VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Evaluación de la eficacia de un sistema de administración de antifúngicos mediante nanopartículas contra *Candida albicans*

Evaluation of the efficacy of a nanoparticle-based antifungal delivery drug system against *Candida albicans*

Rut Siloé Hernández-Contreras, Natalia Pérez-Cortés, Briana Julieta Quintanilla-Olvera, José Francisco López-Pérez, Lérida Liss Flores-Villavicencio, Julio César Villagómez-Castro*

Departamento de Biología, DCNE, Universidad de Guanajuato. Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, 36050, México | * castroj@ugto.mx

Resumen

La resistencia a los fármacos antifúngicos es una problemática de salud pública a nivel mundial que se ha incrementado en los últimos años. *Candida albicans*, hongo de importancia médica dada su prevalencia, ha sido clasificada, por la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el grupo de atención critica de los patógenos fúngicos. Por ello, se ha impulsado el desarrollo de nuevos fármacos y sistemas de liberación de fármacos que permitan mejorar la eficacia terapéutica de los tratamientos antifúngicos. En ese sentido, en el presente trabajo se evaluó la efectividad de un sistema de administración de antifúngicos mediante nanopartículas de albúmina cargadas con fluconazol (Fluc-BSA-NPs). Las nanopartículas, de forma geométrica esférica, con un tamaño promedio de 84 ± 24 nm y un potencial Z de -10.9 ± 0.3 mV; fueron evaluadas contra *C. albicans* para determinar la susceptibilidad microbiana mediante ensayos de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la interacción levadura-nanopartícula (NPs) con microscopía confocal (LSCM), asimismo, se evaluó su citotoxicidad en una línea celular humana (SH-SY5Y) determinando el metabolismo mitocondrial por la reducción del azul de tetrazolio (XTT) y la interacción células-NPs con microscopía confocal (LSCM). Experimentalmente, no se obtuvo la MIC, aún con la concentración más alta evaluada de Fluc-BSA-NPs (67.8 µg de proteína), sin embargo, realizando una extrapolación matemática se estimó que se necesita una concentración de 118.32 µg de proteína de las Fluc-BSA-NPs para alcanzarla. El análisis cualitativo de la interacción levadura-NPs mediante LSCM mostró una interacción de las NPs con la pared celular de *C. albicans* y una internalización por parte de la levadura a las 16 h de exposición. Los ensayos preliminares de citotoxicidad en la línea celular SH-SY5Y no mostraron que existiera un comportamiento citotóxico aún a las 24 horas de exposición. El análisis cualitativo de la interacción de esta línea celular con las Fluc-BSA-NPs mediante microscopía confocal mostro su interacción con la membrana plasmática y posterior internalización. Los resultados obtenidos sugieren que las nanopartículas cargadas con fluconazol poseen una aplicación potencial como sistema de administración de antifúngicos, aunque se requieren concentraciones mayores y estudios adicionales para confirmar su eficacia y seguridad.

Palabras clave: Candidiasis, resistencia antifúngica, azoles, nanopartículas de albúmina, sistema de administración de fármacos.

Introducción.

C. albicans es un hongo patógeno oportunista nicho-específico que forma parte del microbioma en tejidos mucosos humanos tales como la cavidad oral, la mucosa gastrointestinal y la mucosa vaginal (Sahoo *et al*., 2025). Sin embargo, un cambio en el microbioma del hospedero, comúnmente asociado al uso extensivo y/o abuso de antibióticos, o bien, a una disfunción del sistema inmune (por estrés, tratamiento inmunosupresor o quimioterapia) puede provocar una proliferación excesiva de este hongo y su transformación fenotípica de levadura a micelio, es decir, de un estadio comensal a uno patogénico. (Gao *et al*., 2024).

La infección sistémica por *C. albicans* supone un riesgo significativo para las personas inmunocomprometidas, presentando una tasa de mortalidad de hasta el 60%. Las opciones terapéuticas actuales presentan varias limitaciones, entre ellas: una tolerancia creciente a los fármacos, efectos sobre el microbioma normal y reacciones adversas graves. (Gao, *et al.,* 2024). En ese sentido, en 2022 la Organización

Mundial de la Salud (OMS) clasificó a los principales patógenos fúngicos en tres niveles: crítico, alto y medio; tomando como prioridad a los organismos patógenos que pueden causar infecciones sistémicas invasivas y para los que existe resistencia a los fármacos y retos relacionados con el tratamiento. En dicha clasificación, *C. albicans* fue ubicada en el grupo crítico, dada su prevalencia en las infecciones causadas por organismos pertenecientes a dicho género (WHO, 2022).

Por lo anterior, se tiene la necesidad de desarrollar nuevas terapias para el tratamiento de este tipo de infecciones; tales como los sistemas de administración basados en nanopartículas (NPs) de tipo proteicas, como la albúmina sérica, la ferritina, la gelatina, entre otras. Estas han suscitado un gran interés como estrategia de administración de fármacos debido a su biodisponibilidad, biodegradabilidad y bajo o nula citotoxicidad. La albúmina sérica humana (ASH) es una proteína globular que se encuentra en el sistema circulatorio y está compuesta por 585 aminoácidos; tiene propiedades únicas como la presencia de aminoácidos cargados y de dominios hidrofílicos e hidrofóbicos que le permiten unirse y transportar diferentes polímeros, ligandos, metabolitos y/o fármacos; convirtiéndola en un potencial acarreador (Zwain *et al*., 2022; Qu, *et al.,* 2024).

