

TESTE IMUNOENZIMÁTICO PARA PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-Cysticercus cellulosae EM LÍQUIDOS CEFALORRAQUIANOS DE PACIENTES COM MENINGITES DE ETIOLOGIA INDETERMINADA

Adelaide José VAZ (1), Antonio Walter FERREIRA (2), Marcos Vinícius da SILVA (1, 3), Eide Dias CAMARGO (1), Luiza BATISTA (3) & Ana Maria Carvalho de SOUZA (1)

RESUMO

Foi empregado o teste imunoenzimático com componentes antigênicos de *Cysticercus cellulosae* quimicamente ligados a suporte inerte constituído por discos de tecido-resina, ELISA-d, com a finalidade de investigar a entidade neurocisticercose (NC) em líquidos cefalorraquianos (LCR) de pacientes com meningites de etiologia indeterminada. Foram ensaiados 277 LCR de 128 crianças e 149 adultos. A densidade óptica média (\overline{DO}) obtida para os 22 LCR de pacientes nos quais foi afastada a possibilidade diagnóstica de meningite foi de 0,03. Os 44 LCR de pacientes com meningites determinadas por diversos agentes etiológicos, não cisticercose, apresentaram \overline{DO} de 0,05. O limiar de reatividade do teste ELISA-d calculado a partir desses dois grupos (controle) foi de 0,13 ($\overline{DO} + 3SD$). No grupo de 13 LCR de pacientes com NC comprovada em episódio meningítico por essa causa, foi observada \overline{DO} de 0,41 (0,10 a 0,91) no teste ELISA-d. Dos 198 LCR de meningites por agente etiológico não identificado pelos métodos usualmente empregados, 23 (11,6%) apresentaram \overline{DO} acima de 0,13, sugerindo que a possível causa da meningite tenha sido por cisticercose, uma vez que o teste ELISA-d tem apresentado elevadas sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade. Em cinco dos 23 LCR a alteração no exame quimicitológico era às custas do aumento do número de células predominantemente linfomononucleares, em 13 o predomínio era de polimorfonucleares e nos cinco restantes ambos os tipos de células estavam em número aumentado.

UNITERMOS: Neurocisticercose; Meningite; ELISA-d para cisticercose; Líquido cefalorraquiano.

INTRODUÇÃO

A neurocisticercose, afecção do sistema nervoso central (SNC) causada pelo *Cysticercus cellulosae*, forma larvária da *Taenia solium*, apresenta importante problema de saúde pública

Trabalho financiado parcialmente pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico — CNPq: 407592/87.3/CL/FV

(1) Instituto Adolfo Lutz — Divisão de Biologia Médica — Serviço de Microbiologia e Imunologia — Seção de Sorologia. São Paulo, SP, Brasil.

(2) Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias — Laboratório de Soroepidemiologia. São Paulo, SP, Brasil.

(3) Hospital Emílio Ribas — Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Dra. Adelaide José Vaz. Instituto Adolfo Lutz. Av. Dr. Arnaldo, 351 — 10º andar. CEP 01246 — São Paulo, SP, Brasil.

em nosso meio, pela gravidade dos sintomas que apresenta e pela precariedade dos recursos terapêuticos e assistenciais.

A disseminação da doença no homem é influenciada por fatores ambientais e sócio-econômico-culturais, incluindo condições sanitárias e hábitos de higiene pessoal¹³.

A forma de atividade ou inatividade da doença é característica importante a ser analisada, já que irá determinar decisões terapêuticas e os resultados dos testes imunodiagnósticos. A forma ativa é caracterizada pela presença do parasita ainda vivo ou em degeneração no SNC e pela contínua resposta imune do hospedeiro, que determina uma reação inflamatória detectável no líquido cefalorraquiano (LCR) na maioria dos casos; na forma inativa os sintomas, quando presentes, são devido a seqüelas de granulomas calcificados²¹.

As manifestações clínicas da neurocisticercose estão na dependência de diversos fatores: localização, número, tipo morfológico e fase de desenvolvimento do parasita, e reações inflamatórias e imunes locais e difusas, específicas e inespecíficas do hospedeiro²⁴. Da combinação desses fatores resulta o quadro de manifestações neurológicas polimórficas, sendo freqüentes as formas convulsivas, de hipertensão intracraniana, alterações psíquicas, meningíticas e encefalíticas, puras ou associadas^{5, 19, 22, 23, 24}.

