



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

"2026 - Año de la Grandeza Argentina"

"150° Aniversario de la Creación
de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles"

"50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más"



SAN LUIS, 27 de abril de 2026.-

VISTO:

El EXPE: 3645/2025 y el EXPE: 16556/2025, en los que obran las actuaciones vinculadas a la Pasantía de Posgrado EVALUACIÓN DE FOTOSENSIBILIZADORES NATURALES EN BIDENS L. CON POTENCIAL ANTIMICROBIANO; y

CONSIDERANDO:

Que por EXPE 3645/2025 se presentó la propuesta de Pasantía de Posgrado del Farm. Marcos Federico PASCUALI, estudiante del Doctorado en Farmacia; a realizarse en el Laboratorio de Bioprospección de Productos Antimicrobianos, perteneciente a la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario, bajo la dirección de la Dra. Laura Andrea SVETAZ, DU N° 17046860.

Que el Consejo Asesor de Posgrado en su sesión del 24 de abril de 2025 sugiere la aprobación del Plan de Pasantía y el Consejo de Posgrado de la Universidad de San Luis, en su reunión del 6 de mayo de 2025, luego del análisis del expediente de referencia, acuerda aprobar el Plan de la Pasantía.

Que mediante EXPE 16556/2025 se presenta el informe final de la pasantía del Farm. Marcos PASCUALI, obrando a fs. 25 el dictamen del Consejo Asesor de Posgrado de la Facultad de Química Bioquímica y Farmacia, que en su sesión del 29 de agosto de 2025, consideró: "*...que el pasante trabajó de manera ordenada, profesional y responsable, elaborando un informe muy satisfactorio que cumple con los objetivos propuestos y que aporta significativamente a su formación académica y científica...*". y recomendó la aprobación del informe.

Que el Consejo de Posgrado de la Universidad Nacional de San Luis, en su sesión del 12 de septiembre de 2025 evaluó y aprobó el Informe Final de la Pasantía.

Que corresponde su protocolización.

Por ello, y en uso de sus atribuciones:

EL RECTOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

"2026 - Año de la Grandeza Argentina"

"150° Aniversario de la Creación
de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles"

"50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más"



RESUELVE:

ARTÍCULO 1° - Dar por aprobada la Pasantía de Posgrado EVALUACIÓN DE FOTOSENSIBILIZADORES NATURALES EN BIDENS L. CON POTENCIAL ANTIMICROBIANO; realizada por el Farm. Marcos Federico PASCUALI, DU N° 36204444, estudiante del Doctorado en Farmacia, llevada a cabo en el Laboratorio de Bioprospección de Productos Antimicrobianos, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario, bajo la dirección de la Dra. Laura Andrea SVETAZ, DU N° 24631735.

ARTÍCULO 2° - Comuníquese, notifíquese, publíquese en el Digesto Administrativo de la Universidad Nacional de San Luis, insértese en el Libro de Resoluciones y archívese.

RC

Documento firmado digitalmente según Ordenanza Rectoral N° 15/2021 por: Rector GIL, Raúl Andrés - Secretaria Académica, de Innovación Educativa y Posgrado LORENZO, Rosa Alejandra.



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

ANEXO

PASANTÍA DE POSGRADO

APELLIDO Y NOMBRE DE LA PASANTE: Marcos Federico PASCUALI

CARRERA DE POSGRADO: Doctorado en Farmacia

UNIVERSIDAD DONDE CURSA LA CARRERA: Universidad Nacional de San Luis (UNSL)

DENOMINACIÓN DE LA PASANTÍA: “Evaluación de fotosensibilizadores naturales en Bidens L. con potencial antimicrobiano”

FECHA DE INICIO: 2 de junio de 2025

DURACIÓN: 200 horas.

