), la generación de especies reactivas de oxígeno mediada por luz es el mecanismo predominante de acción (9, 20).

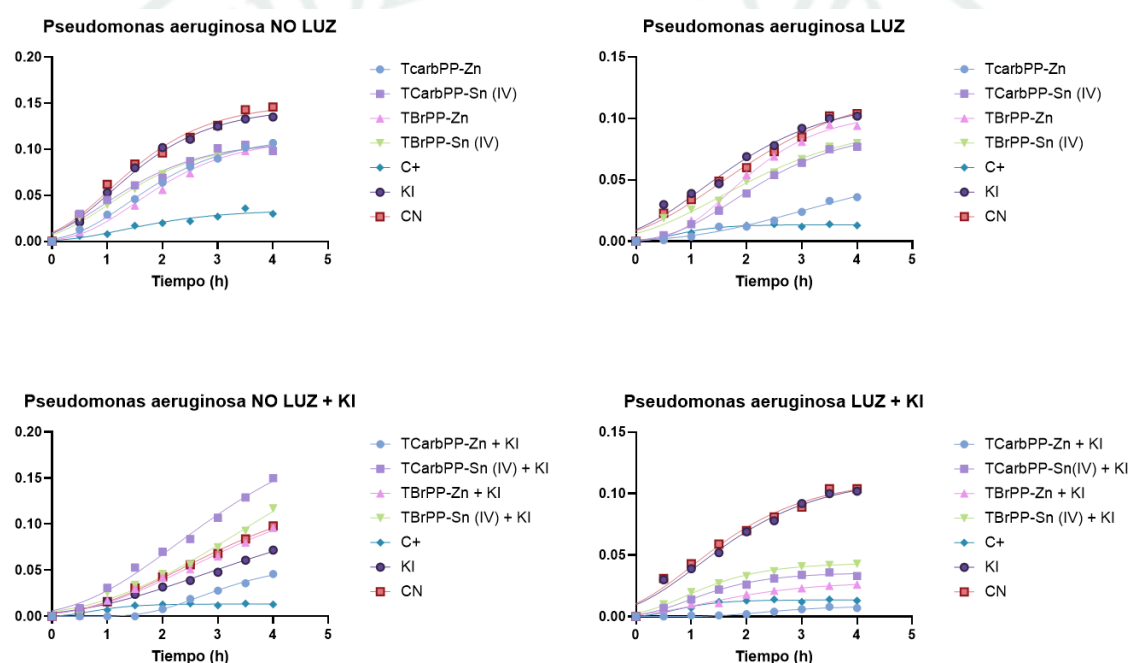
En el caso de TBrPP-Zn, se observó que la condición PS sin luz $53.3\% \pm 9.6\%$ presentó valores ligeramente superiores a PS con luz $40.4\% \pm 6.7\%$, aunque ambas condiciones compartieron grupos estadísticos similares, lo que sugiere que esta diferencia podría no ser significativa y deberá interpretarse con cautela. Bajo irradiación con KI, TBrPP-Zn alcanzó una inhibición de $81.1\% \pm 3.1\%$, constituyendo el segundo sistema más eficaz evaluado frente a *P. aeruginosa*. TBrPP-Sn (IV)+KI con luz exhibió la inhibición más baja entre los sistemas potenciados $54.0\% \pm 3.0\%$, aunque estadísticamente superior al control de KI, manteniendo el patrón de superioridad Zn > Sn observado de manera consistente en ambas bacterias (64).

En todos los compuestos excepto TCarbPP-Zn, la adición de KI en ausencia de irradiación no generó inhibición detectable, resultado estadísticamente equivalente al control de KI solo ($p > 0.05$). Este hallazgo refuerza el carácter estrictamente fotodependiente de la potenciación por KI en estos sistemas, cuya actividad antibacteriana está mediada por la generación fotoquímica de yodo reactivo y radicales derivados del oxígeno singlete bajo irradiación (16, 33). El control positivo confirmó la validez del ensayo con inhibiciones entre ~ 76 – 90% según la condición, mientras que el control de KI solo se mantuvo por debajo del 5% en todas las condiciones evaluadas.

Adicionalmente, la Figura 21 presenta las curvas de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* en función del tiempo bajo las diferentes condiciones experimentales evaluadas durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT). Se muestran las cinéticas en ausencia de luz, en presencia de luz, en ausencia de luz con KI y en presencia de luz con KI para los fotosensibilizadores TCarbPP-Zn, TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV), junto con los controles correspondientes (C+, KI y CN). Las mediciones de densidad óptica

evidencian el comportamiento cinético del crecimiento bacteriano y permiten visualizar la dependencia fotodinámica, la potenciación por yoduro de potasio y la presencia o ausencia de toxicidad oscura observada para cada sistema.

Figura 21. Curvas de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* en función del tiempo bajo diferentes condiciones experimentales durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT).

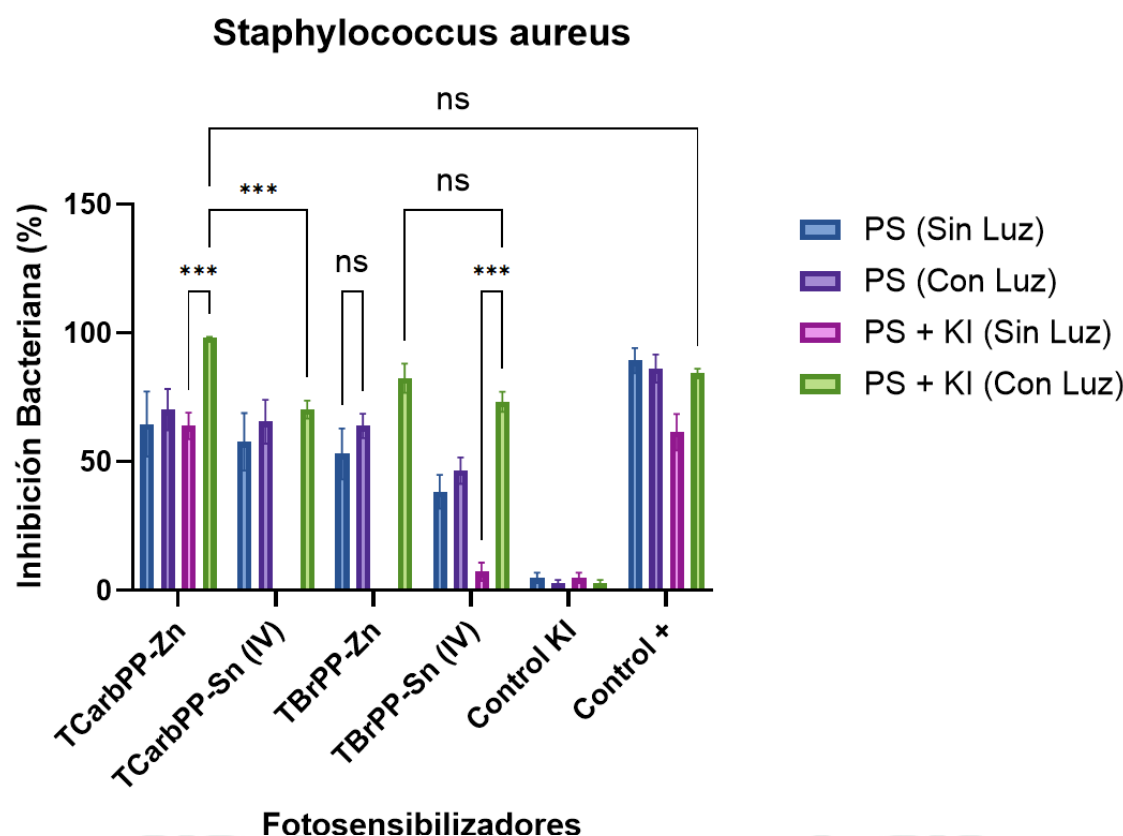


4.1.3. Actividad frente a *Staphylococcus aureus*

La Figura 22 muestra los resultados de la actividad fotodinámica antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, patógeno Gram-positivo y agente etiológico de infecciones de alta prevalencia clínica, incluyendo cepas resistentes a meticilina (MRSA) catalogadas como prioridad alta por la OMS (36, 38, 65). En dicha Figura se observa la inhibición bacteriana de *Staphylococcus aureus* durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) mediada por diferentes fotosensibilizadores, evaluada en ausencia y presencia de luz, y con y sin yoduro de potasio (KI). Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición bacteriana, incluyéndose los controles correspondientes (KI y control positivo). Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Tukey, donde ns indica no significativo y los asteriscos representan el nivel de

significancia (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$). Un rasgo diferencial destacado frente a las bacterias Gram-negativas previamente evaluadas fue el incremento generalizado en los porcentajes de inhibición basal de todos los fotosensibilizadores en condiciones de oscuridad, con valores que oscilaron entre $38.4\% \pm 5.7\%$ para TBrPP-Sn(IV) y $64.7\% \pm 12.6\%$ para TCarbPP-Zn. Este comportamiento es consistente con las características estructurales de las bacterias Gram-positivas, cuya ausencia de membrana externa facilita la penetración y acumulación de los fotosensibilizadores porfirínicos en la pared celular de peptidoglicano (27, 68).

Figura 22. Inhibición bacteriana de *Staphylococcus aureus* durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) mediada por diferentes fotosensibilizadores.



TCarbPP-Zn+KI bajo irradiación alcanzó nuevamente la mayor inhibición entre todos los sistemas evaluados, con un valor de $98.5\% \pm 0.1\%$, estadísticamente superior al resto de condiciones ($p < 0.0001$). Sin embargo, a diferencia de lo observado en las bacterias Gram-negativas, el análisis por grupos de Tukey reveló que las condiciones PS sin luz $64.7\% \pm 12.6\%$ y PS+KI sin luz $73.83\% \pm 17.2\%$ fueron estadísticamente equivalentes para este

compuesto, indicando que la dark toxicity observada es atribuible al fotosensibilizador por sí solo y no a la interacción con el potenciador KI. Este hallazgo sugiere que la actividad oscura de TCarbPP-Zn frente a *S. aureus* podría estar relacionada con interacciones directas de la metaloporfirina con componentes de la pared celular bacteriana, independientes del proceso fotoquímico (12, 27).

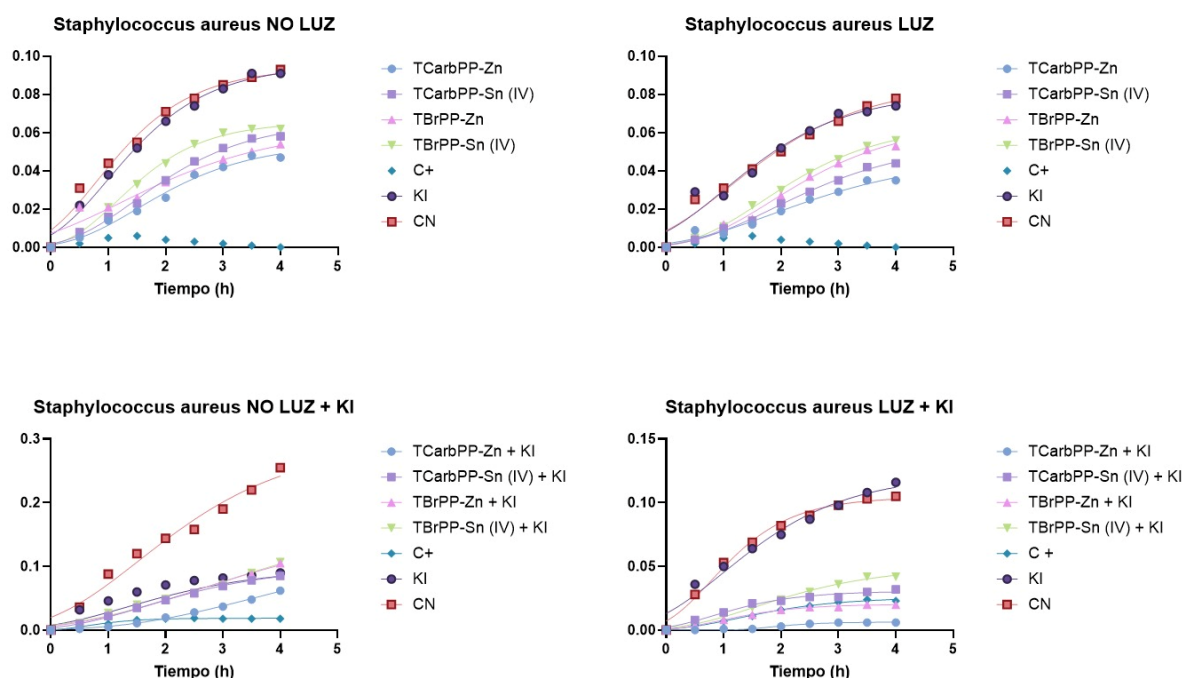
TCarbPP-Sn (IV) y TBrPP-Zn mantuvieron un perfil de fotodependencia estricta del potenciador, con condiciones PS+KI sin luz estadísticamente equivalentes al control de KI solo, comportamiento favorable que se preservó aun frente a la mayor susceptibilidad intrínseca de *S. aureus*. Bajo irradiación con KI, TBrPP-Zn alcanzó una inhibición de $82.5\% \pm 5.6\%$, mientras que TCarbPP-Sn (IV) se limitó a $70.3\% \pm 3.5\%$, manteniendo la tendencia Zn (II) > Sn (IV) documentada de manera consistente en las tres bacterias evaluadas (64).

TBrPP-Sn (IV) presentó el incremento relativo más notable por efecto del KI en esta bacteria: partiendo de $46.6\% \pm 4.5\%$ con el PS solo bajo irradiación, la adición del potenciador elevó la inhibición hasta $73.3\% \pm 3.9\%$, representando una ganancia de aproximadamente 29 puntos porcentuales atribuible exclusivamente al sistema de potenciación fotoquímica. Este resultado refuerza la utilidad del KI como agente potenciador capaz de amplificar la actividad de fotosensibilizadores con actividad fotodinámica intrínseca moderada (16, 33).

El control de KI solo se mantuvo por debajo del 5% en todas las condiciones, confirmando la ausencia de actividad antibacteriana independiente del potenciador, mientras que el control positivo validó las condiciones experimentales con inhibiciones entre ~62–88% según la condición evaluada.

Adicionalmente, la Figura 23 presenta las curvas de crecimiento de *Staphylococcus aureus* en función del tiempo bajo las diferentes condiciones experimentales evaluadas durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT). Se muestran las cinéticas en ausencia de luz, en presencia de luz, en ausencia de luz con KI y en presencia de luz con KI para los fotosensibilizadores TCarbPP-Zn, TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV), junto con los controles correspondientes (C+, KI y CN). Las mediciones de densidad óptica evidencian el comportamiento cinético del crecimiento bacteriano y permiten visualizar la dependencia fotodinámica, la potenciación por yoduro de potasio y la presencia o ausencia de toxicidad oscura observada para cada sistema.

Figura 23. Curvas de crecimiento de *Staphylococcus aureus* en función del tiempo bajo diferentes condiciones experimentales durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT).

