

## IMUNODIAGNÓSTICO DA NEUROCISTICERCOSE: TESTE IMUNOENZIMÁTICO COM ANTÍGENOS QUIMICAMENTE LIGADOS A SUPORTES PARA PESQUISA DE ANTICORPOS EM SORO E LÍQUIDO CEFALORRAQUIANO

Adelaide José VAZ (1) & Antonio Walter FERREIRA (2)

### R E S U M O

Foi padronizado o teste imunoenzimático, ELISA, utilizando-se componentes antigênicos de *Cysticercus cellulosae* quimicamente ligados a suportes sólidos constituídos de discos de tecido-resina (ELISA-d), para pesquisa de anticorpos em soro líquido cefalorraquiano (LCR), ensaiando-se uma única diluição do espécime clínico. O suporte tecido-resina foi composto de tecido de poliéster impregnado com resina polimerizada de N-metilol-acrilamida, apresentando grupos N-metilol livres, capazes de reagir covalentemente com grupos funcionais de proteínas e polissacarídeos presentes no extrato antigênico salino total obtido de cisticercos. Foram ensaiados 38 soros e 74 LCR de pacientes com neurocisticercose comprovada e 50 soros e 107 LCR do grupo controle (pacientes com quadros clínicos neurológicos diversos e indivíduos supostamente normais). Obtivemos os seguintes índices de sensibilidade e especificidade: 94,7% e 92,0% para o teste realizado no soro e 98,6% e 100% para o teste realizado no LCR. O teste ELISA-d mostrou-se eficiente para o diagnóstico da neurocisticercose, principalmente quando realizado no LCR, com vantagens de estabilidade, facilidade de execução e baixo custo.

**UNITERMOS:** Neurocisticercose; Imunodiagnóstico da neurocisticercose; Teste imunoenzimático ELISA; ELISA.

### I N T R O D U Ç Ã O

A cisticercose, doença que envolve complexa relação hospedeiro-parasita, representa importante problema de Saúde Pública, principalmente nos países do mundo onde fatores sócio-econômicos e culturais permitem sua disseminação e persistência.

A maior importância do complexo teníase-cisticercose humana, decorre da localização frequente do cisticerco no sistema nervoso e seus envoltórios. De fato, a neurocisticercose é a mais importante, geralmente grave e a mais estudada das doenças parasitárias do sistema nervoso<sup>17</sup>.

---

Este trabalho é parte da Dissertação de mestrado da autora — Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

(1) Instituto Adolfo Lutz. Laboratório de Imunodiagnóstico. Divisão de Biologia Médica. São Paulo, SP, Brasil.

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

O *Cysticercus cellulosae* no sistema nervoso e nas meninges costuma determinar alterações no líquido cefalorraquiano. LANGE em 1940<sup>9</sup>, conceituou a "Síndrome líquórica da neurocisticercose", cujo elemento de certeza diagnóstica é a demonstração de anticorpos específicos no líquido cefalorraquiano. A presença desses anticorpos, detectada através de técnicas imunológicas, fornece indicação segura da doença, mesmo antes de suas manifestações clínicas<sup>10, 17</sup>.

Recentemente o teste imunoenzimático, ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), tem sido utilizado em soro e líquido cefalorraquiano para o imunodiagnóstico da neurocisticercose, por apresentar alta sensibilidade e especificidade, além de boa reprodutibilidade<sup>1, 5, 6, 7, 10, 12</sup>.

O presente trabalho teve por objetivo a padronização do teste ELISA utilizando como suporte sólido, tecido de poliéster impregnado com resina polimerizada de N-metilol-acrilamida (NMA), que apresenta grupos N-metilol livres capazes de reagir covalentemente com grupos funcionais de proteínas e polissacarídeos presentes no extrato antigênico utilizado<sup>15</sup>.

## MATERIAL E MÉTODOS

**EXTRATO ANTIGÊNICO.** O antígeno salino total de *Cysticercus cellulosae* (ST) foi obtido conforme metodologia descrita por COSTA<sup>6</sup>, com algumas modificações. Cerca de 200 cisticercos, obtidos de músculos e vísceras de suínos infectados naturalmente, e exaustivamente lavados em solução salina (NaCl 0,15M), foram homogeneizados (Potter-Scientific Glass Apparatus Inc., USA) em 10 ml de água destilada, por 20 minutos, em banho de gelo. O material foi submetido a tratamento por ultra-som (Thornton-Inpec eletrônica, Brasil) com 20 Khz, 1 mA, por quatro períodos de 60 segundos, em banho de gelo. Após isotonzificação com 10 ml de solução salina (NaCl 0,3M), a mistura foi novamente tratada com ultra-som e deixada sob lenta agitação a 4°C por 18 horas. A suspensão obtida foi centrifugada a 6500 g por 30 minutos a 4°C e, o sobrenadante novamente centrifugado a 9000 g. O sobrenadante obtido após a última centrifugação, antígeno ST, foi dividido em alíquotas de 1 ml e liofilizado. O antígeno foi caracterizado quanto

às concentrações proteica<sup>3</sup> e polissacarídica<sup>16</sup>, e quanto à atividade antigênica por titulação em bloco.