APELLIDO Y NOMBRE DE LA DIRECTORA: Dra. Laura Andrea SVETAZ

INSTITUCIÓN LABORAL DE ORIGEN: Universidad Nacional de Rosario

LUGAR DE REALIZACIÓN DE LA PASANTÍA: Laboratorio de Bioprospección de Productos Antimicrobianos, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario

FUNDAMENTACIÓN

La posibilidad de realizar esta pasantía permitirá la búsqueda de soluciones sostenibles y accesibles a partir de recursos naturales, aprovechando especies de plantas nativas y aportando al conocimiento de la biodiversidad con un significativo potencial terapéutico. Los objetivos de la pasantía se alinean con las temáticas estratégicas de investigación del área de Farmacognosia de la Universidad Nacional de San Luis, área en la que realizo tareas de investigación, docencia y donde desarrollé mi tesis doctoral en Farmacia que está directamente relacionada a la temática que plantea la pasantía. Allí se fomenta la investigación de recursos biológicos locales. La identificación y caracterización de extractos vegetales con potencial antimicrobiano responde a la demanda de avanzar en alternativas terapéuticas que sean naturales, accesibles y de bajo impacto para el medio ambiente. Desde la perspectiva docente, el desarrollo de este trabajo facilitará la incorporación de mayores y mejores conocimientos sobre diversidad vegetal, fitoquímica y microbiología en el currículo académico, fortaleciendo la formación de estudiantes en el ámbito profesional farmacéutico y en el ámbito de la investigación. Además, a futuro, el trabajo realizado, en complementación y ampliando los ya establecidos, permitirá proyectar hacia



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

la comunidad actividades de extensión que promuevan el uso responsable de la biodiversidad local y la importancia de las plantas medicinales.

OBJETIVOS:

- Llevar a cabo la bioprospección de fotosensibilizadores naturales en especies nativas de la Tribu Nassauvieae (Asteráceas) con uso etnofarmacológico antimicrobiano, trabajando en este caso con diferentes especies del género *Bidens* L.
- Evaluar la inactivación fotodinámica sobre microorganismos (hongos y bacterias) de los extractos y principios activos aislados de diferentes especies de *Bidens* L.
- Determinar el mecanismo de acción y efecto sobre factores de virulencia fúngico de los extractos activos y principios activos aislados de diferentes especies de *Bidens* L.

PROGRAMA DETALLADO:

1. Determinación de la actividad antifúngica

Introducción a los métodos estandarizados por CLSI.

Preparación de inóculos y condiciones de cultivo de hongos clínicamente relevantes:

Candida albicans, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*.

Cryptococcus neoformans.

Aspergillus fumigatus.

Microsporium gypseum, *Trichophyton rubrum*

Microdilución en caldo para determinación de CIM:

Uso de microplacas estériles de 96 pocillos.

Preparación del medio de cultivo RPMI-1640 tamponado con MOPS.

Evaluación de crecimiento: Visual en hongos filamentosos.

Espectrofotométrico (405 nm) en hongos levaduriformes.

Controles de viabilidad, esterilidad y replicabilidad (triplicados).



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual
Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

2. Determinación de la actividad antibacteriana

Introducción a bacterias de importancia clínica y su relevancia en infecciones humanas.

Preparación de inóculos y condiciones de cultivo de bacterias Gram positivas y negativas:

Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa.

Prueba de microdilución para determinación de MIC:

Ajuste de la turbidez del inóculo con escala de McFarland (0,5).

Incubación de las placas a 37°C por 24 h.

Lectura visual de la inhibición del crecimiento bacteriano.

3. Observación de malformaciones de hifas

Cultivo de hongos filamentosos en presencia de concentraciones sub-inhedoras de extractos.

Observación microscópica de alteraciones en:

Desarrollo apical de hifas en hongos filamentosos.

Brotación y emisión de tubo germinativo en hongos levaduriformes.

Controles positivos (caspofungina) y negativos (solvente).

4. Ensayo de protección osmótica con sorbitol

Determinación de CIM en presencia y ausencia de sorbitol 0,8 M.

Comparación de diferencias en la CIM para identificar inhibidores de la pared celular.

Controles positivos (caspofungina) y negativos (ketoconazol).