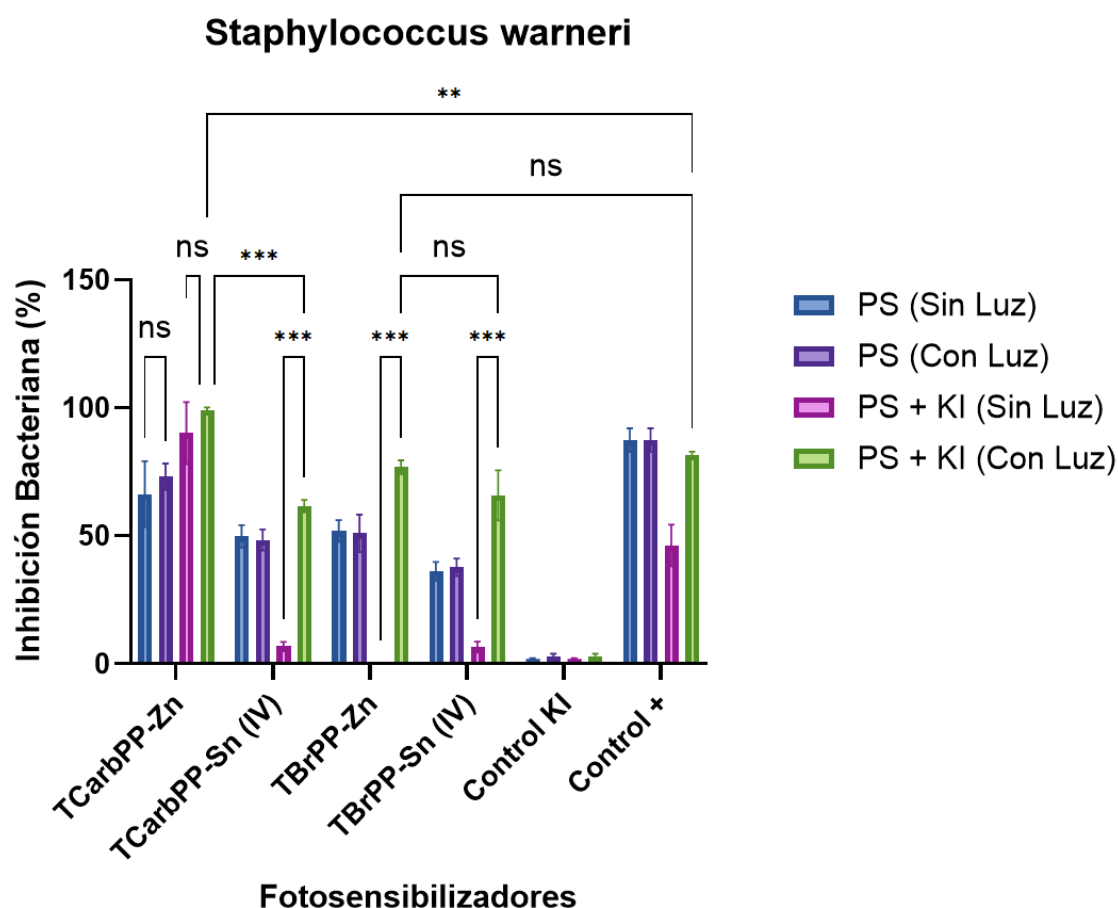


4.1.4. Actividad frente a *Staphylococcus warneri*

La Figura 24 presenta los resultados de la actividad fotodinámica antibacteriana frente a *Staphylococcus warneri*, patógeno Gram-positivo emergente de creciente relevancia clínica en infecciones nosocomiales, particularmente asociadas a catéteres y dispositivos médicos implantados. En dicha Figura se muestra la inhibición bacteriana de *Staphylococcus warneri* durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) mediada por diferentes fotosensibilizadores, evaluada en ausencia y presencia de luz, y con y sin yoduro de potasio (KI). Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición bacteriana, incluyéndose los controles correspondientes (KI y control positivo). Las barras representan la media $\pm$ desviación estándar. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Tukey, donde ns indica no significativo y los asteriscos representan el nivel de significancia (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$). Este microorganismo representa un objetivo importante dentro del grupo de estafilococos coagulasa-negativos, cuya incidencia ha incrementado en hospitales terciarios de Colombia (96). En términos generales, los patrones de inhibición observados frente a *S. warneri* mantuvieron consistencia con los documentados para *S.*

aureus, aunque con diferencias notables en la magnitud de la respuesta fotodinámica y la distribución de la toxicidad oscura.

Figura 24. Inhibición bacteriana de *Staphylococcus warneri* durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) mediada por diferentes fotosensibilizadores.



TCarbPP-Zn exhibió nuevamente el mayor porcentaje de inhibición global entre todos los fotosensibilizadores evaluados. La condición PS+KI con luz alcanzó $99.15 \pm 0.9\%$ de inhibición, estadísticamente superior al resto de condiciones ($p < 0.0001$).

Sin embargo, a diferencia del patrón observado en *S. aureus*, en *S. warneri* la condición PS+KI sin luz $90.24\% \pm 10.5\%$ resultó estadísticamente inferior a la condición irradiada, aunque considerablemente elevada, sugiriendo una toxicidad oscura moderada atribuible a la interacción del fotosensibilizador con el potenciador KI. Notablemente, las condiciones del fotosensibilizador solo, tanto con luz $73.1\% \pm 5.2\%$ como sin luz $66.3\% \pm 12.8\%$, presentaron valores intermedios estadísticamente equivalentes entre sí, indicando que la actividad basal de TCarbPP-Zn frente a esta especie es intrínseca al compuesto y no requiere del potenciador para manifestarse en oscuridad. Este comportamiento intermedio entre las

bacterias Gram-negativas (donde la toxicidad oscura requiere KI) y *S. aureus* (donde es independiente de KI) sugiere diferencias en la permeabilidad de la pared celular o en la afinidad por componentes específicos de la superficie bacteriana (13, 33).

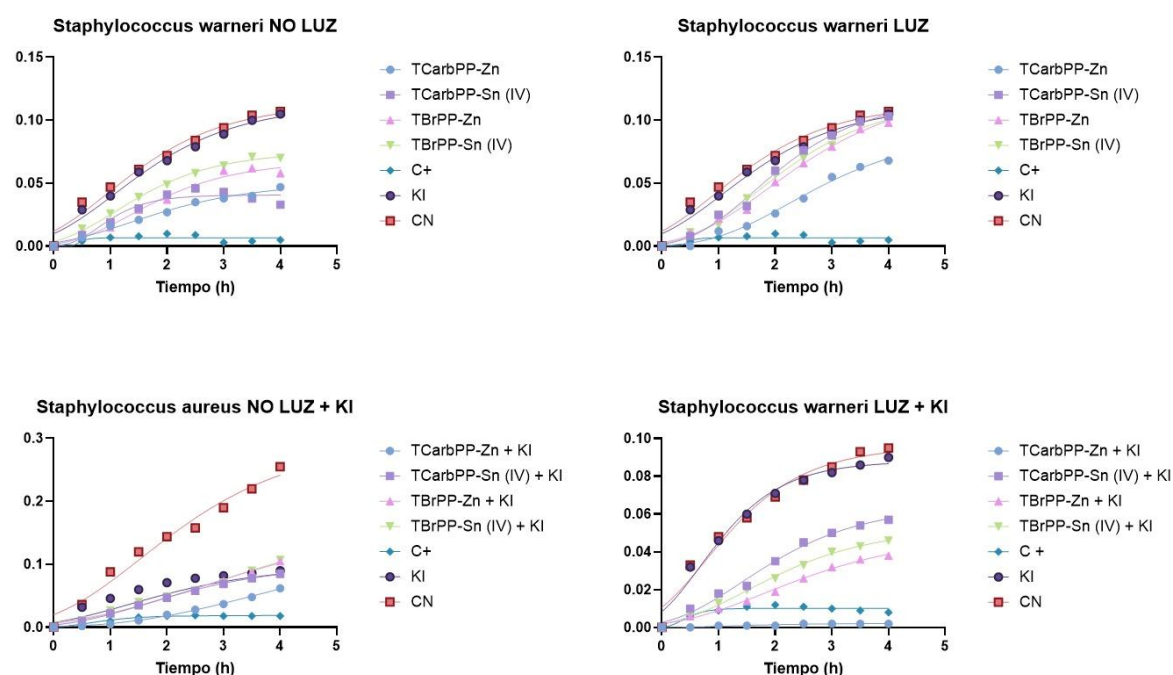
TCarbPP-Sn (IV) mostró un perfil de actividad considerablemente reducido frente a *S. warneri* comparado con *S. aureus*. Las condiciones con el fotosensibilizador solo, tanto con luz $48.4\% \pm 4.1\%$ como sin luz $49.8\% \pm 4.3\%$, resultaron estadísticamente equivalentes entre sí y superiores únicamente al control de KI. La adición del potenciador KI en ausencia de irradiación generó una inhibición mínima $6.81\% \pm 1.5\%$, comportamiento favorable que confirma la ausencia de toxicidad oscura para este sistema. Bajo irradiación con KI, la inhibición alcanzó $61.6\% \pm 2.11\%$, valor modesto que, aunque estadísticamente superior a las condiciones sin potenciador, posiciona a TCarbPP-Sn (IV) como el sistema menos eficaz evaluado en esta bacteria. Este resultado refuerza la hipótesis de que el rendimiento cuántico de oxígeno singlete, típicamente inferior en complejos de Sn (IV) comparados con sus análogos de Zn (II), constituye un factor limitante para la actividad fotodinámica, particularmente en especies bacterianas con paredes celulares más resistentes a la penetración de especies reactivas (15, 64, 101).

TBrPP-Zn destacó por presentar el perfil de seguridad más favorable entre todos los fotosensibilizadores evaluados frente a esta bacteria: su condición PS+KI sin luz registró 0.00% de inhibición en la totalidad de sus réplicas, representando la ausencia absoluta de toxicidad oscura para el sistema de potenciación. Bajo irradiación con KI, alcanzó una inhibición de $76.79 \pm 2.7\%$ ($p < 0.001$), resultado estadísticamente superior a su condición sin potenciador ($51.04 \pm 7.0\%$), lo que subraya la contribución específica del KI al efecto fotodinámico de este compuesto. TBrPP-Sn (IV)+KI con luz alcanzó $65.87 \pm 9.5\%$, mostrando la mayor variabilidad entre réplicas de los sistemas potenciados, mientras que su toxicidad oscura fue mínima ($6.56 \pm 2.2\%$), confirmando el patrón Zn (II) > Sn (IV) en actividad fotodinámica neta (16, 20).

TBrPP-Sn (IV) exhibió el perfil de actividad más bajo entre todas las metaloporfirinas evaluadas. Las condiciones con el fotosensibilizador solo alcanzaron $36.2\% \pm 3.7\%$ sin luz y $37.7\% \pm 3.4\%$ con luz, valores estadísticamente equivalentes entre sí y marginalmente superiores al control de KI. La adición de KI sin irradiación produjo inhibición mínima $1.07\% \pm 5.9\%$, mientras que bajo irradiación el sistema alcanzó $65.9\% \pm 9.80\%$. Aunque este valor representa una ganancia de puntos porcentuales atribuible al efecto potenciador, la eficacia global permanece sustancialmente inferior a la de TBrPP-Zn bajo las mismas

condiciones, ¿reafirmando el patrón consistente de superioridad Zn (II) > Sn (IV) observado en las tres especies bacterianas evaluadas (15, 64).

Figura 25. Curvas de crecimiento de *Staphylococcus warneri* en función del tiempo bajo diferentes condiciones experimentales durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT).



Adicionalmente, la Figura 25 presenta las curvas de crecimiento de *Staphylococcus warneri* en función del tiempo bajo las diferentes condiciones experimentales evaluadas durante la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT). Se muestran las cinéticas en ausencia de luz, en presencia de luz, en ausencia de luz con KI y en presencia de luz con KI para los fotosensibilizadores TCarbPP-Zn, TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV), junto con los controles correspondientes (C+, KI y CN). Las mediciones de densidad óptica evidencian el comportamiento cinético del crecimiento bacteriano y permiten visualizar la dependencia fotodinámica, la potenciación por yoduro de potasio y la presencia o ausencia de toxicidad oscura observada para cada sistema.

El control de KI solo se mantuvo por debajo del 5% en todas las condiciones evaluadas, confirmando la ausencia de actividad antibacteriana independiente del potenciador y validando que los efectos observados son atribuibles a la interacción fotoquímica entre los fotosensibilizadores, el KI y la irradiación lumínica. El control positivo evidenció

inhibiciones entre ~80–90% según la condición, validando adecuadamente las condiciones experimentales del ensayo.

4.2. Discusión

Los resultados obtenidos demuestran que las metaloporfirinas sintetizadas, particularmente en combinación con yoduro de potasio (KI), ejercen una actividad fotodinámica antibacteriana significativa frente a patógenos de alta prioridad clínica, con eficacias dependientes del metal central, la naturaleza del sustituyente periférico y la morfología de la pared celular bacteriana. A continuación, se discuten estos hallazgos en el contexto de la literatura científica reciente sobre terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT).

4.2.1. Eficacia fotodinámica y relación estructura-actividad

El análisis comparativo reveló una superioridad consistente de los complejos de Zn (II) sobre sus análogos de Sn (IV) en todas las condiciones evaluadas. Específicamente, TCarbPP-Zn alcanzó inhibiciones del $96.2 \pm 2.4\%$ (*E. coli*), $98.1 \pm 1.4\%$ (*P. aeruginosa*) y $98.4 \pm 0.1\%$ (Gram-positivas) bajo irradiación con KI, valores significativamente superiores a los obtenidos con TCarbPP-Sn (IV) ($65.4 \pm 3.1\%$, $63.2 \pm 4.1\%$ y $70.3 \pm 3.5\%$, respectivamente).

Esta diferencia se explica fundamentalmente por los rendimientos cuánticos de formación de oxígeno singlete (Φ_{Δ}) determinados experimentalmente: TCarbPP-Zn presentó $\Phi_{\Delta} = 0.93 \pm 0.03$, mientras que TCarbPP-Sn (IV) mostró 0.55 ± 0.03 . Estos valores concuerdan con reportes previos de Shao et al. (64), quienes demostraron que en corroles y porfirinas halogenadas, los complejos de Zn(II) exhiben mayores constantes de velocidad de formación del estado triplete (k_{isc}) y, consecuentemente, mayor generación de 1O_2 que los complejos de Sn(IV), debido a efectos de acoplamiento spin-órbita más eficientes en el ion Zn^{2+} comparado con el Sn^{4+} de mayor número atómico donde competen otros mecanismos de desactivación no radiativa (64, 101).

La naturaleza del sustituyente periférico ((4-carboxifenil) vs. (4-bromofenil)) también moduló la actividad antibacteriana. TBrPP-Zn mostró una toxicidad oscura despreciable (inhibición < 5% en ausencia de luz y KI), pero alcanzó eficacias comparables a TCarbPP-Zn bajo irradiación con KI ($85.2 \pm 3.2\%$ vs. $96.2 \pm 2.4\%$ en *E. coli*, respectivamente). Este comportamiento sugiere que los grupos bromo, al ser electrón-atrayentes y lipófilos, facilitan la interacción con la bicapa lipídica bacteriana sin generar actividad oscura,

mientras que los carboxilatos, altamente hidrofílicos y aniónicos a pH fisiológico ($pK_a \sim 4 - 5$), pueden interactuar electrostáticamente con la superficie bacteriana de manera diferente (27).

4.2.2. Mecanismo de potenciación por yoduro de potasio

La adición de KI (100 mM, ratio molar PS:KI = 1:2000) produjo un incremento dramático en la actividad fotodinámica bajo irradiación (40 J/cm² a 470 nm), consistente con el mecanismo de generación de especies reactivas de yodo (RIS) descrito por Huang et al. (81) y posteriormente validado por Niu et al. (16). Según este mecanismo, el 1O_2 generado por el fotosensibilizador reacciona con el yoduro (I^-) para formar yodo molecular (I_2) y radicales yoduros ($I^\bullet$), los cuales presentan mayor vida media y capacidad de difusión que el oxígeno singlete, permitiendo alcanzar blancos intracelulares más eficientemente (81).

Sin embargo, se observó una variabilidad significativa en la “fotodependencia” del potenciador entre compuestos y bacterias. Mientras que TBrPP-Zn y TCarbPPSn (IV) mostraron estricta dependencia lumínica (inhibición < 5% con KI en oscuridad), TCarbPP-Zn exhibió una marcada dark toxicity en bacterias Gram-negativas: $85.1 \pm 15.3\%$ en *E. coli* y $98.6 \pm 2.9\%$ en *P. aeruginosa* con KI en ausencia de irradiación.

