

ESTUDO COMPARATIVO DOS TESTES IMUNOENZIMÁTICOS ELISA-G E ELISA-M, IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA E FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO NO DIAGNÓSTICO DA CISTICERCOSE HUMANA

LUCY G. VIANNA * — JÚLIA M. COSTA-CRUZ ** — VANIZE MACEDO ***
DALAIR DE SOUZA **** — DOROTI G. MOREIRA *****

RESUMO — Foi feito estudo comparativo entre quatro testes imunológicos — imunoenzimático IgG (ELISA-G) e IgM (ELISA-M), imunofluorescência indireta (RIFI) e fixação do complemento (RFC) — utilizados na detecção de anticorpos anti-*Cysticercus*, em soro e líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com suspeita clínica de cisticercose e seus familiares. Foram examinados 539 pacientes que apresentavam sintomas e/ou sinais sugestivos de cisticercose, 450 familiares destes doentes e 133 pessoas que constituíram o grupo controle. Foram colhidas 1122 amostras de soro e 120 de LCR que foram analisadas por ELISA-G e RIFI; em 83 soros e 60 LCR também foi processada a RFC e em 28 LCR também a ELISA-M. A ELISA-G e a RIFI mostraram-se reagentes em 5,2% dos soros, havendo discordância entre seus resultados em 3,5%. Em todos os soros do grupo controle ambos os testes foram não-reagentes. Estas mesmas reações, no LCR, foram reagentes em 16,7% e mostraram resultados discordantes em 7,5%. Houve concordância dos resultados da ELISA-G e da RIFI, efetuadas concomitantemente no soro e no LCR, em 89,6% dos doentes, sendo 17,7% reagentes. Nos soros em que foram executadas ELISA-G, RIFI e RFC, 54,2% mostraram concordância de resultados nos três testes, sendo reagentes em 16,9%. Estas mesmas reações no LCR tiveram resultados concordantes em 81,7%, sendo 11,7% reagentes. Nas amostras que apresentaram ELISA-G e RIFI não-reagentes, a RFC foi reagente no soro e LCR, respectivamente, em 41,0% e 11,7%. Nos LCR em que se realizaram ELISA-G e ELISA-M, houve concordância de resultados em 78,6%; nas amostras com resultados discordantes, 10,7% tiveram ELISA-G reagente e ELISA-M não-reagente, ocorrendo o inverso nas outras 10,7%. É dada ênfase à necessidade da realização concomitantemente de vários testes imunológicos para detecção de anticorpos anti-*Cysticercus*, no soro e no LCR, garantindo maior segurança no diagnóstico e acompanhamento evolutivo da doença.

PALAVRAS-CHAVE: cisticercose, imunodiagnóstico, imunofluorescência indireta, ELISA (IgG e IgM), fixação do complemento, líquido cefalorraquidiano, soro.

Comparative study of the immunological tests ELISA-IgG, ELISA-IgM, indirect immunofluorescence and complement fixation in the diagnosis of human cysticercosis

SUMMARY — A comparative study of four immunological tests used for anti-*Cysticercus* antibodies detection — Enzyme-Linked Immunosorbent Assay IgG (ELISA-G) and IgM (ELISA-M), indirect immunofluorescence (RIFI) and complement fixation (RFC) — was made in serum and cerebrospinal fluid (CSF). 539 patients with symptoms suggesting cysticercosis, 450 relatives of these patients and 133 normal people (control group) were examined. 1122 serum samples and 120 CSF samples were analysed by ELISA-G and RIFI, 83 sera and 60 CSF also by RFC, and 28 CSF by ELISA-M. 5.2% serum samples were reagent in ELISA-G and RIFI, and 3.5% of them had discordant results. All control group sera were negative. The same tests in CSF were positive in 16.7% and had discordant results in 7.5%. ELISA-G and RIFI in serum and CSF had concordant results in 89.6% (17.7% were positive). ELISA-G, RIFI and RFC had concordant results in 54.2% sera (16.9% positives) and in 81.7% CSF (11.7% positives). When

Trabalho realizado no Núcleo de Medicina Tropical e Nutrição, Universidade de Brasília (UnB): PhD, Professora Adjunta do Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências da Saúde (FCS), UnB; **Professora Titular da Disciplina de Parasitologia, Universidade Federal de Uberlândia; ***Professora Titular do Departamento de Clínica Médica, FCS, UnB; ****Ex-Farmacêutica do Hospital Sarah Kubitschek; *****Farmacêutica do Hospital Universitário de Brasília.

Dra. Lucy Gomes Vianna — Faculdade de Ciências da Saúde, Departamento de Clínica Médica, Universidade de Brasília - Campus Universitário, Asa Norte - 70919 Brasília DF - Brasil.

ELISA-G and RIFI were negative, RFC was positive in 41.0% sera and 11.7% CSF. ELISA-G and ELISA-M had concordant results in 78.6% CSF. When these results were discordant ELISA-G was positive in 10.7% and ELISA-M in another 10.7%. It is necessary to use concomitantly several immunological tests for anti-*Cysticercus* antibodies detection in serum and in CSF, in attempting to reach correct diagnosis.

KEY WORDS: cysticercosis, immunodiagnosis, indirect immunofluorescence, ELISA (IgG and IgM), complement fixation, cerebrospinal fluid, serum.

A cisticercose é doença que envolve complexa relação hospedeiro-parasita⁴. Os cisticercos podem permanecer no organismo humano por longo período de tempo sem determinar reações apreciáveis, ocorrendo pequena ou mesmo nenhuma resposta inflamatória durante a fase em que o parasita está vivo. Esta reação inflamatória surge quando se iniciam as alterações degenerativas da larva de *Taenia solium*, que culminam com sua destruição e reabsorção completa, hialinização, ou calcificação^{9,25,30}. A heterogeneidade da relação humana-cisticercos é causada por significativa variância entre os parasitas e, também, por heterogênea distribuição dos componentes humorais presentes na superfície do cisticercos⁴. Como consequência desta relação, há baixa reprodutibilidade dos métodos diagnósticos. A reação de fixação do complemento (RFC) foi o primeiro teste imunológico utilizado na pesquisa de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* na espécie humana. Entretanto, este teste apresentou limitada especificidade, seja aplicado em soro ou líquido cefalorraquidiano (LCR), devido às reações cruzadas observadas principalmente com outras infecções parasitárias^{12,14,22,26,29}. A introdução da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) permitiu novos avanços diagnósticos^{2,3,15,20}. Em LCR de pacientes com neurocisticercose, a RIFI mostrou maior sensibilidade e especificidade que a RFC¹⁸. Recentemente, inovações na área de neuroimagem e uso de testes imunológicos com alta sensibilidade e especificidade, além de boa reprodutibilidade, como a reação imunoenzimática ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) IgG (ELISA-G) e IgM (ELISA-M) para cisticercose, estão auxiliando no diagnóstico e controle desta infecção^{1-3,5,7,8,11,15,18,20,21,32,33,35}.

A presente investigação teve como objetivo o estudo comparativo entre quatro testes imunológicos (ELISA-G, ELISA-M, RIFI e RFC) utilizados na detecção de anticorpos anti-*Cysticercus*, em soro e LCR de pacientes com suspeita clínica de cisticercose e seus familiares.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinadas 1122 pessoas residentes em Brasília, cujos dados clínicos foram detalhados anteriormente³⁴. Essas pessoas foram divididas em dois grupos: no primeiro ficaram 539 pacientes que apresentavam sintomas e/ou sinais sugestivos de cisticercose e 450 familiares destes doentes; no segundo, 133 pessoas que negavam convulsões, cefaléia, eletrencefalograma anormal, uso de anticonvulsivantes e eliminação de tênia, seja na história atual ou pregressa, que compuseram o grupo controle.

Foram colhidos 10 ml de sangue de todas essas pessoas, separando-se os respectivos soros. Também foram colhidos 5 ml de LCR de 120 doentes que apresentavam sintomas e/ou sinais sugestivos de neurocisticercose. Estas 1122 amostras de soro e 120 de LCR foram estocadas à temperatura de menos 20°C e analisadas por ELISA-G e RIFI. Nas 143 primeiras amostras estocadas, 83 de soro e 60 de LCR, também foi processada a RFC. Em 28 amostras de LCR escolhidas por randomização realizou-se, além da ELISA-G, a ELISA-M. Seis dentre os pacientes que apresentaram no soro resultados discordantes entre ELISA-G e RIFI, repetiram estes testes com o intervalo mínimo de dois meses e máximo de um ano. Em todas as 120 amostras de LCR foi executado o teste de microfloculação para sífilis do VDRL (Venereal Disease Research Laboratories).

A ELISA-G foi processada com o antígeno salino total de *Cysticercus cellulosae*, obtido conforme descrito por Costa⁵. A ELISA-M no LCR foi realizada seguindo-se a padronização técnica descrita por Costa e cols.⁸. A RIFI foi executada seguindo-se a padronização adotada por Machado e cols.²⁰. Nestes três testes, consideraram-se positivas as reações com títulos iguais ou superiores a 20 para os soros e iguais ou superiores a 1 para os LCR. Na RFC foi

utilizada a técnica de Kolmer e col.¹⁷, usando-se o antígeno metílico de *C. cellulosae* (Lio-Serum, Ribeirão Preto, Brasil).

Na análise estatística, foi aplicado o teste do qui-quadrado para duas amostras independentes ou a prova exata de Fisher, na dependência do tamanho da amostra e das frequências relativas esperadas para cada uma das variáveis.

RESULTADOS

A ELISA-G e a RIFI para cisticercose, realizadas no soro de 1122 pessoas, mostraram-se reagentes em 59 (5,2%) e não-reagentes em 1024 (91,3%). Houve discordância entre os resultados das duas reações em 39 (3,5%) pacientes. As 133 pessoas do grupo controle apresentaram ambos os testes não-reagentes. Estas mesmas reações, efetuadas no LCR de 120 doentes, foram reagentes em 20 (16,7%), não-reagentes em 91 (75,8%) e mostraram resultados discordantes em 9 (7,5%). Todos estes pacientes tiveram o teste do VDRL no LCR não-reagente.

Na Tabela 1 são apresentadas as frequências de ocorrência dos títulos da ELISA-G e da RIFI nas amostras de soro e LCR que foram reagentes em ambos os testes. Houve maior frequência de títulos iguais ou menores que 160 no soro ($p < 0,05$) e de títulos iguais ou menores que 16 no LCR ($p < 0,05$). Os títulos mais elevados da ELISA-G e da RIFI foram, respectivamente, 1280 e 320 no soro e, 512 e 64 no LCR.

Tabela 1. Frequência de ocorrência dos títulos da ELISA-G e RIFI, em 59 amostras de soro e 20 de LCR, de pacientes com suspeita clínica de cisticercose e seus familiares.

Testes imunológicos	Títulos							
	Soro				LCR			
	≤ 160		> 160		≤ 16		> 16	
nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	
ELISA-G	48	81,3	11	18,6	13	65,0	7	35,0
RIFI	56	94,9	3	5,1	17	85,0	3	15,0

Nas amostras de soro que apresentaram resultados discordantes entre a ELISA-G e RIFI, 25 (64,1%) foram reagentes na ELISA-G e não-reagentes na RIFI, e 14 (35,9%) reagentes na RIFI e não-reagentes na ELISA-G; nas amostras de LCR, 7 (77,8%) foram reagentes na ELISA-G e não-reagentes na RIFI e 2 (22,2%) reagentes na RIFI e não-reagentes na ELISA-G. Quando a RIFI mostrou-se não reagente e a ELISA-G reagente, o título máximo desta última foi 80 no soro e 32 no LCR; quando ocorreu o inverso, o título máximo da RIFI foi 80 no soro e 1 no LCR. Seis pessoas que apresentaram estas reações com resultados discordantes no soro foram não-reagentes em ambos os testes, repetidos após período de tempo variável (de dois meses a um ano).

