USO DE GRADIENTES DE DENSIDADE PARA PURIFICAÇÃO DA AMOSTRA PRODUZIDA PELO MÉTODO HELMINTEX

Carla Müller, Priscilla Sundin Pedersen, Carlos Graeff-Teixeira

Grupo de Parasitologia Biomédica, Faculdade de Biociências e Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS, RS, Brasil

A detecção de pequenas quantidades de ovos de *Schistosoma mansoni* requer métodos aprimorados, tais como o Helmintex. Este método baseia-se na interação dos ovos com microesferas paramagnéticas em um campo magnético. Também já é conhecido o uso de Percoll para purificar ovos de *S. mansoni* através de gradiente de densidade tanto em técnicas de obtenção de ovos através da digestão de fígados de roedores (Dalton, 1997) como em técnicas de isolamento e purificação de ovos (Eberll, 2002; Coker, 1956). O objetivo deste trabalho foi testar a hipótese da existência de uma densidade diferente entre os ovos de *S. mansoni* e grande parte do sedimento fecal produzido pelo método Helmintex. Amostras de fezes foram desmanchadas em solução aquosa 10% de formalina, filtrada através de tela de nylon com 500 micrômetros de abertura e o sedimento foi sucessivamente concentrado através de sedimentação espontânea, tamisagem e centrifugação em formol-acetato. Ao sedimento resultante foi acrescentado 19 µL da suspensão de microesferas do método Helmintex. Após incubação de 20 minutos, em agitação rotatória, o tubo foi deixado em repouso no magneto durante 3 minutos e o sobrenadante desprezado. A técnica, descrita por Eberl em 2002, foi aplicada ao método Helmintex. Em um tubo Falcon de 15 mL foi adicionado 5 µL do sedimento resultante do Helmintex e nele semeados 30 ovos de *S. mansoni*. Uma solução reagente com 3 mL de Salina 0,9%/60% Percoll foi adicionada ao Falcon. Após centrifugar a 330 x**g** por 15 minutos, o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi colocado em um novo tubo com 1 mL de PBS. Também foi realizado o mesmo experimento com outras concentrações de sedimento final do Helmintex. A técnica realizada de acordo com o autor, também foi testada nesse trabalho, obtendo o resultado esperado. Verificamos que o gradiente de Percoll não melhorou a purificação dos ovos já feita pelo método Helmintex. O resultado deste trabalho não comprova a hipótese inicial e demonstra a eficácia do Helmintex em produzir sedimento homogeneamente limpo.