



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  $\mu\text{M}$ . 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 $\mu\text{l}$  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 10<sup>4</sup> 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  $\mu\text{M}$  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 IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub>. 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  $\mu\text{M}$  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 IC<sub>50</sub> 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
<b>TOTAL (12 ECTS)</b>	<b>300 horas</b>

#### OFERTADO POR:

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

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

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

**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: ROSALES LOMBARDO**

**Teléfono: 240790**

**Nombre: M<sup>a</sup> 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:**