

# 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 Janeiro<sup>9</sup>. 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 Lipscomb<sup>2</sup>, Dixon e Hargreaves<sup>1</sup> e Powell e cols<sup>11</sup>.

No diagnóstico da cisticercose tem-se empregado as reações de fixação do complemento<sup>1</sup>, precipitação, hemaglutinação passiva e gel-difusão<sup>12</sup>, 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-França<sup>15</sup>, e reações cruzadas ocorrem com a hidatidose e a cenurose nervosa, segundo Proctor, Powell e Elsdon-Dew<sup>12</sup>.

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 Folin<sup>5</sup>, 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.

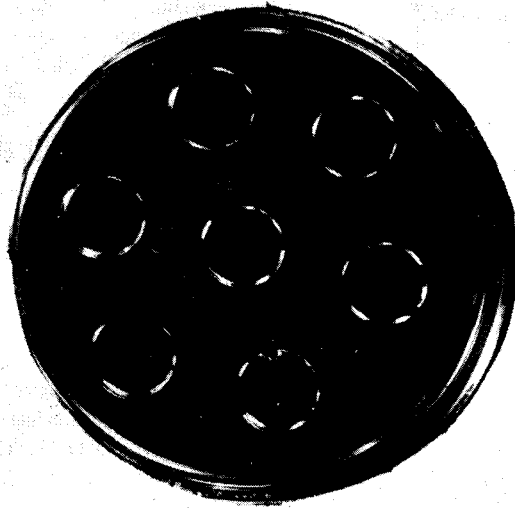


Fig. 1 – Gel-difusão do extrato de *Cysticercus cellulosae* contra anti-soro obtido em coelho, observando-se cinco faixas de precipitação.

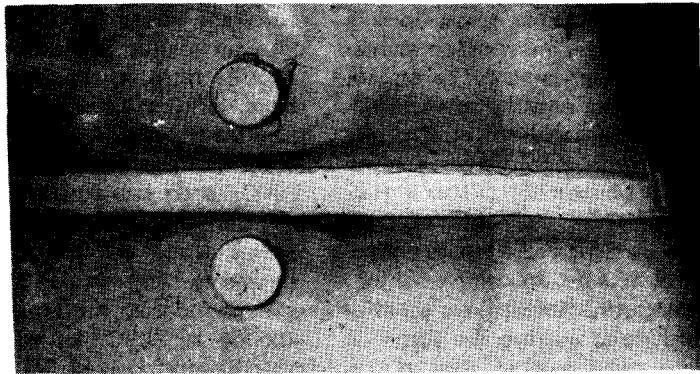


Fig. 2 – Imunoeletroforese do extrato de *C. cellulosae*, em que se podem ver nove arcos de precipitação.

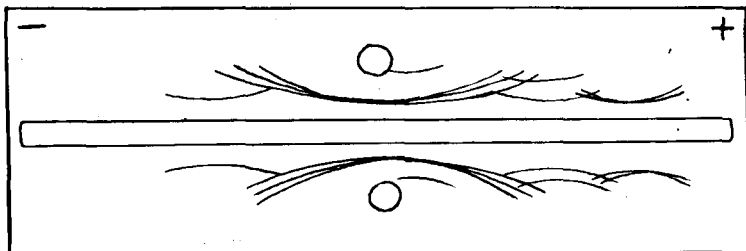


Fig. 3 – Esquema dos achados de imunoeletroforese ilustrados na Figura 2.

teor de carboidratos foi estimado pela técnica de Molisch, como descrita por Kabat<sup>3</sup>. 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 Ouchterlony<sup>8</sup> e a imunoeletroforese de acordo com Scheidegger<sup>13</sup>. 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 Soulsby<sup>14</sup> 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 cruzada<sup>12</sup>.

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.<sup>6</sup> 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 Infecciosas e Parasitárias*, 5ª ed. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1972.