



XXIII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CM-034 (ID: 935)

Autor: Mussin, Javier Esteban

Título: Nanopartículas de plata y su potencial antifúngico

Director:

Palabras clave: Fitonanotecnología, Conyza bonariensis, Candida albicans

Área de Beca: Cs. De La Salud

Tipo Beca: Cofinanciadas Doctorales

Periodo: 01/04/2015 al 01/04/2020

Lugar de trabajo: Imr - Instituto De Medicina Regional

Proyecto: (13L001) Evaluación de la sensibilidad in vitro de especies de Malassezia frente a antifúngicos de uso clínico.

Resumen:

Las especies de *Candida* son frecuentes agentes de infecciones superficiales y en la práctica clínica existe un escaso número de agentes antifúngicos disponibles, los cuales vienen asociados a diversas complicaciones.

La nanotecnología es un importante campo de investigación moderno que se basa en la síntesis y manipulación de la estructura de partículas que van desde 1 a 100 nm de tamaño, llamadas comúnmente nanopartículas (NP). Las NP de metales nobles presentan a menudo propiedades biológicas, físicas y químicas distintas en comparación con sus homólogos en escala macro, mostrando una alta relación superficie-volumen con la disminución del tamaño de las mismas. Entre los diferentes metales nobles, con propiedades antimicrobianas, la plata (Ag) es el más ampliamente estudiado siendo el de acción antimicrobiana más eficaz y el menos tóxico para las células animales. A medida que aumenta la superficie específica de las NP, su eficacia antimicrobiana aumenta, por lo que representan una alternativa terapéutica contra la creciente resistencia microbiana, así como también, contra las diversas complicaciones asociadas al uso de antimicrobianos.

Las NP generalmente se preparan mediante una variedad de procesos físicos y químicos que son costosos y afectan el medio ambiente. Por otro lado, se busca aplicar estas NP en productos que están en contacto con el cuerpo humano, por lo que hay una creciente necesidad de desarrollar procesos de síntesis amigables con el ambiente en los cuales no se utilicen compuestos tóxicos como en la mayoría de los protocolos de síntesis química. Por tal motivo, la fitonanotecnología emerge en respuesta a estas necesidades como un método de síntesis verde en la cual se emplean plantas para la síntesis de NP, como una tecnología respetuosa con el medio ambiente.

Conyza bonariensis (L.) Cronquist (*C. bonariensis*) es una maleza de la familia Asteraceae, nativa de América del Sur, utilizada por los nativos de los pueblos originarios del noreste argentino (NEA) para la desinfección de heridas y úlceras de la piel.

Esta investigación tuvo como objetivo aprovechar una hierba perenne ampliamente distribuida en América del Sur y de fácil acceso, para la síntesis verde de NP con los beneficios antes descritos y abrir el camino hacia una nueva terapia antifúngica tópica, eficaz y de menor costo para el manejo de las micosis superficiales.

Se utilizaron hojas de *C. bonariensis*. Las plantas fueron cosechadas a mano y secadas a temperatura ambiente protegidas de la luz solar e identificadas por el Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE). La recolección de las hierbas se realizó en zonas alejadas de la polución urbana y de los cultivos agrícolas. Posteriormente, se separaron las hojas del resto de la planta, descartando las partes contaminadas o enfermas y se procedió a la obtención del extracto acuoso.

Para preparar el extracto acuoso se colocó 5 g de hojas completamente lavadas y finamente cortadas en un matraz de 250 mL, al cual se adicionaron 100 mL de agua destilada estéril, para luego llevar la mezcla a ebullición durante 5 min. Inmediatamente el extracto se filtró y almacenó a 4°C.

Para la síntesis de las AgNP se agregaron 10 mL del extracto a 190 mL de una solución acuosa de nitrato de plata 1 mM, el proceso se llevó cabo a una temperatura controlada de 95°C, durante 1 hora. La solución de AgNP así obtenida se purificó por centrifugación y resuspensión del sedimento, a 15.000 rpm durante 20 min.

Las AgNP sintetizadas se diluyeron en agua desmineralizada estéril y la solución fue escaneada periódicamente en un rango de longitud de onda entre 350-700 nm usando un espectrofotómetro UV-visible. La reducción de Ag⁺ a Ag⁰ se confirmó por el cambio de color de la solución de un marrón claro a un marrón oscuro. La caracterización espectrofotométrica de las AgNP mostró que estas fueron estables por 16 días y que presentaban un diámetro promedio de alrededor de 70 nm.

La actividad inhibitoria in vitro de las AgNP se determinó por el método de difusión con discos, siguiendo el protocolo estándar de referencia M44-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute frente a la cepa de referencia *Candida albicans* ATCC 90028. Se empleó un disco de 9 mm de diámetro cargado con 50 uL de la solución madre de AgNP y otro con 50 uL de una dilución al medio de la misma. Como control de las condiciones de cultivo se utilizó una tableta de 25 ug de fluconazol (Neo-Sensitabs, Rosco Diagnostica). La prueba de inhibición in vitro demostró que las AgNP sintetizadas tienen actividad antifúngica frente a *Candida albicans* ATCC 90028; y que las condiciones estandarizadas fueron las adecuadas.

El potencial inhibitorio observado constituye una prueba preliminar que avala científicamente ahondar en la investigación para la elaboración de un fármaco de acción tópica con propiedades antifúngicas, sintetizado a partir de componentes de origen natural y de

posible aplicación en medicina humana y veterinaria.