De hecho, desde los inicios de los 2000's, las nanopartículas de albúmina han ganado mayor atención en su uso y aplicación médica, en terapias antivirales, terapias antiinflamatorias y, mayoritariamente, en terapias antitumorales; aprovechando características como una farmacocinética favorable, su baja citotoxicidad, la mejora de la biodisponibilidad, la reducción de la toxicidad del fármaco, la facilidad para la incorporación de agentes terapéuticos, así como su alta capacidad de carga y la facilidad de liberación controlada para emplearse como nuevos sistemas para acarrear fármacos. (Qu, *et al.,* 2024).

Mencionado lo anterior, en este trabajo se comparó la eficiencia de la actividad antifúngica, de un sistema de administración de fármacos, con nanopartículas de albúmina sérica cargadas con fluconazol (Fluc-BSA-NPs) frente al fármaco libre en una cepa de *C. albicans*.

Materiales y métodos

Nanopartículas de albúmina

Las Fluc-BSA-NPs y las nanopartículas de albúmina sérica cargadas con fluconazol y Rodamina 6 G (Fluc-R6G-BSA-NPs) fueron proporcionadas en el laboratorio del Dr. Julio César Villagómez Castro, las cuales presentaban de forma geométrica esférica, con un tamaño promedio de 84 ± 24 nm y un potencial Z de -10.9 ± 0.3 mV (López Pérez, Tesis de Maestría en Ciencias Biología, UG, 2026). La Rodamina 6 G (R6G) fue usada como sonda fluorescente de marcaje de las Fluc-R6G-BSA-NPs, para la localización de estas mediante microscopía confocal de escaneo por láser (*LSCM*, Laser Scanning Confocal Microscopy) durante los ensayos de interacción con las levaduras de C*. albicans.*

Ensayos biológicos

Cultivo de *C. albicans*

El aislado clínico de *C. albicans* mantenido en el laboratorio por más de 15 años, fue cultivado en medio líquido de extracto de levadura-peptona-dextrosa (YPD; 0.3:1:2 % peso volumen, respectivamente), pH 7.2 a 35 ± 2 °C o bien, en medio solido adicionado con agar al 2 % p/v.

Evaluación de la susceptibilidad antifúngica de las Fluc-BSA-NPs

La evaluación de la susceptibilidad antifúngica de las Fluc-BSA-NPs contra levaduras de *C. albicans* se llevó a cabo mediante ensayos de la concentración mínima inhibitoria (CMI), siguiendo el protocolo M27-A3 del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) con ligeras modificaciones. Brevemente, a partir de un cultivo de en agar YPD de *C. albicans* de 24 h, se seleccionó una sola colonia y se inoculó en YPD líquido, el cual fue incubado durante 14 - 16 h a 35 ± 2 °C y 200 rpm (agitación orbital). Posteriormente, se determinó la densidad óptica a 530 nm (DO_{530}) y se preparó un cultivo

planctónico con un inóculo de $1x10^5$ levaduras/mL en medio líquido YPD pH 7.2. Se prepararon diluciones dobles seriadas del fármaco libre o de las Fluc-BSA-NPss en una placa de 96 pozos para evaluar la susceptibilidad antifúngica frente a 100 µL del inóculo fúngico, empleando como controles: a) células no expuestas al fármaco o las NPs, b) NPs o fármaco libre (fluconazol, Sigma-Aldrich, Cat no. PHR1160), en diluciones seriadas en medio YPD líquido, las cuales se usaron como blanco durante la determinación espectrofotométrica. Las concentraciones más altas ensayadas fueron de 67.8 µg de proteína para las NPs y de 600 µg/mL para el fármaco libre. La placas se incubaron durante 24 h a 35 ± 2 °C y 200 rpm (agitación orbital). Al terminar el tiempo de incubación, se cuantificó la DO_{530} en un espectrómetro UV-Visible (Epoch BioTek Instruments, Inc.) con el software Gen5TM All-In-One Microplate Reader para determinar la CMI. Se realizaron al menos tres replicas biológicas independientes.

