



UGR Universidad de Granada



Propuesta TFGB. Curso 2016-17

DEPARTAMENTO: PARASITOLOGÍA

CÓDIGO DEL TFG: PAR-2

Número de alumnos (máximo 3): 1

1. DATOS DEL TFG OFERTADO:

Título: Actividad amebicida y quisticida, frente a *Acanthamoeba*, de nuevos agentes quimioterapéuticos

Resumen (máx 250 palabras, estructurado en Introducción, Objetivos y Plan de trabajo):

Objetivos

Determinación de la actividad amebicida y quisticida de nuevos compuestos frente a *Acanthamoeba*.

Plan de trabajo

1. Cultivos in vitro de parásitos: Se enseñará a los alumnos a mantener cultivos axénicos y a criopreservar trofozoitos y quistes de *A. castellanii*.

2. Cultivo in vitro de células: Los alumnos aprenderán a cultivar de forma axénica y criopreservar diferentes líneas celulares tales como células Vero, células HeLa o macrófagos

3. Ensayos de citotoxicidad: La citotoxicidad de los productos ensayados se evaluó empleando células Vero, HeLa y macrófagos pudiendo emplear dos técnicas diferentes:

-Citometría de flujo: para ello las células cultivadas en RPMI se siembran en placas de microtitulación sustituyendo el medio por otro con el componente a ensayar a concentración de 400, 50, 25, 10 y 1 μM . Después de 72 horas de tratamiento se determinará la viabilidad por ensayos de metabolización de Resazurin (AlamarBlue®)

-MTT (3-(4,5-dimetiltiazol -2-il)-2,5-bromuro de difeniltetrazolio): Para ello se siembran las células en placa, se incuban con los productos disueltos en el medio durante 72h y se añaden 10 μl de MTT (5mg/ml) a cada pocillo (concentración final de 0,5mg/ml). Se incuban 4 horas a 37°C, se retira el medio y se disuelven los cristales en con isopropanol ácido 0,1N en agitación durante 5 min. para medir la coloración en espectrofotómetro a 550nm y 650nm.

4. Actividad in vitro de los productos sobre los parásitos:

4.1. Trofozoitos de *Acanthamoeba castellanii*: Las amebas se sembrarán en placas de microtitulación a concentración de 10⁴ amebas/pocillo. Una vez adheridas se sustituirá el medio C.G.V, en que se cultivan, por medio fresco con los productos a concentraciones de 100, 50, 25, 10 y 1 μM y se incorporará 10% del volumen AlamarBlue® para incubar 120h a 28°C. Por último se añade SDS al 10% y se incuban 15 min. Se mide la absorbancia en espectrofotómetro y se determina el IC₅₀ e IC₉₀. Se emplearán cultivos control no tratados y otros tratados con el fármaco de referencia que es digluconato de clorhexidina.

Se estudiarán las alteraciones ultraestructurales producidas por los productos ensayados.

4.2. Quistes de *Acanthamoeba castellanii*: Se obtendrán quistes de *A. castellanii* disponiendo los trofozoitos en el medio de cultivo adecuado y posteriormente se sembrarán en placas de microtitulación y se incubarán con los productos a ensayar a concentraciones de 100, 50, 25, 10 y 1 μM y se incubarán 120 horas a 28°C. Transcurrido el tiempo de tratamiento se sustituirá este medio por medio de cultivo de trofozoitos y se realizará un recuento cada trofozoitos y quistes cada 24 h durante 1 semana. Se calculará la capacidad de inhibición IC₅₀ frente a los quistes.

Tabla de actividades y dedicación estimada:

Planteamiento, orientación y supervisión	70
Exposición del trabajo	10
Desarrollo del trabajo	150
Preparación de la memoria	70
TOTAL (12 ECTS)	300 horas

OFERTADO POR:

Profesor del Departamento
 Profesor del Departamento junto con Empresa o Institución
 Propuesto por alumno ()

X

() En el caso de TFG propuesto por alumno, por favor completar la siguiente información sobre el mismo:

Apellidos: **Nombre**
e-mail institucional:

2. MODALIDAD: Trabajo bibliográfico
Trabajo experimental **
Informe o proyecto de naturaleza profesional **

<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>

3. DATOS DEL TUTOR/A UGR:

Apellidos: ROSALES LOMBARDO
Teléfono: 240790

Nombre: M^a JOSÉ
e-mail: mjrosale@ugr.es

**En el caso de trabajos desarrollados en Empresas u otras Instituciones ajenas a la Universidad de Granada, por favor completar la siguiente información:

TUTOR/A DE LA EMPRESA O INSTITUCIÓN:

Apellidos:
Empresa/Institución:
Teléfono:

Nombre:

e-mail: