

Uso de gradientes de densidade para purificação da amostra produzida pelo método Helmintex

Carla Aristonara Müller¹, Priscilla Sundin Pedersen¹, Carlos Graeff-Teixeira¹ (orientador)

¹Faculdade de Biociências, PUCRS

Resumo

Segundo a Organização Mundial da Saúde cerca de 200 milhões de pessoas estão infectadas com o parasito *Schistosoma mansoni*. Esta parasitose está presente em 19 estados do Brasil sendo que 9 são de áreas endêmicas e 10 possuem transmissão focal. O Rio Grande do Sul está incluído nos estados com área de transmissão focal (Ministério da Saúde, 2011). Este foco é caracterizado por possuir poucas pessoas infectadas e eliminando um número baixo de ovos nas fezes. A detecção dessas pequenas quantidades de ovos requer métodos aprimorados, assim como o Helmintex recentemente descrito para o diagnóstico da esquistossomose (Teixeira, 2007). Este novo método baseia-se na utilização de uma grande quantidade de fezes e, após as etapas de limpeza (sedimentação, tamisação e Ritchie), essas fezes são expostas a um campo magnético onde há a interação dos ovos com micro-esferas paramagnéticas. Essa interação é a ultima etapa de limpeza das fezes realizada no método. Outras técnicas para a purificação de amostras contendo ovos de *S. mansoni* utilizam o Percoll para formar um gradiente de densidade. Sua utilização ocorre em técnicas de obtenção de ovos através da digestão de fígados de roedores (Dalton, 1997) e em técnicas de isolamento e purificação de ovos (Coker, 1956; Eberll, 2002). 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 (Cognato, 2010). Após a execução do método Helmintex foi aplicada a técnica descrita por Eberll em 2002. 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 com volume final de 3 mL contendo salina 40% e Percoll 60% foi adicionada ao Falcon. Após a centrifugação a 330 xg por 15 minutos, o sobrenadante foi descartado e o sedimento colocado em um novo tubo com 1 mL de PBS. Também foi realizado o mesmo experimento com outras concentrações de sedimento final do Helmintex.

Em nenhuma das concentrações testadas de Helmintex foi observado os resultados como Eberl descreveu. A técnica realizada de acordo com o autor, também foi testada nesse trabalho, obtendo o resultado esperado. Concluimos 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.