CONTRIBUIÇÃO DE REAÇÕES DE IMUNOFLUORESCENCIA
NO LIQUIDO CEFALORRAQUEANO AO ESTUDO
DA NEUROCISTICERCOSE

J. A. LIVRAMENTO *

Deve-se a Lange conceituar a “síndrome líquórica da cisticercose encéfalo-meníngea”, caracterizando-a basicamente por pleocitose linfomononuclear, com a presença de células eosinófilas, e positividade da reação de fixação do complemento para cisticercose ^{12,13}

A partir de então, os estudos realizados em várias partes do mundo confirmam esses achados. Entre eles podem ser lembrados os de Trelles ³⁵ e Napan-ga ¹⁸, no Peru; os de Biagi & col. ³ e Nieto ¹⁹ no México; os de Reinlein, Trigueros & Alcalde ²³ na Espanha; os de Ordaz ²¹ na Venezuela; os de Zozulya & Sklyarenko ³⁷ na U.R.S.S.; e os de Pupo & col. ²², Reis & col. ²⁴, Magalhães ¹⁵ e Spina-França ^{27,28,29,30,31,33} no Brasil.

As técnicas de imunofluorescência permitiram novos avanços diagnósticos. Até sua introdução, as reações antígeno-anticorpo só podiam ser evidenciadas por métodos indiretos, como os de fixação do complemento, aglutinação e precipitação. Com a possibilidade da ligação de radicais fluorescentes às moléculas de anticorpos, tornou-se possível a visualização direta dos anticorpos, das estruturas antigênicas e imunocomplexos resultantes da união entre antígeno e anticorpos ^{5,6,7,8,9,16,17,34,36}.

Machado, Camargo & Hoshino, em 1973, descreveram técnica de imunofluorescência indireta para o diagnóstico de cisticercose, empregando partículas deslipidizadas de *Cyticercus cellulosae* fixadas a lâminas de microscopia. Realizaram testes com soro e com LCR de pacientes com cisticercose ¹⁴. Bassi & col., em 1979, publicaram os primeiros resultados da reação de imunofluorescência para cisticercose em amostras de LCR. Concluíram que a reação de fixação do complemento e a de imunofluorescência para cisticercose são estatisticamente associáveis e que não há associação entre eosinoflorraquia e reação de fixação do complemento ou de imunofluorescência reagentes e, mesmo, com ambas. Consi-

deram que a reação de imunofluorescência para cisticercose não pode e não deve substituir a de fixação do complemento no LCR e, sim, ser associada ^{1,2}.

A síndrome do LCR observada na neurocisticercose, é devida as alterações inflamatórias crônicas determinadas pela infestação do SNC e leptomeninges pelo cisticerco. Esta apresenta múltiplas variações, na dependência do tipo de infestação — se única, múltipla ou repetida — e também da localização dos cisticercos no SNC. Admite-se, como termo médio, que a sobrevivência do cisticerco no SNC seja de 3 a 6 anos. A reação provocada pela degeneração do parasito além de fenômenos imunopatológicos circunscritos ao local onde ele se encontra, provoca liberação única ou repetida de antígenos, de complexos antígeno-anticorpos e de anticorpos que podem ser verificados no LCR ³¹.

Fenômenos imunitários específicos também contribuem aos conhecimentos sobre a imunobiologia da neurocisticercose, como a formação de anticorpos — revelados pelas reações imunodiagnósticas seja de fixação do complemento, de precipitação, de hemaglutinação e de imunofluorescência ^{2,4,31}.

Os anticorpos evidenciados mediante reações como a de fixação do complemento têm especificidade apenas de grupo. No entanto, a segurança diagnóstica no LCR resulta da frequência pequena em que o SNC, no nosso meio, é parasitado por outros cestódeos. Por este mesmo fato, é mais restritivo o valor da positividade da reação no soro, podendo: ser positiva nos casos de infestação por cestódeos, ser negativa na própria neurocisticercose e ser positiva na presença do parasito em outras localizações. No caso do SNC, a verificação de aumento de globulinas gama no perfil proteico do LCR contribui para a discussão do problema da síntese ou liberação local de imunoproteínas, especialmente quando o aumento de globulinas gama é moderado ou nítido ^{28,30}. As alterações observadas no proteinograma contribuem, portanto, não só para o diagnóstico, como para o prognóstico e o controle de evolução da neurocisticercose. Contribuem também para os conhecimentos sobre os fenômenos imunológicos locais referidos e as peculiaridades observadas em relação a outros processos de longa evolução, como a neurosífilis, a meningite tuberculosa, a criptococose e a esclerose múltipla, que apontam no mesmo sentido. O estudo sobre imunoglobulinas do LCR na neurocisticercose, realizado por Spina-França & col., traz novas contribuições quanto à possibilidade de haver vigência de imunoliberação local da imunoglobulina IGG no sistema LCR ³³.

Esses fatos comprovam que os fenômenos imunobiológicos observados no LCR podem ser desencadeados pelos catabolitos do parasita ou por produtos de sua desintegração. A medida que fatos como estes se repetem sob forma de surtos, os episódios inflamatórios tendem ser mais intensos, provocando por vezes maior imunoagressão no SNC que a simples presença do parasita.

Um evento de observação clínica relativamente comum é a dificuldade no diagnóstico diferencial entre neurocisticercose e neurosífilis. Vários autores assinalam esta dificuldade ^{11,20,26}. Os conhecimentos sobre a imunobiologia da neurocisticercose, podem contribuir para contorná-la. Assim, embora o quadro geral do LCR possa apresentar semelhanças, as reações imunológicas elucidam na maioria dos casos o tipo de afecção. No entanto, o evento de reações cru-

zadas com o emprego da reação de fixação do complemento pode ocorrer, sendo alguns casos quase impossível estabelecer um diagnóstico biológico, mesmo procedendo-se a técnica de diluições seriadas.

O objetivo deste estudo é avaliar a contribuição de reações de imunofluorescência no líquido cefalorraqueano ao estudo imunobiológico da neurocisticercose.

MATERIAL E METODOS

Foram estudadas 1.577 amostras de LCR de 1.282 pacientes com afecções diversas, particularmente do sistema nervoso.