O polimorfismo de sinais e sintomas clínicos na neurocisticercose, semelhantes em outras patologias dos SNC, dificulta o diagnóstico, que necessita de exames complementares para ser firmado. A introdução da tomografia computadorizada (TC) muito contribuiu para o diagnóstico da doença¹⁸. O desenvolvimento das técnicas imunoenzimáticas, de elevada sensibilidade para detectar antígenos ou anticorpos, ampliou com vantagens as possibilidades do imunodiagnóstico das doenças parasitárias. A detecção de anticorpos específicos no LCR através do teste imunoenzimático ELISA, tem sido utilizada com bons resultados no imunodiagnóstico da neurocisticercose^{1, 9, 11, 12, 16, 25}. Métodos para detecção de antígenos e imunocomplexos, embora mais específicos, ainda estão em fase de estudo, sendo pouco empregados pelo custo elevado e aplicabilidade ainda não comprovada¹².

A positividade do teste ELISA para cisticercose realizado no LCR quando associada a dados clínicos e epidemiológicos compatíveis e a achados de imagens sugestivas na TC, permite a confirmação do diagnóstico na maioria dos casos^{7, 10}. O imunodiagnóstico da neurocisticercose torna-se especialmente útil naqueles casos em que há resposta inflamatória a nível de SNC como é o caso da forma meningítica²¹.

Levando em conta que em nosso meio as meningites são causa importante de internação, a maioria sem agente etiológico determinado pelos métodos rotineiros⁶, e que os recursos imunodiagnósticos são precários, propomos investigar a entidade neurocisticercose naqueles casos de meningites de etiologia indeterminada, empregando o teste ELISA-d para pesquisa de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* no LCR²⁵.

MATERIAL E MÉTODOS

Extrato antigênico

O extrato antigênico salino total de *Cysticercus cellulosae* foi obtido conforme metodologia descrita anteriormente²⁵, sendo utilizado 150 cisticercos para a obtenção de cerca de 30 ml de antígeno, que foi caracterizado quanto à concentração de proteínas³ e quanto à atividade antigênica por titulação em bloco.

Teste imunoenzimático ELISA em discos (ELISA-d)²⁵

Foram utilizados discos de poliéster (RHODIA) com 6 mm de diâmetro, impregnados com resina de N-metilol-acrilamida (14,3%), como suporte inerte para o teste ELISA-d^{2, 4}.

1. Sensibilização dos discos: os discos foram sensibilizados conforme metodologia descrita por VAZ & FERREIRA²⁵.
2. Execução do teste ELISA-d: cada amostra de líquido cefalorraquiano (LCR) foi diluída em duplicata, a 1:2 em PBS-TG (PBS pH 7,2 contendo 0,05% de Tween-20 e 0,5% de gelatina), em volume final de 200 μ l. A cada tubo de diluição foi adicionado um disco sensibilizado. As amostras turvas ou xantocrômicas mesmo após centrifugação foram também ensaiadas

com um disco-controle, que não foi tratado com o antígeno. Após 45 minutos de incubação a 37°C, os discos foram lavados três vezes, cinco minutos cada, com PBS-T. O conjugado imunoenzimático (anti-human-IgG γ chain specific-alkaline phosphatase, Sigma Chemical Co., USA) foi adicionado, 200 μ l por tubo, diluído segundo o título em PBS-TG. Após novas incubação e lavagens, os discos foram transferidos de tubos, aos quais foram adicionados 250 μ l da solução cromógena (p-nitrofenil-fosfato dissódico dissolvido em solução de dietanolamina 1M pH 9,8; na proporção de 1 mg/ml). A reação enzimática foi interrompida, após 30 minutos de incubação a 37°C, pela adição de 1 ml de NaOH 2M.

