

REAÇÃO DE IMUNOFLORESCÊNCIA PARA A CISTICERCOSE COM PARTÍCULAS DE *CYSTICERCUS CELLULOSAE* FIXADAS A LÂMINAS DE MICROSCOPIA *

Arminda de Jesus Machado, Mário E. Camargo e Sumie Hoshimo

*Os autores descrevem um teste de imunofluorescência para o diagnóstico da cisticercose empregando partículas deslipidizadas de *C. cellulosae*. Testes realizados com soro ou líquido de pacientes com cisticercose resultaram em uma intensa fluorescência das partículas.*

INTRODUÇÃO

Empregando cortes histológicos de *Cysticercus cellulosae*, Biagi & Piña (1) observaram reatividade dos preparados quando submetidos sucessivamente à ação de antisoros e de conjugados antiglobulínicos, pela técnica indireta de imunofluorescência. A reatividade era mais acentuada com relação aos corpúsculos calcáreos, que se tornavam intensamente fluorescentes. Entretanto, Pita, Pratt & Biagi (2) verificaram ausência de reatividade dessas estruturas, quando isoladas por tamização dos cisticercos e lavagem das partículas.

Seguindo a técnica descrita para reações de imunofluorescência destinadas à pesquisa de anticorpos para o *Schistosoma mansoni* (3), empregamos partículas de *Cysticercus cellulosae* como antígeno, em técnica indireta de fluorescência para a cisticercose.

A presente nota tem por fim descrever o método utilizado, que mostrou reações

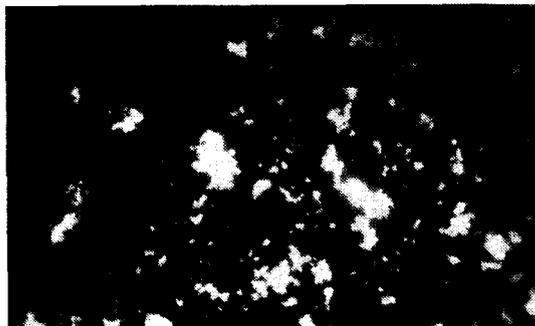
intensamente fluorescentes com soros e líquidos cefalorraquidianos de portadores de cisticercose, em contraste com a total ausência de fluorescência nos casos negativos. Esses resultados serão apresentados em trabalhos posteriores.

MATERIAL E MÉTODO

Os cisticercos eram retirados da carne do porco, lavados em solução salina e em água destilada, congelados e mantidos em dessecador a 20°C ou liofilizados. Para o preparo das partículas, o material dessecado era triturado em geral envolto em gelo picado. Aos fragmentos obtidos, acrescentava-se etanol absoluto a 20°C e a suspensão, depois de agitada por alguns segundos, era centrifugada a frio. O sedimento era lavado de maneira semelhante, por duas vezes, em éter anidro a 20°C. Após a última centrifugação, as partículas obtidas eram secas rapidamente em vácuo e suspensas em solução salina tamponada

* Trabalho do Instituto de Patologia Tropical da Universidade Federal de Goiás e do Instituto de Medicina Tropical, Universidade de São Paulo.

Recebido para publicação em 20.1.1973.



Figs. 1 e 2 -- Partículas homogeneamente fluorescentes usando *C. cellulosa* deslipidizado como antígeno.

com fosfatos (NaCl 0,15M; fosfato 0,01M; pH 7,2) contendo formalina a 3%. Após 24 horas em estufa a 37°C, a suspensão era centrifugada e o sedimento resuspenso em água destilada contendo soro de coelho normal, a 0,5%, deixando-se então decantar por cerca de 10 minutos, para a sedimentação das partículas maiores. O sobrenadante contendo apenas partículas de menor tamanho era distribuído em lâminas de microscopia, como descrito para a técnica com partículas de *S. mansoni*, obtendo-se cerca de 10 partículas por campo microscópico de 500 x.

Depois de secas na estufa a 37°C por 1 a 2 horas, as lâminas eram embrulhadas em papel de alumínio e conservadas a 20°C. Para as reações, soros diluídos a 1/20 ou líquidos cefalorraquidianos não diluídos ou diluições crescentes desses materiais eram incubados sobre as áreas demarcadas nas lâminas e contendo as partículas de cisticerco. A incubação a 37°C se fazia por 30 minutos, as lâminas eram lavadas em duas trocas de solução salina tampoadas, por 10 minutos cada vez, secavam-

-se sob jato de ar quente. As áreas de reação eram então recobertas por gotas de conjugado anti-globulínico, em diluição segundo o título e as lâminas incubadas novamente por 30 minutos. Lavavam-se como anteriormente e montavam-se com glicerina alcalina e lamínula. Os preparados eram observados em microscópio binocular provido de bulbo HBO-200, filtro excitador BG12/2mm, filtro barreira 50, campo escuro, oculares de 12,5 x, objetiva de 20 x e objetiva de imersão de 40 x.

RESULTADOS

A diluição do conjugado fazendo-se em solução salina tamponada contendo azul de Evans a 1 mg%, as partículas apresentavam, à microscopia, discreta coloração avermelhada, para as reações negativas. Para as reações positivas, mostravam-se homogeneamente fluorescentes, em intensidades variáveis que podiam ser avaliadas de 1+ a 4+, como evidenciado nas figuras 1 e 2.

SUMMARY

A fluorescent antibody test is described for the serodiagnosis of cysticercosis, employing delipidized particles of Cysticercus cellulosa fixed on microscope slides, as antigen. Tests with serum dilutions or spinal fluids from patients with cysticercosis resulted in intense fluorescent staining of the particles, which were seen as dim-red, non-fluorescent in negative tests.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BIAGI, F. & F. Y. PIÑA, A. — Presence of Antigens in calcareus corpuscles of *Cysticercus*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 6: 114-116. 1964.
2. PITA, V. R.; PRATT, G. V. & BIAGI, F. — Antigenos Detectables por Imunofluorescência, en Corpúsculos Calcáreos de *Cysticercus cellulosae*. Rev. Fac. Med. Univ. Anton. Mex. 7: 379-383, 1964.
3. CAMARGO, E. M.; HOSHIMO, S. & DA SILVA, L. C. — A Slide Fluorescent Antibody Technique with Adult worm Antigen for the serological Diagnosis of Schistosomiasis *Mansoni*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 7: 327-331, 1965.