De acordo com o quadro do LCR, os 1.282 pacientes foram distribuídos em 3 grupos: 1— 459 pacientes com LCR normal; 2— 600 pacientes com alterações do LCR mas com reações imunológicas não reagentes; 3— 223 pacientes em que uma ou mais das reações imunológicas era reagente.

De acordo com o comportamento das reações imunológicas, o grupo 3 foi subdividido em 8 subgrupos: 3.1 — pacientes nos quais só a reação de imunofluorescência para toxoplasmose foi reagente; 3.2 — pacientes nos quais só a reação de fixação do complemento para sífilis foi reagente; 3.4 — pacientes que apresentavam reações de fixação do complemento e de imunofluorescência para sífilis reagentes e as demais, não-reagentes; 3.5 — pacientes nos quais só a reação de fixação do complemento para cisticercose foi reagente; 3.7 — pacientes que apresentavam reações de fixação do complemento e de imunofluorescência para cisticercose reagentes e as demais, não-reagentes; 3.8 — pacientes que apresentavam reações imunológicas para sífilis e para cisticercose reagentes e reação de imunofluorescência para toxoplasmose não-reagente.

Em todos os casos dos grupos 1 e 2 só foi analisada uma amostra de LCR. A análise de mais de uma amostra de LCR só foi efetuada no grupo 3; ao todo, neste grupo, foram analisadas 518 amostras.

Os exames das amostras de LCR foram efetuados segundo as técnicas adotadas no Centro de Investigações em Neurologia da FMUSP 32. Para a reação de fixação do complemento para sífilis foi empregado como antígeno a cardiolipina; para a reação de fixação do complemento para cisticercose, o antígeno foi extrato alcoólico de cisticercos; ambas foram realizadas segundo o método de Kolmer a 1/5 10.

As reações de imunofluorescência para toxoplasmose, sífilis (FTA-Abs) e cisticercose foram realizadas segundo técnica indireta antiglobulínica de Camargo 5,6,14. Foram empregadas lâminas quadriculadas para imunofluorescência, respectivamente com *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum* (cepa Nichols) e partículas de *Cysticercus cellulosae* já previamente fixados.

As reações de imunofluorescência para sífilis e para cisticercose foram consideradas reagentes (R) e não-reagentes (nr). Resultados duvidosos foram repetidos e reanalisados.

Quando a reação de imunofluorescência para toxoplasmose mostrava-se reagente, procedia-se a diluição progressiva da amostra, verificando-se a máxima diluição em que a reação era reagente com intensidade máxima de fluorescência. Reações com fluorescência fraca ou polar foram consideradas não-reagentes.

RESULTADOS

A incidência de alterações das características gerais do LCR nas amostras dos grupos 2 e 3 consta da tabela 1. A distribuição das alterações do dual citoproteico segundo a respectiva amplitude consta da tabela 2.

Consta da tabela 3 a incidência de resultados reagentes das reações imunológicas no grupo 3 e, da tabela 4, a distribuição desses resultados segundo o número de casos e amostras.

Evento	Grupo 2	Grupo 3.1	Grupo 3.2	Grupo 3.3	Grupo 3.4	Grupo 3.5	Grupo 3.6	Grupo 3.7	Grupo 3.8
Hipertensão	85/463	0/1		2/18	0/37	3/31	3/38	60/223	1/12
Hipotensão	25/463	0/1		2/18	0/37	1/31	3/38	13/223	1/12
Turvação	101/600	1/6	1/2	0/19	2/40	7/36	7/42	106/357	12/16
Hemorragia	44/600	0/6	0/2	1/19	1/40	1/36	8/42	8/357	0/16
Xantocromia	146/600	2/6	0/2	1/19	5/40	5/36	16/42	63/357	1/16
Bilirrubina	146/600	2/6	0/2	1/19	5/40	5/36	16/42	63/357	1/16
Hemoglobina	131/600	1/6	0/2	1/19	3/40	5/36	11/42	47/357	1/16
Pleocitose	321/600	2/6	2/2	4/19	20/40	21/36	26/42	290/357	16/16
Linfócitos	341/346	2/2	2/2	5/5	22/22	24/24	30/30	306/306	16/16
Reticulomonócitos	341/346	2/2	2/2	5/5	22/22	24/24	30/30	306/306	16/16
Plasmócitos	197/346	1/2	2/2	2/5	17/22	16/24	23/30	265/306	16/16
Macrófagos	316/346	2/2	2/2	3/5	21/22	22/24	29/30	301/306	16/16
Neutrófilos	178/346	2/2	2/2	2/5	7/22	4/24	15/30	103/306	4/16
Eosinófilos	81/346	1/2	0/2	0/5	8/22	5/24	14/30	225/306	13/16
Células atípicas	10/346	0/2	0/2	0/5	0/22	0/24	0/30	4/306	0/16
Hemácias	63/600	0/6	0/2	1/19	1/40	2/36	8/42	27/357	0/16
Hiperproteínorraquia	360/600	2/6	2/2	6/19	21/40	19/36	25/42	261/357	12/16
Hiperclororraquia	12/600	0/6	0/2	0/19	0/40	0/36	0/42	2/357	0/16
Hipoclororraquia	94/600	1/6	0/2	1/19	4/40	4/36	5/42	49/357	3/16
Hiperglicorraquia	92/600	0/6	0/2	1/19	2/40	5/36	5/42	8/357	0/16
Hipoglicorraquia	60/600	4/6	0/2	1/19	0/40	1/36	3/42	100/357	10/16
Aumento TGO	58/229	0/1		3/7	0/4	7/13	0/7	9/42	
Aumento DHL	81/229	0/1		3/7	1/4	6/13	0/7	12/42	
Takata-Ara + vermelho	102/600	1/6	0/2	0/19	0/40	3/36	12/42	20/357	0/16
Takata-Ara + floculante	26/600	0/6	0/2	0/19	7/40	0/36	1/42	103/357	12/16
Takata-Ara + misto	45/600	1/6	0/2	1/19	1/40	1/36	1/42	36/357	0/16
Perfil albumínico	70/247	0/3		1/9	0/18	2/12	3/18	12/237	0/16
Perfil gama	78/247	2/3		3/9	17/18	2/12	5/18	164/237	16/16
Bactérias e/ou leveduras	15/114	0/1	0/1		0/2	0/6	0/4	1/100	0/12
Óleo	1/600	0/6	0/2	0/19	0/40	0/36	0/42	0/357	0/16

Tabela 1 — Frequência de alterações das características gerais das amostras de LCR dos grupos 2 e 3; amostras com alterações/amostras pesquisadas.