3. Leitura do teste ELISA-d: a cada série de testes foram incluídos LCR padrões positivos de reatividades alta, média e baixa, e negativo. Os valores de densidade óptica (DO) de cada teste foram obtidos através de leitura espectrofotométrica (Spectronic 21, Bausch & Lomb, USA) em comprimento de onda de 405 nm. O controle positivo de média reatividade (DO = 0,41) foi empregado para corrigir as variações interensaios. A DO média obtida para cada amostra foi dividida pela DO desse controle naquele ensaio e multiplicada por 0,41. Os controles de alta e baixa reatividade e o controle negativo foram empregados para avaliar a reprodutibilidade do teste. Os resultados de DO corrigida das amostras estudadas foram expressos em números (n) de desvios-padrões (SD) da média de DO (\overline{DO}) observada para os LCR dos pacientes supostamente não infectados pelo *C. cellulosae* (grupo controle)⁸.

Amostras de líquido cefalorraquiano (LCR)

Os LCR estudados foram obtidos por punção lombar de pacientes do Hospital Emílio Ribas (São Paulo), no momento da admissão ou da alta hospitalar, no período de janeiro a julho de 1988. Foram selecionados somente os pacientes com mais de um ano de idade. A suspeita clínica era de meningite, cuja confirmação dependia dos exames realizados no LCR (contagem de células e diferencial citológica, dosagens bioquímicas, bacterioscopia, cultura bacteriológica e testes imunológicos). De acordo com a

confirmação ou não do diagnóstico de meningite, os LCR foram separados em grupos e subgrupos.

I. Grupo Controle

- (a) Amostras de LCR de indivíduos supostamente normais: coletadas de 22 pacientes, 11 do sexo masculino e 11 do sexo feminino, idade de 1 a 53 anos, média de 16,3 anos, que apresentaram os exames laboratoriais sem alterações, e que foram dispensados uma vez afastada a hipótese diagnóstica de meningite.
- (b) Amostras de LCR de pacientes com meningites de etiologia determinada: obtidas de 44 pacientes, 37 do sexo masculino e 7 do sexo feminino, idade entre 1 e 63 anos, média de 23,4 anos, sendo 19 casos de leptospirose forma icterohemorrágica (síndrome de Weil) com ou sem alterações quimiocitológicas no LCR, todos com ELISA-IgM para leptospirose positiva no LCR e no soro; 6 casos de meningite por *Haemophilus* sp.; 6 casos por *T. pallidum*; 5 casos por *Pneumococcus* sp.; 5 casos por *Neisseria meningitidis*; e 3 casos por *Mycobacterium tuberculosis*.

II. Grupo de Pacientes com neurocisticercose

Foram obtidas 13 amostras de LCR de 8 pacientes, 5 do sexo masculino e 3 do sexo feminino, idade entre 12 e 42 anos, média de 28,6 anos, com diagnóstico anteriormente firmado de neurocisticercose e que no momento da coleta dessa amostra de LCR apresentavam a forma meningítica da doença. O diagnóstico da neurocisticercose foi realizado através de critérios clínicos e epidemiológicos, imagens sugestivas na TC e, em alguns casos, positividade dos testes imunodiagnósticos para detecção de anticorpos no LCR.

III. Grupo de Pacientes com Meningites de Etiologia Indeterminada

Os LCR deste grupo apresentavam aumento do número de células e outras alterações no exame bioquímico, mas foram negativos nos exames bacterioscópicos, cultura bacteriológica e na contraímunoeletroforese (CIE) para detecção de

antígenos de *Haemophilus sp.*, *Neisseria meningitidis* e *Pneumococcus sp.*

- (a) LCR com predomínio de leucócitos linfomonucleares: foram coletados de 60 pacientes, 36 do sexo masculino e 24 do sexo feminino, idade entre 1 e 44 anos, média de 15,9 anos.
- (b) LCR com predomínio de leucócitos polimorfonucleares: obtidos de 78 pacientes, 49 do sexo masculino e 29 do feminino, idade entre 1 e 66 anos, média de 18,8 anos.
- (c) LCR com leucócitos linfomonucleares e polimorfonucleares em proporções semelhantes: coletados de 60 pacientes, 31 do sexo masculino e 29 do sexo feminino, idade entre 1 e 66 anos, média de 17,9 anos.