**AMOSTRAS DE SORO E LÍQUIDO CEFALORRAQUIANO (LCR).** Foram estudados dois grupos de amostras: de pacientes com neurocisticercose comprovada e do grupo controle. No grupo de pacientes com neurocisticercose foram selecionados 74 casos, de 38 foram coletadas amostras de soro e LCR, e dos 36 restantes somente amostras de LCR. Das 74 amostras de LCR obtidas, 34 apresentavam reação de fixação de complemento negativa para cisticercose. No grupo controle foram estudadas 29 amostras de soro e 40 amostras de LCR de 40 indivíduos supostamente normais; também foram incluídas neste grupo 21 amostras de soro e 67 amostras de LCR de 67 pacientes com outros processos patológicos do sistema nervoso (meningite, neurosífilis, acidente vascular, tumores, coma, hemorragia intracraniana pós-trauma).

**TESTE IMUNOENZIMÁTICO ELISA EM DISCOS (ELISA-d).** Foram utilizados discos de poliéster com 6 mm de diâmetro, impregnados com N-metilol-acrilamida como suporte sólido para o teste ELISA-d.

1. Sensibilização dos discos. Aos discos, lavados em PBS pH 7,2 (fosfatos 0,01M — NaCl 0,14M) e secos, foi adicionado o antígeno ST diluído em PBS, na proporção de 1 ml para cada seis discos. Após incubações de 2 horas a 37°C e 18 horas a 4°C sob lenta rotação, os discos foram lavados três vezes com PBS e incubados com solução bloqueadora (PBS contendo 0,05% de Tween-20 e 2% de gelatina) por 2 horas a 37°C, para bloqueio dos sítios ativos remanescentes. Após novas lavagens, os discos foram secos entre folhas de papel-filtro e armazenados a 4°C em frascos fechados.
2. Execução do teste. Cada amostra de soro e LCR foi diluída em duplicata, em PBS-TG (PBS contendo 0,05% de Tween-20 e 0,5% de gelatina), em volume final de 0,2 ml. Os soros foram diluídos a 1:40 e os LCR a 1:4. A cada tubo de diluição adicionou-se um disco sensibilizado. Após incubação de 45 minutos a 37°C, os discos foram lavados três vezes, 5 minutos cada, com PBS-T. Os discos foram

incubados com 0,2 ml do conjugado imunoenzimático, anti-IgG-fosfatase alcalina (Sigma Chemical Co., USA), diluído segundo o título em PBS-TG. Após novas lavagens, os discos foram transferidos de tubos e a reação enzimática iniciada pela adição de 0,25 ml da solução cromógena (p-nitro-fenil-fosfato dissódico em solução de dietanolamina pH 9,8 na proporção de 1 mg/ml), e foi interrompida com 1 ml de NaOH 2M após incubação de 30 minutos a 37°C. A reatividade foi avaliada em espectrofotômetro (Spectronic 21, Bausch & Lomb, USA) em comprimento de onda de 405 nm.

3. Cálculo dos títulos dos soros e LCR. Para verificação da proporcionalidade entre a reatividade do teste e quantidade de anticorpos, expressa como diluições das amostras, procederam-se a ensaios com amostras de soro e LCR de pacientes com neurocisticercose e de indivíduos supostamente normais. Para avaliação da variação de densidade óptica (DO) em relação à diluição ensaiada (Curvas de Reatividade), os padrões positivos de soro e LCR foram ensaiados em ocasiões diferentes. A partir da curva de reatividade padrão obtida para cada espécime, foram calculados os coeficientes angulares (k) dados pela relação entre acréscimos de DO e acréscimos das respectivas diluições ( $\Delta \log DO / \Delta \log diluição$ ). A constância da inclinação angular permite calcular os títulos das amostras a partir

do ensaio de uma única diluição, através da equação:

$$T = \log D + \left( \frac{\log a - \log b}{k} \right),$$

onde T é o título a ser determinado; D a diluição ensaiada; a é a DO obtida para D; b o "cut off"; k é o coeficiente angular da reta.

**ANÁLISE ESTATÍSTICA.** A média geométrica dos títulos (MGT) foi calculada segundo PAUL & WHITE<sup>14</sup>. Os índices de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e a eficiência do teste ELISA-d foram calculados conforme GALEN & GAMBINO<sup>8</sup>.

