

CARACTERIZAÇÃO DE UM EXTRATO DE *CYSTICERCUS CELLULOSAE*. COMUNICAÇÃO PRÉVIA*

Felix R. Zyngier**

O autor apresenta um estudo sobre a composição antigênica do Cysticercus cellulosae empregando as técnicas de gel-difusão e imunoeletroforese; através da gel-difusão evidenciaram-se 5 faixas de precipitação e, na imunoeletroforese, 9 sistemas de precipitação. Salienta, ainda, a importância de novos estudos a fim de melhor definir a composição antigênica do parasita.

INTRODUÇÃO

A teníase e cisticercose são entidades clínicas bem conhecidas em nosso meio, particularmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro⁹. A teníase intestinal apresenta-se com morbidade relativamente baixa, enquanto que a cisticercose possui a potencialidade de invadir o sistema nervoso central, o que em muito agrava o prognóstico dos casos, como acentuam Dixon e Lipscomb², Dixon e Hargreaves¹ e Powell e cols¹¹.

No diagnóstico da cisticercose tem-se empregado as reações de fixação do complemento¹, precipitação, hemaglutinação passiva e gel-difusão¹², com positividade máxima em torno de 85 por cento dos casos comprovados, o que deixa cerca de 15 por cento dos pacientes como falso-negativos do ponto de vista sorológico. Falsos positivos têm sido descritos na sífilis nervosa, como referem Veronesi e Spina-França¹⁵, e reações cruzadas ocorrem com a hidatidose e a cenurose nervosa, segundo Proctor, Powell e Elsdon-Dew¹².

A composição antigênica do *Cysticercus cellulosae* tem sido pouco estudada; este trabalho se propõe a fazer uma abordagem inicial deste problema.

MATERIAL E MÉTODOS

Os cisticercos foram obtidos mediante dissecação de carcaças de suínos infestados. Os cisticercos (íntegros ou rompidos) foram lavados com solução salina fisiológica e secos com papel de filtro, e, após pesados, foram guardados a -80°C até seu uso. Após reunida uma quantidade julgada suficiente, os helmintos foram homogeneizados em álcool etílico a -70°C, sendo esta suspensão incubada a -80°C por uma hora. A seguir adicionou-se igual volume de éter etílico a -70°C, e a mistura foi novamente incubada por 3 horas a -80°C. Após este período a mistura foi centrifugada a 40.000g a -20°C por 45 minutos em uma centrífuga refrigerada Sorvall RC2-B, sendo o sobrenadante desprezado. O sedimento foi dessecado a -20°C sob pressão reduzida por 24 horas. O material seco foi suspenso em tampão Tris 0,05M pH 8,0 com azida sódica a 0,025%, e a extração se deu por 72 horas a 4°C com agitação contínua. A mistura foi centrifugada a 48.000g por 60 minutos a 4°C. O sedimento foi desprezado e o sobrenadante foi usado nas etapas subseqüentes como extrato.

A determinação do teor de proteínas do extrato foi realizada pelo método de Folin⁵, e o

* Trabalho realizado com auxílio do Conselho de Ensino para Graduados da U.F.R.J. e C.N.Pq.

** Departamento de Imunologia, Instituto de Microbiologia da U.F.R.J., Centro de Ciências da Saúde, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, Brasil.
Recebido para publicação em 29-10-75.

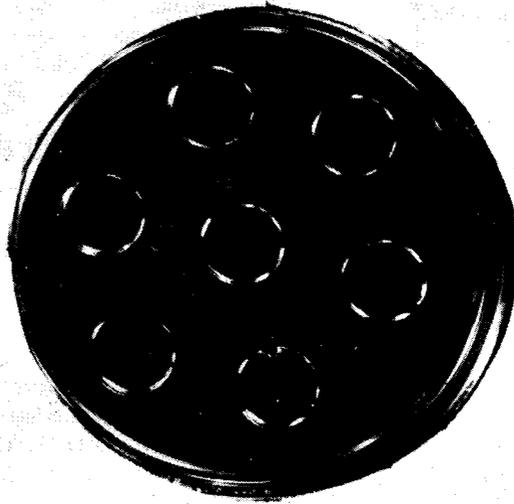


Fig. 1 – Gel-difusão do extrato de *Cysticercus cellulosae* contra anti-soro obtido em coelho, observando-se cinco faixas de precipitação.