Análise estatística

As freqüências de positividade obtidas foram testadas quanto às diferenças entre os grupos, utilizando-se o teste Qui-quadrado²⁰. O nível de significância aceito foi igual ou menor do que 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

O extrato antigênico de *Cysticercus cellulosae* obtido a partir de 150 cisticercos em volume final de 30 ml continha 3,0 mg de proteína por mililitro. Através da titulação em bloco do antígeno frente a LCR padrões positivo e negativo, foi escolhida a concentração de 24 $\mu\text{g/ml}$ de proteínas para a sensibilização de seis discos, ou 4 μg por disco. O conjugado foi empregado na diluição de 1:1000, conforme obtido por titulação.

As densidades ópticas (DO) obtidas no teste ELISA-d para os LCR dos grupos e subgrupos dos pacientes estudados, de acordo com a idade (crianças de 1 a 14 anos e adultos de 15 a 66 anos), são apresentadas na tabela 1. A densidade óptica média (\overline{DO}) e o desvio padrão (SD), obtidos para cada subgrupo, constam da mesma tabela.

O valor do limiar de reatividade para o teste ELISA-d foi considerado como sendo 0,13, isto

é, a DO do grupo controle (0,04) acrescida de três desvios-padrões (0,03).

No grupo controle todas as 66 amostras de LCR apresentaram DO inferior a 0,13. No grupo de pacientes com neurocisticercose comprovada (grupo II), das 13 amostras, três (23,08%) apresentaram resultados abaixo do limiar de reatividade (DO de 0,10; 0,11 e 0,12), e pertenciam a uma paciente de 32 anos.

No grupo III, pacientes com meningites de etiologia indeterminada, 175 (88,38%) amostras de LCR apresentaram DO inferior a 0,13; e as 23 (11,62%) restantes, sendo cinco do subgrupo (a), 13 do (b) e cinco do (c), apresentaram resultados superiores ao limiar de reatividade, DO de 0,14 a 1,14; \overline{DO} de 0,27; SD de 0,24. Esses 23 LCR pertenciam a 20 adultos (13 mulheres e 7 homens, idade entre 15 e 47 anos, média de 29,2 anos) e a três crianças do sexo masculino com 5 ($n = 2$) e 6 anos.

Na tabela 2 são apresentadas as percentagens de amostras de LCR de cada grupo e subgrupo de pacientes, com resultados de DO no teste ELISA-d acima da média de DO do grupo controle acrescida de 2, 3, 5, 10 e 20 desvios-padrões (SD).

Os discos sensibilizados e bloqueados, prontos para o uso, foram armazenados a 4°C em frasco escuro hermeticamente selado, mas não submetido a vácuo. A relação volume de discos/volume do frasco foi aproximadamente de 1:2. A estabilidade da reatividade antigênica desses discos foi avaliada por um período de tempo de até 240 dias, frente a LCR padrões positivos de alta e média reatividade e negativo. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 3. O coeficiente de variação dos resultados de DO foi inferior a 5% até o dia 120, aumentando a partir dessa data. Para o LCR padrão positivo alto foi obtido coeficiente de variação de 3,43% ($CV = SD/\overline{DO} \times 100$) e para o padrão de média reatividade 4,29%, ambos no 120º dia de armazenamento.

DISCUSSÃO

O imunodiagnóstico da neurocisticercose humana empregando testes de elevadas sensibi-

TABELA 1

Distribuição dos líquidos cefalorraquianos das crianças (≤ 14 anos) e dos adultos (≥ 15 anos) de acordo com o grupo e subgrupo estudado, e segundo o resultado de densidade óptica obtido no teste ELISA-d

Grupo e subgrupo*	Número de LCR	DENSIDADE ÓPTICA									\overline{DO}^{**}	SD***
		0,00 0,10	0,11 0,20	0,21 0,30	0,31 0,40	0,41 0,50	0,51 0,60	0,61 0,70	0,71 1,14			
CRI- AN- ÇAS	I (a)	12	12	—	—	—	—	—	—	—	0,02	0,01
	(b)	13	12	1	—	—	—	—	—	—	0,05	0,03
	II	2	—	1	1	—	—	—	—	—	0,20	0,02
	III (a)	34	34	—	—	—	—	—	—	—	0,03	0,02
	(b)	40	34	6	—	—	—	—	—	—	0,05	0,05
	(c)	27	27	—	—	—	—	—	—	—	0,05	0,03
A- DUL- TOS	I (a)	10	10	—	—	—	—	—	—	—	0,04	0,03
	(b)	31	31	—	—	—	—	—	—	—	0,04	0,03
	II	11	1	2	1	1	1	1	2	2	0,44	0,28
	III (a)	26	21	5	—	—	—	—	—	—	0,06	0,06
	(b)	38	24	10	3	—	—	—	—	1	0,11	0,13
	(c)	33	27	4	—	—	—	—	1	1	0,11	0,22
TO- TAL	I (a)	22	22	—	—	—	—	—	—	—	0,03	0,02
	(b)	44	43	1	—	—	—	—	—	—	0,05	0,03
	II	13	1	3	2	1	1	1	2	2	0,41	0,28
	III (a)	60	55	5	—	—	—	—	—	—	0,04	0,05
	(b)	78	58	16	3	—	—	—	—	1	0,09	0,10
	(c)	60	54	4	—	—	—	—	1	1	0,09	0,16

* Grupos e Subgrupos: I (a) — indivíduos supostamente normais; I (b) — pacientes com meningites de outras etiologias que não cisticercose; II — pacientes com meningite causada pelo *Cysticercus cellulosae*; III — pacientes com meningites de etiologia indeterminada e com exame do LCR demonstrando predomínio de leucócitos (a) linfomononucleares; (b) polimorfonucleares; ou (c) proporções equivalentes dos dois tipos de células.

** média

*** desvio-padrão

lidade e especificidade e comprovada eficiência, como o teste imunoenzimático ELISA, para pesquisa de anticorpos em líquido cefalorraquiano (LCR), tem colaborado como indicação indireta da presença do *Cysticercus cellulosae* no sistema nervoso^{1, 7, 9, 11, 12, 16, 25}. A detecção direta do parasita é possível em achados de necrópsia ou de neurocirurgia.

Embora a forma clínica de meningite cisticercótica seja citada^{14, 24}, somente foram notificados seis casos de meningite causada por *Cysticercus cellulosae* na cidade de São Paulo, no ano de 1986⁶.

O teste ELISA com componentes antigênicos de cisticercos quimicamente ligados a suporte de discos de tecido-resina (ELISA-d), recentemente desenvolvido e padronizado^{2, 4, 25}. Naquele estudo²⁵, o teste ELISA-d apresentou índices de sensibilidade e especificidade de 98,6% e 100%, respectivamente, e 100% de valores preditivos de positividade e negatividade e eficiência, quando realizado no LCR, índices esses calculados para as possíveis prevalências da doença variando de 0,1% a 10% que são as esperadas para o nosso meio^{15, 19}.

O teste ELISA-d foi aplicado em amostras

TABELA 2

Percentagem de líquidos cefalorraquianos de cada subgrupo de pacientes com resultados de densidade óptica (DO) no teste ELISA-d superiores a DO média do grupo controle acrescida de 2, 3, 5, 10 e 20 desvios-padrões (SD)

Grupo e Subgrupo*	Número de LCR	DO média do grupo I + n desvio-padrão ($\overline{DO} + n SD$)				
		$\bar{x} + 2 SD$ (0,10) [§]	$\bar{x} + 3 SD$ (0,13) [§]	$\bar{x} + 5 SD$ (0,19) [§]	$\bar{x} + 10 SD$ (0,34) [§]	$\bar{x} + 20 SD$ (0,64) [§]
I (a)	22	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(b)	44	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0
II	13	100,0	76,9	69,2	46,1	30,8
III (a)	60	8,3	8,3	3,3	0,0	0,0
(b)	78	25,6	16,7	5,1	1,3	1,3
(c)	60	10,0	8,3	5,0	3,3	3,3

* = ver nota da tabela 1

§ = valor da DO obtida de $\bar{x} + n SD$ (do grupo I)

TABELA 3

Densidades ópticas obtidas no teste ELISA-d para os líquidos cefalorraquianos (LCR) padrões positivos de alta reatividade (1), de média reatividade (2) e padrão negativo (3), segundo tempo de armazenamento dos discos sensibilizados

Tempo de armazenamento (dias)	LCR Padrões		
	(1)	(2)	(3)
1	0,93	0,41	0,04
30	0,96	0,39	0,02
40	0,91	0,38	0,06
60	0,89	0,42	0,07
80	0,99	0,41	0,09
90	0,95	0,40	0,08
100	0,93	0,39	0,04
120	0,91	0,37	0,09
150	0,87	0,35	0,10
180	0,88	0,35	0,09
210	0,83	0,36	0,04
240	0,78	0,31	0,01

de LCR de 277 pacientes (128 crianças e 149 adultos). Dos resultados do grupo controle (66 LCR) foi calculado o limiar de reatividade de 0,13, densidade óptica média (\overline{DO}) acrescida de três desvios padrões ($\overline{DO} + 3 SD$).

A análise da tabela 1 evidencia a alta reatividade dos LCR do grupo II, pacientes com neurocisticercose comprovada e em episódio meningítico no momento da internação. A \overline{DO} de 0,41 obtida nesse grupo, corresponde a 12,3 SD acima da média obtida para o grupo controle (5,3 SD nos LCR das crianças e 13,3 SD nos dos adultos).

Das amostras obtidas de crianças, somente 5 (3,91%) apresentaram \overline{DO} acima de 0,13, sendo duas da única criança com neurocisticercose e três do grupo III (b), de meningite indeterminada com predomínio de polimorfonucleares, com \overline{DO} de 0,15; 0,17 e 0,19 (3,7; 4,3 e 5,0 SD acima da \overline{DO} do grupo controle).

No grupo dos adultos, foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos I e III. No grupo II, doentes comprovados, das 11 amostras de LCR dos 7 pacientes, somente três (27,3%) amostras de uma paciente de 32 anos foram repetidamente negativas (\overline{DO} de 0,10; 0,11 e 0,12).

No grupo III, 20 (20,62%) adultos tiveram LCR reativos, não havendo diferença significativa entre os três subgrupos ($p > 0,10$). Quanto à distribuição dos resultados do LCR em desvios-padrões (nSD) acima da \overline{DO} do grupo I (tabela 2), três (3,09%) estavam acima da \overline{DO} do grupo II, ou 14 SD. No subgrupo (a), onde havia predomínio de células linfomonucleares no LCR, as cinco amostras (de 4 mulheres e um homem) acima do limiar de reatividade, tiveram \overline{DO} de 0,15; 0,18 ($n = 2$); 0,19 e 0,20; ou 3,7; 4,7; 5,0 e 5,7 SD acima da \overline{DO} do grupo controle.

No subgrupo (b) foram observadas 10 amostras com \overline{DO} superiores a 0,13 (0,15 a 0,74), sendo que cinco LCR apresentaram \overline{DO} até 0,19 (5 SD),

quatro LCR tiveram resultados de DO até 0,28 (8 SD) e um LCR de uma paciente de 35 anos apresentou DO de 0,74 (23,3 SD acima da DO do grupo controle).

Foi no subgrupo (c) que se observaram os dois LCR com maior reatividade no teste ELISA-d, DO de 0,68 e 1,14, respectivamente 21,3 SD e 36,7 SD acima da \overline{DO} do grupo controle, além de três LCR com DO de menor intensidade, 0,14; 0,16 e 0,20 (3,3 a 5,3 SD).

Embora a positividade isolada do teste ELISA-d para cisticercose no LCR não confirme o diagnóstico, é sem dúvida, indicativo dele, principalmente naqueles casos em que os resultados são significativamente elevados^{7, 10, 21}.

A maior frequência de positividade observada entre os adultos ($p < 0,05$) era esperada, dada a evolução lenta da doença^{5, 15, 19}. A idade média dos 23 pacientes do grupo III com LCR apresentando DO acima de 0,13 foi de 30,1 anos, muito semelhante ao grupo II, e diferente do grupo III como um todo (17,6 anos). Dessas 23 amostras, 14 (60,9%) pertenciam a mulheres, que também representaram oito dos 10 resultados mais elevados, ou os três maiores. Embora este dado seja pouco representativo dos casos observados na população em geral, a ocorrência de encefalites cisticercóticas tem sido relatada particularmente em mulheres¹⁷.

O teste ELISA-d, realizado com relativa facilidade e a grande estabilidade do reagente (discos sensibilizados) por até 4 meses, além dos bons resultados que apresenta, permite sugerir que o teste seja incluído no imunodiagnóstico da cisticercose em LCR de pacientes com meningites de etiologia indeterminada, contribuindo assim para a elucidação diagnóstica de mais uma parcela desses casos.

SUMMARY

Immunoenzymatic assay for the detection of antibodies to *Cysticercus cellulosae* in the cerebrospinal fluid of patients with indetermined etiology meningitis.

The enzyme-linked-immunosorbent assay using a new type of support consisting of discs

of synthetic fabric-resin (ELISA-d) with antigenic components of *Cysticercus cellulosae* covalently bound, was employed with the purpose of investigating the presence of specific antibodies to the cysticerci (neurocysticercosis) in the cerebrospinal fluid (CSF) of patients with meningitis without etiological agent determined by the conventional methods. The test was performed in 277 CSF samples (128 children and 149 adults). The mean of optical density values (\overline{OD}) obtained for 22 CSF normal patients (the diagnostic hypothesis of meningitis was discarded) was of 0.03. The 44 CSF of patients with meningitis caused by other agents but *C. cellulosae*, showed \overline{OD} of 0.05. The cut off determined with these two groups (control group) was 0.13 ($\overline{OD} + 3$ SD). The group of 13 CSF of neurocysticercotic meningitis presented \overline{OD} of 0.41 (0.10 to 0.91). Among the 198 CSF samples of indetermined meningitis, 23 (11.6%) presented \overline{OD} above the cut off, which suggests the possibility that *Cysticercus cellulosae* was the etiological agent in this meningitis episode. The ELISA-d test has proved to be efficient for the immunodiagnosis of neurocysticercosis when conducted on CSF samples. The alterations observed in the 23 CSF reactive on ELISA-d were: increased number of lymphomononuclear cells in five, of polymorphonuclear cells in 13 and both cells in five samples.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Kinue Irino pela revisão do texto em inglês e às funcionárias do Laboratório Fleury, Sonia Hiroko Fukuda Ayabe e Vila Rosa Belém pelo preparo dos discos de tecido-resina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAMBULO III, P. V.; WALLS, K. W.; BULLOCK, S. & KAGAN, I. G. — Serodiagnosis of human cysticercosis by microplate enzyme-linked-immunospecific assay (ELISA). *Acta trop. (Basel)*, 35: 63-67, 1978.
2. BITTENCOURT, E.; GUIMARÃES, M.; CAMARGO, M. E.; FERREIRA, A. W. & MAKINO, M. M. — Immunoassays conducted with resin treated nylon fabrics. *J. Polymer. Sci.: Polymer Letters Edition*, 21: 717-722, 1983.
3. BRADFORD, M. M. — A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analyt. Biochem.*, 72: 248-254, 1976.

VAZ, A. J.; FERREIRA, A. W.; SILVA, M. V. da; CAMARGO, E. D.; BATISTA, L. & SOUZA, A. M. C. de — Teste imunoenzimático para pesquisa de anticorpos anti *Cysticercus cellulosae* em líquidos cefalorraquianos de pacientes com meningites de etiologia indeterminada. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 32(3): 196-203, 1990.

4. CAMARGO, M. E.; BITTENCOURT, E.; FERREIRA, A. W.; PERES, L. & CARVALHO, M. B. — Utilização de resinas sobre suportes inertes para fixação covalente de componentes antigênicos ou anticorpos, como fase sólida em testes sorológicos. In: JORNADA CIENTÍFICA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO, 2, São Paulo, 1983. Resumos. p. 21.
5. CANELAS, H. M. — Neurocisticercose: incidência, diagnóstico e formas clínicas. *Arq. Neuro-psiquiat. (S. Paulo)*, 20: 1-16, 1962.
6. CENTRO DE INFORMAÇÕES EM SAÚDE — CIS — Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, São Paulo, 1986. Relatório mimeografado.
7. CHANG, K. H.; KIM, W. S.; CHO, S. Y.; HAN, M. C. & KIM, C. W. — Comparative evaluation of brain CT and ELISA in the diagnosis of neurocysticercosis. *Amer. J. Neuro-Radiol.*, 9: 125-130, 1988.
8. COLTORTI, E. A. — Standardization and evaluation of an enzyme immunoassay as a screening test for the seroepidemiology of human hydatidosis. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 35: 1000-1005, 1986.
9. COSTA, J. M.; FERREIRA, A. W.; MAKINO, M. M. & CAMARGO, M. E. — Spinal fluid immunoenzymatic assay (ELISA) for neurocysticercosis. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 24: 337-341, 1982.
10. DEL BRUTTO, O. H. & SOTELO, J. — Neurocysticercosis: an update. *Rev. infect. Dis.*, 10: 1075-1087, 1988.
11. DIWAN, A. R.; COKER-VANN, M.; BROWN, P.; SUBIANTO, D. B.; YOLKEN, R.; DESOWITZ, R.; ESCOBAR, A.; GIBBS, C. J. & GAJDUSEK, D. C. — Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibody to cysticerci of *Taenia solium*. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 31: 364-369, 1982.
12. ESTRADA, J. J. & KUHN, R. E. — Immunochemical detection of antigens of larval *Taenia solium* and anti-larval antibodies in the cerebrospinal fluid of patients with neurocysticercosis. *J. neurol. Sci.*, 71: 39-48, 1985.
13. FLISSER, A.; OVERBOSCH, D. & van KNAPEN, F. — Report of a workshop on neurocysticercosis. *Parasit. today*, 5: 64-66, 1989.
14. LIMA, J. G. C. — Cisticercose encefálica: aspectos clínicos. São Paulo, 1966. (Tese de Livre-docência — Escola Paulista de Medicina).
15. MACHADO, A. B. B.; PIALARISSI, C. S. M. & VAZ, A. J. — Cisticercose humana diagnosticada em hospital geral, São Paulo, SP (Brasil). *Rev. Saúde públ. (S. Paulo)*, 22: 240-244, 1988.
16. NASCIMENTO, E.; TAVARES, C. A. & LOPES, J. D. — Immunodiagnosis of human cysticercosis (*Taenia solium*) with antigens purified by monoclonal antibodies. *J. clin. Microbiol.*, 25: 1181-1185, 1987.
17. RANGEL, R.; TORRES, B.; DEL BRUTTO, O. & SOTELO, J. — Cysticercotic encephalitis: a severe form in young females. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 36: 387-392, 1987.
18. RODRÍGUEZ-CARBAJAL, J.; PALACIOS, E. & BEHROOZ, A. — Radiology of cysticercosis of the nervous system including computed tomography. *Radiology*, 125: 127-131, 1977.
19. SCHENONE, H.; VILLARROEL, F.; ROJAS, A. & RAMIREZ, R. — Epidemiology of human cysticercosis in Latin America. In: FLISSER, A.; WILLMS, K.; LACLETE, J. P.; LARRALDE, C.; RIDAURA, C. & BELTRÁN, F., ed. *Cysticercosis: Present state of knowledge and perspectives*. New York, Academic Press, 1982. p. 25-38.
20. SIEGEL, S. — *Estatística não paramétrica para as ciências do comportamento*. Rio de Janeiro, McGraw Hill, 1975.
21. SOTELO, J.; GUERRERO, V. & RUBIO, F. — Neurocysticercosis: a new classification based on active and inactive forms. *Arch. intern. Med.*, 145: 442-445, 1985.
22. SPINA-FRANÇA, A. — Cisticercose do sistema nervoso central: considerações sobre 50 casos. *Rev. paul. Med.*, 48: 59-70, 1956.
23. SPINA-FRANÇA, A. — Cisticercose do sistema nervoso central. In: CANELAS, H. M. — *Manual de clínica neurológica*. São Paulo, Sarvier, 1967. p. 237-245.
24. TAKAYANAGUI, O. M. & JARDIM, E. — Aspectos clínicos da neurocisticercose. *Arq. Neuro-psiquiat. (S. Paulo)*, 41: 50-63, 1983.
25. VAZ, A. J. & FERREIRA, A. W. — Imunodiagnóstico da neurocisticercose: teste imunoenzimático com antígenos quimicamente ligados a suportes para pesquisa de anticorpos em soro e líquido cefalorraquiano. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 30: 1-10, 1988.

Recebido para publicação em 1/9/1989.