## RESULTADOS

### 1. Avaliação do extrato antigênico ST

Para o antígeno ST, obtido de 200 cisticercos em volume final de 20 ml, foram encontradas as concentrações de 6,1 mg/ml de proteínas e 5,2 mg/ml de polissacarídeos. A titulação em bloco do antígeno ST nas concentrações de 5, 10, 20 e 40  $\mu\text{g}$  de proteínas por ml, frente aos soros e LCR padrões positivos e negativos diluídos na razão 2, soros a partir de 1:40 e LCR a partir de 1:4, é apresentada nas figuras 1-A e 1-B, respectivamente para o soro e LCR. Considerando-se os "cut-off" do teste realizado em soro de 0,150 e em LCR de 0,100, a concentração de 20  $\mu\text{g/ml}$  foi escolhida para sensibilizar os discos.

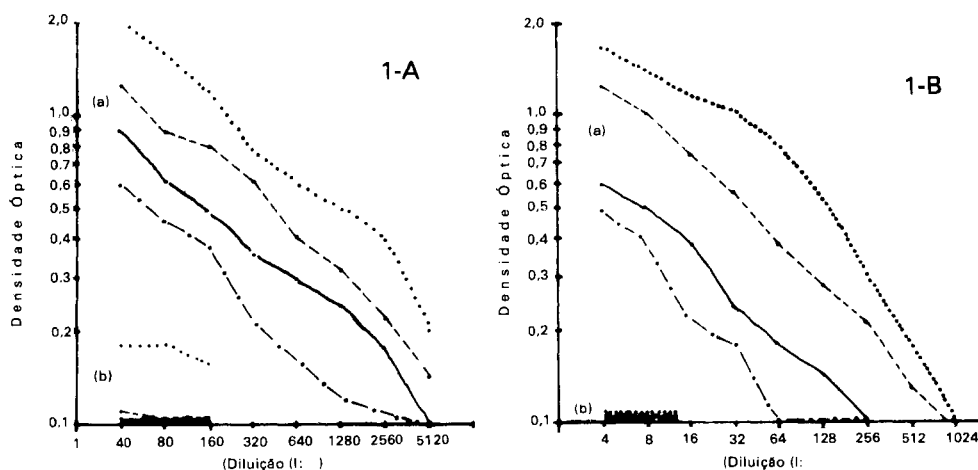


Fig. 1 — Densidades ópticas obtidas para as diluições de soros (1-A) e LCR (1-B) padrões positivos (a) e negativos (b) no teste ELISA-d empregando extrato salino total de *Cysticercus cellulosae* nas concentrações de 5  $\mu\text{g/ml}$  (.....), 10  $\mu\text{g/ml}$  (---), 20  $\mu\text{g/ml}$  (—) e 40  $\mu\text{g/ml}$  (-.-.-).

## 2. Teste ELISA-d

Nas figuras 2-A e 2-B são apresentadas as curvas de reatividade obtidas, respectivamente,

para soros e LCR de três pacientes com neurocisticercose e de dois indivíduos supostamente normais.

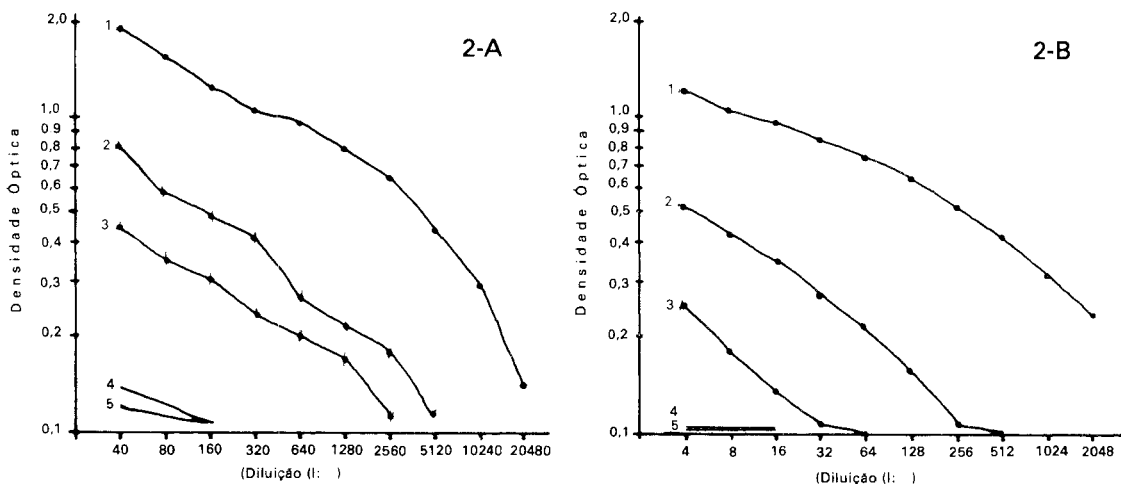


Fig. 2 — Curvas de reatividade obtidas no teste ELISA d para soros (2-A) e LCR (2-B) de pacientes com neurocisticercose (1, 2, 3) e de indivíduos supostamente normais (4, 5).