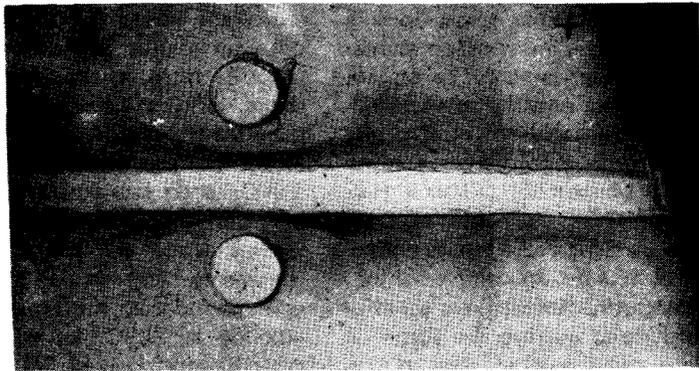


Fig. 2 – Imunoelctroforese do extrato de *C. cellulosae*, em que se podem ver nove arcos de precipitação.

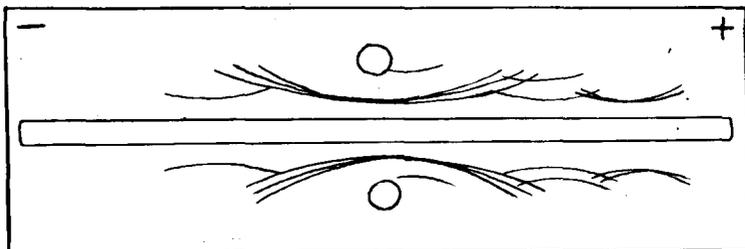


Fig. 3 – Esquema dos achados de imunoelctroforese ilustrados na Figura 2.

teor de carboidratos foi estimado pela técnica de Molisch, como descrita por Kabat³. Dois coelhos foram imunizados com 1mg de proteína deste extrato emulsionado em adjuvante completo de Freund, em 4 injeções intramusculares a intervalos de 10 dias. Duas semanas após a última injeção, os coelhos receberam uma dose de reforço (sem adjuvante) por via intramuscular, e foram sangrados após 5 dias. A gel-difusão foi realizada segundo Ouchterlony⁸ e a imunoeletroforese de acordo com Scheidegger¹³. O agar foi posteriormente dializado contra solução salina fisiológica e corado com Amidoschwartz.

RESULTADOS

Os resultados obtidos constam das Figuras 1, 2 e 3. Pode-se observar que na gel-difusão evidenciou-se a presença de 5 faixas de precipitação, que na imunoeletroforese se desdobraram em nove sistemas de precipitação. A maioria das frações evidenciou deslocamento anódico na eletroforese, embora uma fração tivesse demonstrado mobilidade catódica.

O extrato de *C. cellulosa* obtido segundo a técnica descrita possuía um teor protéico de 1,08 mg/ml e de carboidratos de 0,43 mg/ml.

DISCUSSÃO

O fracionamento dos antígenos parasitários é assunto da maior importância, não apenas devido às implicações que possui na caracterização do complexo antigênico dos cestódios, mas

sobretudo na avaliação dos antígenos funcionais descritos por Soulsby¹⁴ e no isolamento de frações purificadas. Estas frações podem vir a assumir papel importante na taxonomia dos cestódios, além de potencialmente poderem vir a resolver o problema da reatividade cruzada¹².

Este estudo mostra que um mínimo de 9 frações podem ser identificadas no extrato de *Cysticercus cellulosae*. O fracionamento ulterior e isolamento das várias frações são etapas a serem cobertas em futuro próximo.

Apesar das diferenças de metodologia, este trabalho confirma os achados de Maddison e cols.⁶ no que diz respeito ao número de sistemas antígeno-anticorpo na gel-difusão e à mobilidade eletroforética das frações do extrato. Acrescentam-se os achados da imunoeletroforese, ainda não descritos até então.