5. Inhibición de la adherencia celular

Incubación de Candida albicans con células epiteliales en presencia de extractos.

Filtración, tinción y observación microscópica de la adherencia.

Análisis cuantitativo: número de levaduras adheridas a 100 células epiteliales \pm DE.



2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

6. Evaluación de la formación del tubo germinativo

Cultivo de *Candida* spp. en suero bovino con extractos a concentraciones sub-inhedoras.

Incubación a 37°C por 2 horas.

Observación microscópica y conteo de células con formación de tubo germinativo.

Determinación del porcentaje de inhibición comparado con el control.

7. Análisis de Resultados y Elaboración de Informes

Análisis estadístico de los resultados obtenidos en los ensayos.

Interpretación de los hallazgos en el contexto de la fotoinactivación antimicrobiana

METODOLOGÍA SEGUIDA EN EL DESARROLLO DE LA PASANTÍA:

Microdilución en caldo: Se seguirán los lineamientos de los métodos estandarizados recomendados por CLSI. Se utilizará un panel de hongos de importancia clínica causantes de micosis en humanos de American Type Culture Collection (ATCC) y aislados clínicos de CEREMIC (Centro de Referencia Micológica, UNRosario). Se incluirán especies del género *Candida* principales causantes de patologías en humanos *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. glabrata*; *Cryptococcus neoformans*, principal causante de meningitis en pacientes con SIDA, problema en crecimiento en todo el mundo; *Aspergillus fumigatus* de gran incidencia en micosis sistémicas oportunistas especialmente como causa de aspergilosis pulmonar diseminada en pacientes con SIDA y dermatofitos como *Microsporum gypseum* y *Trichophyton rubrum* causantes del 85% de las infecciones superficiales. Se utilizarán microplacas estériles de 96 pocillos y el medio de cultivo será RPMI-1640, tamponado a pH 7,0 \pm 0,1 con MOPS [ácido 3-(N-morfolino propano) sulfúrico] a una concentración de 0,165 M con el agregado de glucosa 10% P/V. Se ensayarán concentraciones desde 1000-0,98 μ g/mL para los extractos. Se realizarán controles de viabilidad de los inóculos (CC), de esterilidad de las soluciones de los compuestos (CEC) y de esterilidad del medio de cultivo (CE). Las determinaciones se realizarán por triplicado. En hongos filamentosos la CIM (Concentración Inhibitoria Mínima) se determinará como la mínima concentración en la que no se observa crecimiento visible. En hongos levaduriformes, el crecimiento se puede determinar midiendo los cambios en la turbidez espectrofotométricamente, a una Absorbancia de 405nm, con un lector de microplacas.



2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

Para los test antibacterianos se determinará la concentración mínima inhibitoria (MIC) de los extractos contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*) y Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), los que se mantendrán en una infusión de cerebro-corazón (medio BHI, 20% (v / v) de glicerol a -20°C (OPS Diagnostico, LLC, 2010). Se ajustará la turbidez de la suspensión hasta igualar la escala de 0,5 Mc Farland. Se utilizará microdilución con medios de cultivo suplementado con 0,01% de 2,3,5, trifeniltetrazolio como indicador visual del crecimiento bacteriano, incluyendo controles de extracto/producto y cepas. Las placas se incubarán a 37°C 24 h, y se leerán visualmente.