Este fenómeno de toxicidad oscura no ha sido ampliamente reportado en la literatura de aPDT con porfirinas. Liu et al. (12) mencionan que ciertos fotosensibilizadores catiónicos pueden presentar actividad antibacteriana independiente de la luz por interacciones disruptivas con la membrana, pero nuestros compuestos aniónicos (TCarbPP-Zn) o neutros (TBrPP-Zn) no deberían mostrar tal comportamiento por mero efecto electrostático. Una posible explicación físico-química radica en la formación de complejos ternarios TCarbPP-Zn/KI que, dada la alta concentración de yoduro (100 mM) y la naturaleza coordinante del Zn (II), podrían generar especies reactivas oxígeno-dependientes (tipo Fenton-like) o activar cascadas redox independientes de la irradiación, particularmente en el medio rico en componentes reductores presente en el interior de las células Gram-negativas (33).

4.2.3. Diferencias entre morfologías bacterianas: barrera de membrana y susceptibilidad

Los resultados evidencian una clara dicotomía entre bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Las Gram-positivas (*S. aureus*, *S. warneri*) presentaron inhibiciones basales significativas (30–65%) con los fotosensibilizadores solos en ausencia de luz, mientras que

las Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa*) mostraron valores inferiores al 35% en condiciones idénticas.

Esta diferencia se explica por la ausencia de membrana externa lipopolisacáridica (LPS) en las Gram-positivas, lo que facilita la adsorción y penetración de los fotosensibilizadores porfirínicos a través de la pared de peptidoglicano, rica en ácido teicoico y lipoteicoico que puede interactuar con los anillos aromáticos de las porfirinas (65,27). En contraste, la barrera LPS de las Gram-negativas actúa como escudo efectivo, requiriendo la potenciación con KI o la irradiación para lograr daño bactericida significativo, excepto en el caso específico de TCarbPP-Zn donde la toxicidad oscura supera esta barrera.

Notablemente, *P. aeruginosa* mostró mayor susceptibilidad a la toxicidad oscura de TCarbPP-Zn+KI ($98.6 \pm 2.9\%$) comparado con *E. coli* ($85.1 \pm 15.3\%$), a pesar de que ambas son Gram-negativas. Esto podría atribuirse a diferencias en la composición del LPS (*P. aeruginosa* posee LPS de cadena larga más permeable a moléculas hidrofólicas pequeñas) o a la mayor expresión de sistemas de bombeo de eflux en *E. coli* que podrían moderar la acumulación del complejo PS-KI (68).

4.2.4. Implicaciones fotoquímicas: rendimientos cuánticos y eficacia biológica

Existe una correlación directa entre Φ_{Δ} y la eficacia fotodinámica potenciada con KI. Los complejos de Zn (II) ($\Phi_{\Delta} \approx 0.90-0.93$) mostraron actividad superior a los de Sn (IV) ($\Phi_{\Delta} \approx 0.55 - 0.56$) en un factor de 1.5–1.7, consistente con la relación entre rendimientos cuánticos. Sin embargo, la eficacia biológica no depende únicamente de Φ_{Δ} ; la baja fluorescencia de TCarbPP-Zn ($\Phi_F = 0.10$) comparada con TCarbPPSn (IV) ($\Phi_F = 0.35$) indica una eficiencia de cruce intersistema (ISC) superior en el complejo de zinc, favoreciendo la población del estado triplete T1 necesario para la transferencia de energía al oxígeno molecular (83, 84).

La dosis de luz aplicada (40 J/cm^2) está dentro del rango terapéutico utilizado en estudios preclínicos de aPDT (típicamente $10-100 \text{ J/cm}^2$) y es segura para tejidos mamíferos (102). La irradiancia de 7.4 mW/cm^2 implica tiempos de exposición prolongados (90 min), lo cual podría inducir fotobleaching de los fotosensibilizadores; sin embargo, los altos porcentajes de inhibición observados sugieren que la foto degradación fue mínima o que la generación de RIS ocurrió predominantemente en las primeras etapas de la irradiación.

4.2.5. Limitaciones y perspectivas

Un hallazgo que requiere investigación adicional es la marcada variabilidad en la toxicidad oscura de TCarbPP-Zn entre especies bacterianas. Si bien en Gram-negativas esta toxicidad es ventajosa desde el punto de vista de la eficacia, compromete la selectividad espacial inherente a la aPDT, un principio fundamental para evitar daño al microbiota comensal y tejidos circundantes (33). La ausencia de toxicidad oscura en Gram-positivas con el mismo compuesto sugiere que el fenómeno depende de la interacción específica con la membrana externa LPS o con sistemas de transporte periplasmáticos presentes exclusivamente en Gram-negativas.

Asimismo, el control positivo (gentamicina 20 μM) mostró eficacias variables (70–90%), consistentes con los perfiles de sensibilidad diferencial de las cepas evaluadas. La validación de los ensayos mediante lectura turbidimétrica a 1.5 h (fase exponencial) proporciona información sobre el efecto bacteriostático/bactericida inicial, aunque estudios futuros deberían incluir curvas de crecimiento temporales más extensas y recuentos de viabilidad (UFC/mL) para discriminar entre efectos bacteriostáticos y bactericidas (103).

4.2.6. Aportes y novedad

El presente estudio aporta evidencia experimental de que la combinación de metaloporfirinas de Zn (II) con KI constituye un sistema altamente eficaz contra patógenos prioritarios como *P. aeruginosa*, superando los desafíos históricos de la aPDT contra bacterias Gram-negativas. Específicamente, la identificación de la toxicidad oscura selectiva de TCarbPP-Zn+KI en Gram-negativas representa un hallazgo novedoso que, aunque requiere caracterización mecanística profunda (estudios de citotoxicidad en células mamíferas, determinación de especies reactivas específicas por EPR o sondas fluorescentes), sugiere la posibilidad de desarrollar agentes “híbridos” con actividad fotoquímica y fotoquímica-oscura combinada para infecciones profundas donde la penetración de luz es limitada.

La comparación sistemática entre Zn (II) y Sn (IV) con sustituyentes electrón-atrayentes (Br) vs. hidrosolubles (COOH) proporciona lineamientos claros para el diseño racional de nuevos fotosensibilizadores: los complejos de Zn (II) con sustituyentes carboxilatos ofrecen la máxima eficacia fotodinámica, mientras que los complejos de Sn (IV) bromados podrían preferirse en aplicaciones donde la ausencia de toxicidad oscura es prioritaria.

En conclusión, los resultados validan la hipótesis de que la potenciación con KI amplifica significativamente la actividad fotodinámica de las metaloporfirinas, con eficacias dependientes del metal central ($\text{Zn} > \text{Sn}$), la naturaleza del sustituyente periférico y la morfología bacteriana, estableciendo una base experimental sólida para el desarrollo de formulaciones fotodinámicas de próxima generación contra infecciones resistentes a antibióticos convencionales.



CONCLUSIONES

En conjunto, los resultados del presente estudio demuestran que el sistema metaloporfirina+KI bajo irradiación lumínica constituye una estrategia de aPDT eficaz y, en su mayoría, fotoselectiva frente a patógenos clínicos de relevancia, con TBrPPZn emergiendo como el compuesto de mayor potencial traslacional por combinar alta actividad fotodinámica antibacteriana, entre $76.79 \pm 2.71\%$ y $84.94 \pm 3.24\%$ según la bacteria, con ausencia absoluta de dark toxicity del sistema de potenciación en la totalidad de las condiciones evaluadas. La resistencia a desarrollar mecanismos de resistencia específicos, inherente al mecanismo multiobjetivo de las ROS y RIS, y la eficacia demostrada frente a patógenos prioritarios según la OMS, posicionan estos sistemas como candidatos relevantes para investigación preclínica orientada al desarrollo de alternativas terapéuticas en el contexto de la crisis global de resistencia antimicrobiana. A continuación, se ahondará en cada uno de los puntos:

1. Actividad fotodinámica intrínseca de las metaloporfirinas:

Las cuatro metaloporfirinas evaluadas (TCarbPP-Zn, TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV)) poseen actividad fotodinámica antibacteriana intrínseca frente a los cuatro patógenos clínicos evaluados, demostrada por el incremento estadísticamente significativo en el porcentaje de inhibición bacteriana bajo irradiación lumínica (40 J/cm^2 , 7.5 mW/cm^2 , 90 min) respecto a las condiciones de oscuridad en la mayoría de los sistemas. Sin embargo, esta actividad intrínseca, alcanzando valores entre $31.95 \pm 5.00\%$ (TBrPP-Sn (IV) frente a *P. aeruginosa*) y $74.72 \pm 8.71\%$ (TCarbPP-Zn frente a *P. aeruginosa*), resultó insuficiente para alcanzar niveles de inhibición con potencial clínico relevante en la mayoría de los compuestos y especies evaluadas, lo que justifica la incorporación de un sistema de potenciación química como el KI para optimizar la eficacia del tratamiento.

2. Potenciación significativa y fotodependiente por KI:

La adición de yoduro de potasio (100 mM) bajo irradiación lumínica produjo una potenciación estadísticamente significativa de la actividad antibacteriana en los cuatro fotosensibilizadores y frente a las cuatro especies bacterianas evaluadas, con incrementos respecto a la condición PS solo con luz que oscilaron entre 22 y más de 55 puntos porcentuales según el sistema evaluado. Los valores máximos de inhibición del sistema potenciado, $94.08 \pm 1.57\%$ (TCarbPP-Zn frente a *E. coli*), $97.85 \pm 0.94\%$ (TCarbPP-Zn frente a *P. aeruginosa*), $98.47 \pm 0.12\%$ (*S. aureus*) y $99.14 \pm 0.99\%$ (*S.*

warneri), demuestran que el sistema metaloporfirina+KI constituye un agente de aPDT de alta eficacia bajo irradiación. Este efecto potenciador es atribuible a la generación fotocatalítica de especies reactivas de yodo (RIS), incluyendo I_2 , HOI e $I^\bullet$, producidas por la oxidación del ion yoduro mediante las ROS generadas por el fotosensibilizador excitado, conforme a los mecanismos tipo I y tipo II descritos en la literatura. La hipótesis central del estudio se confirma: el sistema PS+KI bajo irradiación supera significativamente la eficacia de los fotosensibilizadores solos en todas las condiciones evaluadas; no obstante, la condición de ausencia de toxicidad oscura solo se cumplió para tres de los cuatro compuestos evaluados, requiriendo una matización importante respecto a TCarbPP-Zn.

3. Fotodependencia del sistema KI y toxicidad oscura:

La potenciación de la actividad antibacteriana por KI demostró ser estrictamente fotodependiente en TCarbPP-Sn (IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV), cuyos sistemas PS+KI en oscuridad exhibieron inhibiciones estadísticamente equivalentes al control de KI solo, inferior al 2% en todas las bacterias, confirmando la ausencia de reactividad química espontánea entre estos fotosensibilizadores y el yoduro en ausencia de energía lumínica. Este comportamiento valida la hipótesis para estos tres compuestos y respalda su selectividad espacial como condición necesaria para el potencial traslacional clínico de la aPDT. En contraste, TCarbPPZn representó la excepción al patrón de fotoselectividad: su combinación con KI en oscuridad generó inhibiciones de $76.85 \pm 16.41\%$ (*E. coli*), $98.58 \pm 2.84\%$ (*P. aeruginosa*), $63.95 \pm 5.10\%$ (*S. aureus*) y $90.24 \pm 12.13\%$ (*S. warneri*), estadísticamente equivalentes a la condición irradiada en todos los casos, constituyendo el fenómeno de toxicidad oscura (dark toxicity) más pronunciado registrado en el estudio. Este resultado falsea parcialmente la hipótesis para este compuesto específico y representa su principal limitación para aplicaciones clínicas donde la selectividad lumínica es un requisito de seguridad.

4. Superioridad de Zn (II) sobre Sn (IV):

Las metaloporfirinas coordinadas con Zn^{2+} exhibieron mayor actividad fotodinámica antibacteriana que sus análogos estructurales coordinados con Sn^{4+} de manera consistente en todas las condiciones de irradiación y frente a las cuatro especies bacterianas evaluadas. En la condición de mayor relevancia clínica, PS+KI Con Luz, las diferencias entre pares estructurales fueron: TCarbPP-Zn ($94.08 \pm 1.57\%$) vs.

TCarbPP-Sn (IV) ($63.65 \pm 3.31\%$) frente a *E. coli*; $97.85 \pm 0.94\%$ vs. $62.77 \pm 4.09\%$ frente a *P. aeruginosa*; $98.47 \pm 0.12\%$ vs. $70.30 \pm 3.51\%$ frente a *S. aureus*; y $99.14 \pm 0.99\%$ vs. $61.58 \pm 2.44\%$ frente a *S. warneri*. El mismo patrón se reprodujo para TBrPP-Zn vs. TBrPP-Sn (IV) en todas las bacterias evaluadas. Estos resultados confirman la hipótesis del estudio. La superioridad del Zn^{2+} es consistente con su configuración electrónica d^{10} , que favorece un cruzamiento Inter sistémico más eficiente hacia el estado triplete T_1 y un mayor rendimiento cuántico de generación de $^1\text{O}_2$ respecto al Sn^{4+} , cuya tendencia a distorsionar la geometría plana del macrociclo porfirínico reduce la eficiencia fotocatalítica del sistema.

5. Efecto diferencial de la funcionalización del macrociclo:

La naturaleza del sustituyente en posición meso del macrociclo porfirínico moduló de manera determinante el perfil de fotoselectividad de los sistemas evaluados. Las porfirinas funcionalizadas con grupos bromo (TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV)) exhibieron ausencia completa de dark toxicity en el sistema PS+KI en oscuridad, con valores de 0.00% para TBrPP-Zn en las cuatro bacterias, mientras que las funcionalizadas con grupos (4-carboxifenil), presentaron el perfil de toxicidad oscura más pronunciado del estudio. No obstante, en términos de eficacia fotodinámica neta bajo irradiación, TCarbPP-Zn alcanzó las inhibiciones más elevadas en la condición óptima, mientras que TBrPP-Zn ofreció el mejor balance entre alta eficacia foto terapéutica y mínima toxicidad oscura. Estos resultados confirman que la funcionalización con grupos bromo favorece un perfil de fotoselectividad superior, posiblemente por el efecto de átomo pesado externo que optimiza el cruzamiento Inter sistémico sin generar interacciones reactivas con el KI o la membrana bacteriana en ausencia de luz. La elección del sustituyente meso representa, por tanto, una variable de diseño molecular crítica para la optimización de la selectividad clínica de estos sistemas.

6. Susceptibilidad diferencial entre Gram positivas y Gram negativas:

Las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *S. warneri*) mostraron mayor susceptibilidad basal a los fotosensibilizadores porfirínicos en condiciones de oscuridad respecto a las Gram negativas (*E. coli* y *P. aeruginosa*), con inhibiciones en la condición PS sin luz que alcanzaron valores de hasta $66.32 \pm 12.82\%$ para TCarbPP-Zn frente a *S. warneri*, en contraste con $29.74 \pm 2.22\%$ frente a *E. coli* en la misma condición. Este patrón, consistente en todos los fotosensibilizadores evaluados, confirma la hipótesis y es

coherente con la ausencia de membrana externa en las Gram positivas, que facilita la penetración y acumulación del fotosensibilizador en la pared celular de peptidoglicano. Sin embargo, mayor ganancia relativa de actividad con KI en Gram negativas, se confirma de manera selectiva: la potenciación por KI fue eficaz en ambos grupos bacterianos, pero la capacidad del sistema potenciado para alcanzar inhibiciones superiores al 90% frente a *P. aeruginosa*, una de las bacterias Gram negativas intrínsecamente más resistentes y catalogada como patógeno de prioridad crítica por la OMS, representa el resultado de mayor relevancia clínica del estudio, dado que evidencia que las RIS generadas son capaces de superar la barrera de permeabilidad de la membrana externa.



RECOMENDACIONES

A partir de los resultados obtenidos, las limitaciones identificadas en el diseño experimental y las perspectivas que se derivan de las conclusiones del presente estudio, se formulan las siguientes recomendaciones para investigaciones futuras:

1 Verificación experimental de la fotodependencia del sistema KI:

Dado que las metaloporfirinas TCarbPP-Sn(IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn(IV) en combinación con KI en ausencia de irradiación no exhibieron inhibición bacteriana detectable, con valores estadísticamente equivalentes al control de KI solo en la totalidad de las bacterias evaluadas, y considerando que no existe evidencia científica reciente que documente de manera sistemática este comportamiento de inhibición nula en la condición PS+KI en oscuridad para sistemas porfirínicos similares, se recomienda replicar estos experimentos bajo las mismas condiciones metodológicas (50 μ M de fotosensibilizador, 100 mM de KI, cepas ATCC, ausencia de irradiación) con un número mayor de réplicas independientes y en laboratorios distintos, a fin de corroborar si este fenómeno es reproducible e inherente a la naturaleza fotoquímica de estos compuestos o si responde a variables experimentales no controladas. La confirmación de este resultado tendría implicaciones mecanística relevantes y representaría un aporte novedoso a la literatura de aPDT, dado que la fotodependencia estricta del sistema de potenciación por KI es uno de los hallazgos más significativos del estudio y merece validación independiente.

2 Elucidación del mecanismo de dark toxicity de TCarbPP-Zn:

La toxicidad oscura pronunciada observada para TCarbPP-Zn en combinación con KI frente a las cuatro bacterias evaluadas constituye el hallazgo más inesperado del estudio y no encuentra explicación completa en la literatura consultada. Se recomienda realizar estudios foto físicos específicos para este compuesto, incluyendo mediciones del rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete (Φ_{Δ}) en presencia y ausencia de KI en condiciones de oscuridad, espectroscopía de absorción transitoria para caracterizar el estado triplete T1 y su interacción con el ion yoduro, y estudios de interacción molecular entre TCarbPP-Zn y KI mediante espectroscopía UV-Vis y RMN. Estos estudios permitirían determinar si la dark toxicity es consecuencia de la formación de complejos reactivos entre el Zn^{2+} y el I^{-} en ausencia de luz, de interacciones electrostáticas directas con la membrana bacteriana, o de un mecanismo aún no descrito.

3 Evaluación frente a cepas multirresistentes:

El presente estudio empleó cepas de referencia ATCC, lo que garantizó la reproducibilidad y la comparabilidad de los resultados, pero limita la proyección clínica directa de los hallazgos. Se recomienda extender la evaluación de los sistemas más eficaces y fotoselectivos, particularmente TBrPP-Zn+KI y TCarbPP-Zn+KI (sin KI en el caso de este último, dado su perfil de dark toxicity), a cepas clínicas multirresistentes, incluyendo *E. coli* productora de BLEE, *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos y *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), patógenos que la OMS clasifica como prioridad crítica y alta para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos, y cuya prevalencia en Colombia ha sido documentada con preocupación creciente.

4 Determinación de parámetros de eficacia microbiológica:

Los resultados del presente trabajo se expresaron en términos de porcentaje de inhibición bacteriana mediante un método colorimétrico, lo cual permitió comparaciones relativas entre condiciones y compuestos. Para avanzar hacia una caracterización microbiológica más completa, se recomienda determinar la concentración mínima fototóxica (CMF) y la concentración bactericida mínima fotodinámica (CBMF) de los compuestos más activos, así como cuantificar la reducción logarítmica en unidades formadoras de colonias (UFC/mL) bajo las condiciones óptimas identificadas, parámetros que permitirían una comparación más directa con los estándares clínicos de eficacia antimicrobiana y con otros sistemas de aPDT reportados en la literatura.

5 Evaluación de la actividad frente a biofilms bacterianos:

Dado que la mayoría de las infecciones bacterianas clínicamente relevantes involucran bacterias organizadas en biofilms, estructuras que confieren resistencia significativa a los agentes antimicrobianos convencionales, se recomienda evaluar la actividad fotodinámica de los sistemas metaloporfirina+KI frente a biofilms maduros de las especies estudiadas, especialmente de *P. aeruginosa* y *S. aureus*, cuya capacidad de formación de biofilm es bien conocida, lo que abre una línea de investigación de alto impacto traslacional para los compuestos evaluados en el presente estudio.

6 Optimización de las condiciones de irradiación:

El presente estudio empleó una dosis lumínica fija de 40 J/cm² (7.5 mW/cm², 90 min). Se recomienda realizar estudios de optimización de la dosis lumínica para los

compuestos más activos, evaluando el efecto de diferentes irradiancias y tiempos de exposición sobre la actividad antibacteriana, con el objetivo de identificar la dosis mínima eficaz que maximice la inhibición bacteriana mientras se minimiza el tiempo de tratamiento. La optimización de la fuente lumínica es una variable crítica en la traslación clínica de la aPDT, y que la reducción del tiempo de irradiación es un factor determinante para la viabilidad de aplicaciones en entornos hospitalarios.

7 Evaluación de citotoxicidad en células eucariotas:

Como paso previo indispensable hacia la traslación preclínica de los compuestos evaluados, se recomienda determinar la citotoxicidad de los sistemas metaloporfirina+KI sobre líneas celulares eucariotas, incluyendo fibroblastos humanos y células epiteliales, bajo las mismas condiciones de irradiación empleadas en el presente estudio. Este ensayo permitiría calcular el índice de selectividad de cada sistema, relación entre la citotoxicidad en células mamíferas y la actividad antibacteriana, y establecer si existe una ventana terapéutica que justifique el avance hacia modelos in vivo, en concordancia con los principios éticos de la investigación preclínica y con los criterios de desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Instituto Nacional de Salud de Colombia. Dos de cada cinco muertes por infecciones en latinoamérica se relacionan con la resistencia antimicrobiana, 2025. URL <https://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/Dos-de-cada-cinco-muertes-por-infecciones-en-Latinoam%C3%A9rica-se-relacionan-con-la-resistencia-antimicrobiana.aspx>. Accedido el 15 de octubre de 2025.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the united states, 2022. URL <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>. Accessed in 2022.
3. World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (glass) report, 2023. URL <https://www.who.int/publications/i/item/9789240077500>. Accessed in 2023.
4. Hui Zhang, Jian Li, and Zhi Yang. Ndm-5-producing *Escherichia coli* resistant to meropenem/vaborbactam and plazomicin in nosocomial pneumonia. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 25:45–50, 2025.
5. Patricia Gómez, Ana Martín, and Jorge Ruiz. Reduced susceptibility to ceftaroline/avibactam in mrsa isolates with pbp2a mutations. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 65(1):106789, 2025.
6. Camila Lima, Gustavo Rocha, and Ana Paula Silva. Resistance to ceftolozane/tazobactam in *Pseudomonas aeruginosa*: a growing threat in tertiary care hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 69(2):e01234– 24, 2025.
7. João H. Correia, Jorge A. Rodrigues, Sérgio Pimenta, Tao Dong, and Zou Yang. Photodynamic therapy review: Principles, photosensitizers, applications, and future directions. *Pharmaceutics*, 13(9):1332, 2021. ISSN 19994923. doi: 10.3390/pharmaceutics13091332. URL <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091332>.
8. Fabian Cieplik, Dongmei Deng, Wim Crielaard, Wolfgang Buchalla, Elmar Hellwig, Ali Al-Ahmad, and Tim Maisch. Antimicrobial photodynamic therapy—what we know and what we don't. *Critical reviews in microbiology*, 44(5):571–589, 2018.
9. Singlet Oxygen in PDT. Singlet oxygen in photodynamic therapy. *Pharmaceutics*, 17(10):1274, 2024. doi: 10.3390/ph17101274. URL <https://doi.org/10.3390/ph17101274>.

10. Jiří Mosinger, Pavel Kubát, and Klaus Lang. Singlet oxygen: applications in biosciences and nanosciences. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 87(2):93–105, 2007. doi:10.1016/j.jphotobiol.2007.03.005
11. Current Advances PDT. Current advances in photodynamic therapy (pdt) and associated mechanisms. *Frontiers in Oncology*, 13, 2023. doi: 10.3389/ fonc.2023.1252583. URL <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1252583>.
12. Yao Liu, Rong Qin, Sebastian AJ Zaat, Eefjan Breukink, and Michal Heger. Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. *Journal of clinical and translational research*, 1(3):140, 2015.
13. Chandrasekhar Garapati, Sai HS Boddu, Shery Jacob, Ketan M Ranch, Chirag Patel, R Jayachandra Babu, Amit K Tiwari, and Haya Yasin. Photodynamic therapy: A special emphasis on nanocarrier-mediated delivery of photosensitizers in antimicrobial therapy. *Arabian Journal of Chemistry*, 16 (4):104583, 2023.
14. Michael R. Detty, Sharon L. Gibson, and Stephanie J. Wagner. Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(19):3551–3561, 2000. doi: 10.1021/jm990487s.
15. Fabián Espitia-Almeida. Evaluación fototóxica in vitro de fotosensibilizadores tipo porfirinas y metaloporfirinas frente a parásitos del género *Leishmania*. PhD thesis, Universidad de Nariño, 2020. URL <http://repositorio.udenar.edu.co/handle/10596/34158>.
16. Peiyuan Niu, Jialing Dai, Zeyu Wang, Yueying Wang, Duxiang Feng, Yuanyuan Li, and Wenjun Miao. Sensitization of antibiotic-resistant gramnegative bacteria to photodynamic therapy via perfluorocarbon nanoemulsion. *Pharmaceuticals*, 15(2):156, 2022.
17. Ruchita Tanu, Anis Ahmad Chaudhary, Gagan Prakash, Nusrath Yasmeen, Mohamed AM Ali, Nadeem Raza, Pushpender K Sharma, Akhilesh Kumar, Tejpal Yadav, and Vikram Kumar. Exploring the potential of photodynamic therapy in overcoming multidrug resistance: Mechanisms, synergies, and clinical advancements in infectious diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15:1624036, 2025.
18. Organización Mundial de la Salud. 2023. Resistencia a los antimicrobianos, URL <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Consultado en 2023.

19. Yong Liu, Takuya Ogawa, and Nagao Kobayashi. Porphyrins as promising compounds for chemosensors and biosensors: a review. *Sensors*, 14(3):5284– 5316, 2014. doi:10.3390/s140305284.
20. A. P. Castaño, T. N. Demidova, and M. R. Hamblin. Singlet oxygen and reactive oxygen species in photodynamic therapy: mechanisms and dosimetry. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 42:103542, 2023.
21. F. Cieplik, A. Späth, C. Leibl, et al. Resistance is futile: the killing of *Pseudomonas aeruginosa* by antimicrobial photodynamic therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 22:99–106, 2018. doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.03.002. Open Access.
22. Michael R. Hamblin. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Current Opinion in Microbiology*, 33:67–73, 2016. doi: 10.1016/j.mib.2016.06.008.
23. R. A. S. Couto, J. L. Esteves da Silva, and J. L. F. C. Lima. A review on the applications of photodynamic therapy in microorganisms and cancer. *Chemosphere*, 256:127664, 2020. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127664.
24. L. M. Baltazar et al. Antimicrobial photodynamic therapy: an effective alternative approach to control fungal infections. *Frontiers in Microbiology*, 6:202, 2015. doi: 10.3389/fmicb.2015.00202. Open Access.
25. U.S. Food and Drug Administration. Photofrin (porfimer sodium) injection - full prescribing information. FDA Label, 2011. URL https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/020451s020lbl.pdf. Accessed: 2025.
26. Yaran Allamyradov, Justice ben Yosef, Berdimyrat Annamuradov, Mahmood Ateyeh, Carli Street, Hadley Whipple, and Ali Oguz Er. Photodynamic therapy review: past, present, future, opportunities and challenges. *Photochem*, 4(4):434–461, 2024.
27. B. M. Amos-Tautua, S. P. Songca, and O. S. Oluwafemi. Application of porphyrins in antibacterial photodynamic therapy. *Molecules*, 24(13):2456, 2019. doi: 10.3390/molecules24132456.
28. Viviana T Orlandi, Cansel Simon, Fernando C Bezzerra, Tainá M Tsubone, Amanda G Garcia, Noboru Hioka, Virginie Lhiaubet-Vallet, Daniel Di Stasi, Fábio A Comin, and Marcos L Bruschi. Amphiphilic porphyrin derivatives as photosensitizers for

- photodynamic inactivation of bacteria. *Pharmaceuticals*, 14(8):751, 2021. doi: 10.3390/ph14080751.
29. Y. Li, Q. Wang, X. Qu, J. Tian, and X. Zhang. Construction of palladium porphyrins and triptycene photoactivated nanomaterial for enhanced colorimetric detection and inactivation of bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 648:220–230, 2023. doi: 10.1016/j.jcis.2023.06.017.
30. Carolina S Machado, Marlane G Seeger, Kelly S Moreira, Thiago A L Burgo, Bernardo A Iglesias, Fernanda S F Vogel, and Juliana F Cargnelutti. In vitro porphyrin-based photodynamic therapy against mono and polyculture of multidrug-resistant bacteria isolated from integumentary infections in animals. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 40:103179, 2022.
31. K. Alenezi, A. Tovmasyan, I. Batinic-Haberle, and L. Benov. Optimizing zn porphyrin-based photosensitizers for efficient antibacterial photodynamic therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 17:154–159, 2017. doi:10.1016/j.pdpdt.2016.11.009.
32. C. Espitia and colaboradores. Synthetic porphyrins as antimicrobial photodynamic agents against multidrug-resistant bacteria. *Pharmaceuticals*, 16(5): 1234, 2023. doi: 10.3390/ph16091234.
33. Marta Piksa, Cheng Lian, Imogen C Samuel, Krzysztof J Pawlik, Ifor DW Samuel, and Katarzyna Matczyszyn. The role of the light source in antimicrobial photodynamic therapy. *Chemical Society Reviews*, 52(5):1697–1722, 2023.
34. World Health Organization et al. Global Antibiotic Resistance Surveillance Report 2025: WHO Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS). World Health Organization, 2025.
35. Andrea I Moreno-Switt, Dacil Rivera, Marisa L Caipo, David C Nowell, and Aiko D Adell. Antimicrobial resistance in water in latin america and the caribbean: available research and gaps. *Frontiers in Veterinary Science*, 7:546, 2020.
36. Congmin Zhu, Linwei Wu, Daliang Ning, Renmao Tian, Shuhong Gao, Bing Zhang, Jianshu Zhao, Ya Zhang, Naijia Xiao, Yajiao Wang, et al. Global diversity and distribution of antibiotic resistance genes in human wastewater treatment systems. *Nature Communications*, 16(1):4006, 2025.

37. Li Wang, Ming Zhou, and Tao Zhang. Efficacy limits of third-line antibiotics against multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Clinical Infectious Diseases*, 81(1):88–96, 2025.
38. WHO. Priority pathogens list for r&d of new antibiotics. World Health Organization, 2023. URL <https://www.who.int/publications/i/item/priority-pathogens-list-for-r-d-of-new-antibiotics>.
39. Gisela Robles Aguilar, Lucien R Swetschinski, Nicole Davis Weaver, Kevin S Ikuta, Tomislav Mestrovic, Authia P Gray, Erin Chung, Eve E Wool, Chieh Han, Anna Gershberg Hayoon, et al. The burden of antimicrobial resistance in the americas in 2019: a cross-country systematic analysis. *The Lancet Regional Health–Americas*, 25, 2023.
40. Olga Lucia Ostos Ortiz et al. Resistencia antimicrobiana: Desafíos contemporáneos y estrategias terapéuticas innovadoras en la era post-antibiótica. *Biociencias (UNAD)*, 9(1):53–68, 2025.
41. Natalia Restrepo-Arbeláez, Elkin V Lemos-Luengas, Juan Carlos GarcíaBetancur, Wanda Cornistein, Diogo Boldim-Ferreira, Rodrigo Ahumada, Jorge Chaverri-Murillo, Paulo Castañeda-Méndez, Luis Hercilla, María Virginia Villegas, et al. Cost-analysis of adherence to antimicrobial guidelines as part of antimicrobial stewardship strategies in 6 latin american countries: A pilot experience focusing on economic impact. *Value in Health Regional Issues*, 51:101550, 2026.
42. Maria J Pons, Antonio M Quispe, Miguel Tirado, Gabriela Soza, and Joaquim Ruiz. Direct economic costs related to antimicrobial resistance in bloodstream infections isolated from newborns in a perinatal hospital in peru. *International Health*, 17(4):566–572, 2025.
43. Christian José Pallares, Jessica Porras, Elsa De La Cadena, Juan Carlos García-Betancur, Natalia Restrepo-Arbeláez, Sara María Cobo Viveros, Wanda Cornistein, Paulo Castañeda-Méndez, Luis Cuellar, Diogo BoldimFerreira, et al. Antimicrobial stewardship programs in seven latin american countries: facing the challenges. *BMC Infectious Diseases*, 23(1):463, 2023.
44. Michael R. Hamblin. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Current Opinion in Microbiology*, 33:67– 73, 2016. doi: 10.1016/j.mib.2016.06.008. Published 2016; commonly cited as 2018 in secondary literature.