Os padrões positivos de soro e LCR foram ensaiados em 10 ocasiões diferentes, e a média e os limites de variação de DO, respectivamente para cada diluição de soro e LCR, são apresentadas nas figuras 3-A e 3-B. Esses padrões positivos foram diluídos a 1:16 e 1:32, respectivamente

em soro e LCR normais, para obtenção de um segundo padrão positivo para cada espécime. As figuras 4-A e 4-B mostram as curvas de reatividade obtidas para os dois padrões, respectivamente de soro e LCR.

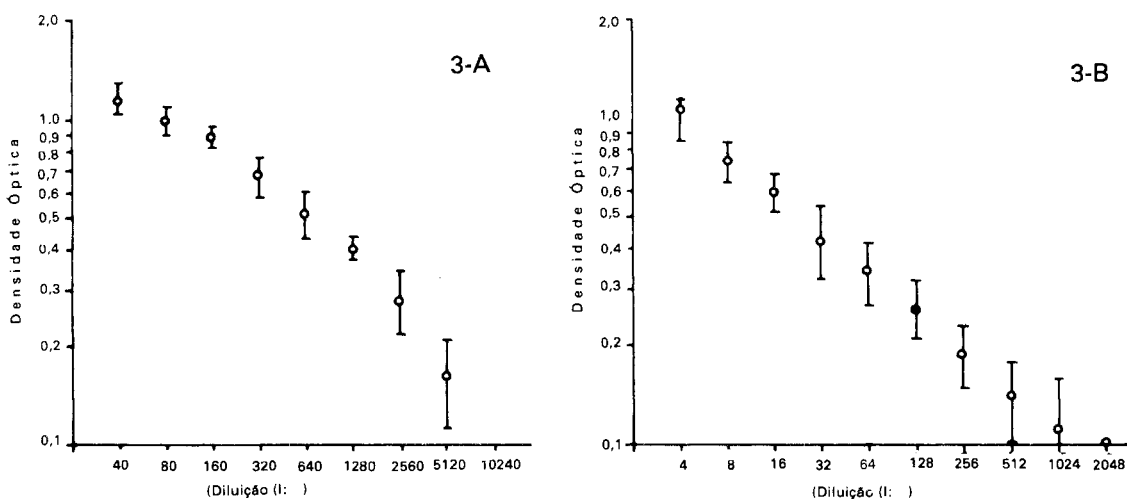


Fig. 3 — Média e limites de variação das densidades ópticas obtidas em 10 titulações do soro padrão positivo (3-A) e do LCR padrão positivo (3-B) no teste ELISA-d.

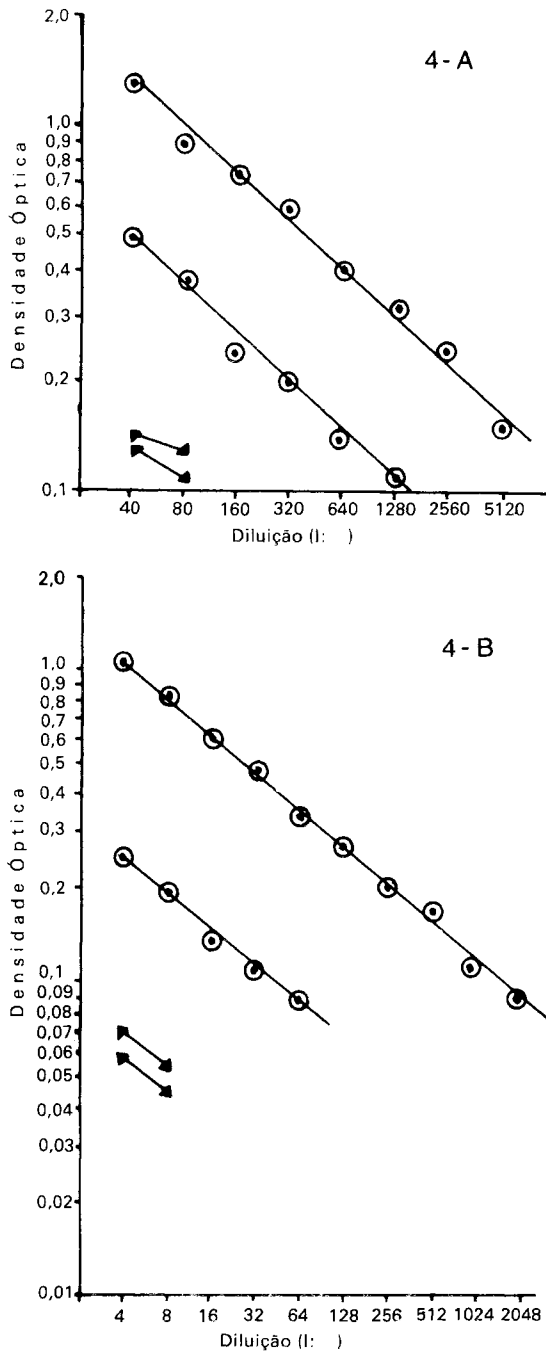


Fig. 4 — Curvas de reatividade dos soros (4-A) e LCR (4-B) padrões positivos (⊕) e negativos (⊖) obtidas no teste ELISA-d.