Interacción entre las Fluc-R6G-BSA-NPs con *C. albicans*

La interacción de las levaduras de *C. albicans* con las Fluc-R6G-BSA-NPs se evaluó mediante microscopía confocal de escaneo por láser (*LSCM*, Laser Scanning Confocal Microscopy), utilizando un microscopio confocal láser de barrido invertido LSM 780 (Carl Zeiss, Alemania). Brevemente, a partir de un cultivo planctónico de *C. albicans* (14 -16 h, 35 ± 2 °C, 200 rpm (agitación orbital)), se incubaron $1x10^5$ levaduras/mL en medio líquido YPD pH 7.2 con Fluc-R6G-BSA-NPs (concentración de 65.46 µg/mL) y se incubaron a 35 ± 2 °C durante 30 min, 60 min y 16 h a 10 rpm (agitación orbital). Posteriormente, se tomó una alícuota de 10 µL de la muestra y se colocó sobre un portaobjetos limpio, además, se colocaron 10 µL de blanco de Calcoflúor (Sigma-Aldrich, Cat no. 18909) como colorante secundario de contraste para la tinción de la pared celular fúngica. Finalmente, se colocó un cubreobjetos de 18 x 18 mm y se sellaron con barniz transparente de uñas.

Evaluación de la citotoxicidad

Cultivo celular

La línea celular de neuroblastoma humano (SH-SY5Y, ATCC® CRL-2266™) fue cultivada en frascos de cultivo celular de cuello inclinado de 75 cm² (Corning) con medio RPMI 1640 (Gibco, USA) suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB) (Gibco, USA), e incubada a 37 °C en una atmósfera de 95 % de aire 5 % de CO_2, hasta una confluencia celular de 60-80%.

Exposición de las células a las Fluc-BSA-NPs

Las células fueron expuestas a 10 diferentes concentraciones de las Fluc-BSA-NPs (200 - 0.39 µg). Brevemente, se sembraron $1x10^5$ células/mL en placas de 96 pozos, y se incubaron durante 24 h a 37 °C en una atmósfera de 95 % de aire 5 % de CO_2. Posteriormente, se expusieron a las Fluc-BSA-NPs (concentración más alta de 200 µg), mediante diluciones seriadas, y se incubaron durante 24 h a 37 °C en una atmósfera de 95 % de aire 5 % de CO_2, empleando como control: a) células no expuestas. Se realizaron al menos dos réplicas biológicas independientes.

Determinación de la actividad metabólica mitocondrial por el ensayo de XTT

Al terminar el tiempo de exposición de las células a las Fluc-BSA-NPs, se cuantificó la actividad metabólica mitocondrial de las células mediante el ensayo de reducción de la 2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolio-5-carboxanilida (XTT). De manera general, se adicionaron 100 µL de una solución de XTT (0.25 mg/mL en 0.1 mM de menadiona; Sigma-Aldrich) por cada pozo y se incubó a 37 °C por 90 minutos, en una atmósfera de 95 % de aire 5 % de CO_2. La reducción del XTT por parte de las células da lugar a la formación de un producto soluble en agua, sales de formazán, el cual fue cuantificado espectrofotométricamente a 490 nm en un espectrómetro UV-Visible (Epoch BioTek Instruments, Inc.) con el software Gen5TM All-In-One Microplate Reader.

Interacción entre las Fluc-R6G-BSA-NPs con la línea celular de neuroblastoma humano (SH-SY5Y)

La interacción de las células de neuroblastoma humano con las Fluc-R6G-BSA-NPs se evaluó mediante microscopía confocal de escaneo por láser (*LSCM*, Laser Scanning Confocal Microscopy), utilizando un microscopio confocal láser de barrido invertido LSM 780 (Carl Zeiss, Alemania). Brevemente, se incubaron $1x10^5$ células/mL sobre cubreobjetos de 18 x 18 mm en medio RPMI 1640 (Gibco, USA) suplementado con 10 % de SFB (Gibco, USA), e incubadas a 37 °C en una atmósfera de 95 % de aire 5 % de CO_2 durante 24 h. Posteriormente, las células fueron expuestas con las Fluc-R6G-BSA-NPs (170 µg) y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Al finalizar, se removió el medio y se lavaron las células con solución buffer de fosfatos (PBS) pH 7.4 y se colocaron sobre un portaobjetos limpio, y se sellaron con barniz transparente de uñas.

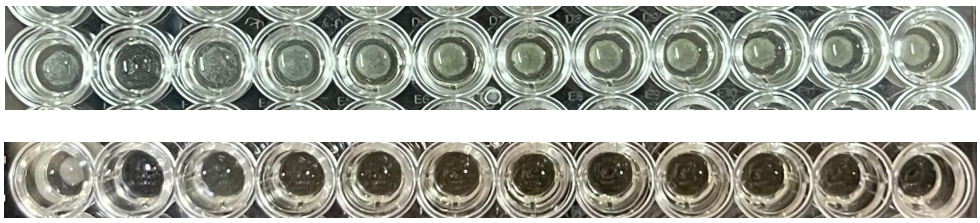
Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk y los gráficos Q-Q para evaluar la normalidad de los datos. En la comparación de los valores obtenidos de la determinación de la CMI se aplicó un Análisis de varianza (ANOVA) de una vía, y una prueba post-hoc de Dunnet para comparar los tratamientos con el control de crecimiento. La significancia estadística se evaluó usando un umbral de p-valor ≤ 0.05.

