

Artigo original

Avaliação do desempenho de dois kits de ensaio imunoenzimático (ELISA) para o diagnóstico de cisticercose

Evaluation of the performance of two enzyme immunoassay (ELISA) kits for the cysticercosis diagnosis

Edna Malona de Souza^{ID}, Cyro Alves de Brito^{ID}, Elaine Lopes de Oliveira^{ID}
Raquel dos Anjos Fazioli^{ID}, Márcia Jorge Castejon^{ID}

Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças,
Instituto Adolfo Lutz, Centro de Imunologia, São Paulo, São Paulo, Brasil

Autor para correspondência

Márcia Jorge Castejon

E-mail: marcia.castejon@ial.sp.gov.br

Instituição: Instituto Adolfo Lutz (IAL)

Endereço: Av. Dr. Arnaldo, 351, 10º andar, CEP: 01246-000. São Paulo, São Paulo, Brasil

Como citar

Souza EM, Brito CA, Oliveira EL, Fazioli RA, Castejon MJ. Avaliação do desempenho de dois kits de ensaio imunoenzimático (ELISA) para o diagnóstico de cisticercose. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 2025; 22: e41580. DOI: <https://doi.org/10.57148/bepa.2025.v22.41580>

Primeira submissão: 08/05/2025 • Aceito para publicação: 23/08/2025 • Publicação: 10/09/2025

Editora-chefe: Regiane Cardoso de Paula

Resumo

Introdução: Este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho de dois kits comerciais imunoenzimáticos ELISA – Ridascreeen (RD) e NovaLisa (NL) – para a detecção de anticorpos anti-cisticercos de *T. solium*, em comparação com o diagnóstico sorológico de cisticercose *in-house* por imunofluorescência indireta (IFI) e hemaglutinação indireta (HAI).

Material e métodos: Um conjunto de amostras composto por soro (n = 12) e líquido cefalorraquidiano (LCR) (n = 28), com reatividade concordante nos ensaios de IFI e HAI para anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae*, foi avaliado nos testes de ELISA RD e NL.

Resultado: Nas amostras de soro, os ensaios IFI-HAI e RD, e IFI-HAI e NL apresentaram, como resultado do teste de concordância *kappa*, 54,5% e 75%, e nas amostras de LCR, 89,3% e 100%, respectivamente. Os melhores resultados foram observados em amostras de LCR, embora ambos os testes de ELISA tenham sido recomendados para soro.

Conclusão: Obstáculos como disponibilidade e dados divergentes quanto à avaliação da precisão dos ensaios imunológicos impedem que o diagnóstico laboratorial garanta resultados mais confiáveis.

Palavras-chave: neurocisticercose, *Taenia solium*, anticorpos, imunodiagnóstico, soro, líquido cefalorraquidiano.

Abstract

Introduction: This study aimed to evaluate the performance of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits – Ridascreeen (RD) and NovaLisa (NL) – for the detection of antibodies for *Taenia solium* cysticercosis, compared to in-house serological diagnosis of cysticercosis by indirect immunofluorescence (IFA) and indirect hemagglutination (IHA). **Material and methods:** A set of samples composed of serum (n = 12) and cerebrospinal fluid (CSF) (n = 28), with concordant reactivity in the IFA and IHA assays for anti-*Cysticercus cellulosae* antibodies was evaluated in the RD and NL ELISA tests. **Result:** For serum samples, the *kappa* agreement indices between IFA-IHA and RD, and IFA-IHA and NL assays were 54.5% and 75%, and for CSF samples, 89.3% and 100%, respectively. The best results were observed for CSF samples, although both ELISA tests have been recommended for serum. **Conclusion:** Obstacles such as availability and divergent data regarding the assessment of the accuracy of immunological assays make laboratory diagnosis not so efficient to ensure more reliable results.

Key words: neurocysticercosis, *Taenia solium*, antibody, immunodiagnosis, serum, cerebrospinal fluid.

Introdução

O complexo teníase/cisticercose em humanos é constituído por duas entidades distintas, causadas pela mesma espécie de cestódeo em fases diferentes de seu ciclo de vida. Teníase refere-se à infecção intestinal com têniás adultas; as larvas resultantes formam cistos nos músculos, pele, olhos ou sistema nervoso central (SNC), causando a cisticercose.^{1,2}

As manifestações clínicas da cisticercose humana dependem da localização e do tipo morfológico do parasita, do número de larvas que infectaram o indivíduo, da fase de desenvolvimento dos cisticercos e da resposta imunológica do hospedeiro. Quando o *Cysticercus cellulosae*, forma larval da *Taenia solium* (*T. solium*), se aloja no SNC, apresenta-se a forma mais grave da doença, a neurocisticercose (NCC).^{1,3-5}