45. A. M. Elvis and J. S. Ekta. Ozone therapy: A clinical review. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, 2(1):66–70, 2011. doi: 10.4103/ 0976-9668.82319.
46. Pedro V. Baptista, Matthew P. McCusker, Ana Carvalho, Daniela A. Ferreira, Neethu M. Mohan, Marta Martins, and Alexandra R. Fernandes. Nanostrategies to fight multidrug resistant bacteria, “a battle of the titans”. *Frontiers in Microbiology*, 9:1441, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.01441.
47. Fernando L. Gordillo Altamirano and Jeremy J. Barr. Phage therapy in the postantibiotic era. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2):e00066–18, 2019. doi:10.1128/CMR.00066-18.
48. World Health Organization. Global report on photodynamic therapy for antimicrobial resistance. Technical report, WHO, Ginebra, 2023.
49. F. Espitia-Almeida, C. Díaz-Urbe, and D. Gómez-Camargo. Synthesis, characterization and photodynamic activity of sn(IV)–porphyrins against *Leishmania panamensis*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 224:112312, 2021.
50. Demian Van Straten, Vida Mashayekhi, Henriette S De Bruijn, Sabrina Oliveira, and Dominic J Robinson. Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions. *Cancers*, 9(2):19, 2017.
51. Eduard Preis, Matthias Wojcik, Gerhard Litscher, and Udo Bakowsky. Editorial on the “special issue in honor of dr. michael weber’s 70th birthday: Photodynamic therapy: Rising star in pharmaceutical applications”, 2022.
52. Tony B Ng and Randy C F Cheung. Thermal control in microbiological photosensitization assays: a critical review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 21:202–206, 2018.
53. Hee Jun Kim, Jung Soo Park, Ji Hye Park, and Jong Hoon Kim. Clinical development of photodynamic agents and therapeutic applications. *Biomaterials Research*, 22:22, 2018. doi: 10.1186/s40824-018-0140-z. URL <https://doi.org/10.1186/s40824-018-0140-z>.
54. National Cancer Institute. Photodynamic therapy to treat cancer. NCI Website, 2025. URL <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/photodynamic-therapy>. Accessed: 2025.
55. Vincenzo Papa et al. Advanced light source technologies for photodynamic therapy of skin cancer lesions. doi:10.3390/pharmaceutics16030331. *Pharmaceutics*, 16(3), 2024. URL <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16030331>.

56. Advances in PDT. Advances in photodynamic therapy: Photosensitizers, biological mechanisms, and artificial intelligence-driven innovation. *Bioengineering*, 8(3):31, 2026. doi: 10.3390/bioengineering8030031. URL <https://doi.org/10.3390/bioengineering8030031>.
57. Cell death mechanisms. Cell death: The underlying mechanisms of photodynamic therapy for skin diseases. *Inflammation and Regenerative Medicine*, 2025. doi: 10.1002/INMD.20240057. URL <https://doi.org/10.1002/INMD.20240057>.
58. Nanotechnology PDT. Advances in smart nanotechnology-supported photodynamic therapy for cancer. doi:10.1186/s12951-024-02589-4. *Journal of Nanobiotechnology*, 2024. URL <https://doi.org/10.1186/s12951-024-02589-4>.
59. NCBI Bookshelf. Photodynamic therapy for dermatologic conditions. StatPearls (Internet), 2025. URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK617062/>. Accessed: 2025.
60. Pavel Yudaev, Yulia Aleksandrova, Elena Chugunova, and Margarita Neganova. The current state of research in the field of photosensitizers and photoactivators for photodynamic/photothermal cancer therapy: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(21):10733, 2025.
61. PDT Medical Practice. The use of photodynamic therapy in medical practice. *Frontiers in Oncology*, 14:1373263, 2024. doi: 10.3389/fonc.2024.1373263. URL <https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1373263>.
62. Immunomodulatory PDT. Immunomodulatory effects of photodynamic therapy for skin cancer. *Photochemistry and Photobiology*, 101(4), 2025. doi:10.1111/php.70008. URL <https://doi.org/10.1111/php.70008>.
63. Juan Carlos Del Valle and Javier Catalán. Kasha's rule: a reappraisal. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 21(19):10061–10069, 2019.
64. W. Shao et al. Photophysical properties and singlet oxygen generation of three sets of halogenated corroles. *Journal of Physical Chemistry B*, 116(49):14228–14234, 2012. doi: 10.1021/jp3092699.
65. A. S. Garcez, M. Kaplan, et al. Effects of antimicrobial photodynamic therapy on antibiotic-resistant *Escherichia coli*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 32:102029, 2020. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.102029. PMID:PMC7744317; Open Access.

66. T. Demidova, F. Gad, T. Zahra, and M. Hamblin. Photodynamic therapy targeted to pathogens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(7):2329– 2336, 2009. doi: 10.1128/AAC.00005-09.
67. Ece Polat and Kyungsu Kang. Natural photosensitizers in antimicrobial photodynamic therapy. *Biomedicines*, 9(6):584, 2021.
68. Fabián Espitia-Almeida, Roger Valle-Molinares, Elkin Navarro Quiroz, Leonardo C Pacheco-Londoño, and Nataly J Galán-Freyle. Photodynamic antimicrobial activity of a novel 5, 10, 15, 20-tetrakis (4-ethylphenyl) porphyrin against clinically important bacteria. *Pharmaceutics*, 16(8):1059, 2023.
69. Z. Q. Wong, N. Mohamad, and S. AbuBakar. Photodynamic viral inactivation: Recent advances and applications. *Journal of Virological Methods*, 285:113875, 2020. doi: 10.1016/j.jviromet.2020.113875. Not Open Access in general.
70. M. Wainwright. Viral inactivation by photoantimicrobials. *Viruses*, 12(12):1399, 2020. doi: 10.3390/v12121399. Open Access.
71. A. L. Vasco-dos Santos et al. Photodynamic inactivation of leishmania amazonensis: Mechanisms of action and in vivo efficacy. *Biology*, 14(1):42, 2025. doi: 10.3390/biology14010042. Open Access.
72. P. A. Sigala et al. Deconvoluting heme biosynthesis to target blood-stage malaria parasites. *eLife*, 13:RP98858, 2024. doi: 10.7554/eLife.98858. Open Access.
73. P. Delcanale, S. Abbruzzetti, and C. Viappiani. Photodynamic therapy to control microbial biofilms: structural and physiological mechanisms. *La Rivista del Nuovo Cimento*, 45:407–459, 2022. doi: 10.1007/s40766-022-00031-4. Open Access.
74. A. Sedighi et al. Superhydrophobic antimicrobial photodynamic therapy dressing for effective elimination of biofilms in vitro. *Journal of Lightwave Technology*, 42(13):4651–4662, 2024. doi: 10.1109/JLT.2024.3374926. Not Open Access.
75. Hongyi Wang, Xiuli Zheng, Weimin Liu, Zitian Tang, and Sheng Gong. Artificial intelligence driven workflow for accelerating design of novel photosensitizers. *AI for Science*, 2(1):015002, 2026.
76. Aguinaldo S. Garcez et al. Effects of antimicrobial photodynamic therapy on bacterial membrane structure. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 32:102029, 2020. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.102029. same as garcez2020effects; Open Access.

77. V. T. Orlandi, E. Martegani, F. Bolognese, N. Trivellin, F. Garzotto, and E. Caruso. Photoinactivation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm by dicationic diaryl-porphyrin. International Journal of Molecular Sciences, 22(13):6808, 2021. doi: 10.3390/ijms22136808.
78. Vincenzo Papa et al. Photodynamic therapy in cancer: Insights into cellular and molecular pathways. Photochemistry and Photobiology, 47(2):69, 2025. doi: 10.3390/ph47020069. URL <https://doi.org/10.3390/ph47020069>.
79. Man Li, Charles Brooker, Rucha Ambike, Ziyu Gao, Paul Thornton, Thuy Do, and Giuseppe Tronci. Photodynamic, uv-curable and fibre-forming polyvinyl alcohol derivative with broad processability and staining-free antibacterial capability. European Polymer Journal, 228:113794, 2025.
80. Yin-Hwa Shih, Cheng-Chia Yu, Kai-Chi Chang, Yu-Hsin Tseng, Po-Jung Li, Shih-Min Hsia, Kuo-Chou Chiu, and Tzong-Ming Shieh. Synergistic effect of combination of a temoporfin-based photodynamic therapy with potassium iodide or antibacterial agents on oral disease pathogens in vitro. Pharmaceuticals, 15(4):488, 2022.
81. L Huang, G Szewczyk, T Sarna, and MR Hamblin. Potassium iodide potentiates broad-spectrum antimicrobial photodynamic inactivation using photofrin. *acs infect dis.* 2017; 3 (4): 320–8.
82. C. Bilanina. Metaloporfirinas: síntesis, actividad catalítica y soporte en materiales 2d. Revista Iberoamericana de Catálisis, 12:45–58, 2020.
83. Monika Makarska, Jerzy Kruk, Grazyna Stochel, and Leszek Fiedor. Comparative studies of porphyrins with various substituents: Synthesis, photophysical properties and photodynamic activity. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 178:282–292, 2018. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.11.014.
84. Mathias O Senge. Highly substituted porphyrins. The porphyrin handbook, 1:239–347, 2000.
85. U. Kragh-Hansen, H. Watanabe, and A. Nakamura. Influence of alkyl chain length on the conformation and solubilization properties of fatty acid complexes with serum albumin. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 10(1):1–8, 2000. doi: 10.1016/S0928-0987(99)00045-3.

86. J. Li, P. Smith, and L. Zhang. Control of the aqueous solubility of cellulose by hydroxyl group substitution. *Carbohydrate Polymers*, 260:117815, 2021. doi:10.1016/j.carbpol.2021.117815.
87. Seiji Hiroto, Yuki Miyake, and Hiroshi Shinokubo. Synthesis and function-alization of porphyrins. *Chemical Reviews*, 117(4):2910–3043, 2017. doi:10.1021/acs.chemrev.6b00355.
88. M. Ortega-Muñoz et al. Click chemistry inspired synthesis of novel ferrocenesubstituted amino acids or peptides, 2006. Conference/abstract or unpublished work.
89. X. Zhang et al. Porphyrin-based porous organic polymers for enhanced antimicrobial photodynamic therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14(42):47234–47246, 2022. doi: 10.1021/acsami.2c14416.
90. J. N. Demas and G. A. Crosby. The measurement of photoluminescence quantum yields. a review. *The Journal of Physical Chemistry*, 75(8):991–1024, 1971. doi: 10.1021/j100678a001.
91. Diana Patricia Espitia-Almeida. Diseño, síntesis y evaluación fotodinámica de derivados porfirínicos con potencial aplicación en terapia fotodinámica. Tesis doctoral, Universidad Nacional de Colombia, 2018. URL <http://www.bdigital.unal.edu.co/61345/>.
92. Adriana Casas, María G. Álvarez, César Prucca, and Mario E. Milanesio. Singlet-oxygen quantum yields of meso-substituted porphyrins revisited. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 382:111933, 2019. doi: 10.1016/j.jphotochem.2019.111933.
93. R. W. Redmond and J. N. Gamlin. A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules. *Photochemistry and Photobiology*, 57(3):462–469, 1993. doi: 10.1111/j.1751-1097.1993.tb02291.x.
94. Instituto Nacional de Salud (Colombia). Sistema de vigilancia de resistencia antimicrobiana (sivira) – boletín anual 2023. Technical report, INS, 2023. URL <https://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico>. Acceso: 2025-09-20.
95. Instituto Nacional de Salud (Colombia). Bacteriemias nosocomiales y resistencia antimicrobiana – boletín epidemiológico semanal 2022. Technical report, INS, 2022. URL <https://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico> .Acceso: 2025-09-20.

96. Laura C Gómez, Jinnethe Reyes, Carlos García, Sandra Rincón, and Jorge A Cortés. Emerging role of *Staphylococcus warneri* in catheter-related infections: first report of meca-positive isolates in colombia. *New Microbes and New Infections*, 52:101130, 2023.
97. Audrey N Schuetz, Andrea Ferrell, Janet A Hindler, Romney Humphries, and April M Bobenchik. Overview of changes in the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100 32nd and 33rd editions. *Journal of clinical microbiology*, 63(9):e01623– 23, 2025.
98. Karen L Cruz and Fernando F Vera. Simplified thermal control system for photobioreactors using ceramic heaters and pid tuning. *Journal of Thermal Engineering*, 7(2):123–130, 2021.
99. Patricia G Jones, Robert A VanBogelen, and Frederick C Neidhardt. Temperature as a factor in bacterial growth regulation. *Journal of Bacteriology*, 169(5):2092–2097, 1987.
100. J. Espitia, P. Rodríguez, and M. Vargas. Photophysical properties and preliminary biological evaluation of sn(iv)-porphyrins for photodynamic applications. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 25(9):1234–1246, 2021. doi: 10.1142/S108842462150067X.
101. X. Li, K. Zhao, and J. Sun. Construction of sn(iv)-porphyrin complexes with boosted intersystem crossing for antimicrobial photodynamic therapy. *Inorganic Chemistry*, 62(3):1578–1589, 2023. doi: 10.1021/acs.inorgchem.2c03001.
102. Michele M Kim and Arash Darafsheh. Light sources and dosimetry techniques for photodynamic therapy. *Photochemistry and photobiology*, 96(2):280–294, 2020.
103. Irith Wiegand, Kai Hilpert, and Robert EW Hancock. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (mic) of antimicrobial substances. *Nature protocols*, 3(2):163–175, 2008.



ANEXOS A

DATOS EXPERIMENTALES

A.1 *Escherichia coli* ATCC 25922

Tabla 8. Curva de crecimiento de *E. coli* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) sin irradiación.

Tiempo (h)	TcarbPP-Zn	TcarbPP-Sn (IV)	TBrPP-Zn	TBrPP-Sn (IV)	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.016	0.019	0.021	0.029	0.009	0.034	0.038
1	0.045	0.037	0.038	0.043	0.013	0.062	0.071
1.5	0.064	0.069	0.065	0.062	0.014	0.088	0.091
2	0.077	0.076	0.080	0.080	0.014	0.105	0.104
2.5	0.088	0.092	0.107	0.099	0.015	0.116	0.114
3	0.101	0.111	0.120	0.110	0.015	0.129	0.126
3.5	0.105	0.125	0.129	0.125	0.015	0.137	0.137
4	0.108	0.128	0.128	0.124	0.015	0.138	0.138

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); CN: Control negativo (medio + bacteria); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 9. Porcentaje de inhibición de *E. coli* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) sin irradiación.