Evento	Grupo 2	Grupo 3.1	Grupo 3.2	Grupo 3.3	Grupo 3.4	Grupo 3.5	Grupo 3.6	Grupo 3.7	Grupo 3.8
Pleocitose	321/600	2/6	2/2	4/19	20/40	21/36	26/42	290/357	16/16
Discreta	212/321	1/2	0/2	4/4	18/20	12/21	19/26	172/290	4/16
Moderada	59/321	1/2	1/2	0/4	2/20	4/21	4/26	81/290	8/16
Nítida	43/321	0/2	1/2	0/4	0/20	3/21	3/26	34/290	4/16
Intensa	7/321	0/2	0/2	0/4	0/20	2/21	0/26	3/290	0/16
Eosinofilorraquia	81/346	1/2	0/2	0/19	8/22	5/24	14/30	225/306	13/16
Discreta	67/81	1/1			8/8	5/5	10/14	115/225	4/13
Moderada	9/81	0/1			0/8	0/5	3/14	50/225	9/13
Nítida	4/81	0/1			0/8	0/5	1/14	34/225	0/13
Intensa	1/81	0/1			0/8	0/5	0/14	26/225	0/13
Hiperproteínorraquia	360/600	2/6	2/2	6/19	21/40	19/36	25/42	261/357	12/16
Discreta	172/360	1/2	0/2	3/6	13/21	12/19	10/25	121/261	3/12
Moderada	158/360	1/2	2/2	3/6	8/21	7/19	7/25	113/261	9/12
Nítida	27/360	0/2	0/2	0/6	0/21	0/19	7/25	24/261	0/12
Intensa	3/360	0/2	0/2	0/6	0/21	0/19	1/25	3/261	0/12
Perfil gama	78/247	2/3		3/9	17/18	2/12	5/18	164/237	16/16
Discreto	59/78	2/2		3/3	9/17	0/2	5/5	68/164	1/16
Moderado	15/78	0/2		0/3	4/17	2/2	0/5	70/164	10/16
Nítido	3/78	0/2		0/3	2/17	0/2	0/5	25/164	5/16
Intenso	1/78	0/2		0/3	2/17	0/2	0/5	1/164	0/16

Tabela 2 — Frequência da amplitude das alterações do dual citoproteico verificadas nos grupos 2 e 3: amostras com alterações/amostras pesquisadas.

GRUPO	VDRL	RFC-SIF	FTA-Abs	RFC-CIST	RIF-CIST	RIF-TOXO
3.1	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	6/6
3.2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	0/2
3.3	0/19	0/19	14/19	0/19	0/19	0/19
3.4	35/40	40/40	40/40	0/40	0/40	0/40
3.5	0/36	0/36	0/36	29/36	0/36	0/36
3.6	0/42	0/42	0/42	0/42	30/42	0/42
3.7	0/357	0/357	0/357	287/357	297/357	0/357
3.8	14/16	16/16	14/16	8/16	15/16	0/16

Tabela 3 — Incidência de resultados reagentes nas reações imunológicas nas amostras dos pacientes do grupo 3: amostras reagentes/amostras pesquisadas. Legenda — reações para sífilis: VDRL — reação de floculação do VDRL, RFC-SIF — reação de fixação do complemento, FTA-Abs — reação de imunofluorescência; para cisticercose: RFC-CIST — reação de fixação do complemento, RIF-CIST — reação de imunofluorescência; para toxoplasmose: RIF-TOXO — reação de imunofluorescência.

Consta da tabela 5 a frequência dos resultados reagentes das reações de fixação do complemento, expressos em unidades Kolmer.

No grupo 3, as reações imunológicas foram analisadas segundo haver concordância ou discordância entre os resultados das reações de fixação do complemento e imuno-fluorescência (tabelas 6, 7 e 8).

Conta da tabela 9 a frequência das alterações principais encontradas na síndrome do LCR na neurocisticercose para as amostras dos subgrupos 3.5, 3.6 e 3.7.

Unidades Kolmer	RFC-SIF reagente nos subgrupos			RFC-CIST reagente nos subgrupos		
	3.2	3.4	3.8	3.5	3.7	3.8
ah		1		12	19	
1	1	3		8	29	2
2	1	7	6	6	72	5
4		6	5	3	54	1
8		9	5		54	
16		7			31	
32		3			15	
64		1			6	
128		1			6	
256					1	
512		2				
Subtotal	2	40	16	29	287	8
Total			58			324

Tabela 5 — Distribuição da frequência de resultados reagentes, expressos em unidades Kolmer, das reações de fixação do complemento para sífilis (RFC-SIF) e para cisticercose (RFC-CIST) nas amostras dos subgrupos 3.2, 3.4, 3.8 e 3.5, 3.7, 3.8 respectivamente: ah, atraso da hemólise.

Grupo	Número de amostras	RFC-SIF x FTA-Abs					
		Concordantes		Discordantes			
		R	nr	RFC-SIF	R	FTA-Abs	R
3.2	2	0	0	2		0	
3.3	19	0	5	0		14	
3.4	40	40	0	0		0	

Tabela 6 — Distribuição dos eventos imunológicos para sífilis. Legenda: v. tabela 6; R, reagente; nr, não-reagente.

Grupo	Número de amostras	RFC-CIST x RIF-CIST					
		Concordantes		Discordantes			
		R	nr	RFC-CIST	R	RIF-CIST	R
3.5	36	0	7	29		0	
3.6	39	0	12	0		27	
3.7	354	277	50	10		17	

Tabela 7 — Distribuição dos eventos imunológicos para cisticercose, excluindo-se as amostras com RFC CIST anticomplementar. Legenda: v. tabela 9.