Resultados y discusión

Análisis de la susceptibilidad fúngica de las Fluc-BSA-NPs

Para evaluar la posible actividad antifúngica de las Fluc-BSA-NPs frente a *C. albicans* se determinó la CMI en un aislado clínico de *C. albicans*. Los resultados obtenidos mostraron que a concentraciones de entre 67.8 y 0.13 µg de Fluc-BSA-NPs no se encontró, de manera visual ni espectroscópicamente, una concentración capaz de inhibir el crecimiento de *C. albicans* (Figura 1; Gráfico 1), por lo que no fue posible establecer experimentalmente una CMI (CMI 50). Es importante mencionar que para derivados azólicos se considera una CMI cuando se alcanza una inhibición del crecimiento fúngico ≥ 50 acorde con el protocolo M27-A3 del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI). Sin embargo, con base a la tendencia obtenida se realizó una extrapolación del comportamiento de la curva, buscando estimar la concentración de Fluc-BSA-NPs necesaria para lograr la inhibición del crecimiento. Según los cálculos, se estima que a una concentración aproximada de 118.32 µg de Fluc BSA NPs se observaría la inhibición de *C. albicans.*



(a)

(b)

Figura 1. Resultados de la microplaca con ensayo de concentración mínima inhibitoria (CMI) tras 24 horas de incubación a 37 °C. Panel a) interacción de C. albicans con Fluc-BSA-NPs; panel b) diluciones de Fluc-BSA-NPs en ausencia de C. albicans. Columnas 1 y 2 controles positivo y negativo de crecimiento fúngico. Columnas 3 a 12 concentraciones seriadas de Fluc-BSA-NPs de mayor a menor (67.8 µg a 0.13 µg de proteína).

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

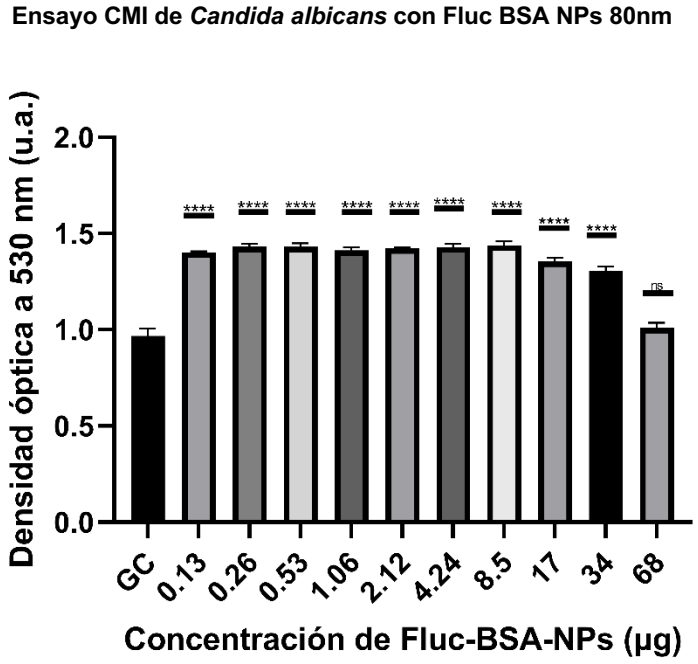


Gráfico 1. Determinación experimental de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de las Fluc BSA NPs frente a Candida albicans.

La ausencia de inhibición (CMI 50) dentro del intervalo evaluado sugiere que la concentración máxima ensayada fue insuficiente para alcanzar el efecto inhibitorio en el cultivo fúngico. Se ha descrito que la actividad farmacológica de las nanopartículas depende de factores como cantidad de fármaco, eficiencia de encapsulación y la eficacia en la liberación del principio activo e internalización en el organismo (Qu,et al., 2024). Por otro lado, se ha reportado en la literatura que la albúmina presente en el hospedero puede ser degradada por las aspartil-proteasas secretadas (Sap) de *C. albicans* durante el proceso de infección, proporcionando así aminoácidos y péptidos que van a favorecer su crecimiento en ambientes donde los nutrientes son limitados. (Barbosa *et al*., 2024). La mayor densidad óptica observada en la interacción Fluc-BSA-NPs con las levaduras de *C. albicans,* en el rango de concentración de 0.13 a 34 µg de proteína, sugiere que este crecimiento pudiese ser debido a la hidrolisis de la albumina por las hidrolasas fúngicas, secretadas e intracelulares y, aprovechados los aminoácidos para el crecimiento del hongo. Particularmente, en la concentración máxima utilizada en este trabajo, no se observó incremento en el crecimiento del hongo, sugiriendo un posible equilibrio entre la degradación de la albumina (aprovechamiento de aminoácidos por el hongo) y la inhibición debida al fluconazol liberado de las nanopartículas: adsorbidas a su membrana, hidrolizadas en el exterior celular o en el interior celular luego de ser introducidas a la levadura; si bien, esta cantidad e fluconazol no fue suficiente para inhibir el crecimiento, si lo fue para mantener estático el cultivo.