Na Figura 1 estão os resultados da ELISA-G e da RIFI realizadas concomitantemente no soro e LCR de 96 pacientes. Houve concordância dos resultados, no soro e no LCR, em 86 (89,6%) doentes, sendo 17 (17,7%) reagentes e 67 (69,8%) não-reagentes ($p < 0,01$). Os pacientes que apresentaram no soro os títulos mais elevados da ELISA-G também obtiveram os títulos mais altos desta reação no LCR. Esta associação não ocorreu na RIFI.

Nas 83 amostras de soro em que foram efetuadas ELISA-G, RIFI e RFC, 45 (54,2%) mostraram concordância de resultado nos três testes, sendo reagentes em 14 (16,9%) e não-reagentes em 31 (37,3%). Estas mesmas reações, realizadas em 60 amostras de LCR, tiveram resultados concordantes em 49 (81,7%), sendo 7 (11,7%) reagentes e 42 (70%) não-reagentes. Nas amostras que apresentaram ELISA-G e RIFI não-reagentes, a RFC foi reagente, respectivamente, no soro e LCR, em 34 (41,0%) e 7 (11,7%) (Tabela 2).

Em 28 amostras de LCR nas quais se realizaram ELISA-G e ELISA-M, houve concordância de resultados em 22 (78,6%), sendo 6 (21,4%) reagentes e 16 (57,1%) não-reagentes. Em 6 (21,4%) amostras que apresentaram resultados discordantes entre estas reações, 3 (10,7%) tiveram ELISA-G reagente e ELISA-M não-reagente, ocorrendo o inverso nas outras 3 (10,7%) amostras (Tabela 3). Quando a ELISA-M foi reagente, seus títulos variaram de 1 a 8.

Tabela 2. Resultados dos testes ELISA-G, RIFI e RFC em 83 amostras de soro e 60 de LCR de pacientes com suspeita clínica de cisticercose e seus familiares.

Fixação do complemento (soro e LCR)	ELISA-G e RIFI							
	Soro				LCR			
	reagente		não-reagente		reagente		não-reagente	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
reagente	14	16,9	34	41,0	7	11,7	7	11,7
não-reagente	4	4,8	31	37,3	4	6,7	42	70,0
Total	18	21,7	65	78,3	11	18,3	49	81,7

Tabela 3. Resultados dos testes ELISA-G e ELISA-M em 28 amostras de LCR de pacientes com suspeita clínica de cisticercose.

ELISA-G	ELISA-M					
	reagente		não-reagente		Total	
	nº	%	nº	%	nº	%
reagente	6	66,7	3	33,3	9	32,1
não-reagente	3	15,8	16	84,2	19	67,9
Total	9	32,1	19	67,8	28	100,0

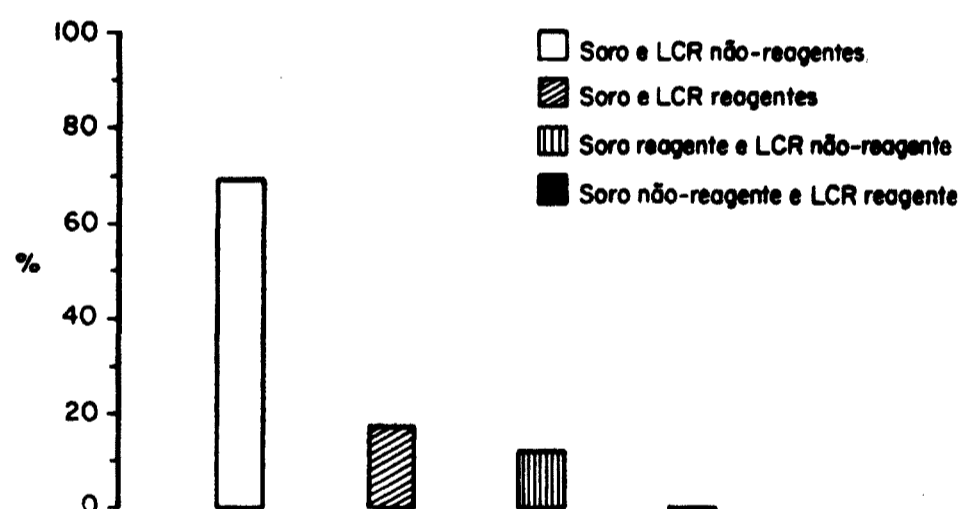


Fig. 1. Resultados dos testes ELISA-G e RIFI em 96 amostras de soro e LCR de 96 pacientes com suspeita clínica de cisticercose e seus familiares.