As retas obtidas permitiram calcular o coeficiente angular  $k$  ( $\Delta \log DO / \Delta \log \text{dil.}$ ) de 0,43

para a curva de reatividade de soro e 0,44 para a de LCR. Considerando a constante proporcionalidade entre DO e concentração de anticorpos da amostra, os títulos foram calculados a partir do ensaio de uma única diluição do espécime, através das equações:

$$T = \log 40 + \left( \frac{\log a - \log 0,150}{0,43} \right)$$

onde T é o título e "a" a DO obtida para a diluição 1:40 do soro;

$$T = \log 4 + \left( \frac{\log a - \log 0,100}{0,44} \right)$$

onde T é o título e "a" a DO obtida para a diluição 1:4 do LCR. Foram considerados positivos os títulos iguais ou maiores que 1,60 (1:40) para soros, e iguais ou maiores que 0,60 (1:4) para LCR.

Na tabela 1 é apresentada a distribuição dos soros de LCR dos dois grupos estudados, com neurocisticercose e controle, segundo título obtido no teste ELISA-d.

A partir dos resultados obtidos nas amostras estudadas foram calculados os índices de sensibilidade e especificidade. Para os soros obtivemos sensibilidade de 94,7% com intervalo de confiança de 95% de probabilidade (IC) de 87,5% a 100%, e especificidade de 92,0% com IC de 84,3% a 99,7%; para o estudo dos LCR a sensibilidade obtida foi de 98,6% (IC de 95,9% a 100%) e a especificidade de 100% (IC de 97,5% a 100%).

As médias geométricas dos títulos dos soros no teste ELISA-d foram 2,64 (1:436) e 0,74 (1:6), respectivamente para soros de pacientes com neurocisticercose e soros do grupo controle. Para os títulos dos LCR do grupo de doentes a média geométrica foi 2,13 (1:135) e para os LCR do grupo controle foi de 0,11 (1:1).

Os valores preditivos positivo e negativo e a eficiência do teste ELISA-d foram calculados para diferentes prevalências da neurocisticercose: 100, 1.000 e 10.000 casos por 100.000 habitantes ou, respectivamente, 0,1%, 1% e 10%. Estes resultados são apresentados na tabela 2.

TABELA 1

Distribuição dos soros e líquidos cefalorraquianos (LCR) dos pacientes com neurocisticercose (a) e do grupo controle (b), segundo títulos obtidos no teste ELISA-d. (vide texto, página 5).

Espécime	Grupo	TÍTULOS										Total
		0	1,60	1,90	2,20	2,50	2,80	3,10	3,40	3,71	4,01	
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
		1,59	1,89	2,19	2,49	2,79	3,09	3,39	3,70	4,00	4,30	
S O R O	a	2	7	2	3	8	5	7	1	2	1	38
	b	46	1	—	2	1	—	—	—	—	—	50
		0,59	0,89	1,19	1,49	1,80	2,10	2,40	2,70	3,00	3,30	Total
		0	0,60	0,90	1,20	1,50	1,81	2,11	2,41	2,71	3,01	
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
L C R	a	1	1	1	12	6	12	15	13	8	5	74
	b	107	—	—	—	—	—	—	—	—	—	107

TABELA 2

Valores preditivos positivo e negativo e eficiência do teste ELISA-d realizado em soro e líquido cefalorraquiano (LCR) segundo prevalência da neurocisticercose

Índice	Prevalência (%)	Espécime	
		Soro	LCR
Valor preditivo positivo (%)	0,1	1	100
	1,0	11	100
	10,0	57	100
Valor preditivo negativo (%)	0,1	100	100
	1,0	100	100
	10,0	99	100
Eficiência do teste ELISA-d (%)	0,1	92	100
	1,0	92	100
	10,0	92	100

As 88 amostras pareadas de soro e LCR, 38 de pacientes com neurocisticercose e 50 do grupo controle foram estudadas quanto à reatividade apresentada no teste ELISA-d. A tabela 3 mostra a relação entre o resultado de LCR com o resultado da amostra pareada de soro. Considerando que o teste realizado no LCR oferece o resultado de referência para o diagnóstico da neurocisticercose, foram obtidos os índices de co-positi-

vidade de 0,973, de co-negatividade de 0,922 e concordância de 0,943 com os resultados do teste realizado no soro correspondente.

TABELA 3

Resultados comparativos do teste ELISA-d segundo reatividade de amostras pareadas, soro e líquido cefalorraquiano (LCR)

Espécime	Reatividade	L C R		
		R	NR	T
S O R O	R	36	4	40
	NR	1	47	48
	T	37	51	88

R = reagente; NR = não reagente; T = total.

A reprodutibilidade intra-ensaio do teste foi avaliada através dos resultados de densidade óptica (DO) de 20 amostras reagentes e 20 não-reagentes ensaiadas em duplicata (Figura 5). Na figura 6 são apresentados os resultados da avaliação interensaio de 25 soros e 25 LCR ensaiados em dias diferentes.