Exposición de *C. albicans* a las Fluc-BSA-NPs

El uso de la Rodamina 6G (R6G) como un marcador de las NPs permitió localizarlas durante su interacción con las levaduras. Adicionalmente, el blanco de calcoflúor (CW) adicionado como un marcador de contraste, permitió visualizar la pared celular de las levaduras de *C. albicans* durante su interacción. El análisis de las micrografías mostró a los 30 minutos de interacción entre las Fluc-R6G-BSA-NPs y las levaduras, el contacto inicial entre las nanopartículas y la superficie de la pared celular de *C. albicans* (Figura 2, panel a - d), sin una aparente internalización de las NPs por las células, como se observa en la combinación de marcadores o Merge (Figura 2., paneles e – h); y en el plano z o Z-stack (Figura 2, panel f – h).

ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

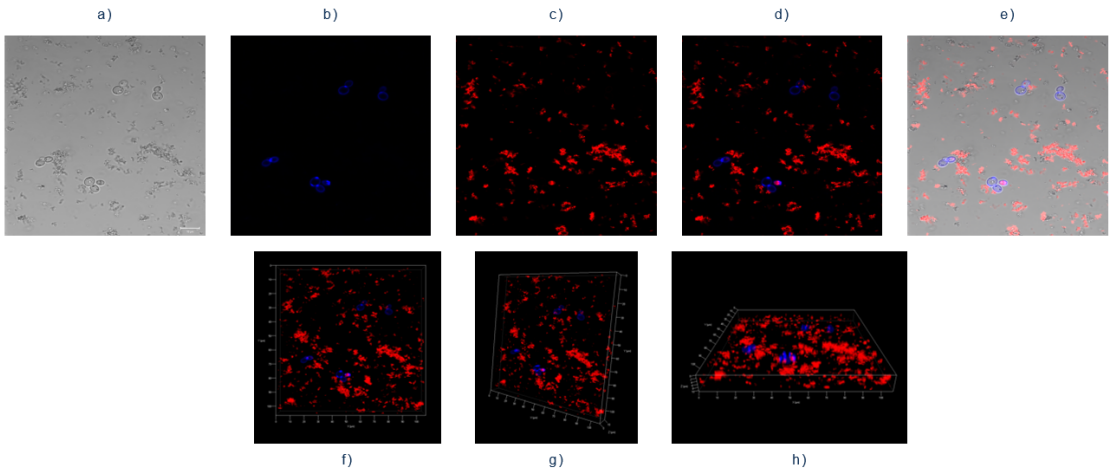


Figura 2. Interacción de las Fluc-R6G-BSA-NPs con levaduras de C. albicans a los 30 minutos de exposición. La pared celular de C. albicans se tiñó con el colorante secundario CW (azul) y las Fluc-R6G-BSA-NPs se visualizaron mediante la R6G (rojo). (a) Campo claro, (b) blanco de calcoflúor, (c) Rodamina 6 G. (d) Merge. (e) Merge. (f, g y h) Z-stack

A los 60 minutos de incubación, la interacción entre las nanopartículas y las levaduras se vio incrementada con base en la fluorescencia de las nanopartículas que rodean la pared celular de las levaduras, sugiriendo una mayor proximidad y asociación de las Fluc-R6G-BSA-NPs con la superficie de *C. albicans* (Figura 3, paneles a - e), sin la aparente internalización de las NPs (Figura 3, paneles f – h)..

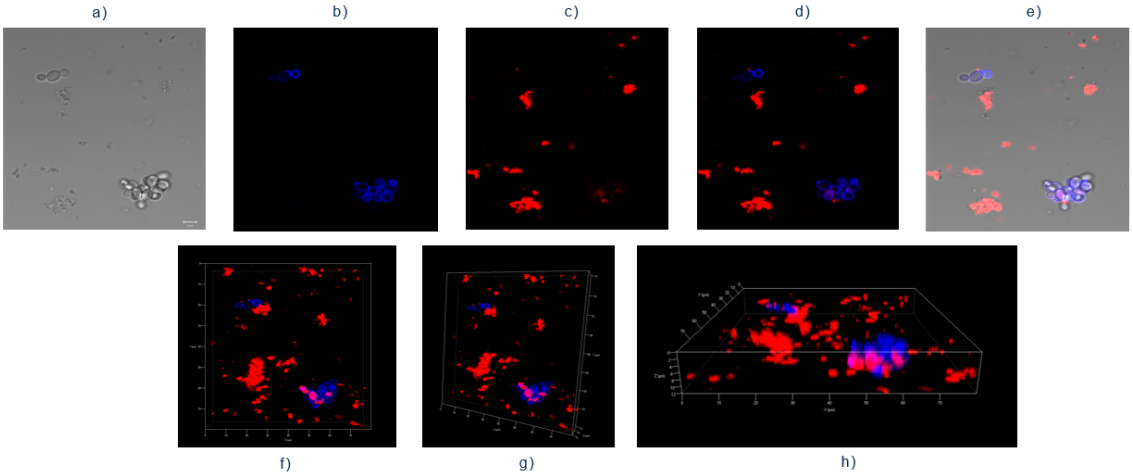


Figura 3. Interacción de las Fluc-R6G-BSA-NPs con levaduras de C. albicans a los 60 minutos de exposición. La pared celular de C. albicans se tiñó con el colorante secundario CW (azul) y las Fluc-R6G-BSA-NPs se visualizaron mediante la R6G (rojo). (a) Campo claro, (b) blanco de calcoflúor, (c) Rodamina 6 G, (d) y (e) Merge, (f, g y h) Merge Z-stack

Tras las 16 horas de exposición, se observó que una parte de las Fluc-R6G-BSA-NPs permanecen en interacción con la pared celular de la levadura, sin embargo, el análisis de las secciones ópticas en diferente planos focales (eje Z) con el Z-stack permitió visualizar la internalización de algunas de las nanopartículas en las levaduras (Figura 4).