COMENTARIOS

No presente estudo, analisaram-se pacientes com suspeita clínica de cisticercose e seus familiares, utilizando os testes imunológicos ELISA-G, ELISA-M, RIFI e RFC. A ELISA-G e a RIFI foram executadas em todas as pessoas estudadas, sendo escolhidas por apresentarem maior sensibilidade e especificidade que a RFC⁵. Esta foi, até há pouco tempo, o teste mais difundido para a investigação da cisticercose em nosso meio. Foi realizado concomitantemente o teste do VDRL nas amostras de LCR para afastar resultados falso-positivos na RFC para cisticercose, que ocorrem esporadicamente em pacientes com neurosífilis^{18,28}.

Todos os pacientes do grupo-controle apresentaram, no soro, ELISA-G e RIFI não-reagentes. Este resultado não permite descartar completamente a cisticercose²³. Sabe-se também que hidatidose, esquistossomose, sífilis e sarampo estão entre as infecções que possuem antígenos que podem produzir reações cruzadas com o do cisticercos¹. A hidatidose é rara na região geográfica onde foi feita a presente investigação, mas a esquistossomose é encontrada com frequência entre pessoas residentes nesta região. Entre os pacientes do nosso grupo, não foram obtidos testes falso-positivos para cisticercose.

No presente estudo, quando a ELISA-G e a RIFI estavam reagentes no soro, também mostraram-se reagentes no LCR de 48,6% dos doentes estudados. Pode-se inferir, assim, que 48,6% das pessoas infectadas apresentaram neurocisticercose. Quando a ELISA-G e a RIFI estavam não-reagentes no soro, no LCR também foram não-reagentes em todos os pacientes. Este achado pode sugerir que estes testes não necessitam ser realizados no LCR quando a sorologia for não-reagente. Estes dados discordam daqueles publicados por Flisser e col.¹³, que relataram teste imunológico não-reagente no soro e reagente no LCR em cerca de 40% dos pacientes com neurocisticercose.

ELISA-G, RIFI e RFC mostraram-se nitidamente mais sensíveis quando realizadas no LCR do que no soro. Simonetti e Teixeira²⁷ relataram positividade da RIFI no LCR de pacientes com outras patologias que não a cisticercose, com títulos variando entre 1 e 4. A RIFI é menos específica quando o LCR é xantocrômico ou contém hemácias^{3,27}, assim como quando apresenta hiperproteíno-rraquia ou hipercitose linfomonocitária³, levando a resultados falso-positivos. No presente estudo não foram incluídos pacientes com hemorragia subaracnóidea, o que poderia ter levado ao surgimento de resultados falso-positivos na RIFI para cisticercose. Também obtivemos, na maioria dos casos, RIFI com títulos superiores a 4. A segurança diagnóstica da RFC para cisticercose no LCR resulta da frequência pequena em que o sistema nervoso central, em nosso meio, é parasitado por outros cestódeos, já que os anticorpos evidenciados mediante esta reação têm especificidade apenas de grupo¹⁸.

Como a ELISA-G e a RIFI para cisticercose possuem maior especificidade que a RFC^{3,5,18,24}, consideramos falso-positivos resultados reagentes na RFC e não-reagentes na ELISA-G e na RIFI. Estes resultados falso-positivos surgiram em 41% das amostras de soro e em 11,7% das de LCR. Este achado está de acordo com o descrito por Livramento¹⁸, que encontrou resultados discordantes entre a RIFI e a RFC para cisticercose em 19,4% dos LCR examinados, em 9,1% deles favoráveis à RFC. Assim, demonstrou-se que a RFC para cisticercose é teste de baixa especificidade, principalmente quando aplicado em soros, havendo necessidade de sua padronização rigorosa para que se evitem resultados falso-positivos.

No presente estudo encontrou-se concordância entre os resultados da ELISA-G e da ELISA-M em 78,6% das amostras de LCR examinadas, sendo ambos testes reagentes em 21,4%. Entre as amostras com resultados discordantes, a ELISA-G foi reagente na metade (10,7%) e a ELISA-M na outra metade (10,7%). Quando a ELISA-M foi reagente, seus títulos variaram de 1 a 8. Costa e col.⁸, estudando LCR de pacientes com neurocisticercose confirmada, encontraram em 46,2% deles anticorpos IgM anti-*C. cellulosae*, com títulos que variaram de 4 a 32. Estes autores relataram, na maioria dos casos, títulos mais elevados na ELISA-G que na ELISA-M, demonstrando maior sensibilidade da ELISA-G, tanto no soro quanto no LCR. Eles também mostraram que os pacientes com anticorpos IgM se apresentavam na fase aguda da doença ou apresentavam exacerbação dos sintomas. As diversas classes de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* envolvidas nas várias reações imunológicas são diferentes, porém sobressaem as participações da IgG e da IgM em todas elas¹⁹. Entretanto, é descrito que não há correlação entre a presença de imunoglobulina na superfície do cisticercos ou sinais de dano do cisticercos, com as classes de imunoglobulinas encontradas como anticorpos anti-*Cysticercus*⁴.

Quando surgiu discordância entre os resultados da ELISA-G e da RIFI 64,1% e 77,8% das amostras de soro e LCR, respectivamente, mostraram a ELISA-G reagente e a RIFI não-reagente. Estes achados confirmam, como já relatado por outros autores^{5,24}, que a ELISA-G é método de maior sensibilidade que a RIFI. Os títulos mais elevados também foram observados na ELISA-G, tanto no soro quanto no LCR, como descrito anteriormente por Pialarissi e col.²⁴. Assim, o uso simultâneo de ambos os testes aumenta a capacidade diagnóstica de cada um deles separadamente.

Um teste utilizado para o diagnóstico de qualquer desordem clínica, além de boa sensibilidade e especificidade, deve também ser prático em termos de especificações técnicas e econômicas. Para ser tecnicamente prático, ele deve ser fácil de realizar e todos os reagentes envolvidos devem ser estáveis por período de tempo razoável. A ELISA-G, utilizando o extrato salino total, tem a vantagem da simplicidade e estabilidade dos reagentes, sendo técnica prática que pode ser usada em inquéritos epidemiológicos ou em rotina laboratorial, sem o uso de reagentes biológicos como necessita a RFC. No campo, suas leituras podem ser realizadas visualmente, se tivermos padrões positivos e negativos de soro e LCR⁶. Na atualidade ela é, por sua facilidade, o melhor instrumento para o imunodiagnóstico da cisticercose humana na realidade dos países latinoamericanos, onde as provas imunológicas para cisticercose ainda são sub-utilizadas, em comparação à magnitude e problemática da doença humana. Embora haja testes mais recentes, como "enzyme-linked immunoelectrotransfer blot"³¹, "FAST-ELISA"¹⁶ e imuno-eletroforese¹⁰, estas reações têm standardização difícil ou são muito laboriosas, sobretudo em estudo epidemiológico, sendo, por considerações econômicas, somente razoáveis para países desenvolvidos.

O uso concomitante de testes que revelem a existência de anticorpos anti-Cysticercus IgG e IgM possibilita a detecção de maior número de pacientes com cisticercose. Há necessidade de, cada vez mais e na medida do possível, serem realizadas simultaneamente as várias reações disponíveis, para garantir maior segurança no diagnóstico e acompanhamento evolutivo da doença. Os dados retirados das diferentes reações imunológicas para cisticercose mostram informações semelhantes mas não superponíveis. No presente estudo, a concordância entre os resultados reagentes das três reações utilizadas no LCR (RIFI, ELISA-G e ELISA-M) contribuiu para maior segurança diagnóstica do que a simples positividade isolada de uma ou outra. A introdução, no exame básico do LCR, destas três reações aumenta a possibilidade imunobiológica diagnóstica, sobretudo quando outras afecções parasitárias do sistema nervoso central são consideradas. A alternância de concordância reagente ou discordância entre estas reações, no LCR, contribui para a evidência dos fenômenos imunobiológicos próprios à neurocisticercose.

REFERÊNCIAS

1. Baily GG, Mason FEJ, Lyons NF. Serological diagnosis of neurocysticercosis: evaluation of ELISA tests using cyst fluid and other components of *Taenia solium* cysticerci as antigens. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1988, 82:295-299.
2. Bassi GE, Camargo ME, Bittencourt JMT, Guarniere DB. Reação de imunofluorescência com antígenos de *Cysticercus cellulose* no líquido cefalorraqueano. *Neurobiologia* 1979, 42:165-170.
3. Bassi GE, Camargo ME, Bittencourt JMT, Santiago MF, Cerqueira FEC. Comparação entre as reações de fixação do complemento e imunofluorescência em líquido cefalorraqueano. *Neurobiologia* 1979, 42:231-238.
4. Correa D, Dalma D, Espinoza B, Plancarte A, Rabiela MT, Madrazo I, Gerozky C, Flisser A. Heterogeneity of humoral immune components in human cysticercosis. *J Parasit* 1985, 71:535-541.
5. Costa JM. Teste imunoenzimático (ELISA) no diagnóstico da neurocisticercose. Tese. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1983.
6. Costa JM. Teste imunoenzimático (ELISA) no diagnóstico da neurocisticercose. Estudo de diferentes extratos antigênicos na detecção de anticorpos IgG em amostras de soro e de líquido cefalorraqueano. *Arq Neuro-Psiquiat (São Paulo)* 1986, 44:15-31.
7. Costa JM, Ferreira AW, Makino MM, Camargo ME. Spinal fluid immunoenzymatic assay (ELISA) for neurocysticercosis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1982, 24:337-341.
8. Costa JM, Mineo JR, Livramento JA, Camargo ME. Detecção pelo teste imunoenzimático (ELISA) de anticorpos IgM anti-*Cysticercus cellulosae* no líquido cefalorraqueano na neurocisticercose. *Arq Neuro-Psiquiat (São Paulo)* 1985, 43:22-28.
9. Escobar A. The pathology of neurocysticercosis. In Palacios E, Rodrigues-Carbajal J, Taveras JM (eds): *Cysticercosis of the Central Nervous System*. Springfield: Charles C Thomas, 1983, p 27-54.
10. Espinoza B, Flisser A, Plancarte A, Larraalde C. Immunodiagnosis of human cysticercosis: ELISA and immunoelectrophoresis. In Flisser A et al (eds): *Cysticercosis Present State of Knowledge and Perspectives*. New York: Academic Press, 1982, p 163-170.