Grupo	Número de amostras	RFC-SIF x FTA-Abs				RFC-CIST x RIF-CIST			
		Concordantes		Discordantes		Concordantes		Discordantes	
		R	nr	RFC-SIF	FTA-Abs	R	nr	RFC-CIST	RIF-CIST
3.8	16	14	0	2	0	8	1	0	7

Tabela 8 — Distribuição dos eventos imunológicos para sífilis e cisticercose no subgrupo 3.8 Legenda: v. tabela 9.

COMENTARIOS

O exame do LCR, contribui para o diagnóstico biológico da afecção oferecendo diagnóstico de segurança, quando nela são demonstrados anticorpos específicos.

Assim sendo, a divisão do material estudado tem como base a positividade de reações imunológicas no LCR. Em função destas últimas foi considerado o diagnóstico imunobiológico de toxoplasmose (subgrupo 3.1); neurosífilis (sub-

Evento	Neurocisticercose
Hipertensão	22,6%
Pleocitose	77,5%
Eosinofílorraquia	67,8%
Hiperproteinorraquia	70,1%
Perfil gama	64,0%
Hipoglicorraquia	23,9%
Hipoclororraquia	13,3%
RFC CIST R	72,6%
RIF CIST R	75,2%
Concordantes R	64,6%
Concordantes nr	16,1%
Discordantes RFC-CIST R	9,1%
Discordantes RIF CIST R	10,3%

Tabela 9 — Frequência das alterações principais encontradas na síndrome do LCR na neurocisticercose, para as amostras dos subgrupos 3.5, 3.6 e 3.7.

grupos 3.2, 3.3 e 3.4) e neurocisticercose (subgrupos 3.5, 3.6 e 3.7). A toxoplasmose e a sífilis são estudadas como termos de comparação à cisticercose. No grupo 3 foram analisadas uma ou mais amostras de cada caso especialmente para enfatizar a variabilidade do comportamento das reações imunológicas na cisticercose.

Metodologia — Para reações de fixação do complemento foi utilizada a técnica a 1/5 do método de Kolmer¹⁰, que apresenta sensibilidade e especificidade elevadas e permite aumentar os limites de fidelidade quando utilizam-se diluições progressivas e, especialmente, quando analisados os resultados abaixo de 4 unidades. No LCR, essa análise tem grande valor e permite realce até mesmo à observação de atraso da hemólise, a qual já é sugestiva do ponto de vista do diagnóstico imunológico. Esse realce, tem grande importância e permite, pelo menos, equiparar a fidelidade ao de métodos mais sofisticados, como os de hemólise parcial e de isofixação, utilizados também para o diagnóstico da cisticercose, só sendo consideradas positivas reações com títulos acima de 2 e de 3 unidades, respectivamente^{15,24}. Destaca-se a importância de serem considerados os títulos abaixo de 4 no método empregado pois: 41,8% das amostras do subgrupo 3.7 apresentavam títulos inferiores a 4 na reação de fixação do complemento para cisticercose, em 6,6% só ocorrendo atraso da hemólise (tabela 5).

Das 42 amostras dos subgrupos 3.2 e 3.4 em que a reação de fixação do complemento para sífilis foi reagente ocorreram títulos inferiores a 4 unidades em 13 (31,0%) e iguais ou superiores a 4 unidades nas demais. Já, das 316 amostras dos subgrupos 3.5 e 3.7 em que a reação de fixação do complemento

para cisticercose foi reagente, ocorreram títulos inferiores a 4 unidades em 146 (46,2%) e iguais ou superiores a 4 unidades nas restantes.

Essa mesma tendência a serem mais baixos os títulos de positividade na reação de fixação do complemento para cisticercose que naquela para sífilis é expressa também pelo fato de, no grupo neurosífilis, o título de 8 unidades ter sido observado na maior percentagem de amostras analisadas (21,4%) enquanto, no grupo neurocisticercose, ter sido o título de 2 unidades o mais observado (24,7% das amostras analisadas).

Os títulos das reações de fixação do complemento, seja para sífilis, seja para cisticercose, têm grande valor no controle imunobiológico da evolução da doença. Quanto ao diagnóstico podem ser inexpressivos e deixar margem a dúvidas. Torna-se útil, nesses casos, o estudo associado, na mesma amostra, de outras reações imunológicas.

No sentido de propiciar resultados mais sensíveis e que permitam mais segurança diagnóstica, destacam-se as reações de imunofluorescência.

O método da imunofluorescência indireta com conjugado antiglobulínico anti-IGG é, dentre os métodos de imunofluorescência, o que melhor se aplica ao estudo das afecções parasitárias sobretudo no LCR.

A reação de imunofluorescência para sífilis (FTA-Abs) já é bem estudada no LCR, mostrando-se suficientemente sensível e específica^{6,7,8,17}. Não foi introduzida qualquer modificação, nem de técnica e nem de interpretação da leitura, para esta reação.

Modificações foram introduzidas quanto a interpretação da leitura das reações para cisticercose e para toxoplasmose.

Para a reação de imunofluorescência para toxoplasmose, só foi considerada reagente a intensidade máxima de fluorescência. Fluorescências polares ou de fraca intensidade (+ a ++) foram consideradas não-reagentes. A nosso ver, esta interpretação aumenta a especificidade da reação. Unes³⁶ encontrou, em 163 pacientes com afecções diversas, 55,2% de positividade da reação do LCR. Stöckli³⁴ em uma série de 325 pacientes, também verificou elevada percentagem de reações positivas, não esperadas. Concluiu, por esse motivo, que a reação positiva no LCR não é elemento suficiente para comprovar a vigência de toxoplasmose ativa no SNC. Fatos como esse levaram à interpretação ora introduzida. Com esta, a reação de imunofluorescência para toxoplasmose no LCR pode alcançar novas perspectivas, pois só se mostrou positiva em 6 das 1.577 amostras estudadas. Esse número expressa uma realidade, especialmente quando consideradas as características dos casos do subgrupo 3.1.

Para a reação de imunofluorescência para cisticercose não foram considerados resultados duvidosos, como fizeram Bassi & col.^{1,2}. Os resultados só foram considerados reagentes ou não-reagentes. Resultados duvidosos, se devidamente interpretados, podem ser na realidade reagentes. Isto ocorre quando é observada fluorescência em partículas de cisticercos como, também, tênue fluo-

rescência de fundo. Diferem eles, assim, das verdadeiras reações não-reagentes. Com esse critério de interpretação alcança-se maior segurança, como se depreende da simples análise do subgrupo neurocisticercose.

