



UGR Universidad de Granada



Propuesta TFGB. Curso 2016-17

DEPARTAMENTO: PARASITOLOGÍA

CÓDIGO DEL TFG: PAR-3

Número de alumnos (máximo 3): 1

1. DATOS DEL TFG OFERTADO:

Título: Ensayos in vitro de nuevos agentes quimioterapéuticos frente a *Leishmania*

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

Objetivos

Determinación del potencial, actividad y toxicidad de nuevos compuestos frente a *Leishmania*

Plan de trabajo

1. Cultivos in vitro de parásitos: Se enseñará a los alumnos a mantener cultivos axénicos y a criopreservar diferentes formas de parásitos, de acuerdo a las condiciones que se han estandarizado previamente.

Leishmania: Promastigotes y amastigotes de *L. infantum*.

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 evaluará 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 100, 50, 25, 10 y 1 mM. Después de 72 horas de tratamiento se determinará la viabilidad por citometría de flujo.

-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 72 h y se añaden 10µl de MTT (5mg/ml) a cada pocillo (concentración final de 0,5mg/ml). Se incuba 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. Tripanosomátidos

- **Ensayos sobre promastigotes:** los parásitos en fase exponencial de crecimiento se distribuirán en los pocillos de placas de microtitulación a concentración final de 5×10^5 parásitos/pocillo. Los compuestos a ensayar y las drogas de referencia (benznidazol y glucantime se disolverán en medio MTL a concentraciones de 100, 50, 25, 10 y 1 mM. El tiempo de tratamiento sobre estas formas extracelulares será de 72h y el efecto de los productos se evaluará por recuento empleando cámara de Neubauer y expresando posteriormente la efectividad tripanocida o leishmanicida como IC₅₀.

-Ensayos sobre amastigotes: Se infectarán células Vero y macrófagos con epimastigotes o promastigotes en placas de microtitulación a razón 1:10 durante 24 h. Se lavarán los cultivos para eliminar los parásitos sueltos y se incubarán los cultivos con los productos y drogas de referencia en medio MEM. La actividad de los compuestos se determinará por recuento de la reducción del número de amastigotes en los cultivos tratados respecto a los controles no tratados, tras teñir con colorante Giemsa.

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:

Alumno propuesto:

Apellidos:

e-mail institucional:

Nombre:

2. MODALIDAD:

Trabajo bibliográfico

Trabajo experimental **

Informe o proyecto de naturaleza profesional **

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

X

3. DATOS DEL TUTOR/A UGR:

Apellidos: MASCARÓ LAZCANO

Teléfono: 240791

Nombre: CARMEN

e-mail: cmascaro@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: