

# ELISA (IgG e IgM) NO LCR E SORO NA NEUROCISTICERCOSE EM TRATAMENTO COM PRAZIQUANTEL

COMPARAÇÃO COM REAÇÕES DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO  
E IMUNOFLUORESCÊNCIA

*J. A. LIVRAMENTO \**

*JULIA M. COSTA \*\**

*L. R. MACHADO \**

*J. P. S. NOBREGA \**

*A. SPINA-FRANÇA \*\*\**

Desde quando Lange conceituou em 1940 a "síndrome líquórica da cisticercose encéfalo-meníngea" baseado na reação de fixação do complemento para cisticercose (RFC) no líquido cefalorraqueano (LCR), as reações imunológicas ganharam vulto e passaram a ser as provas imunobiológicas de segurança para o diagnóstico da neurocisticercose (NC)<sup>7, 18</sup>. Nas duas últimas décadas, técnicas imunológicas foram sendo introduzidas ao exame do LCR, como reação de precipitação, de imunofluorescência (RIF), de hemaglutinação e, finalmente, o teste imunoenzimático (ELISA)<sup>1, 2, 3, 4, 5, 8, 11</sup>. Esta vem sendo aplicada para o diagnóstico da NC por apresentar alta sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade, já anteriormente demonstradas<sup>4, 5, 6</sup>. Com o advento de novas possibilidades de terapêutica medicamentosa da NC mediante o emprego do praziquantel (PZQ) cuja utilidade foi comprovada por vários pesquisadores, inclusive deste Centro, ampliou-se o interesse quanto a imunobiologia do LCR na doença. Esse fato relaciona-se tanto ao diagnóstico, como à evolução da NC. Destacam-se nesse aspecto: a interpretação dos achados próprios à exacerbação da síndrome do LCR na NC observada em pacientes submetidos a tratamento com PZQ; a qualificação das classes de anticorpos IgG e IgM na síndrome do LCR na NC<sup>9, 12, 13, 14, 15, 16, 17</sup>.

O objetivo desta pesquisa é verificar o comportamento de reações imunoenzimáticas ELISA-G e ELISA-M para *Cysticercus cellulosae*, comparando-as no LCR e soro, com os resultados obtidos mediante RFC, RIF-G e RIF-M em uma série de 10 pacientes com NC submetidos a tratamento por PZQ.

---

Trabalho do Centro de Investigações em Neurologia (CIN) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP): \* Médico Assistente; \*\* Professora de Parasitologia do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade de Uberlândia; \*\*\* Professor Titular de Neurologia, FMUSP. Parte desta Pesquisa foi conduzida mediante recursos do convênio FINEP/CIN 4383070700.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas amostras de LCR e de soro de 10 pacientes com NC submetidos a tratamento com PZQ. Características clínicas e do diagnóstico são apresentadas na tabela 1. Para cada caso foi esquematizado administrar o PZQ por via oral na dose de 50 mg por kg de peso por dia durante 21 dias consecutivos, associado a dexametasona (12 mg por dia, via oral). Amostras de LCR e de sangue de cada paciente foram colhidas na mesma ocasião em 4 oportunidades: antes do início do uso do PZQ (amostras dia-0) e nos dias primeiro (amostras dia-1), sétimo (amostras dia-7) e 21º (amostras dia-21) de administração do PZQ. As características gerais de cada amostra de LCR, estabelecidas segundo metodologia adotada no CIN, constam da tabela 2. De cada amostra de sangue foi separado o soro, evitando-se ao máximo a ocorrência da hemólise. Tanto nas amostras de LCR como nas de soro as reações imunológicas do VDRL e de fixação do complemento para sífilis pelo método de Kolmer foram não-reagentes.

Caso	Nome	Sexo	Idade	Forma clínica	Diagnóstico		Início PZQ
					LCR	TC	
01	MC	M	18	H	+		29/3/83
02	DJP	F	23	E	+		29/3/83
03	DR	M	47	E	+	+	29/3/83
04	JSS	M	23	E		+	8/4/83
05	RAB	M	29	E		+	14/4/83
06	MCP	F	24	E		+	14/4/83
07	LT	F	36	E	+	+	4/5/83
08	WM	M	52	E	+	+	4/5/83
09	MAAB	F	18	H	+		4/5/83
10	PS	M	22	H	+		4/5/83

Tabela 1 — Pacientes com neurocisticercose. Número do caso, nome (iniciais), sexo (M, masculino; F, feminino), idade (em anos), forma clínica (H, hipertensão intracraniana; E, epilepsia), diagnóstico estabelecido (+) pelo exame do líquido cefalorraqueano (LCR) e/ou por tomografia axial computadorizada (TC); data de início da administração do praziquantel (dia/mês/ano).

Em parte de cada amostra de LCR e de soro foi efetuada a RFC pelo método de Kolmer. O restante de cada uma dessas amostras foi congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$  até a realização das reações de imunofluorescência e imunoenzimáticas. Após descongelamento, em cada amostra de LCR e de soro foram realizadas: as RIF, segundo a técnica indireta antiglobulínica de Camargo, utilizando-se dois tipos de conjugado, o anti-IgG (RIF-G) e o anti-IgM (RIF-M) 10; as reações imunoenzimáticas ELISA utilizando conjugados anti-IgG (ELISA-G) e anti-IgM (ELISA-M), segundo a metodologia descrita por Costa 4. Nas amostras de soro não foi realizada a reação ELISA-M.

## RESULTADOS

Constam da tabela 3 os resultados das reações de fixação do complemento, de imunofluorescência-G e M e de ELISA-G e M para cisticercose realizadas no LCR e

Caso	Amostra		Pi	Cit	Eos	Glic	Prot	PA	A	b	g	g/Prot	g/PA+A	b/A
	do dia													
01	0	10	6,0	2	85	23	7,2	60	13,1	11,3	1,1	1,7	2,3	
	1	21	3,0	0	84	21	6,5	61	15,0	11,3	1,1	1,7	2,4	
	7	16	77	2	60	24	8,0	54	15,9	10,7	1,1	1,7	3,1	
	21	16	40	0	63	23	6,1	56	12,6	11,7	1,2	1,9	2,3	
02	0	8	8,0	8	58	29	5,1	52	13,7	18,0	1,8	3,1	2,6	
	1	11	4,0	21	70	27	4,0	60	10,7	18,6	1,9	2,9	1,8	
	7	14	11	20	52	35	3,8	52	14,4	18,2	1,8	3,3	2,8	
	21	12	15	3	60	25	4,8	54	10,3	17,1	1,7	2,9	1,9	
03	0	12	10	4	63	50	4,0	55	12,6	19,3	1,9	3,3	2,3	
	1	15	10	12	72	52	3,3	54	12,5	21,0	2,1	3,7	2,3	
	7	17	19	13	60	46	4,5	54	13,5	19,2	1,9	3,3	2,5	
	21	18	8,0	0	61	44	4,7	56	10,4	17,7	1,8	1,8	1,9	
04	0	11	0,3	0	80	21	7,2	56	14,0	15,3	1,5	2,4	2,5	
	1	7	2,0	1	93	21	6,6	62	11,6	12,4	1,2	1,8	1,9	
	7	8	24	0	87	23	6,8	61	12,1	12,3	1,2	1,8	2,7	
	21	18	10	0	87	19	5,9	58	15,5	13,1	1,3	2,1	2,7	
05	0	15	1,0	0	72	17	7,6	52	16,0	12,6	1,2	2,1	3,1	
	1	9	1,0	0	78	20	6,0	62	12,3	10,2	1,0	1,5	2,0	
	7	12	0,3	0	69	12	8,0	62	11,0	10,2	1,0	1,4	1,8	
	21	11	1,0	0	72	18	6,8	62	9,6	12,8	1,3	1,9	1,5	
06	0	13	1,7	0	67	36	5,3	61	12,3	11,0	1,1	1,7	2,0	
	1	18	0,3	0	72	38	4,9	57	12,4	12,5	1,3	2,0	2,2	
	7	12	1,0	0	70	31	4,2	70	9,4	9,0	0,9	1,2	1,3	
	21	13	2,0	0	72	45	3,6	66	9,2	9,4	0,9	1,4	1,2	
07	0	9	33	0	38	73	3,0	59	9,3	23,0	2,3	3,7	1,6	
	1	16	43	1	48	57	3,5	48	8,8	33,1	3,3	6,4	1,8	
	7	10	41	5	43	41	3,6	42	10,4	36,2	3,6	7,9	2,5	
	21	12	33	0	37	67	2,8	50	9,9	26,7	2,7	5,1	2,0	
08	0	13	4,0	1	56	37	4,4	61	12,5	15,2	1,5	2,3	2,7	
	1	33	6,0	1	73	45	5,0	53	14,5	16,6	1,7	2,9	2,7	
	7	22	44	8	51	33	6,2	42	20,6	19,6	2,0	4,1	4,9	
	21	17	14	0	76	40	6,0	44	15,4	23,0	2,3	4,6	3,5	
09	0	45	5,7	8	61	38	4,2	61	12,6	15,3	1,5	2,3	2,1	
	1	55	345	7	70	46	3,7	57	13,8	15,5	1,6	2,6	2,4	
	7	28	117	9	41	38	4,8	48	14,0	22,4	2,2	4,2	2,9	
	21	30	77	3	75	29	6,4	38	14,6	30,1	3,0	6,8	3,8	
10	0	15	17	1	50	36	4,5	56	12,8	18,7	1,9	3,1	2,3	
	1	22	20	5	72	33	4,0	53	14,5	19,0	1,9	3,3	2,7	
	7	13	9,0	0	54	22	8,0	53	13,0	15,2	1,5	2,5	2,5	
	21	15	5,0	0	68	21	6,8	53	15,5	13,7	1,4	2,3	2,9	

Tabela 2 — Características gerais do LCR em cada caso e para cada amostra (dias 0, 1, 7 e 21). Legenda: Pi, pressão inicial em cm de H<sub>2</sub>O; Cit., número de células por mm<sup>3</sup>; Eos, células eosinófilas (%) no perfil citomorfológico; Glic, glicose (mg/dl); Prot, proteínas totais (mg/dl); Para o perfil eletroforético (%) pré-albumina (PA), albumina (A), globulinas beta + tãu (b) e gama (g) e relações (g/Prot, g/PA+A, b/A).

Caso	Amostra do dia	LCR					Soro			
		RFC	RIF-G	RIF-M	ELISA-G	ELISA-M	RFC	RIF-G	RIF-M	ELISA-G
01	0	2	nr	nr	1	nr	32	40	nr	40
	1	nr	nr	nr	nr	nr	16	40	nr	160
	7	nr	nr	nr	1	nr	4	40	nr	160
	21	2	2	nr	8	nr	16	160	nr	640
02	0	4	4	nr	16	2	256	320	nr	1280
	1	4	4	nr	8	2	4	160	nr	2560
	7	4	2	nr	16	1	4	320	nr	2560
	21	4	1	nr	16	4	4	320	nr	2560
03	0	2	4	nr	4	2	nr	20	nr	80
	1	2	2	nr	nr	8	4	40	nr	80
	7	4	2	nr	nr	nr	nr	nr	nr	160
	21	nr	4	nr	4	1	nr	nr	nr	80
04	0	nr	nr	nr	2	nr	nr	nr	nr	80
	1	nr	nr	nr	8	nr	nr	nr	nr	160
	7	nr	nr	nr	8	nr	2	nr	nr	80
	21	nr	nr	nr	8	nr	2	nr	nr	80
05	0	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	40
	1	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr
	7	nr	nr	nr	nr	nr	2	nr	nr	nr
	21	nr	nr	nr	nr	nr	2	nr	nr	nr
06	0	nr	nr	nr	nr	nr	16	40	nr	40
	1	nr	nr	nr	nr	nr	8	40	nr	40
	7	nr	nr	nr	2	nr	8	40	nr	40
	21	nr	2	nr	4	2	8	40	nr	20
07	0	64	8	1	4	16	128	40	1	640
	1	64	8	1	4	16	64	80	1	640
	7	64	8	1	4	8	512	80	20	320
	21	64	32	1	32	4	128	80	20	640
08	0	2	1	nr	8	nr	nr	20	nr	160
	1	2	1	nr	8	nr	32	20	nr	160
	7	4	1	nr	8	nr	nr	20	nr	160
	21	4	1	nr	16	nr	8	20	nr	320
09	0	2	2	nr	8	1	2	80	nr	320
	1	4	2	nr	4	nr	2	80	nr	320
	7	2	4	nr	8	nr	16	80	nr	640
	21	2	4	nr	4	nr	32	160	nr	640
10	0	16	2	1	8	1	16	nr	nr	40
	1	8	4	nr	16	nr	2	nr	nr	80
	7	4	2	nr	8	nr	32	nr	nr	80
	21	nr	nr	nr	1	nr	8	nr	nr	80

Tabela 3 — Resultados das reações imunológicas para cisticercose realizadas no LCR e soro em cada caso e para cada amostra (dias 0, 1, 7 e 21). Legenda: RFC, reação de fixação do complemento; RIF, reação de imunofluorescência; ELISA, reação imunoenzimática; G, conjugado anti-IgG; M, conjugado anti-IgM; para resultados: nr, não reagente; para RFC, em unidades Kolmer; para RIF e ELISA em diluições progressivas.

soro em cada caso e para cada amostra (dias 0, 1, 7 e 21). Consta da tabela 4 a incidência dos resultados reagentes observados nas reações imunológicas realizadas no LCR e soro para o total das amostras dos dias 0, 1, 7 e 21.

Amostras	LCR					Soro			
	RFC	RIF-G	RIF-M	ELISA-G	ELISA-M	RFC	RIF-G	RIF-M	ELISA-G
0	7	6	2	8	5	6	7	1	10
1	6	6	1	6	3	8	7	1	9
7	6	6	1	8	2	8	6	1	9
21	5	7	1	9	4	9	6	1	9
40	24	25	5	31	14	31	26	4	37

Tabela 4 — Incidência dos resultados reagentes observados nas reações imunológicas para cisticercose realizadas no LCR e soro para o total das amostras dos dias 0, 1, 7 e 21.

#### COMENTÁRIOS

As alterações verificadas nas reações imunológicas para cisticercose no LCR contribuem de maneira eficaz para o conhecimento da imunobiologia da NC como já foi salientado. Essas alterações podem ser observadas ao longo da evolução de cada caso. Achados evidentes podem vir a desaparecer durante a evolução e, posteriormente, voltar a aparecer. Com o advento de novas reações imunológicas, esses achados ficam mais evidentes quanto ao seu transparecimento e também quanto às flutuações de seu comportamento 8, 9, 12, 13.

Nesta série de 10 casos, com 4 amostras de LCR e soro estudados em cada um, esses fenômenos são bem exemplificados. Assim, para o diagnóstico desses 10 casos é verificado que em dois (casos 5 e 6) no LCR-0 todas as reações eram não-reagentes, apesar de no soro haver apenas positividade da reação ELISA-G. Neles, o diagnóstico foi baseado em achados tomográficos. Nos outros 8 casos no LCR-0 uma ou mais reações eram reagentes (Tabela 3).

Com início do tratamento com o PZQ, em 8 casos (Tabelas 2 e 3) foi verificado ocorrer aumento da intensidade da síndrome no LCR na NC, comprovando o conceito da exacerbação desta síndrome já verificada e descrita anteriormente 14, 15, 16. Deve ser salientado que com a corticoterapia associada ao PZQ essa exacerbação, embora presente, apresenta-se com menor intensidade se comparada à de pacientes submetidos ao mesmo tratamento que não fizeram uso de corticóides 16, 17.

O comportamento das reações imunológicas também apresentou variações. Fenômenos de fase aguda evidenciados pelas reações ELISA-M e RIF-M apa-

receram em 6 casos no LCR (14 amostras com ELISA-M e 5 amostras com a RIF-M). No soro em apenas um caso (RIF-M), esse fenômeno foi evidenciado (caso 7). Este achado merece atenção para futuras pesquisas, pois anteriormente não havia publicações a respeito de reações anti-IgM na NC exceto pela publicação recente de Costa & col.<sup>6</sup>

Comparando-se reações RFC, RIF-G e ELISA-G, evidencia-se o comportamento diferente observado (Tabela 3): ora as três são reagentes, ora duas delas são reagentes, ora apenas uma é reagente. O aumento ou diminuição em relação a títulos observados também é frequente durante a evolução de cada caso. No entanto, apesar de haver tendência progressiva a aumento nos títulos, sobretudo na reação ELISA-G, estes não apresentaram valor significativo pois o aumento na maioria das vezes se reflete por uma só diluição. Por outro lado, a variabilidade observada no LCR comprova as flutuações dos fenômenos neuroimunológicos que ocorrem na NC.

Pela tabela 4 é possível observar a maior sensibilidade da reação ELISA-G quando comparada às reações de imunofluorescência e fixação de complemento, seja no LCR ou no soro, tanto para o número de casos como para o número de amostras estudadas. Assim, para o total de casos, no LCR ela foi reagente no LCR-0 em 8, no LCR-1 em 6, no LCR-7 em 8 e no LCR-21 em 9. Já a reação de imunofluorescência e a reação de fixação de complemento apresentaram valores significativamente menores. Para o total de amostras de LCR, a reação ELISA-G foi reagente em 31 das 40 amostras, enquanto a reação de imunofluorescência foi reagente em 25 e a reação de fixação de complemento em 24. Para o soro observou-se comportamento semelhante ao verificado no LCR, com maior sensibilidade para as reações ELISA-G seja para o exame diagnóstico, seja durante a evolução, tanto para o total de casos como para o total de amostras (Tabela 4).

Foi salientada anteriormente por diversas escolas a importância da pesquisa sistematizada de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* mediante vários tipos de reações imunológicas. Tais pesquisas devem constituir uma rotina laboratorial a ser seguida por aqueles que queiram estudar a doença não apenas sob o ponto de vista do diagnóstico e do acompanhamento evolutivo mas sobretudo, do ponto de vista dos fenômenos neuroimunológicos observados na neurocisticercose.

#### RESUMO

Foram estudadas amostras de LCR e soro de 10 pacientes com neurocisticercose submetidos a tratamento com praziquantel visando a comparação de reações imunológicas. As reações estudadas foram ELISA-G, ELISA-M, imunofluorescência-G, imunofluorescência-M e fixação do complemento. As alterações e a variabilidade verificadas nesta série comprovam a natureza dos fenômenos neuroimunológicos descritos na afecção. Fenômenos da fase aguda foram verificados pelas reações ELISA-M e RIF-M em 6 casos pelo estudo do LCR e em apenas um caso pelo estudo do soro. Maior sensibilidade tanto para o

diagnóstico como para o acompanhamento evolutivo foi observado para a reação ELISA-G quando comparada às demais reações imunológicas, tanto no LCR como no soro. É salientada a importância da realização sistematizada das várias reações imunológicas em pacientes com neurocisticercose.

#### SUMMARY

*ELISA (IgG and IgM) in CSF and serum in neurocysticercosis under praziquantel treatment: comparison with complement fixation and immunofluorescent tests.*

Cerebrospinal fluid (CSF) and serum samples of 10 patients with neurocysticercosis under treatment by praziquantel were studied in four occasions: before treatment (day 0) and during treatment on three occasions (days 1, 7 and 21). The immunological reactions analyzed were: ELISA-G and ELISA-M; immunofluorescence-G and immunofluorescence-M; complement fixation. The changes and the variability of results observed through these reactions in this study bring new data that confirm neuroimmunological findings already described in the disease. Acute phase response was found in CSF in 6 cases and only in one case in serum by ELISA-M and immunofluorescence-M. ELISA-G in CSF and serum showed a better sensitivity than the other reactions for diagnosis and for follow-up. Emphasis is given to the importance of the simultaneous realization of several immunological reactions in CSF and serum in patients with neurocysticercosis.