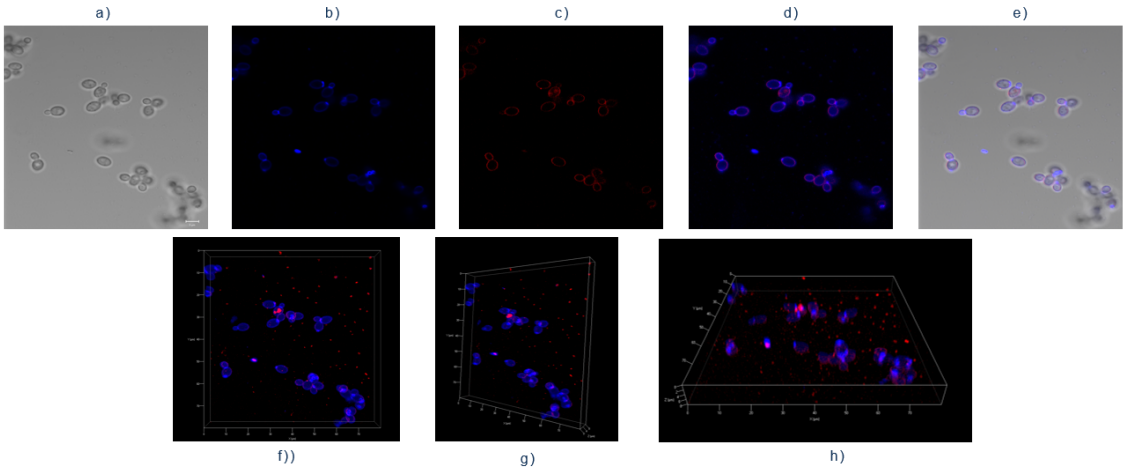


Figura 4. Interacción de las Fluc-R6G-BSA-NPs con levaduras de C. albicans a las 16 h de exposición. La pared celular de C. albicans se tiñó con el colorante secundario CW (azul) y las Fluc-R6G-BSA-NPs se visualizaron mediante la R6G (rojo). (a) Campo claro, (b) blanco de calcoflúor, (c) Rodamina 6 G, (d) y (e) Merge, (f, g y h) Merge Z-stack

Estos hallazgos durante los 30 min, 60 min y 16 h de exposición nos indican que la interacción y la internalización dependen del tiempo en que estuvieron expuestas las células levaduriformes de *C. albicans* a las Fluc-R6G-BSA-NPs. Es importante mencionar que el tamaño de las NPs pudiese estar influenciando en la interacción y la internalización, pues se ha reportado que NPs con un tamaño como las evaluadas en este trabajo pueden ser internalizadas por macrófagos mediante fagocitosis o pinocitosis, dependiendo de la naturaleza de las NPs y ambiente durante su interacción (Sousa de Almeida *et al*., 2021), si bien, un aspecto a considerar es la barrera física que representa en *C. albicans* su pared celular, que podría ser un mecanismo de retardo de la internalización de las nanopartículas por la levadura.

Análisis de la citotoxicidad celular de las Fluc-BSA-NPs en la línea celular SH-SY5Y

Los resultados preliminares del ensayo XTT mostraron que las Fluc-BSA-NPs no presentan un efecto citotóxico de estas sobre la línea celular SH-SY5Y a las 24 horas de exposición (Gráfico 2). El incremento observado en la reducción del XTT (incremento en la D.O. 490 nm) conforme se incrementó la concentración de Fluc-BSA-NPs en el ensayo de interacción se puede explicar como un incremento en la actividad metabólica mitocondrial celular, o bien, a un incremento en el número de células en el ensayo. La posible proliferación de las células, se podría explicar por la internalización de las nanopartículas (Figura 5) y su metabolismo, utilizando probablemente a la albúmina como fuente de nutrientes, al ser una proteína fácilmente hidrolizable y fuente de aminoácidos que pueden ser utilizado en el metabolismo celular y síntesis proteica; o bien, con base a la capacidad antioxidante que se ha descrito para esta proteína en el entorno celular, protegiendo la superficie celular de especies reactivas de oxígeno (Francis, 2010). Adicionalmente, debido al mecanismo de acción del fluconazol, cuya diana terapéutica es la enzima 14-α-desmetilasa, que participa en la conversión del lanosterol en ergosterol (Janowski *et al*., 2024), no se esperaría un efecto tóxico ya que esta enzima no está presente en células humanas. No obstante, se requieren experimentos adicionales para confirmar completamente que estas NPs no son citotóxicas.

ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

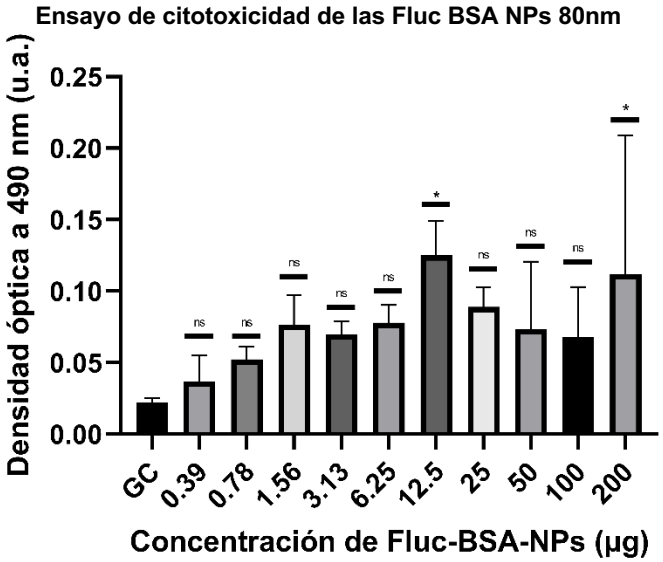


Gráfico 2. Resultados preliminares del ensayo de actividad metabólica mitocondrial de la línea celular SH-SY5Y tras 24 h de interacción con las Fluc-BSA-NPs. No se destaca una diferencia significativa con la del grupo control (GC)

Adicionalmente al ensayo de citotoxicidad de las Fluc-R6G-BSA-NPs sobre las células de neuroblastoma humano utilizadas (línea celular SH-SY5Y), se realizó el análisis microscópico de la interacción de las NPs con estas células, Figura 5. Las microfotografías (Figura 5, panel a – c) muestran la interacción de las NPs con las células y su internalización (Figura 5, panel d). Confirmando que en el momento que se realizó el ensayo de citotoxicidad las NPs se encontraban en el interior celular sin causar, aparentemente daño a las células, sino más bien incrementando su metabolismo (Gráfica 2).

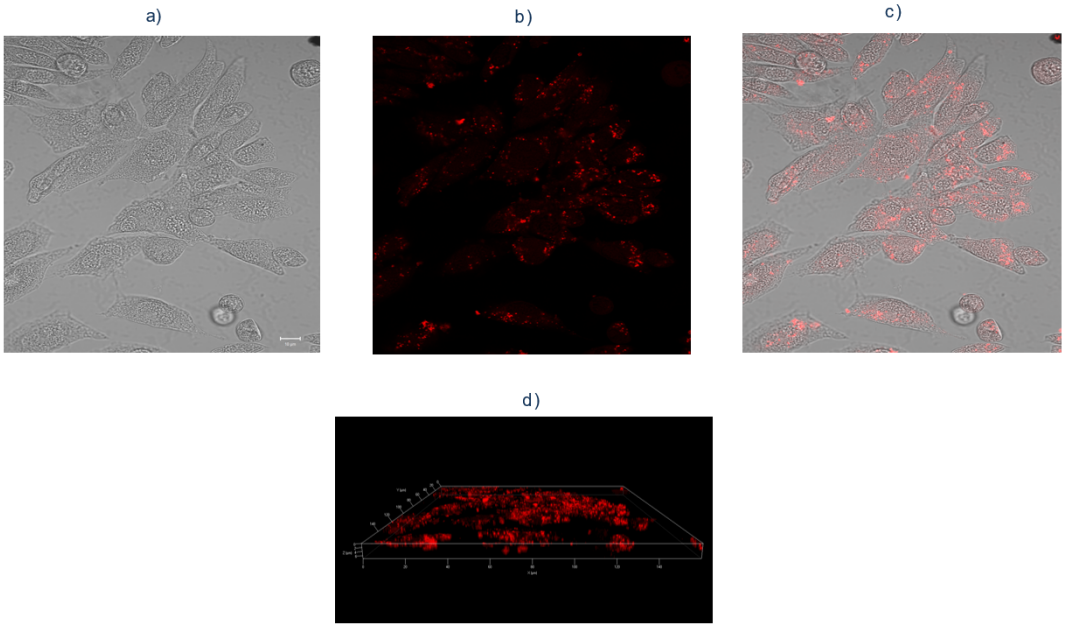


Figura 5. Interacción de las Fluc-R6G-BSA-NPs con células de la línea celular humana SH-SY5Y a las 24 horas de exposición. Las NPs se visualizaron mediante R6G (rojo). En las imágenes se percibe la interacción e internalización de las NPs. (a) Campo claro, (b) Fluorescencia, (c) Merge, (d) Z-stack

De manera cualitativa, comparando los resultados de la interacción de las nanopartículas ensayadas con las levaduras y las células humanas, se observa una mayor internalización por parte de las células humanas, lo cual pudiese estar relacionado con la ausencia de una pared celular en estas, como se mencionó anteriormente.