11. Estrada JJ, Kuhn RE. Immunochemical detection of antigens of larval *Taenia solium* and anti-larval antibodies in the cerebrospinal fluid of patients with neurocysticercosis. *J Neurol Sci* 1985, 71:39-48.
12. Ferreira AP, Costa JM, Mineo JR, Costa MC, Gonçalves MRF. Estudo de dois diferentes extratos antigênicos de *Cysticercus cellulosae* na padronização da microtécnica da reação de fixação de complemento para a pesquisa de anticorpos na neurocisticercose. *Rev Soc Bras Med Trop* 1987, 20 (Supl):124-125.
13. Flisser A, Woodhouse E, Larralde C. The epidemiology of human cysticercosis in Mexico. In Palacios E, Rodríguez-Carbajal J, Taveras JM (eds): *Cysticercosis of the Central Nervous System*. Springfield: Charles C Thomas 1983, p 7-17.
14. Gabai GB, Reis-Filho JB. Contribuição ao estudo da reação de fixação de complemento para cisticercose no soro sanguíneo. *Rev Paul Med* 1982, 100:16-19.
15. Gonzalez-Barranco D, Sandoval-Islas ME, Trujillo-Valdes VM. Reaccion de inmunofluorescencia indirecta en cisticercosis. *Arch Invest Med (Mex)* 1976, 9:51-58.
16. Hancock K, Tsang VCW. Development and optimization of the FAST ELISA for detecting antibodies to *Schistosoma mansoni*. *J Immunol Methods* 1986, 92:167-176.
17. Kolmer JA, Spaulding EM, Robinson HW. *Approved Laboratory Technics*. Ed 5. New York: Appleton-Century-Crofts, 1951, p 797-855.
18. Livramento JA. Contribuição de reações de imunofluorescência no líquido cefalorraqueano ao estudo da neurocisticercose. *Arq Neuro-Psiquiat (São Paulo)* 1981, 39:261-278.
19. Livramento JA. Síndrome do líquido cefalorraqueano na neurocisticercose: estudo crítico sobre a evolução da imunidade humoral. *Arq Neuro-Psiquiat (São Paulo)* 1987, 45:261-275.
20. Machado AJ, Camargo ME, Hoshino S. Reação de imunofluorescência para a cisticercose com partículas de *Cysticercus cellulosae* fixadas a lâminas de microscopia. *Rev Soc Bras Med Trop* 1973, 7:181-183.
21. Nascimento E, Tavares CA, Lopes JD. Immunology of human cysticercosis (*Taenia solium*) with antigens purified by monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol* 1987, 25:1181-1185.
22. Nieto D. Cysticercosis of the nervous system: diagnosis by mean of spinal fluid complement fixation test. *Neurology* 1956, 6:725-738.
23. Noya BA, Berro OJ, Coltorti EA, Flisser A, Strauss W, Vaz AJ. Informe de la reunión técnica sobre normatización y estrategias para la implementación del inmunodiagnóstico de la cisticercosis humana. *Rev Inst. Med Trop São Paulo* 1989, 31:291-293.
24. Pialarissi CSM, Vaz AJ, Souza AMC, Nakamura PM, Camargo ED, Silva MV, Ueda M. Estudo comparativo de testes sorológicos no diagnóstico imunológico da neurocisticercose. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1987, 29:367-373.
25. Rabiela MT, Rivas D, Rodriguez J, Castillo S, Cancino F. Anatomopathological aspects of human brain cysticercosis. In Flisser A et al. (eds): *Cysticercosis, Present State of Knowledge and Perspectives*. New York: Academic Press, 1982, p 179-200.
26. Reis-Filho JB, Reis JB, Bei A. Reação de fixação de complemento no diagnóstico da neurocisticercose. *Neurobiologia* 1985, 48:227-232.
27. Simonetti AB, Teixeira J. Comportamento da reação de imunofluorescência indireta e de alguns parâmetros do líquido cefalorraqueano na neurocisticercose. *Arq Neuro-Psiquiat (São Paulo)* 1987, 45:33-43.
28. Sotelo J, Guerrero V, Rubio F. Neurocysticercosis: a new classification based on active and inactive forms (a study of 753 cases). *Arch Intern Med* 1985, 145:442-445.
29. Spina-França A. Aspectos biológicos da neurocisticercose: alterações do líquido cefalorraqueano. *Arq Neuro-Psiquiat (São Paulo)* 1962, 20:17-30.
30. Spina-França A. Cisticercose do sistema nervoso central. In Canelas HM (ed): *Manual de Clínica Neurológica*. São Paulo: Sarvier, 1967, p 237-245.
31. Tsang VCW, Brand JA, Boyer AE. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis* 1989, 159:50-59.
32. Vaz AJ, Ferreira AW. Imunodiagnóstico da neurocisticercose: teste imunoenzimático com antígenos quimicamente ligados a suportes para pesquisa de anticorpos em soro e líquido cefalorraqueano. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1988, 30:1-10.
33. Vaz AJ, Ferreira AW, Silva MV, Camargo ME, Batista L, Souza AMC. Teste imunoenzimático para pesquisa de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* em líquidos cefalorraqueanos de pacientes com meningites de etiologia indeterminada. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1990, 32:196-203.
34. Vianna LG, Macêdo V, Costa JM, Mello P, Souza D. Estudo soropidemiológico da cisticercose humana em Brasília, Distrito Federal. *Rev Soc Bras Med Trop* 1986, 19:149-156.
35. Vianna LG, Macêdo V, Mello P, Souza HAO, Costa JM. Tratamento da neurocisticercose com praziquantel. *Arq Neuro-Psiquiat (São Paulo)* 1990, 48:425-430.