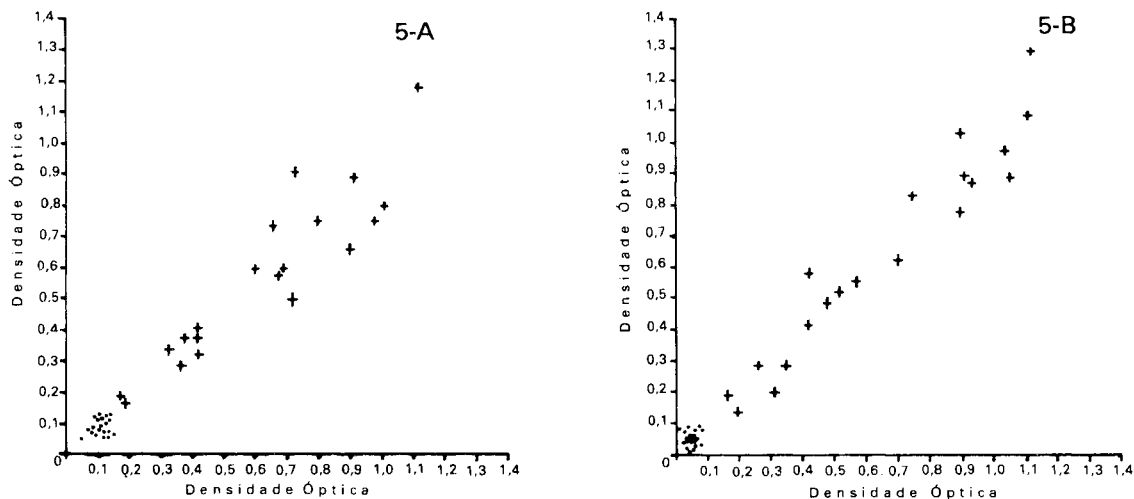


Fig 5 — Reprodutibilidade intra ensaio do teste ELISA-d. Densidades ópticas das amostras de soro (5-A) e líquido cefalorraquiano (5-B) ensaiadas em duplicata, sendo 20 reagentes (+) e 20 não-reagentes (•).

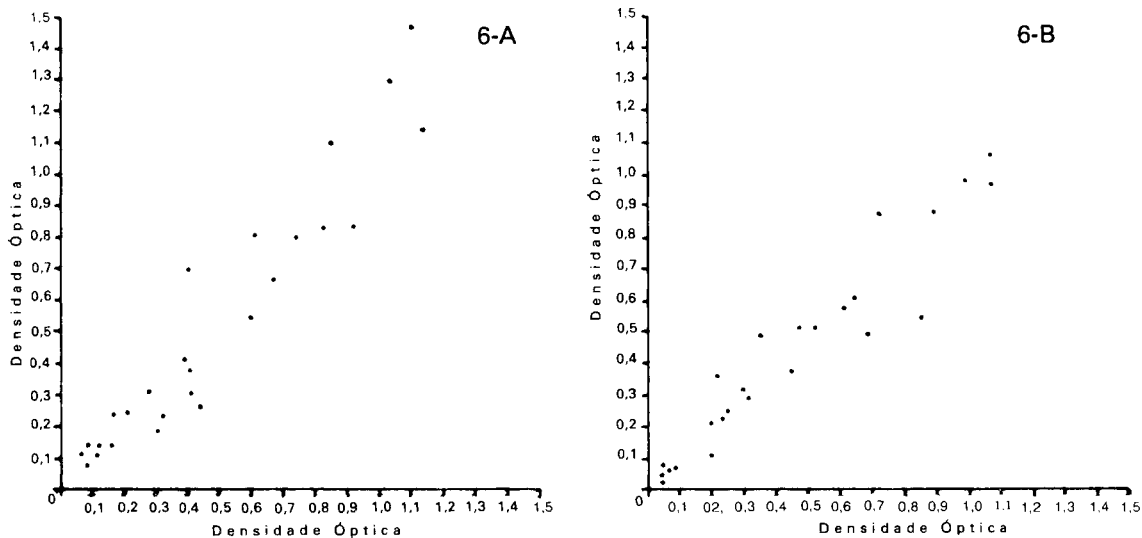


Fig. 6 — Reprodutibilidade interensaio do teste ELISA-d. Densidades ópticas de 25 soros (6-A) e 25 LCR (6-B) ensaiados em dias diferentes.

### 3. Estabilidade dos discos sensibilizados

Discos sensibilizados com 20  $\mu\text{g/ml}$  do antígeno ST foram bloqueados e armazenados a 4°C.

A reatividade dos discos foi avaliada, 5, 10, 15 e 20 dias após o armazenamento, frente aos padrões de soro e LCR e os resultados são apresentados na tabela 4.