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TcarbPP-Zn	29.7	2.2
TcarbPP-Sn (IV)	24.5	4.7
TBrPP-Zn	28.5	2.3
TBrPP-Sn (IV)	32.2	1.1
KI	2.7	1.7
C+	84.7	2.0

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); CN: Control negativo (medio + bacteria); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 10. Curva de crecimiento de *E. coli* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tiempo (h)	TcarbPP-Zn	TcarbPP-Sn (IV)	TBrPP-Zn	TBrPP-Sn (IV)	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.008	0.025	0.013	0.015	0.009	0.030	0.026
1	0.022	0.027	0.027	0.026	0.013	0.075	0.057
1.5	0.038	0.055	0.048	0.048	0.015	0.089	0.091
2	0.048	0.071	0.060	0.063	0.017	0.101	0.104
2.5	0.063	0.088	0.076	0.080	0.019	0.114	0.115
3	0.065	0.100	0.088	0.093	0.019	0.126	0.132
3.5	0.082	0.115	0.102	0.104	0.020	0.143	0.144
4	0.077	0.120	0.111	0.112	0.021	0.146	0.140

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 11. Porcentaje de inhibición de *E. coli* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TcarbPP-Zn	58.5	4.1
TcarbPP-Sn (IV)	39.2	5.0
TBrPP-Zn	47.0	8.4
TBrPP-Sn (IV)	47.2	8.5
KI	2.5	1.6
C+	83.8	1.4

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 12. Curva de crecimiento de *E. coli* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) sin irradiación.

Tiempo (h)	TcarbPP-Zn+KI	TcarbPP-Sn (IV)+KI	TBrPP-Zn+KI	TBrPP-Sn (IV)+KI	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.001	0.018	0.015	0.019	0.009	0.021	0.011
1	0.003	0.003	0.035	0.034	0.013	0.035	0.024
1.5	0.012	0.056	0.051	0.048	0.015	0.047	0.047
2	0.026	0.072	0.067	0.065	0.017	0.058	0.063
2.5	0.039	0.089	0.082	0.078	0.019	0.070	0.076
3	0.050	0.105	0.099	0.095	0.019	0.079	0.089
3.5	0.062	0.119	0.114	0.109	0.020	0.091	0.101
4	0.071	0.135	0.129	0.125	0.021	0.102	0.118

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 13. Porcentaje de inhibición de *E. coli* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) sin irradiación.

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TcarbPP-Zn + KI	76.85	14.22
TcarbPP-Sn (IV) + KI	0.00	15.90
TBrPP-Zn + KI	0.00	0.00
TBrPP-Sn (IV) + KI	1.40	13.14
C+	56.89	9.35
CN	0.00	0.00

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 14. Curva de crecimiento de *E. coli* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tiempo (h)	TcarbPP-Zn+KI	TcarbPP-Sn (IV)+KI	TBrPP-Zn+KI	TBrPP-Sn (IV)+KI	C+	KI	CN
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	0.0018	0.0060	0.0020	0.0055	0.0097	0.0221	0.0293
1	0.0030	0.0118	0.0050	0.0093	0.0127	0.0389	0.0450
1.5	0.0032	0.0198	0.0083	0.0170	0.0132	0.0569	0.0545
2	0.0048	0.0213	0.0108	0.0183	0.0129	0.0689	0.0688
2.5	0.0065	0.0238	0.0138	0.0215	0.0109	0.0816	0.0775
3	0.0090	0.0260	0.0145	0.0238	0.0097	0.0911	0.0850
3.5	0.0100	0.0263	0.0148	0.0248	0.0089	0.0979	0.0950
4	0.0103	0.0255	0.0145	0.0245	0.0069	0.1026	0.0990

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 15. Porcentaje de inhibición de *E. coli* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TcarbPP-Zn + KI	94.1	1.6
TcarbPP-Sn (IV) + KI	63.6	3.3
TBrPP-Zn + KI	84.9	3.2
TBrPP-Sn (IV) + KI	68.6	4.4
C+	76.2	2.4

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

A.2 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10195

Tabla 16. Curva de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) sin irradiación.

Tiempo (h)	TcarbPP-Zn	TcarbPP-Sn (IV)	TBrPP-Zn	TBrPP-Sn (IV)	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.013	0.030	0.010	0.026	0.006	0.021	0.028
1	0.029	0.045	0.029	0.040	0.008	0.053	0.062
1.5	0.046	0.061	0.039	0.057	0.017	0.080	0.084
2	0.064	0.069	0.056	0.073	0.020	0.102	0.096
2.5	0.081	0.087	0.074	0.087	0.022	0.111	0.113
3	0.090	0.101	0.092	0.093	0.027	0.125	0.126
3.5	0.102	0.105	0.098	0.102	0.036	0.133	0.143
4	0.107	0.098	0.105	0.103	0.030	0.135	0.146

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 17. Porcentaje de inhibición de *Pseudomonas aeruginosa* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) sin irradiación.

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TcarbPP-Zn	45.2	2.0
TcarbPP-Sn (IV)	27.7	8.3
TBrPP-Zn	53.3	9.6
TBrPP-Sn (IV)	32.6	5.1
KI	5.4	3.0
C+	80.2	7.5

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 18. Curva de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tiempo (h)	TcarbPP-Zn	TcarbPP-Sn (IV)	TBrPP-Zn	TBrPP-Sn (IV)	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.001	0.005	0.003	0.019	0.004	0.030	0.023
1	0.004	0.014	0.017	0.026	0.007	0.039	0.034
1.5	0.012	0.025	0.029	0.033	0.012	0.047	0.049
2	0.012	0.039	0.054	0.049	0.013	0.069	0.060
2.5	0.017	0.054	0.069	0.056	0.014	0.078	0.073
3	0.024	0.064	0.081	0.067	0.012	0.092	0.085
3.5	0.033	0.075	0.095	0.077	0.014	0.100	0.102
4	0.036	0.077	0.094	0.080	0.013	0.102	0.104

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 19. Porcentaje de inhibición de *Pseudomonas aeruginosa* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TcarbPP-Zn	74.7	9.0
TcarbPP-Sn (IV)	49.2	6.5
TBrPP-Zn	40.4	6.7
TBrPP-Sn (IV)	31.9	5.0
KI	3.3	0.7
C+	76.5	4.3

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 20. Curva de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) sin irradiación.

Tiempo (h)	TcarbPP-Zn+KI	TCarbPP-Sn (IV)+KI	TBrPP-Zn+KI	TBrPP-Sn (IV)+KI	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	-0.007	0.009	0.001	0.001	0.004	0.005	0.005
1	-0.008	0.031	0.017	0.026	0.007	0.016	0.016
1.5	-0.002	0.053	0.030	0.034	0.012	0.024	0.031
2	0.008	0.070	0.042	0.046	0.013	0.032	0.043
2.5	0.019	0.084	0.051	0.056	0.014	0.039	0.056
3	0.028	0.107	0.065	0.075	0.012	0.048	0.068
3.5	0.036	0.129	0.080	0.093	0.014	0.061	0.084
4	0.046	0.150	0.096	0.117	0.013	0.072	0.098

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 21. Porcentaje de inhibición de *Pseudomonas aeruginosa* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) sin irradiación.

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TcarbPP-Zn + KI	100.00	8.77
TCarbPP-Sn (IV) + KI	0.00	18.65
TBrPP-Zn + KI	0.00	0.00
TBrPP-Sn (IV) + KI	0.23	10.30
C+	95.20	10.39

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 22. Curva de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tiempo (h)	TcarbPP-Zn+KI	TCarbPP-Sn (IV)+KI	TBrPP-Zn+KI	TBrPP-Sn (IV)+KI	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.000	0.007	0.005	0.010	0.004	0.030	0.031
1	0.001	0.014	0.010	0.020	0.007	0.039	0.043
1.5	0.001	0.022	0.011	0.027	0.012	0.052	0.059
2	0.002	0.026	0.018	0.033	0.013	0.069	0.070
2.5	0.004	0.031	0.021	0.037	0.014	0.078	0.081
3	0.006	0.034	0.023	0.041	0.012	0.092	0.089
3.5	0.008	0.036	0.025	0.042	0.014	0.100	0.104
4	0.007	0.033	0.026	0.043	0.013	0.102	0.104

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 23. Porcentaje de inhibición de *Pseudomonas aeruginosa* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TcarbPP-Zn + KI	97.9	0.9
TCarbPP-Sn (IV) + KI	62.8	4.1
TBrPP-Zn + KI	81.1	3.1
TBrPP-Sn (IV) + KI	54.0	3.0
C+	80.4	5.0

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 3).

A.3 *Staphylococcus aureus* ATCC 5923

Tabla 24. Curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* tratada con fotosensibilizadores (50µM) sin irradiación.

Tiempo (h)	TCarbPP-Zn	TCarbPP-Sn (IV)	TBrPP-Zn	TBrPP-Sn (IV)	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.005	0.008	0.021	0.008	0.002	0.022	0.031
1	0.014	0.016	0.021	0.021	0.005	0.038	0.044
1.5	0.019	0.023	0.026	0.033	0.006	0.052	0.055
2	0.026	0.035	0.034	0.044	0.004	0.066	0.071
2.5	0.038	0.045	0.039	0.054	0.003	0.074	0.078
3	0.042	0.052	0.046	0.060	0.002	0.083	0.085
3.5	0.048	0.057	0.050	0.062	0.001	0.091	0.089
4	0.047	0.058	0.054	0.062	0.000	0.091	0.093

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 µM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 25. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus aureus* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 µM) sin irradiación.

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TCarbPP-Zn	64.7	12.6
TCarbPP-Sn (IV)	57.7	11.2
TBrPP-Zn	53.1	9.9
TBrPP-Sn (IV)	38.4	5.7
KI	4.9	2.0
C+	89.3	4.9

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 µM); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan media ± desviación estándar (n = 4).

Tabla 26. Curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tiempo (h)	TCarbPP-Zn	TCarbPP-Sn (IV)	TBrPP-Zn	TBrPP-Sn (IV)	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.009	0.004	0.005	0.005	0.002	0.029	0.025
1	0.007	0.010	0.012	0.011	0.005	0.027	0.031
1.5	0.012	0.014	0.015	0.022	0.006	0.039	0.041
2	0.019	0.023	0.027	0.030	0.004	0.052	0.050
2.5	0.025	0.029	0.037	0.039	0.003	0.061	0.059
3	0.029	0.035	0.044	0.046	0.002	0.070	0.066
3.5	0.035	0.042	0.051	0.053	0.001	0.071	0.074
4	0.035	0.044	0.053	0.056	0.000	0.074	0.078

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 27. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus aureus* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TCarbPP-Zn	70.2	8.1
TCarbPP-Sn (IV)	65.6	8.5
TBrPP-Zn	63.9	4.8
TBrPP-Sn (IV)	46.6	4.5
KI	2.8	1.3
C+	86.3	5.4

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 28. Curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) sin irradiación

Tiempo (h)	TCarbPP-Zn+KI	TCarbPP-Sn (IV)+KI	TBrPP-Zn+KI	TBrPP-Sn (IV)+KI	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.002	0.036	0.010	0.011	0.006	0.019	0.010
1	0.005	0.088	0.025	0.027	0.010	0.031	0.022
1.5	0.011	0.120	0.038	0.040	0.016	0.042	0.035
2	0.020	0.144	0.049	0.049	0.018	0.053	0.047
2.5	0.028	0.158	0.058	0.058	0.019	0.062	0.058
3	0.037	0.190	0.073	0.071	0.018	0.068	0.069
3.5	0.048	0.220	0.088	0.090	0.018	0.079	0.078
4	0.062	0.255	0.105	0.107	0.018	0.088	0.085

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 29. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus aureus* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) sin irradiación.

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TCarbPP-Zn + KI	73.83	17.25
TCarbPP-Sn (IV) + KI	0.00	14.00
TBrPP-Zn + KI	0.00	0.00
TBrPP-Sn (IV) + KI	0.00	12.30
C+	61.54	6.11

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 30. Curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tiempo (h)	TCarbPP-Zn+KI	TCarbPP-Sn (IV)+KI	TBrPP-Zn+KI	TBrPP-Sn (IV)+KI	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.000	0.008	0.004	0.005	0.004	0.036	0.028
1	0.001	0.014	0.008	0.011	0.007	0.050	0.053
1.5	0.001	0.021	0.012	0.018	0.011	0.064	0.069
2	0.003	0.023	0.016	0.024	0.016	0.075	0.082
2.5	0.005	0.026	0.018	0.030	0.019	0.087	0.090
3	0.006	0.026	0.018	0.036	0.022	0.098	0.098
3.5	0.006	0.030	0.020	0.042	0.024	0.108	0.103
4	0.006	0.032	0.020	0.042	0.023	0.116	0.105

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 31. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus aureus* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TCarbPP-Zn + KI	98.5	0.1
TCarbPP-Sn (IV) + KI	70.3	3.5
TBrPP-Zn + KI	82.5	5.6
TBrPP-Sn (IV) + KI	73.3	3.9
C+	84.4	1.9

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

A.4 *Staphylococcus warneri* ATCC 27836

Tabla 32. Curva de crecimiento de *Staphylococcus warneri* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) sin irradiación.

Tiempo (h)	TCarbPP-Zn	TCarbPP-Sn (IV)	TBrPP-Zn	TBrPP-Sn (IV)	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.007	0.009	0.010	0.014	0.004	0.029	0.035
1	0.016	0.019	0.015	0.026	0.007	0.040	0.047
1.5	0.021	0.030	0.029	0.039	0.008	0.059	0.061
2	0.027	0.041	0.037	0.049	0.010	0.068	0.072
2.5	0.035	0.046	0.047	0.058	0.009	0.079	0.084
3	0.038	0.043	0.060	0.064	0.003	0.089	0.094
3.5	0.040	0.038	0.062	0.071	0.004	0.100	0.104
4	0.047	0.033	0.058	0.070	0.005	0.105	0.107

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM);

CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 33. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus warneri* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) sin irradiación.

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TCarbPP-Zn	66.3	12.8
TCarbPP-Sn (IV)	49.8	4.3
TBrPP-Zn	52.0	4.2
TBrPP-Sn (IV)	36.2	3.7
KI	1.9	0.4
C+	87.4	4.6

C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 34. Curva de crecimiento de *Staphylococcus warneri* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tiempo (h)	TCarbPP-Zn	TCarbPP-Sn (IV)	TBrPP-Zn	TBrPP-Sn (IV)	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.000	0.008	0.011	0.011	0.004	0.029	0.035
1	0.012	0.025	0.022	0.017	0.007	0.040	0.047
1.5	0.016	0.032	0.029	0.038	0.008	0.059	0.061
2	0.026	0.060	0.051	0.057	0.010	0.068	0.072
2.5	0.038	0.076	0.066	0.070	0.009	0.079	0.084
3	0.055	0.088	0.079	0.080	0.003	0.089	0.094
3.5	0.063	0.099	0.093	0.095	0.004	0.100	0.104
4	0.068	0.103	0.098	0.101	0.005	0.105	0.107

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM);

CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 35. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus warneri* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TCarbPP-Zn	73.1	5.2
TCarbPP-Sn (IV)	48.4	4.1
TBrPP-Zn	51.0	7.3
TBrPP-Sn (IV)	37.7	3.4
KI	2.7	1.2
C+	87.4	4.6

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 4).

Tabla 36. Curva de crecimiento de *Staphylococcus warneri* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) sin irradiación.

Tiempo (h)	TCarbPP-Zn + KI	TCarbPP-Sn (IV) + KI	TBrPP-Zn + KI	TBrPP-Sn (IV) + KI	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.000	0.013	0.014	0.016	0.008	0.011	0.006
1	0.000	0.029	0.029	0.029	0.014	0.019	0.012
1.5	0.004	0.039	0.040	0.041	0.020	0.028	0.021
2	0.016	0.051	0.053	0.056	0.024	0.037	0.031
2.5	0.022	0.063	0.066	0.067	0.028	0.044	0.039
3	0.031	0.074	0.078	0.081	0.032	0.051	0.046
3.5	0.039	0.087	0.092	0.092	0.037	0.061	0.054
4	0.045	0.098	0.105	0.105	0.040	0.070	0.059

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 37. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus warneri* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) sin irradiación.