Mecanismo de acción: Observación de malformaciones de las hifas. Inhibición de la pared celular fúngica: Los diferentes agentes antifúngicos que interfieren con la pared celular fúngica suelen provocar malformaciones que pueden observarse microscópicamente. Para observar dichas malformaciones, se hará crecer un hongo en presencia de concentraciones sub-inhedoras de un posible inhibidor de pared. Luego de un determinado tiempo de incubación, se realizará la observación microscópica (microscopio óptico) del desarrollo apical de las hifas (hongos filamentosos) o de las características de la brotación y de emisión de tubo germinativo (hongos levaduriformes). Se utilizarán controles positivos como caspofungina (un inhibidor conocido de pared) y negativos (crecimiento en presencia de solvente). Efecto protector del sorbitol: La pared funciona como un protector osmótico de la célula fúngica, evitando la lisis celular en medios hipotónicos. El ensayo consistirá en determinar los valores de CIM para un determinado compuesto en presencia y en ausencia de sorbitol (concentración final 0,8 M). Dado que éste actúa como protector osmótico, las células fúngicas podrán crecer aún en presencia de un antifúngico que afecte a la pared. Los inhibidores de la pared celular se identificarán cuando la CIM obtenida con sorbitol sea dos órdenes de magnitud más alta que la obtenida sin él. Como control positivo se usará caspofungina, que interfiere en la síntesis de la pared y como control negativo ketoconazol cuyo mecanismo es diferente (inhibe la biosíntesis del ergosterol).

Inhibición de factores de virulencia: Capacidad de adherencia: Un inóculo de *C. albicans* 2,5x 10⁷ UFC/mL sometido a los antifúngicos a concentraciones iguales a la CIM y a concentraciones sub-inhedoras se incubarán con una suspensión de células epiteliales a 37°C durante 1 h. Luego se filtrará con filtros de 40 µm y se lavará con 60mL de buffer fosfato. Las células retenidas en el filtro se montarán en portaobjetos, se teñirán con la tinción de Gram-Nicolle y se observarán por microscopia. Los ensayos se realizarán por triplicado y se graficará como el promedio del número de levaduras adheridas a 100 células epiteliales ± desviación estándar.

Formación del tubo germinativo: Se utilizarán cepas de *Cándida* expuestas a concentraciones subinhibitorias de compuestos o extractos antifúngicos. Se sembrará 5 µL de un inóculo de 1-9



2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

103 UFC/mL en suero bovino y se incubará a 37°C durante 2 horas. Pasado este tiempo se contará bajo microscopio el número de levaduras que emiten el tubo germinativo en un total de 400 células. Se determinará la reducción porcentual de la formación del tubo germinativo en comparación con una muestra no tratada.

CRONOGRAMA

| Actividad | Semana 1° | Semana 2° | Semana 3° | Semana 4 | Semana 5° |
|---|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| Microdilución en caldo (Test sobre hongos filamentosos y hongos levaduriformes) | X | X | | | |
| Microdilución en caldo (Test antibacteriano) | | X | X | | |
| Mecanismo de acción (Observación de mal formación de hifas y efecto protector del sorbitol) | | | X | X | |
| Factores de virulencia (Capacidad de adherencia y formación de tubo germinativo) | | | | X | X |

BIBLIOGRAFÍA:

- CLSI, M27-A3. Reference methods for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. 3rd. Ed., Wayne, Penn. (USA), (2008) 22. (15), 1-29.
- CLSI, M38-A2. Reference methods for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. 2nd Ed. Wayne, Penn. (USA), (2008) 22(16), 1-27.
- Mattana CM, Satorres SE, JuanV, Cifuentes D, Tonn C, Laciari AL. Antibacterial activity study of single and combined extracts of *Berberis ruscifolia*, *Baccharis sagittalis*,



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

Euphorbia dentata and Euphorbia schikendanzii, native plants from Argentina. BLACPMA 11, 428 – 434. 2012.

- Kuhn, H. y col. (2004) Pure Appl Chem, 76, 2105
- Seiler, S. y col. (2003) Mol Biol Cell, 14, 4352.
- Frost, D.J. y col. (1995) J Antibiotics, 48, 306.
- Lunde, C. y col. (2000) Antimicrob Agents Chemother, 44, 19.

SISTEMA DE EVALUACIÓN:

Será evaluado mediante interpretación de los hallazgos en el contexto de la fotoinactivación antimicrobiana, elaboración de informes científicos y discusión de aplicaciones potenciales, redacción de artículo científico y preparación de presentaciones académicas.

FINANCIAMIENTO DE LA PASANTÍA

COSTOS: \$2500000

FUENTES DE FINANCIAMIENTO: autofinanciado.

Hoja de firmas