

### **Técnica para isolamento de cistos de *Giardia duodenalis* de fezes humanas**

1. Preparar uma suspensão de fezes em água destilada, na proporção de uma parte de fezes para cinco de água;
2. Filtrar em gaze dobrada em quatro partes, transferindo para tubos de centrífuga de 15 mL;
3. Centrifugar por 5 minutos a 2500 rpm;
4. Desprezar o sobrenadante e lavar o sedimento quatro vezes por centrifugação (2500rpm/5 minutos) com água destilada;
5. Ressuspender o sedimento obtido em 3 mL de água destilada;
6. Fazer o fracionamento, colocando-se em tubo de 45 mL, 12,5 mL de solução de sacarose 1M e, sobre esta, 3 mL da suspensão de fezes;
7. Centrifugar a 1500 rpm durante 20 minutos;
8. Remover os cistos da interface água-sacarose, transferindo-os para tubos de 15 mL;
9. Ressuspender os cistos obtidos em água destilada e centrifugar a 2500 rpm durante 10 minutos;
10. Desprezar o sobrenadante e ressuspender o sedimento em 0,5 mL de PBS;
11. Contar em Câmara de Neubauer;
12. Armazenar a -20oC para posterior extração do DNA.