Conclusión

En este proyecto se evidenció una interacción de las nanopartículas Fluc-R6G-BSA-NPs con la pared celular fúngica, a partir de los 30 minutos de interacción y, su internalización en las levaduras a las 16 horas de exposición. Desafortunadamente no se alcanzó la CMI para *C. albicans*, aún con la máxima concentración de Fluc-BSA-NPs ensayada en este estudio, motivo por lo cual es necesario realizar experimentos adicionales para confirmar el potencial uso de las Fluc-BSA-NPs como un sistema de administración de fármacos en el tratamiento de infecciones por *Candida* y confirmar los hallazgos de la ausencia de efecto citotóxico sobre células humanas, lo cual confirmaría su potencial aplicación como sistema de administración de fármacos antifúngicos, como se ha descrito para la administración de fármacos antitumorales (Qu *et al.,* 2024).

Perspectivas

Determinar experimentalmente la CMI de las nanopartículas Flu-BSA-NPs (80 nm) frente a *C. albicans*, utilizando concentración mayores de NPs a las utilizadas en el presente trabajo y analizar su interacción en un ensayo cinético para determinar su internalización.

Se requieren réplicas biológicas de los ensayos de citotoxicidad, ampliando el espectro de líneas celulares estudiadas.

Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad de Guanajuato por la beca recibida para realizar el XXXI Verano de la Investigación UG (RSHC, NPC, BJQO); al M. en C. Abraham Asahel Gasca Venegas por su apoyo y asistencia con la microscopía confocal (DCNE, UG), al Ing. David Rendón Sauz por su apoyo y asistencia con el análisis estadístico, al candidato a M. en C. José Francisco López Pérez por su guía a lo largo del protocolo, becario SECIHTI (CVU 2018655 para estudios de maestría), y a nuestros directores del trabajo, M. en C. Lérida Liss Flores Villavicencio y Dr. Julio César Villagómez Castro.

Trabajo realizado con financiamiento de la Universidad de Guanajuato al Dr. Julio César Villagómez Castro con el proyecto CIIC-UG-067-2026.

Bibliografia/Referencias

Barbosa, P. F., Gonçalves, D. S., Ramos, L. S., Mello, T. P., Braga-Silva, L. A., Pinto, M. R., ... & Santos, A. L. (2024). Saps1–3 Antigens in *Candida albicans*: Differential Modulation Following Exposure to Soluble Proteins, Mammalian Cells, and Infection in Mice. *Infectious Disease Reports*, *16*(4), 572-586.

Coordination, G., World Health Organization, & World Health Organization. (2022). *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*. Organización Mundial de la Salud (OMS).

Czajka, K. M., Venkataraman, K., Brabant-Kirwan, D., Santi, S. A., Verschoor, C., Appanna, V. D., ... & Tharmalingam, S. (2023). Molecular mechanisms associated with antifungal resistance in pathogenic Candida species. *Cells*, *12*(22), 2655.

Francis, G. L. (2010). Albumin and mammalian cell culture: implications for biotechnology applications. Cytotechnology, 62(1), 1-16.

Gao, Y., Cao, Q., Xiao, Y., Wu, Y., Ding, L., Huang, H., ... & Meng, L. (2024). The progress and future of the treatment of *Candida albicans* infections based on nanotechnology. Journal of nanobiotechnology, 22(1), 568.

Hong, S., Choi, D. W., Kim, H. N., Park, C. G., Lee, W., & Park, H. H. (2020). Protein-based nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmaceutics*, *12*(7), 604.

Janowski, M., Demchuk, O. M., & Wujec, M. (2024). Fluconazole analogs and derivatives: An overview of synthesis, chemical transformations, and biological activity. *Molecules*, *29*(12), 2855.

López Pérez, J. F. (Julio, 2026). Fungal infections: A study of antifungal drug efficacy against Candida strains using a nanoparticle drug delivery system. [tesis de maestría no publicada]. Universidad de Guanajuato- University of Regina.

Qu, N., Song, K., Ji, Y., Liu, M., Chen, L., Lee, R. J., & Teng, L. (2024). Albumin nanoparticle-based drug delivery systems. *International journal of nanomedicine*, 6945-6980.

Sahoo, B., Goyal, R., Dutta, S., Joshi, P., & Sanyal, K. (2025). Candida albicans: Insights into the biology and experimental innovations of a commonly isolated human fungal pathogen. *ACS Infectious Diseases*, *11*(7), 1780-1815.

Sousa de Almeida, M., Susnik, E., Drasler, B., Taladriz-Blanco, P., Petri-Fink, A., & Rothen-Rutishauser, B. (2021). Understanding nanoparticle endocytosis to improve targeting strategies in nanomedicine. *Chemical society reviews*, *50*(9), 5397-5434.

Zwain, T., Taneja, N., Zwayen, S., Shidhaye, A., Palshetkar, A., & Singh, K. K. (2022). Albumin nanoparticles—A versatile and a safe platform for drug delivery applications. In *Nanoparticle Therapeutics* (pp. 327-358). Academic Press.