Por se tratar de assunto muito pouco estudado sob este prisma, novos estudos são desejáveis, no sentido de melhor se definir a composição antigênica do parasita: 1) diagnóstico, já que com antígenos purificados poder-se-ia prover testes diagnósticos mais sensíveis e específicos; 2) estudo da patogenia da doença, no sentido de se individualizar os antígenos funcionais e seu papel nas diversas manifestações da doença; 3) imunoterapêutico, estaria aberta a possibilidade de se fazer em relação à cisticercose uma dessensibilização com antígenos purificados, visando atingir finalidade comparável àquela obtida na hidatidose. O efeito dramático dos corticosteróides na neurocisticercose são um indicador embora indireto da participação de fenômenos inflamatórios, certamente de natureza imune, nesta entidade.

SUMMARY

The author presents the results obtained with gel-diffusion and immunoelectrophoresis to detect the antigenic composition of Cysticercus cellulosae; 5 and 9 antigenic fractions were obtained respectively with gel-diffusion and immunoelectrophoresis. The author points out that more detailed studies must be carried out in order to determine the real antigenic composition of the parasite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DIXON, H.B.F. & HARGREAVES, W.H. — Cysticercosis (*Taenia solium*) — A further ten years study covering 284 cases. *Quart. J. Med.* 13:107-118, 1944.
2. DIXON, H.B.F. & LIPSCOMB, F.M. — Cysticercosis: an analysis and follow-up of 450 cases. *Spec. Rep. Ser. Med. Res. Coun.* (London) 299:vi + 58, 1961.
3. KABAT, E.A. & MAYER, M.M. — Experimental Immunochemistry, Charles C. Thomas Co., 2nd ed., 1961.
4. LANGE, O. — O líquido cefaloraquidiano na cisticercose do sistema nervoso central. *Rev. Neurol. Psychiat. S. Paulo.* 2:2-15, 1936.

5. LOWRY, O.H., ROSENBROUGH, N.J., FARR, A.L. & RANDALL, R.J. — Protein measurement with the Folin phenol reagent — *J. Biol. Chem.* 193:265-273, 1951.
6. MADDISON, S.E., WHITTLE, H. & ELDON-DEW, R. — The antigens of tapeworms — *S. Afr. J. Sci.* 57:273-277, 1961.
7. MAGALHÃES, A.E. de A. — Reação de fixação do complemento para cisticercose no líquido céfalo-raquidiano. Emprego de novo antígeno por método quantitativo. *Arq. Neuropsiq. (S. Paulo)* 15: 183-189, 1957.
8. OUCHTERLONY, O. — Diffusion-in-gel methods for immunological analysis — *Ann. Allergy* 5: 1-78, 1958.
9. PESSOA, S.B. — Parasitologia Médica, 5ª ed. Ed. Guanabara — Koogan, Rio de Janeiro, 1958.
10. POWELL, S.J., PROCTOR, E.M., WILMOT, A.J. & BARNETT, A.M. — Neurological complications of cysticercosis in Africans: a clinical and serological study — *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 60: 159-164, 1966.
11. POWELL, S.J., PROCTOR, E.M., WILMOT, A.J. & MACLEOD, I.N. — Cysticercosis and epilepsy in Africans: a clinical and serological study. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 60:152-158, 1966.
12. PROCTOR, E.M., POWELL, S.J. & ELDON-DEW, R. — The serological diagnosis of cysticercosis. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 60:146-151, 1966.
13. SCHEIDEGGER, J.J. — Une Micro-méthode de l'immuno-electrophorèse. *Int. Arch. Allergy* 7:103-110, 1955.
14. SOULSBY, E.J.L. — The nature and origin of the functional antigens in helminth infections — *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 113: 492-509, 1963.
15. VERONESI, R. & SPINA-FRANÇA NETO, A. — Cisticercose in Veronesi R. — Doenças Infeciosas e Parasitárias, 5ª ed. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1972.