TABELA 4

Densidades ópticas obtidas no teste ELISA d para as diluições 1:80 e 1:8, respectivamente, do soro e LCR padrões positivos, segundo tempo de armazenamento dos discos sensibilizados (a 4°C).

Tempo de armazenamento (Dias)	Especime	
	Soro positivo 1:80	LCR positivo 1:8
5	1.090	0.978
10	0.982	0.976
15	0.852	0.800
20	0.952	0.852

## DISCUSSÃO

Foi padronizado o teste imunoenzimático, ELISA-d, com componentes antigênicos de *Cysticercus cellulosae* covalentemente ligados a suporte sólido, discos de poliéster ativados, para o diagnóstico da neurocisticercose em soro e líquido cefalorraquiano. O preparo do suporte-resina é simples, de fácil execução e de baixo custo. Cada m<sup>2</sup> do suporte rende mais de 10.000 discos de 6 mm de diâmetro como os que foram utilizados. Este suporte, discos de poliéster impregnados com resina polimerizada de N-metilol-acrilamida, foi escolhido pelos bons resultados que apresentou em termos de capacidade de ligação de proteínas e de estabilidade<sup>2, 4, 15</sup>.

O extrato antigênico salino total (ST) empregado, apresentou rendimento bastante satisfatório. Para a sensibilização de 6 discos foram necessárias 20 µg de proteína antigênica, o que foi considerado um bom resultado<sup>15</sup>.

As curvas de reatividade obtidas no teste ELISA-d, figuras 2 e 4, demonstram a linearidade entre concentração de anticorpos e densidade óptica. A reprodutibilidade dessa proporcionalidade, figura 3, permite que se utilize uma única diluição adequada dos espécimes para avaliar a concentração de anticorpos<sup>4, 15</sup>, o que vem simplificar o imunodiagnóstico da neurocisticercose e abrir novos horizontes para inquéritos epidemiológicos utilizando técnicas mais sensíveis e de baixo custo.

Os resultados do teste ELISA-d para os espécimes dos dois grupos estudados, tabela 1, foram considerados bons. Dos 38 soros de doentes, 36 foram reagentes com títulos entre 1,62 (1:42) e 4,13 (1:13490). Dois soros desse grupo, títulos 1,18 (1:15) e 1,59 (1:39) foram falso-negativos no teste. Dos 50 soros do grupo controle, somente quatro foram falso positivos, dois de pacientes com meningite bacteriana que apresentaram títulos de 1,77 (1:59) e 2,55 (1:355) e dois soros de indivíduos supostamente normais, com títulos de 2,21 (1:162) e 2,43 (1:270). Os quatro LCR correspondentes a esses soros falso-positivos foram não-reagentes no teste. Dos 74 LCR de pacientes com neurocisticercose, 73 foram reagentes no teste ELISA-d, com títulos que variaram de 0,68 (1:5) e 3,24 (1:1737). Somente um LCR deste grupo, título 0,36 (1:3), foi falso-negativo. Os 107 LCR do grupo controle foram não-reagentes no teste ELISA-d. Esses resultados forneceram altos índices de sensibilidade e especificidade, o que está de acordo com os dados de literatura para o teste clássico ELISA em placas plásticas de microtitulação<sup>1, 5, 6, 7, 10, 12</sup>.

A média geométrica dos títulos dos soros e LCR, demonstra que as diferenças observadas entre os dois grupos de amostras estudadas são significativas e, que o teste ELISA-d foi discriminante para os dois grupos, de doentes e controle, como já foi observado através das curvas de reatividade obtidas para os espécimes padrões positivos e negativos (Figura 4).

Para avaliarmos o comportamento do teste ELISA-d quando aplicado na população em geral, estudamos o efeito da prevalência da neurocisticercose sobre os valores preditivos e a eficiência do teste (tabela 2). Podemos notar que o teste realizado no LCR fornece melhores índices do que quando realizado no soro. Considerando que a resposta imune na neurocisticercose, frequentemente se restringe às estruturas que circundam o parasita<sup>11, 13</sup>, e pelos resultados por nós obtidos, sugerimos o LCR como o melhor espécime clínico, para os testes imunodiagnósticos.

Comparamos os resultados do teste no LCR com os resultados no soro correspondente, tabela 3, e observamos que houve discordância em



cinco casos, quatro soros falso positivos com os correspondentes LCR negativos e um soro falso-negativo com o LCR correspondente positivo.

Os coeficientes de correlação para a reprodutibilidade intra-ensaio do teste ELISA-d, figura 4, foram 0,858 e 0,983, respectivamente, para soros e LCR. Para a reprodutibilidade interensaio, figura 6, foram obtidos os coeficientes de 0,897 e 0,950, respectivamente, soro e LCR. Estes resultados foram considerados bons, já que em nenhuma das amostras estudadas, todas ensaiadas em duplicata, foi observada discrepância de resultados.