A reprodutibilidade das reações de imunofluorescência depende dos critérios adotados na interpretação dos resultados. Tomando como modelo desses critérios aqueles adotados para a reação de imunofluorescência para sífilis, verifica-se que, no LCR, tanto a sensibilidade como a reprodutibilidade das reações para toxoplasmose e cisticercose são beneficiadas.

As características gerais do LCR nos grupos 1 e 2 serviram de controle daquelas do grupo 3. Nos 459 casos do grupo 1 eram normais as características do LCR; em todos foram não-reagentes as três reações de imunofluorescência. As alterações observadas nos 600 casos do grupo 2 servem de controle de alterações similares das características gerais do LCR observadas no grupo 3 (tabela 1).

Nenhuma delas foi de ordem a interferir no resultado das reações de imunofluorescência. Isto foi verificado para eventos indiferentes, como para eventos aos quais têm sido atribuída interferência em reações de imunofluorescência^{1,2}, independentemente da amplitude que alcançassem. Entre os primeiros encontram-se a hipertensão, a hipotensão, o aumento e a diminuição das concentrações de cloretos e glicose, o aumento da atividade enzimática de TGO e de DHL. Entre os segundos, salientaram-se: a xantocromia e pigmentos derivados do heme; o aumento da concentração proteica e o perfil albumínico; a presença de hemácias; a presença de microorganismos; a ocorrência de células atípicas ao LCR, como células blásticas.

A pleocitose seja discreta, moderada, nítida ou intensa — chegando até 18.500 leucócitos por mm³ às custas de polinucleares neutrófilos — também não foi fator de interferência. A ocorrência de células atípicas ao LCR, verificada em 10 casos — quer fossem blásticas (2 casos), quer de outra natureza (8 casos) — não levou a falsa positividade das reações, da mesma forma que a presença de microorganismos. Bactérias foram observadas em 10 casos e leveduras (*Cryptococcus neoformans*), em 5. A presença de óleo (contraste radiopaco) observada em uma amostra, também não interferiu nas reações.

É de salientar quanto à hiperproteinorraquia, que também não mostrou interferência, a observação de aumentos intensos. O valor máximo observado foi 1.700 mg/100ml. Sendo alterações de reações coloidais como a de Takata-Ara, função das alterações do perfil proteico, são estas que merecem destaque. Cumpre salientar obviamente o perfil tipo albumínico, de observação mais comum no grupo 2 e que não levou a falsos resultados positivos.

Excetuando os casos do subgrupo 3.8, que merece considerações particulares, não houve nas amostras dos demais subgrupos interferência do resultado de uma reação de imunofluorescência sobre a outra.

Comparação entre reações de fixação do complemento e imunofluorescência — Cumpre salientar que a comparação entre resultados das reações de fixação

do complemento e imunofluorescência, feita para o total de casos e para o total de amostras nos subgrupos neurossífilis (3.2, 3.3 e 3.4) e neurocisticercose (3.5, 3.6 e 3.7), mostrou valores de ordem diversa.

Nos subgrupos neurossífilis, o resultado foi significativo tanto para casos, como para amostras, favorável à reação de imunofluorescência. Esse dado está de acordo à concordância registrada na literatura compulsada ^{6,9}.

Para a cisticercose, tanto para o total de casos como para o total de amostras, o resultado foi não significativo, isto é, não aponta superioridade a uma ou outra das reações, o que está de acordo aos resultados obtidos por Bassi & col. ². No entanto, excluindo-se os casos e amostras nos quais houve atraso da hemólise na reação de fixação do complemento para cisticercose, os resultados mostram diferenças significativas tanto para casos, como para amostras. As diferenças são favoráveis à reação de imunofluorescência.

Concordância entre reações imunológicas — A concordância ou discordância entre reações imunológicas, de fixação do complemento e imunofluorescência, foi estudada nos subgrupos neurossífilis (3.2, 3.3 e 3.4) e neurocisticercose (3.5, 3.6 e 3.7) em relação a número de casos e a número de amostras (tabelas 6 e 7).

Em relação ao número de casos, as reações de fixação do complemento e de imunofluorescência para sífilis foram concordantes em 24 de 40 casos (60%) e discordantes em 16 (40%); em dois foi favorável à reação de fixação do complemento (5%) e em 14, à reação de imunofluorescência (35%). Em relação ao número de amostras, as reações foram: concordantes reagentes em 40 das 61 amostras analisadas (65,6%); concordantes não-reagentes em 5 (8,2%); discordantes em 16 (26,2%), sendo em duas amostras favorável à reação de fixação do complemento (3,3%) e, em 14, à reação de imunofluorescência (23,0%).

Para o grupo neurocisticercose, as reações de fixação do complemento e de imunofluorescência foram concordantes em 119 dos 176 casos (67,6%) e discordantes em 57 casos (32,4%), sendo em 29 casos favorável à reação de fixação do complemento (16,5%) e, em 28, à reação de imunofluorescência (15,9%). Em relação ao número de amostras, excluindo-se as amostras com reação de fixação do complemento anticomplementar (três amostras no subgrupo 3.6 e três amostras no subgrupo 3.7) as reações foram: concordantes reagentes em 277 das 429 amostras analisadas (64,6%); concordantes não-reagentes em 69 (16,1%); discordantes em 83 (19,4%), sendo em 39 favorável à reação de fixação do complemento (9,1%) e, em 44, favorável à reação de imunofluorescência (10,3%).

No grupo neurossífilis os dados comprovaram mais uma vez a maior sensibilidade da reação de imunofluorescência para sífilis FTA-Abs. No grupo neurocisticercose os dados não evidenciaram diferenças significativas entre as duas reações.

Reações anticomplementares — Ocorreram reações de fixação do complemento anticomplementares em 6 amostras de LCR do grupo 2, em três do subgrupo 3.6 e em três do subgrupo 3.7.

Nas 12 amostras de LCR em que as reações de fixação do complemento foram anticomplementares, as alterações apontadas das respectivas características gerais eram suficientes para justificar o resultado. As reações de imunofluorescência foram de grande utilidade diagnóstica por não terem sofrido a influência desses fatores. Falsos resultados positivos não se apresentariam apenas para uma delas e, sim, para uma ou outra ou, ainda, para mais de uma ao mesmo tempo.