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TCarbPP-Zn + KI	90.24	10.50
TCarbPP-Sn (IV) + KI	6.81	1.56
TBrPP-Zn + KI	0.00	0.00
TBrPP-Sn (IV) + KI	1.07	5.99
C+	46.33	7.07

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 3).

Tabla 38. Curva de crecimiento de *Staphylococcus warneri* tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tiempo (h)	TCarbPP-Zn + KI	TCarbPP-Sn (IV) + KI	TBrPP-Zn + KI	TBrPP-Sn (IV) + KI	C+	KI	CN
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	0.000	0.010	0.006	0.006	0.006	0.032	0.033
1	0.001	0.018	0.010	0.013	0.009	0.046	0.048
1.5	0.001	0.022	0.014	0.020	0.011	0.060	0.058
2	0.001	0.035	0.019	0.026	0.012	0.071	0.069
2.5	0.002	0.045	0.026	0.033	0.011	0.078	0.078
3	0.002	0.050	0.032	0.040	0.010	0.082	0.085
3.5	0.002	0.054	0.036	0.043	0.009	0.086	0.093
4	0.002	0.057	0.038	0.046	0.008	0.090	0.095

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M); KI: Control de yoduro de potasio (100 mM); CN: Control negativo (medio + bacteria). Los valores representan absorbancia a 600 nm.

Tabla 39. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus warneri* a 1.5 h tratada con fotosensibilizadores (50 μ M) en presencia de KI (100 mM) con irradiación (40 J/cm², 90 min).

Tratamiento	% Inhibición	Desviación estándar
TCarbPP-Zn + KI	99.1	0.99
TCarbPP-Sn (IV) + KI	61.6	2.11
TBrPP-Zn + KI	76.8	2.71
TBrPP-Sn (IV) + KI	65.9	9.80
C+	81.6	1.40

*C+: Control positivo (Gentamicina 20 μ M). Los valores representan media $\pm$ desviación estándar (n = 3).

ANEXO B
ESTADÍSTICA
Análisis descriptivo

B.1 Datos completos de inhibición bacteriana para *Escherichia coli*

Los ensayos de inhibición bacteriana para *Escherichia coli* se realizaron a una concentración de 50 μM de cada metaloporfirina (TCarPP-Zn, TCarPP-Sn(IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn(IV)), evaluando la actividad fotodinámica bajo las siguientes condiciones experimentales:

- Iluminación: LED monocromáticas azules ($\lambda_{\text{máx}} = 470 \text{ nm}$, rango espectral 400–495 nm), con una irradiancia media de 7.4 mW/cm^2 .
- Dosis de luz: 40 J/cm^2 (equivalente a 90 minutos de irradiación).
- Concentración de KI: 100 mM (cuando corresponda).

Se evaluaron cuatro condiciones experimentales: fotosensibilizador sin luz (PS – Sin Luz), fotosensibilizador con luz (PS – Con Luz), fotosensibilizador + KI sin luz (PS + KI – Sin Luz), y fotosensibilizador + KI con luz (PS + KI – Con Luz). Los resultados de inhibición bacteriana (%) se presentan en la Tabla 40 y el análisis estadístico mediante ANOVA de dos vías en la Tabla 41.

Tabla 40. Porcentaje de inhibición de *Escherichia coli* a 1.5 h de tratamiento con metaloporfirinas (50 μ M) bajo diferentes condiciones de iluminación y presencia de yoduro de potasio (KI, 100 mM).

Tratamiento	Grupo A				Grupo B				Grupo C				Grupo D			
	PS (Sin Luz)				PS (Con Luz)				PS + KI (Sin Luz)				PS + KI (Con Luz)			
	A:1	A:2	A:3	A:4	B:1	B:2	B:3	B:4	C:1	C:2	C:3	C:4	D:1	D:2	D:3	D:4
TCarPP-Zn	30.38	28.13	32.61	27.84	54.55	60.42	55.56	63.33	100.00	76.91	66.47	64.02	96.12	92.45	94.35	93.39
TCarPP-Sn (IV)	20.25	28.13	20.65	28.87	31.82	42.71	41.11	41.11	0.00	0.00	0.00	3.00	61.17	66.04	60.45	66.94
TBrPP-Zn	26.58	29.17	31.52	26.80	52.27	50.00	34.44	51.11	0.00	0.00	0.00	0.00	88.35	86.79	81.17	83.47
TBrPP-Sn (IV)	32.91	33.33	31.52	30.93	54.55	54.17	42.22	37.78	11.24	12.88	11.57	13.46	63.11	67.92	69.87	73.55
Control KI	1.36	1.04	4.44	3.11	1.01	4.90	1.96	3.09	1.36	1.04	4.44	3.11	1.01	4.90	1.96	3.09
Control +	72.82	76.23	78.15	77.69	52.36	44.11	62.72	68.37	84.09	82.29	83.33	85.56	86.08	82.29	83.70	86.60

Nota: PS: fotosensibilizador (metaloporfirina); KI: yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan porcentaje de inhibición (%) con cuatro réplicas independientes (1–4) por condición.

Tabla 41. Análisis de varianza de dos vías (Two-way ANOVA) para evaluar el efecto del fotosensibilizador y el tratamiento sobre la inhibición de *Escherichia coli*.

Fuente de variación	% variación total	P valor	Resumen P	¿Significativo?	
Interacción	21.86	<0.001	***	Sí	
Fotosensibilizador	54.79	<0.001	***	Sí	
Tratamiento	21.25	<0.001	***	Sí	
Tabla ANOVA					
Fuente	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P valor
Interacción	21006	15	1651	F (15, 72) = 50.00	P<0.001
Fotosensibilizador	52663	5	14544	F (5, 72) = 376.00	P<0.001
Tratamiento	20426	3	4006	F (3, 72) = 243.1	P<0.001
Residual	2017	72	27.31	---	---
Total	96112	95	---	---	---

Nota: SS: suma de cuadrados; DF: grados de libertad; MS: media cuadrática; F: estadístico de Fisher; DFn/DFd: grados de libertad del numerador/denominador. Alpha = 0.05. Número de columnas (Tratamiento) = 4; número de filas (Fotosensibilizador) = 6; número total de valores = 96.

B.2 Datos completos de inhibición bacteriana para *Pseudomonas aeruginosa*

Los ensayos de inhibición bacteriana para *Pseudomonas aeruginosa* se realizaron a una concentración de 50 μM de cada metaloporfirina (TCarPP-Zn, TCarPP-Sn(IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn(IV)), evaluando la actividad fotodinámica bajo las siguientes condiciones experimentales:

- Iluminación: LED monocromáticas azules ($\lambda_{\text{máx}} = 470 \text{ nm}$, rango espectral 400–495 nm), con una irradiancia media de 7.4 mW/cm^2 .
- Dosis de luz: 40 J/cm^2 (equivalente a 90 minutos de irradiación).
- Concentración de KI: 100 mM (cuando corresponda).

Se evaluaron cuatro condiciones experimentales: fotosensibilizador sin luz (PS – Sin Luz), fotosensibilizador con luz (PS – Con Luz), fotosensibilizador + KI sin luz (PS + KI – Sin Luz), y fotosensibilizador + KI con luz (PS + KI – Con Luz). Los resultados de inhibición bacteriana (%) se presentan en la Tabla 42 y el análisis estadístico mediante ANOVA de dos vías en la Tabla 43.

Tabla 42. Porcentaje de inhibición de *Pseudomonas aeruginosa* a 1.5 h de tratamiento con metaloporfirinas (50 μ M) bajo diferentes condiciones de iluminación y presencia de yoduro de potasio (KI, 100 mM).

Tratamiento	Grupo A				Grupo B				Grupo C				Grupo D			
	PS (Sin Luz)				PS (Con Luz)				PS + KI (Sin Luz)				PS + KI (Con Luz)			
	A:1	A:2	A:3	A:4	B:1	B:2	B:3	B:4	C:1	C:2	C:3	C:4	D:1	D:2	D:3	D:4
TCarPP-Zn	45.07	48.19	43.02	44.44	84.93	69.09	78.82	66.06	100	94.32	100	100	98.25	98.46	96.46	98.25
TCarPP-Sn (IV)	37.58	20.48	18.6	34.24	56.69	50.91	38.82	50.23	0.00	0.00	0.00	0.00	59.72	60.00	62.83	68.53
TBrPP-Zn	41.32	62.65	59.3	50.11	43.5	47.27	31.76	38.91	0.00	0.00	0.00	0.00	82.49	76.92	84.07	80.77
TBrPP-Sn (IV)	26.34	31.33	38.37	34.24	35.97	32.73	24.71	34.39	0.00	0.00	0.00	0.00	52.71	58.46	52.21	52.8
Control KI	2.87	6.63	3.02	9.18	4.14	2.55	3.29	3.39	2.87	6.63	3.02	9.18	4.14	2.55	3.29	3.39
Control +	81.27	71.08	79.07	89.23	71.75	79.45	80.71	73.98	83.85	100	100	85.9	73.73	82.62	85.49	79.90

Nota: PS: fotosensibilizador (metaloporfirina); KI: yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan porcentaje de inhibición (%) con cuatro réplicas

Tabla 43. Análisis de varianza de dos vías (Two-way ANOVA) para evaluar el efecto del fotosensibilizador y el tratamiento sobre la inhibición de *Pseudomonas aeruginosa*

Fuente de variación	% variación total	P valor	Resumen P	¿Significativo?
Interacción	22.22	<0.001	***	Sí
Fotosensibilizador	65.23	<0.001	***	Sí
Tratamiento	10.78	<0.001	***	Sí

Tabla ANOVA					
Fuente	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P valor
Interacción	24772	15	1651	F (15, 72) = 60,46	P<0.001
Fotosensibilizador	72720	5	14544	F (5, 72) = 532,5	P<0.001
Tratamiento	12018	3	4006	F (3, 72) = 146,7	P<0.001
Residual	1967	72	27.31	---	---
Total	111477	95	---	---	---

Nota: SS: suma de cuadrados; DF: grados de libertad; MS: media cuadrática; F: estadístico de Fisher; DFn/DFd: grados de libertad del numerador/denominador. Alpha = 0.05. Número de columnas (Tratamiento) = 4; número de filas (Fotosensibilizador) = 6; número total de valores = 96.

B.3 Datos completos de inhibición bacteriana para *Staphylococcus aureus*

Los ensayos de inhibición bacteriana para *Staphylococcus aureus* se realizaron a una concentración de 50 μM de cada metaloporfirina (TCarPP-Zn, TCarPP-Sn(IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn(IV)), evaluando la actividad fotodinámica bajo las siguientes condiciones experimentales:

- **Iluminación:** LED monocromáticas azules ($\lambda_{\text{máx}} = 470 \text{ nm}$, rango espectral 400–495 nm), con una irradiancia media de 7.4 mW/cm².
- **Dosis de luz:** 40 J/cm² (equivalente a 90 minutos de irradiación).
- **Concentración de KI:** 100 mM (cuando corresponda).

Se evaluaron cuatro condiciones experimentales: fotosensibilizador sin luz (PS – Sin Luz), fotosensibilizador con luz (PS – Con Luz), fotosensibilizador + KI sin luz (PS + KI – Sin Luz), y fotosensibilizador + KI con luz (PS + KI – Con Luz). Los resultados de inhibición bacteriana (%) se presentan en la Tabla 44 y el análisis estadístico mediante ANOVA de dos vías en la Tabla 45.

Tabla 44. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus aureus* a 1.5 h de tratamiento con metaloporfirinas (50 μ M) bajo diferentes condiciones de iluminación y presencia de yoduro de potasio (KI, 100 mM).

Tratamiento	Grupo A				Grupo B				Grupo C				Grupo D			
	PS (Sin Luz)				PS (Con Luz)				PS + KI (Sin Luz)				PS + KI (Con Luz)			
	A:1	A:2	A:3	A:4	B:1	B:2	B:3	B:4	C:1	C:2	C:3	C:4	D:1	D:2	D:3	D:4
TChrPP-Zn	65.73	77.13	68.84	47.17	69.47	59.08	76.58	75.85	68.62	66.82	57.10	63.20	98.33	98.47	98.62	98.46
TChrPP-Sn (IV)	59.68	66.74	62.91	41.51	59.29	76.98	67.21	58.94	0.00	0.00	0.00	0.00	65.61	70.72	65.61	70.72
TBrPP-Zn	65.73	41.79	54.01	50.94	57.76	69.31	64.87	63.77	0.00	0.00	0.00	0.00	80.74	75.35	80.74	75.35
TBrPP-Sn (IV)	39.52	29.31	45.10	39.62	51.65	48.85	46.14	39.61	12.57	4.82	5.34	6.34	69.56	74.93	77.99	70.72
Control KI	4.03	5.82	7.12	2.45	1.27	4.35	3.04	2.66	4.35	3.04	5.82	7.12	2.45	1.27	3.04	2.66
Control +	89.11	83.37	95.40	89.43	86.26	79.54	92.74	86.47	50.02	54.70	71.33	61.13	84.78	86.07	84.87	81.66

Nota: PS: fotosensibilizador (metaloporfirina); KI: yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan porcentaje de inhibición (%) con cuatro réplicas independientes (1–4) por condición.

Tabla 45. Análisis de varianza de dos vías (Two-way ANOVA) para evaluar el efecto del fotosensibilizador y el tratamiento sobre la inhibición de *Staphylococcus aureus*.

Fuente de variación	% variación total	P valor	Resumen P	¿Significativo?
Interacción	14.54	<0.001	***	Sí
Fotosensibilizador	57.30	<0.001	***	Sí
Tratamiento	25.76	<0.001	***	Sí

Tabla ANOVA

Fuente	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P valor
Interacción	15111	15	1007	F (15, 72) = 29.16	P<0.001
Fotosensibilizador	59548	5	11910	F (5, 72) = 344.8	P<0.001
Tratamiento	26775	3	8925	F (3, 72) = 258.4	P<0.001
Residual	2487	72	34.54	---	---
Total	103921	95	---	---	---

Nota: SS: suma de cuadrados; DF: grados de libertad; MS: media cuadrática; F: estadístico de Fisher; DFn/DFd: grados de libertad del numerador/denominador. Alpha = 0.05. Número de columnas (Tratamiento) = 4; número de filas (Fotosensibilizador) = 6; número total de valores = 96.

B.4 Datos completos de inhibición bacteriana para *Staphylococcus warneri*

Los ensayos de inhibición bacteriana para *Staphylococcus warneri* se realizaron a una concentración de 50 μM de cada metaloporfirina (TCarPP-Zn, TCarPP-Sn(IV), TBrPP-Zn y TBrPP-Sn(IV)), evaluando la actividad fotodinámica bajo las siguientes condiciones experimentales:

- **Iluminación:** LED monocromáticas azules ($\lambda_{\text{máx}} = 470 \text{ nm}$, rango espectral 400–495 nm), con una irradiancia media de 7.4 mW/cm².
- **Dosis de luz:** 40 J/cm² (equivalente a 90 minutos de irradiación).
- **Concentración de KI:** 100 mM (cuando corresponda).

Se evaluaron cuatro condiciones experimentales: fotosensibilizador sin luz (PS – Sin Luz), fotosensibilizador con luz (PS – Con Luz), fotosensibilizador + KI sin luz (PS KI – Sin Luz), y fotosensibilizador + KI con luz (PS + KI – Con Luz). Los resultados de inhibición bacteriana (%) se presentan en la Tabla 46 y el análisis estadístico mediante ANOVA de dos vías en la Tabla 47.

Tabla 46. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus warneri* a 1.5 h de tratamiento con metaloporfirinas (50 μ M) bajo diferentes condiciones de iluminación y presencia de yoduro de potasio (KI, 100 mM).