#### REFERÊNCIAS

1. ARAMBULO, P.V. III.; WALLS, K.W.; BULLOCK, S. & KAGAN, I.G. — Serodiagnosis of human cysticercosis by microplate enzyme-linked immunospecific assay (ELISA). *Acta. trop. (Basel)* 35:63, 1978.
2. BASSI, G.E.; CAMARGO, M.E.; BITTENCOURT, J.M.T.; SANTIAGO, M.F. & CERQUEIRA, F.E.C. — Comparação entre as reações de fixação do complemento e imunofluorescência em líquidos cefalorraqueanos. *Neurobiol. (Recife)* 42:231, 1979.
3. BIAGI, F.F. & TAY, J.A. — A precipitation reaction for the diagnostic of cysticercosis. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 7:63, 1958.
4. COSTA, J.M. — Teste imunoenzimático (ELISA) no diagnóstico da neurocisticercose. Tese. Fac. Med. Univ. São Paulo, São Paulo, 1983.
5. COSTA, J.M.; FERREIRA, A.W.; MAKINO, M.M. & CAMARGO, M.E. — Spinal fluid immunoenzymatic assay (ELISA) for neurocysticercosis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 24:337, 1982.
6. COSTA, J.M.; MINEO, R.; LIVRAMENTO, J.A. & CAMARGO, M.E. — Detecção pelo teste imunoenzimático ELISA de anticorpos IgM anti-Cysticercus cellulosae no líquido cefalorraqueano na neurocisticercose. *Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo)* 43:22, 1985.
7. LANGE, O. — Síndrome líquórica da cisticercose encefalo-meningea. *Rev. Neurol. Psiquiat. São Paulo* 6:35, 1940.
8. LIVRAMENTO, J.A. — Contribuição de reações de imunofluorescência no líquido cefalorraqueano ao estudo da neurocisticercose. *Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo)* 39:261, 1981.
9. LIVRAMENTO, J.A. & SPINA-FRANÇA, A. — Síndrome do líquido cefalorraqueano na neurocisticercose. *Arq. bras. Neurocirurg.* 1:59, 1982.

10. MACHADO, A.J.; CAMARGO, M.E. & HOSHINO, S. — Reação de imunofluorescência para a cisticercose com partículas de *Cysticercus cellulosae* fixadas a lâminas de microscopia. *Rev. Soc. bras. Med. trop.* 7:181, 1973.
11. NIETO, D. — Cysticercosis of the nervous system: diagnosis by means of the spinal fluid complement fixation test. *Neurology* 6:725, 1956.
12. SPINA-FRANÇA, A. & LIVRAMENTO, J.A. — Cerebrospinal fluid immunobiology in neurocysticercosis. *Eur. Rev. med. pharmac. Sci.* 4:385, 1982.
13. SPINA-FRANÇA, A. & KLEINE, T.O. — Clinical validity of IgG, IgM, IgA and agarose gel electroforesis of proteins in CSF in diagnosing neurocysticercosis. In E. Levy (ed.): *Advances in Pathology*. Pergamon Press, Oxford, 1:519, 1982.
14. SPINA-FRANÇA, A. & NÓBREGA, J.P.S. — Neurocisticercose e praziquantel. *Rev. paul. Med.* 95:34, 1980.
15. SPINA-FRANÇA, A. & NÓBREGA, J.P.S. — Neurocisticercose e praziquantel: II — Avaliação dos resultados em 20 pacientes. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 39:279, 1981.
16. SPINA-FRANÇA, A.; NÓBREGA, J.P.S.; LIVRAMENTO, J.A. & MACHADO, L.R. — Administration of praziquantel in neurocysticercosis. *Tropenmed. Parasit.* 33:1, 1982.
17. SPINA-FRANÇA, A.; NÓBREGA, J.P.S.; LIVRAMENTO, J.A. & MACHADO, L.R. — Neurocisticercose e praziquantel: avaliação dos resultados em 60 pacientes. *J. bras. Med.* 45 (supl.):85, 1983.
18. TRELLES, J.O. & TRELLES, L. — Cysticercosis of the central nervous system. In P.J. Vinken & G.W. Bruyn (eds.): *Handbook of Clinical Neurology*. North Holland. Publ. Co., Amsterdam, 35:291, 1979.

*Centro de Investigações em Neurologia - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo — Caixa Postal 5199 - 01000 - São Paulo, SP - Brasil.*