Utilização conjugada das reações de imunofluorescência — Assim como o emprego das reações de fixação do complemento para sífilis e para cisticercose é feito habitualmente no LCR, os dados desta pesquisa são de ordem a justificar o uso conjugado pelo menos das três reações de imunofluorescência estudadas.

Nas 1.577 amostras de LCR analisadas houve positividade da reação de imunofluorescência para toxoplasmose em 6 amostras, da reação de imunofluorescência para sífilis em 68 e da reação de imunofluorescência para cisticercose em 342. A reação de fixação do complemento para sífilis foi reagente em 58 amostras e, para cisticercose em 324 (tabela 3).

Realizadas conjuntamente, para cada amostra de LCR analisada, podem contribuir para melhorar a possibilidade diagnóstica dada sua fácil execução e boa reprodutibilidade.

Dificuldades imunodiagnósticas — O subgrupo 3.8 é constituído de dois casos, o primeiro com três amostras analisadas e o segundo, com 13. Esses dois casos são considerados em separado por ressaltarem a dificuldade do diagnóstico biológico diferencial entre neurosífilis e neurocisticercose já assinalada por vários autores ^{11,20,26}.

Na maioria das vezes, essa dificuldade é elucidada pelo estudo das reações imunológicas empregando-se diluições seriadas nas amostras analisadas. Nesses dois casos foram observadas reações de fixação do complemento e de imunofluorescência reagentes, tanto para sífilis como para cisticercose em diversas das amostras analisadas (tabela 8). Esses dois casos ilustram muito bem a necessidade de novas contribuições às técnicas de imunodiagnóstico, pois os resultados observados não permitem estabelecer se os pacientes apresentavam apenas neurosífilis, apenas neurocisticercose, ambas, ou nenhuma das duas doenças.

Síndrome do LCR na neurocisticercose — As tabelas 1 e 2 permitem elaborar a frequência de alterações das amostras de LCR nos grupos neurosífilis (3.2, 3.3 e 3.4) e neurocisticercose (3.5, 3.6 e 3.7).

No grupo neurocisticercose ocorreu hipertensão em 22,6% das amostras; em relação ao grupo neurosífilis esta diferença é importante.

A presença de pleocitose predominantemente a linfomononucleares ocorreu em 77,5% das amostras do grupo neurocisticercose; ocorreu pleocitose também no grupo neurosífilis (42,6%). Na neurocisticercose, a pleocitose era discreta em 60,2%, moderada em 26,4%, nítida em 11,9% e intensa em 1,5% das amostras, enquanto em todas do grupo neurosífilis ela era discreta.

A presença de células eosinófilas ocorreu em 67,8% das amostras do grupo neurocisticercose, e foi importante a diferença em relação ao grupo neurosífilis no qual este evento apareceu em 28,6% das amostras, em todas discreta. Na neurocisticercose a eosinoflorraquia era discreta em 53,3% das amostras, moderada em 21,7%, nítida em 14,3% e intensa em 10,7%.

Hiperproteinorraquia ocorreu em 70,1% das amostras de neurocisticercose, sendo a diferença importante em relação ao grupo neurosífilis. Na neurocisticercose ela era discreta em 46,9% das amostras, moderada em 41,6%, nítida em 10,2% e intensa em 1,3%.

O aumento de globulinas gama ocorreu em 64,0% das amostras de neurocisticercose, não sendo importante a diferença quanto ao grupo neurosífilis. Neste, observaram-se 74,1% de perfis tipo gama, como seria o esperado. Na neurocisticercose, a gamaglobulinorraquia era discreta em 42,7% das amostras, moderada em 42,1%, nítida em 14,6% e intensa em 0,6%.

Das outras alterações do LCR que podem ocorrer na neurocisticercose, a hipoglicorraquia foi observada em 23,9% das amostras, sendo importante a diferença em relação ao grupo neurosífilis. A hipoclororraquia, ocorreu em 13,3% das amostras, não sendo importante a diferença em relação ao grupo neurosífilis.

Considerando os resultados obtidos, a reação de fixação do complemento para cisticercose foi reagente em 72,6% das amostras e a de imunofluorescência para cisticercose foi reagente em 75,2% das amostras. Torna-se evidente, mais uma vez, o valor dessas duas reações no diagnóstico imunológico da afecção.

Reações de imunofluorescência e imunobiologia da neurocisticercose — O estudo da imunobiologia da neurocisticercose pode ser realizado indiretamente, através das alterações verificadas no LCR, como já salientou Spina-França^{30,31}.

Nada melhor, para verificar todos esses aspectos, que o estudo atento das amostras de LCR de cada paciente, isoladamente e, ao longo da evolução. Só a observação cuidadosa, caso a caso e, sobretudo, amostra a amostra, contribui para a comprovação desses fenômenos imunobiológicos. Os achados aparecem e reaparecem, tornam-se por vezes quase ausentes, voltam a aparecer ulteriormente.

Em relação às reações imunológicas de fixação do complemento e imunofluorescência, esse comportamento pode ser evidenciado na tabela 4. Essa análise exemplifica apenas a multiplicidade e a variabilidade de um dos eventos imunobiológicos observados na neurocisticercose. Comportamento semelhante ocorre em relação aos demais eventos. É o caso da hipertensão, da pleocitose sobretudo discreta ou moderada, da eosinofilorraquia principalmente discreta, de hiperproteinorraquia, da hipergamaglobulinorraquia discreta ou moderada, da hipoglicorraquia e, eventualmente, da hipoclororraquia, e encontra-se em concordância com a literatura revista (tabela 9) no qual se destacam as contribuições de pesquisadores brasileiros, a partir de Lange.

