**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Isolamento, crescimento e caracterização de Protozoários**

**CARGA HORÁRIA: 360H**

**COORDENADORES: Dra. Helena Lúcia Carneiro Santos e Dr. Vítor Ennes Vidal**

**EMENTA**

A presente disciplina destina-se aos alunos que tenham interesse em aprofundar conhecimento em cultivo de protozoarios e sua aplicabilidade nas diferentes áreas da saúde. Além de introduzir o conhecimento sobre a diversidade, taxonomia e diagnóstico de parasitos intestinais de interesse humano e veterinário e de cinetoplastídeos.

Apresentar as técnicas empregadas na análise morfológicas e moleculares de parasitos, iniciando com noções básicas de meios de cultivos, análise bioquímicas e identificação morfológica e molecular para que o aluno seja capaz de entender as técnicas e discutir os protocolos amplamente utilizados nos laboratórios de pesqusia e/ou clinicos.

**OBJETIVO**

1. Capacitar o aluno a manusear os equipamentos básicos utilizados em laboratório de protozoologia;
2. Apresentar a fundamentação teórica e conhecimento técnico básico de cultivo de parasito. Sistemas de cultivo de protozoários: condições biológicas e bioquímicas para sua manutenção, propagação e criopreservação. Expansão do cultivo celular com o intento de produção em massa do organismo para ser utilizado para análises e/ou obtenção de macromoléculas, DNA e proteínas;
3. Introdução de técnicas de coloração mais utilizadas no estudo de protozoários;
4. Conhecer as características morfológicas dos principais protozoários intestinais de interesse humano e veterinário e de cinetoplastídeos.
5. Apresentar as principais técnicas para análise de DNA e proteínas

**CONTEÚDO PROGRAMÁTICO**

**Formação teórica a ser oferecida ao aluno:**

Princípios básicos de cultivo celular, meio de cultura e soluções utilizadas em cultivos de protozoários;

Noções de biossegurança aplicada a laboratórios de cultivo celular e de processo de esterilização (por autoclave e por filtração em membranas);

Princípios básicos de Transmitância e Absorbância (Lei de Lambert-Beer) e aplicações na quantificação de macromoléculas; método direto de quantificação celular.

Manuseio correto do microscópio óptico; identificar as características morfológicas dos principais parasitos intestinais de interesse humano e veterinário e de cinetoplastídeos.

Princípios básicos de técnicas de isolamento, cultivo e identificação.

Conceitos básicos sobre as unidades básicas (bases nitrogenadas) dos ácidos nucleicos, DNA e funções e sobre as técnicas empregadas para análise de DNA.

Conceitos básicos sobre as unidades básicas (aminoácido) das proteínas e suas funções.

Noções básicas de métodos de análise de DNA e proteinas

**Atividades práticas a serem desenvolvidas pelo aluno durante o estágio:**

1.1 Cálculos para preparo de soluções (concentração, proporção, diluições simples e seriadas; fator de diluição);

1.2 Preparo de solução;

1.3 Funcionamento do pHmetro e Espectrofotometria:

1.4 Quantificação direta do parasito em câmera de Neubauer;

1.5 Coloração e montagem de lâminas e análise morfológica;

1.6 Manutenção de cultivo de protozoários e identificação morfológica

1.7 Extração de DNA;

1.8 Reação da polimerase em cadeia (PCR) e suas variações;

1.9 Sequenciamento de DNA;

2.0 Eletroforese em gel de agarose;

2.1 Eletroferose de proteínas para zimografia.

**Avaliação:**

A avaliação do desempenho de cada aluno dar-se-á através da realização um relatório parcial, a ser entregue na metade do curso, um relatório final, a ser entregue no final do curso, além da elaboração de um cartaz (pôster) contendo um resumo de todo o conteúdo teórico e prático apreendido durante o curso. O resumo será presentado oralmente em forma de cartaz (pôster) no workshop do Curso de Especialização de nível Técnico em Biologia Parasitária e Biotecnologia (CENT), o qual realizar-se-á no final do Curso. Para ser aprovado o aluno deverá obter média igual ou superior a sete (7,0), e que tenha frequência, no mínimo, de 75% das atividades da disciplina. Tanto a frequência, quanto o desenvolvimento do aluno durante o estágio, serão acompanhados mensalmente pela coordenação do CENT, através de formulários que serão encaminhados à coordenação pelo Coordenador e/ou orientador do aluno.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Nelson, David L.; Cox, Michael M. Princípios de Bioquímica de Lehninger - 6ª Ed. 2014. Editora Artmed.
2. Geraldo Attilio de Carli. Livro de Parasitologia Clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico das parasitologias humanas. 2º ed. Editora Ateneu.
3. Kathy Barker, Na Bancada. Manual de inciação cientifica em laboratório de pesquisa biomedicas. Editora Artmed