Tratamiento	Grupo A				Grupo B				Grupo C				Grupo D			
	PS (Sin Luz)				PS (Con Luz)				PS + KI (Sin Luz)				PS + KI (Con Luz)			
	A:1	A:2	A:3	A:4	B:1	B:2	B:3	B:4	C:1	C:2	C:3	C:4	D:1	D:2	D:3	D:4
TCarPP-Zn	74.26	73.91	69.77	47.33	68.32	79.13	75.82	69.28	75.90	104.37	94.59	86.11	98.34	100.00	98.24	100.00
TCarPP-Sn (IV)	48.51	46.09	48.62	56.11	54.46	47.83	45.59	45.87	8.43	8.30	5.41	5.09	65.12	60.07	61.27	59.87
TBrPP-Zn	52.48	46.09	56.17	53.18	40.59	51.30	56.17	56.11	0.00	0.00	0.00	0.00	73.42	80.04	77.11	76.59
TBrPP-Sn (IV)	30.69	37.39	38.04	38.55	34.65	42.61	36.53	37.09	3.61	8.30	8.11	6.23	65.12	70.96	52.46	74.92
Control KI	1.78	1.91	2.37	1.54	1.78	3.65	3.88	1.54	1.78	1.91	2.37	1.54	1.78	3.65	3.88	1.54
Control +	92.08	89.57	81.26	86.83	92.08	89.57	81.26	86.83	52.53	48.69	34.32	49.77	83.39	81.85	80.81	80.27

Nota: PS: fotosensibilizador (metaloporfirina); KI: yoduro de potasio (100 mM). Los valores representan porcentaje de inhibición (%) con cuatro réplicas independientes (1–4) por condición.

Tabla 47. Análisis de varianza de dos vías (Two-way ANOVA) para evaluar el efecto del fotosensibilizador y el tratamiento sobre la inhibición de *Staphylococcus warneri*.

Fuente de variación	% variación total	P valor	Resumen P	¿Significativo?
Interacción	14.35	<0.001	***	Sí
Fotosensibilizador	65.14	<0.001	***	Sí
Tratamiento	18.46	<0.001	***	Sí

Tabla ANOVA					
Fuente	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P valor
Interacción	14808	15	987.2	F (15, 72) = 33.62	P<0.001
Fotosensibilizador	67226	5	13445	F (5, 72) = 457.8	P<0.001
Tratamiento	19052	3	6351	F (3, 72) = 216.3	P<0.001
Residual	2414	72	29.37	---	---
Total	103200	95	---	---	---

Nota: SS: suma de cuadrados; DF: grados de libertad; MS: media cuadrática; F: estadístico de Fisher; DFn/DFd: grados de libertad del numerador/denominador. Alpha = 0.05. Número de columnas (Tratamiento) = 4; número de filas (Fotosensibilizador) = 6; número total de valores = 96.

B.5 Análisis estadístico: Comparaciones múltiples de Tukey

Para evaluar las diferencias significativas entre los tratamientos con fotosensibilizadores en presencia y ausencia de irradiación, así como el efecto potenciador del yoduro de potasio (KI), se realizaron comparaciones múltiples mediante el test de Tukey. A continuación, se presentan los resultados obtenidos para cada una de las cuatro cepas bacterianas estudiadas.

B.6.1 *Escherichia coli*

El análisis de comparaciones múltiples de Tukey para *E. coli* se realizó con un nivel de significancia $\alpha = 0.001$ y 276 comparaciones por familia. Los resultados más relevantes se muestran en la Tabla 48.

Tabla 48. Comparaciones múltiples de Tukey para *Escherichia coli*. Diferencias de medias e intervalos de confianza del 99.90%

Comparación	Dif. de medias	99.90% IC	¿Significativo?	Valor p ajustado
TCarbPP-Zn + KI (Sin luz) vs. TCarbPP-Zn + KI (Con luz)	-17.23	-35.82 a 1.36	No	0.0037
TCarbPP-Zn + KI (Con luz) vs. Control + (Con luz)	9.41	-9.18 a 28.00	No	0.6618
TCarbPP-Zn + KI (Con luz) vs. TCarbPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	30.43	11.84 a 49.02	Sí (****)	<0.0001
TBrPP-Zn (Sin luz) vs. TBrPP-Zn (Con luz)	-18.44	-37.03 a 0.15	No	0.0012
TBrPP-Zn + KI (Con luz) vs. TBrPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	16.33	-2.26 a 34.92	No	0.0083
TBrPP-Sn (IV) + KI (Sin luz) vs. TBrPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	-56.33	-74.92 a -37.73	Sí (****)	<0.0001

En *E. coli*, se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0.0001$) al comparar TCarbPP-Zn + KI con TCarbPP-Sn (IV) + KI bajo irradiación, así como entre las condiciones con y sin luz para TBrPP-Sn (IV) + KI. La comparación entre TCarbPP-Zn + KI (sin luz vs. con luz) mostró una tendencia cercana a la significancia ($p = 0.0037$), aunque no alcanzó el umbral establecido para el intervalo de confianza del 99.90%.

B.6.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Para *P. aeruginosa*, el análisis se realizó con $\alpha = 0.05$. Los resultados se presentan en la Tabla 49.

Tabla 49. Comparaciones múltiples de Tukey para *Pseudomonas aeruginosa*. Diferencias de medias e intervalos de confianza del 99.90%.

Comparación	Dif. de medias	99.90% IC	¿Significativo?	Valor p ajustado
TCarbPP-Zn + KI (Sin luz) vs. TCarbPP-Zn + KI (Con luz)	0.72	-13.25 a 14.70	No (ns)	>0.999
TCarbPP-Zn + KI (Con luz) vs. TCarbPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	35.09	21.11 a 49.06	Sí (***)	<0.001
TCarbPP-Zn + KI (Con luz) vs. Control + (Con luz)	17.42	3.45 a 31.40	Sí (**)	0.002
TCarbPP-Sn (IV) + KI (Sin luz) vs. TCarbPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	-62.77	-76.75 a -48.79	Sí (***)	<0.001
TBrPP-Zn + KI (Sin luz) vs. TBrPP-Zn + KI (Con luz)	-81.06	-95.04 a -67.09	Sí (***)	<0.001
TBrPP-Zn + KI (Con luz) vs. TBrPP-Sn (IV) (Con luz)	49.11	35.14 a 63.09	Sí (***)	<0.001

En *P. aeruginosa*, el efecto de la irradiación fue particularmente marcado para los complejos de estaño. TCarbPP-Sn (IV) + KI y TBrPP-Zn + KI mostraron diferencias altamente significativas entre condiciones con y sin luz ($p < 0.001$). Notablemente, TCarbPP-Zn + KI no mostró diferencias significativas por efecto de la irradiación ($p > 0.999$), sugiriendo que su actividad antimicrobiana en esta cepa es independiente de la activación lumínica cuando se combina con KI.

B.6.3 *Staphylococcus aureus*

El análisis para *S. aureus* ($\alpha = 0.05$) se presenta en la Tabla 50.

Tabla 50. Comparaciones múltiples de Tukey para *Staphylococcus aureus*. Diferencias de medias e intervalos de confianza del 99.90%.

Comparación	Dif. de medias	99.90% IC	¿Significativo?	Valor p ajustado
TCarbPP-Zn + KI (Sin luz) vs. TCarbPP-Zn + KI (Con luz)	-34.52	-50.24 a -18.81	Sí (***)	<0.001
TCarbPP-Zn + KI (Con luz) vs. TCarbPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	28.17	12.45 a 43.89	Sí (***)	<0.001
TCarbPP-Zn + KI (Con luz) vs. Control + (Con luz)	14.13	-1.59 a 29.84	No (ns)	0.137
TBrPP-Zn (Sin luz) vs. TBrPP-Zn (Con luz)	-10.81	-26.53 a 4.91	No (ns)	0.599
TBrPP-Zn + KI (Con luz) vs. TBrPP-Sn (IV) (Con luz)	35.93	20.22 a 51.65	Sí (***)	<0.001
TBrPP-Sn (IV) + KI (Sin luz) vs. TBrPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	-66.03	-81.75 a -50.32	Sí (***)	<0.001

En *S. aureus*, TCarbPP-Zn + KI mostró una potenciación significativa por efecto de la irradiación ($p < 0.001$). Sin embargo, TBrPP-Zn sin KI no presentó diferencias significativas entre condiciones con y sin luz ($p = 0.599$). Los complejos de estaño con KI mostraron nuevamente las mayores diferencias por efecto de la irradiación, con TBrPP-Sn (IV) + KI alcanzando una diferencia de medias de -66.03 .

B.6.4 *Staphylococcus warneri*

Finalmente, para *S. warneri* ($\alpha = 0.05$), los resultados se muestran en la Tabla 51.

Tabla 51. Comparaciones múltiples de Tukey para *Staphylococcus warneri*. Diferencias de medias e intervalos de confianza del 99.90%.

Comparación	Dif. de medias	99.90% IC	¿Significativo?	Valor p ajustado
TCarbPP-Zn (Sin luz) vs. TCarbPP-Zn (Con luz)	-6.82	-21.31 a 7.67	No (ns)	0.980
TCarbPP-Zn + KI (Sin luz) vs. TCarbPP-Zn + KI (Con luz)	-8.90	-23.39 a 5.59	No (ns)	0.789
TCarbPP-Zn + KI (Con luz) vs. Control + (Con luz)	17.57	3.07 a 32.06	Sí (**)	0.004
TCarbPP-Zn + KI (Con luz) vs. TCarbPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	37.56	23.07 a 52.05	Sí (***)	<0.001
TCarbPP-Sn (IV) + KI (Sin luz) vs. TCarbPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	-54.78	-69.27 a -40.28	Sí (***)	<0.001
TBrPP-Zn + KI (Sin luz) vs. TBrPP-Zn + KI (Con luz)	-76.79	-91.28 a -62.30	Sí (***)	<0.001
TBrPP-Sn (IV) + KI (Sin luz) vs. TBrPP-Sn (IV) + KI (Con luz)	-59.30	-73.79 a -44.81	Sí (***)	<0.001
TBrPP-Zn + KI (Con luz) vs. TBrPP-Sn (IV) (Con luz)	39.07	24.58 a 53.56	Sí (***)	<0.001
TBrPP-Zn + KI (Con luz) vs. Control + (Con luz)	-4.79	-19.28 a 9.70	No (ns)	>0.999

En *S. warneri*, TCarbPP-Zn (tanto solo como con KI) no mostró diferencias significativas por efecto de la irradiación ($p = 0.980$ y $p = 0.789$, respectivamente). Sin embargo, al comparar TCarbPP-Zn + KI (Con luz) contra el control positivo y contra TCarbPP-Sn (IV) + KI (Con luz), se observaron diferencias significativas ($p = 0.004$ y $p < 0.001$, respectivamente). Los complejos con KI de ambas porfirinas (TBrPP-Zn y TBrPP-Sn (IV)) mostraron las mayores potenciaciones por irradiación, con diferencias de medias superiores a 54 unidades.

GLORARIO

- ATCC: American Type Culture Collection. Colección internacional de cepas microbianas de referencia utilizadas para investigación científica y control de calidad.
- Sn y Zn: Estaño (Sn) y zinc (Zn). Metales centrales empleados en la metalación de porfirinas para modificar sus propiedades fotofísicas y fotodinámicas.
- OMS: Organización Mundial de la Salud. Agencia especializada de las Naciones Unidas responsable de la salud pública internacional.
- ARGs: Genes de resistencia a antibióticos (Antibiotic Resistance Genes). Determinan la capacidad bacteriana de resistir la acción de antimicrobianos.
- BLEE: Betalactamasas de espectro extendido. Enzimas bacterianas que hidrolizan antibióticos β -lactámicos de amplio espectro.
- *E. coli* productora de NDM-5: Cepa de *Escherichia coli* que expresa la carbapenemasa New Delhi Metallo- β -lactamasa variante 5 (NDM-5), responsable de resistencia a carbapenemes.
- MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.
- PBP2a: Proteína fijadora de penicilina alterada que confiere resistencia a β -lactámicos en MRSA.
- ESKAPE: Grupo de patógenos prioritarios: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.
- TFA / aPDT: Terapia Fotodinámica Antimicrobiana (Antimicrobial Photodynamic Therapy).
- ROS: Especies reactivas de oxígeno (Reactive Oxygen Species).
- RAM: Resistencia antimicrobiana.
- β -lactámico: Familia de antibióticos que poseen un anillo β -lactámico en su estructura química.

- CRISPR-Cas: Sistema bacteriano de edición genética adaptativa utilizado en biotecnología.
- $^1\text{O}_2$: Oxígeno singlete, especie excitada altamente reactiva generada durante la PDT.
- INS Colombia: Instituto Nacional de Salud de Colombia.
- PS: Fotosensibilizadores.
- LED: Diodo emisor de luz.
- $\text{O}_2(3\Sigma^-)$: Oxígeno molecular en su estado fundamental triplete.
- PDT: Terapia Fotodinámica.
- CD4 / CD8: Subpoblaciones de linfocitos T: CD4 activadores y CD8 citotóxicos.
- DAMPs: Patrones Moleculares Asociados a Daño.
- $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\bullet\text{OH}$, H_2O_2 : Superóxido, radical hidroxilo y peróxido de hidrógeno.
- Diagrama de Jablonski: Representación de los estados energéticos del PS: del singlete fundamental (1PS) al singlete excitado (1PS^*) y cruce intersistema al triplete (3PS^*).
- ADN / ARN: Ácido desoxirribonucleico y ácido ribonucleico.
- EPS: Matriz extracelular polimérica de biopelículas.
- eDNA: ADN extracelular presente en biopelículas.
- 600 nm: Longitud de onda en la región roja del espectro visible.
- 2--3 cm: Profundidad aproximada de penetración de la luz roja en tejidos biológicos.
- VRE: Enterococos resistentes a vancomicina.
- P450: Familia de enzimas citocromo P450 involucradas en procesos redox.
- B12 (Co-porfirina): Vitamina B12 con núcleo corrinoide similar a porfirinas.

- 8 Å: Distancia molecular (ångström).
- Química click (CuAAC): Cicloadición azida-alquino catalizada por cobre.
- Pd-catalizados: Reacciones de acoplamiento carbono-carbono catalizadas por paladio.
- PEG: Polietilenglicol.
- ΦF : Rendimiento cuántico de fluorescencia.
- $\Phi \Delta$: Rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete.
- $ZnCl_2$ y $SnCl_2$: Cloruros metálicos usados para metalación de porfirinas.
- TBrPP: 5,10,15,20-tetrakis(4-bromofenil)porfirina.
- TCarbPP: 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina.
- UV-Vis: Espectroscopía ultravioleta-visible.
- DMF: Dimetilformamida.
- FT-IR: Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.
- DPBF: 1,3-difenilisobenzofurano, sonda química para detectar 1O_2 .
- H₂TPP: 5,10,15,20-tetrafenilporfirina.
- NaOH: Hidróxido de sodio.
- PTI-UM 40: Fluorómetro utilizado para mediciones de fluorescencia.
- LPS: Lipopolisacárido aniónico presente en bacterias Gram negativas.
- OmpF / OmpC: Porinas de membrana externa en bacterias Gram negativas.
- ITU: Infección del tracto urinario.
- MexAB-OprM: Sistema de bomba de eflujo en *P. aeruginosa*.
- SnTMPyP: Porphirina catiónica metalada con estaño.

- *mecA* / *SCCmec IV*: Gen y cassette cromosómico responsables de la resistencia a meticilina en MRSA.
- J cm⁻²: Densidad de energía luminosa.
- μm : Micrómetro.
- OD600: Densidad óptica medida a 600 nm para estimar crecimiento bacteriano.
- CIM / CBM: Concentración inhibitoria mínima y concentración bactericida mínima
- PBS pH 7.4: Buffer fosfato salino.
- $\lambda_{\text{max}} = 470 \text{ nm}$: Longitud de onda máxima de absorción.
- DHT22: Sensor digital de temperatura y humedad
- REX-C100: Controlador digital de temperatura.
- LB cation-ajustado: Medio Luria-Bertani con ajuste de cationes, pH 7.3 ± 0.1 .
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- UFC mL⁻¹: Unidades formadoras de colonias por mililitro.