CONCLUSÕES

Para material constituído de 1.577 amostras de LCR em 1.282 pacientes e tendo como objetivo analisar a contribuição de reações de imunofluorescência ao estudo da neurocisticercose é possível concluir que: adotando-se para a reação de imunofluorescência para cisticercose, como para a de toxoplasmose, critérios de interpretação equiparáveis aos aceitos para a reação de imunofluorescência para sífilis, alcança-se melhor sensibilidade e reprodutibilidade no LCR. A reação de imunofluorescência para cisticercose apresenta sensibilidade e especificidade semelhantes às da reação de fixação do complemento para cisticercose, no LCR. No entanto excluindo-se os casos e amostras nos quais ocorreu atraso da hemólise na reação de fixação do complemento para cisticercose no LCR, a comparação dos resultados desta com os da reação de imunofluorescência mostra diferença significativa, favorável à reação de imunofluorescência. A concordância entre os resultados positivos da reação de fixação do complemento e da reação de imunofluorescência no LCR contribui para maior segurança imunodiagnóstica, do que a simples positividade isolada de uma ou outra. As reações de imunofluorescência mostram-se particularmente úteis naqueles casos em que ocorrem reações de fixação do complemento anticomplementares no LCR. A introdução, no exame básico do LCR, das três reações de imunofluorescência estudadas aumenta a possibilidade imunobiológica diagnóstica, sobretudo quando afecções parasitárias do SNC são consideradas. A positividade da reação de imunofluorescência para cisticercose deve ser incorporada à síndrome do LCR na neurocisticercose. A alternância de concordância reagentes, ou discordância entre reações imunológicas para cisticercose no LCR contribui para a evidência dos fenômenos imunobiológicos próprios à neurocisticercose.

RESUMO

São revistos os principais elementos da síndrome do LCR na neurocisticercose bem como os conceitos imunobiológicos atuais da doença. Foram estudadas 1.577 amostras de LCR de 1.282 pacientes com afecções diversas do sistema nervoso divididos em 3 grupos: 1— 459 pacientes com LCR normal; 2— 600 pacientes com alterações do LCR mas com reações imunológicas não

reagentes; 3— 233 pacientes divididos em 8 subgrupos que apresentavam uma ou mais das reações imunológicas reagente. Foi analisado o comportamento das reações imunofluorescência para sífilis, cisticercose e toxoplasmose. Na análise dos resultados foi concluído que a reação de imunofluorescência para cisticercose apresenta sensibilidade e especificidade semelhante as de fixação de complemento no LCR, no entanto não considerando os resultados de atraso de hemólise, na reação de fixação do complemento, a imunofluorescência para cisticercose mostra diferença significativa à semelhança do que ocorre quando comparada as reações para sífilis; a concordância entre os resultados positivos de reações de fixação de complemento e imunofluorescência no LCR contribui para maior segurança imunodiagnóstica, sendo particularmente útil naqueles casos em que ocorreram reações de fixação do complemento anticomplementares; a positividade da reação de imunofluorescência para cisticercose no LCR deve ser incorporada a síndrome do LCR na neurocisticercose e contribui de modo eficaz ao estudo imunobiológico da afecção.

SUMMARY

Cerebrospinal fluid immunofluorescent reactions and neuro-cysticercosis

The most important imunobiological aspects of neurocysticercosis and the cerebrospinal fluid (CSF) syndrome in this disease are reviewed.

A study was made of 1.577 samples of CSF from 1.282 patients who suffered from several diseases of central nervous system. They were divided in 3 groups: 1— 459 patients with normal results of CSF tests; 2— 600 patients with pathological CSF, but with immunological reactions non-reactive; 3— 233 patients divided in 8 sub-groups according the results of the immunological reactions. CSF immunofluorescent reactions for syphilis (FTA-Abs), cysticercosis and toxoplasmosis were analysed.

Results obtained showed that immunofluorescent reaction for cysticercosis has the same sensivity and especificity as the complement fixation test, but, not considering those samples who showed delay in hemolysis of the complement fixation test, the immunofluorescent reaction showed significative, better results, as occurs, with the FTA-Abs in syphilis.

The agreement between the results of the immunofluorescent reaction and complement fixation in CSF contributes for a better security to the immunodiagnosis of cysticercosis and is particularly useful in those cases in which the complement fixation test is anti-complementary.

The positive of immunofluorescent reaction for cysticercosis in CSF must be incorporated to the CSF syndrome of the disease and contributes to the imunobiological studies of the disease.