A estabilidade dos discos sensibilizados foi avaliada, tabela 4, e mostrou que não houve perda de reatividade até por 20 dias de armazenamento a 4°C. Recentemente temos conservados estes discos sensibilizados por até 4 meses, sem perda significativa da atividade reativa no teste ELISA-d (dados não apresentados).

#### SUMMARY

**Neurocysticercosis immunodiagnosis: immunoenzymatic assay with antigens covalently bounded on nylon treated resin to detect antibodies in CSF and sera.**

The enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA, was developed in a new type of support consisting of discs of synthetic fabric-resin (ELISA-d) with antigenic components of *Cysticercus cellulosae* covalently bound for detection of antibodies in sera and cerebrospinal fluid (CSF). The support fabric-resin consists of polyester fabric coated with crosslinked resin (N-methylolacrylamide) containing N-methylol groups able to form covalent bounds with functional groups of proteins and polysaccharides which are present in the antigenic saline extract obtained from *Cysticercus cellulosae*. Sera titer and CSF titer were determined using only one dilution according to the dose-response standard curves obtained. Thirty-eight sera and 74 CSF from patients with confirmed diagnosis of neurocysticercosis and 50 sera and 107 CSF from a control group (patients suffering from neurological disorders other than neurocysticercosis and supposedly healthy individuals) were assayed. The sensi-

tivity and the specificity of ELISA-d were determined: 94.7% and 92.0% for sera and 98.6% and 100% for CSF. The ELISA-d test proved to be efficient for the diagnosis of neurocysticercosis, mainly when carried out in CSF, with the advantages of good stability, easy preparation and execution and low cost.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos Dr. Aluizio de Barros Barreto Machado, Dr. Gilberto Eduardo Bassi e a Dra. Isabel Domicilia Vaz, do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; ao Dr. Marcos Vinicius da Silva do Hospital Emilio Ribas e ao Dr. Ricardo Nitrini pelo fornecimento das amostras de soro e líquido cefalorraquiano.

#### 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 quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analyt. Biochem.* 72: 248-252, 1976.
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. COKER VANN, M. R.; BROWN, P. & GAJDUSEK, D. C. — Serodiagnosis of human cysticercosis using a chromatofocused antigenic preparation of *Taenia solium* cysticerci in an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Trans. roy. Soc. trop. med. Hyg.*, 78: 492-496, 1984.
6. COSTA, J. M. — *Teste imunoenzimático (ELISA) no diagnóstico da neurocisticercose*. São Paulo, 1983 (Tese de doutoramento — Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo).
7. 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 im-

- munosorbent assay (ELISA) for the detection of antibody to cysticerci of *Taenia solium*. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 31: 364-369, 1982.
8. GALEN, R. S. & GAMBINO, S. R. — **Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnosis.** New York, John Wiley, 1975.
  9. LANGE, O. — Síndrome liquórica da cisticercose encefalo-meningea. *Rev. Neurol. Psiquiat. S. Paulo*, 6: 35-48, 1940.
  10. LIVRAMENTO, J. A.; COSTA, J. M.; MACHADO, L. R.; NOBREGA, J. P. S. & SPINA-FRANÇA, A. — ELISA (IgG e IgM) no LCR e soro na neurocisticercose em tratamento com praziquantel. *Arch. Neuro-psiquiat. (S. Paulo)*, 43: 267-274, 1985.
  11. MILLER, B. L.; STAUGAITIS, S. M.; TOURTELLOTTE, W. W.; SHAPSHAK, P.; GOLDBERG, M.; MEINER, D. & WEIL, M. — Intra-blood-brain barrier IgG synthesis in cerebral cysticercosis. *Arch. Neurol. (Chic.)*, 42: 782-784, 1985.
  12. MOHAMMAD, I. N.; HEINER, D. C.; MILLER, B. L.; GOLDBERG, M. A. & KAGAN, I. G. — Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of cerebral cysticercosis. *J. clin. Microbiol.*, 20: 775-779, 1984.
  13. OBERHAUSER, E. & WEINSTEIN, V. — Estudio comparativo de líquido cefalorraquídeo y sangre en lués y cisticercosis cerebral. *Acta neurol. lat. amer.*, 14: 74-82, 1968.
  14. PAUL, J. R. & WHITE, G. — **Serological epidemiology.** London, Academic Press, 1973.
  15. PERES, L. — Desenvolvimento e caracterização de imunossorventes e avaliação de desempenho em ensaios imunoenzimáticos. Campinas, 1986 (Dissertação de mestrado — Faculdade de Engenharia da Universidade de Campinas).
  16. SCOTT, T. A. & MELVIN, E. H. — Determination of dextran with antrone. *Analyt. Chem.*, 25: 1656-1661, 1953.
  17. SPINA-FRANÇA, A. — Imunobiologia da cisticercose: avaliação dos conceitos atuais. *Arch. Neuro-psiquiat. (S. Paulo)*, 27: 125-140, 1969.

Recebido para publicação em 22/09/1987