REFERENCIAS

1. BASSI, G. E.; CAMARGO, M. E.; BITTENCOURT, J. M. T. & GUARNIERI, D. B. — Reação de imunofluorescência com antígenos de *Cysticercus cellulosae* no líquido cefalorraqueano. *Neurobiol. (Recife)* 42:165, 1979.
2. BASSI, G. E.; CAMARGO, M. E.; BITTENCOURT, J. M. T.; SANTIAGO, M. F. & CERQUEIRA, F. E. C. — Comparação entre as reações de fixação de complemento e imunofluorescência em líquidos cefalorraqueanos. *Neurobiol. (Recife)* 42:231, 1979.
3. BIAGI F., F.; NAVARRETE, F.; PIÑA, A. P.; SANTIAGO, A. M. & TAPIA, L. — Estudio de 3 reacciones serológicas en el diagnóstico de la cisticercosis. *Rev. med. Hosp. gen. (México)* 25:501, 1961.
4. BIAGI F., F. & WILLMS, K. — Immunologic problems in the diagnosis of human cysticercosis. *Ann. Parasit. hum. comp.* 49:509, 1974.
5. CAMARGO, M. E. — Introdução às técnicas de imunofluorescência. (Publicação interna) *Inst. Med. trop. São Paulo. São Paulo*, 1973.
6. CAMARGO, M. E. & BITTENCOURT, J. M. T. — A reação indireta de imunofluorescência para a sífilis no líquido cefalorraqueano. *Rev. paulista Med.* 69:15, 1966.
7. DUNCAN, W. P.; JENKINS, T. W. & PARHAM, C. E. — Fluorescent treponemal antibody-cerebrospinal fluid (FTA-CSF) test. — a provisional technique. *British J. vener. Dis.* 48:97, 1972.
8. ESCOBAR, M. R.; DALTON, H. P. & ALLISON, M. J. — Fluorescent antibody tests for syphilis using cerebrospinal fluid: clinical correlation in 150 cases. *Amer J. clin. Path.* 53:886, 1970.
9. HARRIS, A.; BOSSAK, H. M.; DEACON, W. E. & BUNCH Jr., W. L. — Comparison of the fluorescent treponemal antibody test with other tests for syphilis on cerebrospinal fluids. *British J. vener. Dis.* 36:178, 1960.
10. KOLMER, J. A.; SPAULDING, E. M. & ROBINSON, H. W. — Approved Laboratory Technic. Ed. 5. Appleton-Century Crofts Inc. New York, 1951, pg. 797.
11. LALLEMAND CARPIO, A. & GASALLA CHACON, J. M. — Reacciones de Wasserman inespecíficas en líquido cefalorraquídeo: a propósito de un caso de cisticercosis cerebral. *Medicina (Madrid)* 21:336, 1953.
12. LANGE, O. — O líquido cefalo-rachidiano na cysticercose do systema nervosum central. *Rev. Neurol. Psychiat. São Paulo* 2:3, 1936.
13. LANGE, O. — Síndrome líquórica da cisticercose encéfalo-meningéia. *Rev. Neurol. Psychiat. São Paulo* 6:35, 1940.
14. MACHADO, A. J.; CAMARGO, M. E. & HOSHINO, S. — Reação de imunofluorescência para a cisticercose com partículas de *Cysticercus cellulosae* fixadas a lâminas de microscopia. *Rev. Soc. bras. Med. trop.* 7:181, 1973.
15. MAGALHÃES, A. E. A. — Reação de fixação do complemento para cisticercose no líquido cefalorraquídeo: emprego de novo antígeno por método quantitativo. *Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo)* 15:183, 1957.
16. MILLER, J. N.; BOAK, R. A.; CARPENTER, C. M. & FAZZAN, F. — Immunofluorescent methods in the diagnosis of infectious diseases. *Amer. J. med. Technol.* 29:25, 1963.
17. MÜLLER, F. & RITTER, G. — Bedeutung treponemenspezifischer Antikörper im Liquor cerebrospinalis für die Diagnose und Therapie der Neurosyphilis. *Nervenarzt* 49:185, 1978.
18. NAPANGA, J. — Reaccion de fijacion del complemento en la cisticercosis. *Rev. med. Hosp. Obrero (Lima)* 2:121, 1953.
19. NIETO, D. — Cysticercosis of the nervous system: diagnosis by means of the spinal fluid complement fixation test. *Neurology (Minneapolis)* 6:725, 1956.

20. OBERHAUSER, E. & WEINSTEIN, V. — Estudio comparativo de líquido cefalorraquídeo y sangre en lues y cisticercosis cerebral. *Neurocirurgia (Santiago)* 27:61, 1969.
21. ORDAZ, P. — Diagnóstico de la neurocisticercosis por el examen del líquido cefalorraquídeo. Tese. Fac. Medicina, Univ. Central Venezuela, Caracas, 1972.
22. PUPO, P. P.; CARDOSO, W.; REIS, J. B. & SILVA, C. P. — Sobre a cisticercose encefálica: estudo clínico, anátomo-patológico, radiológico e do líquido cefalorraqueano. *Arq. Assist. Psicopat.* São Paulo 10/11:3, 1945/46.
23. REINLEIN, J. M. A.; TRIGUEROS, E. A. & ALCALDE, S. O. — The study of cerebrospinal fluid in diagnosis of cysticercosis of the central nervous system. *Bull. Inst. med. Res. Univ. Madrid* 4:65, 1951.
24. REIS, J. B. & BEI, A. — A reação de fixação de complemento para o diagnóstico da sífilis e da cisticercose no líquido cefalorraqueano pela técnica de Waldsworth, Maltaner e Maltaner. *Rev. paulista Med.* 53:439, 1958.
25. REIS, J. B.; BEI, A.; REIS FILHO, J. B. & NASSER, J. — Líquido cefalorraqueano na cisticercose encefálica. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 37:113, 1979.
26. SANTOS FILHO, N. — Paralelismo das alterações líquóricas não específicas em portadores de neurolues e cisticercose cerebral: importância da reação de Weinberg. *Hospital (Rio de Janeiro)* 69:119, 1966.
27. SPINA-FRANÇA, A. — Cisticercose do sistema nervoso central, considerações sobre 50 casos. *Rev. paulista Med.* 48:59, 1956.
28. SPINA-FRANÇA, A. — Valor do exame eletroforético das proteínas do líquido cefalorraquidiano na cisticercose do sistema nervoso central. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 18: 301, 1960.
29. SPINA-FRANÇA, A. — Síndrome líquórica da neurocisticercose. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 19:307, 1961.
30. SPINA-FRANÇA, A. — Aspectos biológicos da neurocisticercose: alterações do líquido cefalorraquidiano. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 20:17, 1962.
31. SPINA-FRANÇA, A. — Imunobiologia da cisticercose: avaliação dos conceitos atuais. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 27:125, 1969.
32. SPINA-FRANÇA, A. — Líquido cefalorraqueano. In Tolosa, A. & Canelas, H. M. — *Propedêutica Neurológica*. Ed. Fundo Editorial Prociencx, Ed. 2, São Paulo, 1971, pg. 443.
33. SPINA-FRANÇA, A.; LIVRAMENTO, J. A.; BACHESCHI, L. A. & GARCIA-LOPES, P. — Cerebrospinal fluid immunoglobulins in cysticercosis of the central nervous system. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 34:40, 1976.
34. STÖCKLI, H. R.; KAESER, H. E.; KOCHER, R.; DIETRICH, R. & RIEDER, H. P. — Neue Aspekte zur zerebrospinalen Toxoplasmose. *Fortschr. Neurol. Psychiat.* 48:303, 1980.
35. TRELLES, O. J. & TRELLES, L. — Cysticercosis of the nervous system. In Vinken, P. J. & Bruyn (eds) — *Handbook of Clinical Neurology*. vol. 35. North Holland Publ. Co. Amsterdam, 1978, pg. 291.
36. UNES, S. — Toxoplasmose: correlação entre títulos de anticorpos fluorescentes no soro e no líquido cefalorraquidiano. *Rev. Pat. trop. (Goiana)* 3:321, 1973.
37. ZOZULYA, Y. A. & SKLYARENKO, N. I. — The importance of complement fixation reactions with the cysticercoid antigen in the diagnosis of cysticercosis of the brain. *Vop. Neurokir. (Mosk)* 22:28, 1968.