Ao que tudo indica, a ocorrência da NCC humana é conhecida desde 1588. No Brasil, parece ter sido observada pela primeira vez por volta de 1900.⁶ Essa doença é um importante problema de saúde pública em locais nos quais a *T. solium* é prevalente. Afeta predominantemente populações em áreas rurais, especialmente onde suínos circulam livremente e o saneamento básico e as condições sanitárias são precários.^{2,7}

O diagnóstico de NCC é baseado principalmente em critérios clínicos e nos resultados de técnicas de neuroimagem, como a tomografia computadorizada e a ressonância magnética. No entanto, em alguns casos, essas técnicas podem não fornecer um diagnóstico definitivo em função de imagens pouco definidas ou atípicas. Não é um diagnóstico fácil, principalmente pelo pleomorfismo das manifestações clínicas e pela heterogeneidade dos achados imunológicos e radiológicos entre os casos.⁸⁻¹²

Os testes imunológicos, além de serem ferramentas acessíveis e de baixo custo, são considerados métodos importantes no diagnóstico de NCC para se confirmarem achados clínicos, facilitar o diagnóstico, fornecer informações sobre parasitas no caso de imagens pouco nítidas, e para que se conduzam pesquisas em áreas endêmicas onde as técnicas de imagem não estão prontamente disponíveis ou acessíveis.^{9,13,14} Todavia, na fase inicial da doença, deve-se levar em conta que os anticorpos aparecem somente algumas semanas após a infecção, mas permanecem no soro por até 10 anos.¹⁵

Diversas técnicas sorológicas foram desenvolvidas para a detecção de anticorpos contra cisticercos. A reação de fixação de complemento, descrita por Weinberg em 1909,¹⁶ foi uma das primeiras provas utilizadas para demonstrar a presença de anticorpos no soro. Em 1911, foi detectada a presença de anticorpos no LCR de pacientes com cisticercose.¹⁷ A partir de 1935, essa técnica passou a ser realizada rotineiramente com LCR para o diagnóstico de NCC.¹⁸ Posteriormente, a sensibilidade desse teste foi considerada limitada (48%).¹⁹ Anos mais tarde, o foco estava no desenvolvimento de ensaios para detecção

indireta de anticorpos, que incluíam as reações de imunofluorescência indireta (IFI) e de hemaglutinação indireta (HAI).

Levando-se em consideração a vantagem do efeito multiplicador do sistema de produção de anticorpos do hospedeiro, as reações de IFI e HAI foram padronizadas para o diagnóstico da NCC. Em seguida, o ensaio imunoenzimático ELISA (do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*) foi utilizado por vários profissionais com bons resultados, ainda que reações cruzadas com outras infecções por cestóides e helmintos fossem frequentes. Porém, quando comparado às técnicas de IFI ou HAI, pode apresentar melhor desempenho diagnóstico.^{20,21}

Atualmente, o ELISA é o método mais empregado para o diagnóstico de cisticercose em amostras de soro e LCR. Muitos autores têm relatado que a detecção de anticorpos (IgG) no soro identifica aproximadamente 70% dos pacientes com NCC. Estima-se que a especificidade desse método para identificação de infecção ativa seja em torno de 30%, principalmente em função da persistência de anticorpos por meses ou até anos após a resolução da infecção. Em função de resultados falso-positivos em indivíduos com outras infecções, a especificidade do ELISA em amostras de LCR é maior do que no soro, especialmente nos casos malignos de pacientes com NCC.^{8,22-25}

Há mais de 40 anos, o Centro de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz (CIM-IAL) iniciou o diagnóstico sorológico de cisticercose humana com a padronização das técnicas *in-house* de HAI e IFI,^{19,26} ambas desenvolvidas para a pesquisa de anticorpos em amostras de LCR e soro de indivíduos com suspeita dessa doença. Atualmente, o IAL é um dos poucos Laboratórios de Saúde Pública no Brasil a serviço do Sistema Único de Saúde (SUS) que ainda realiza esse diagnóstico.

Este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho de dois ensaios imunoenzimáticos ELISA comerciais para detecção de anticorpos anti-cisticercos de *T. solium*, comparando-o aos resultados dos ensaios *in-house* de imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta usados no diagnóstico sorológico de cisticercose. As amostras são provenientes de um painel de soro e de LCR com reatividades conhecidas para esses anticorpos. Ademais, foi avaliada a aplicabilidade das amostras de LCR nos kits de reagentes diagnósticos de ELISA padronizados exclusivamente para uso em soro.

Material e métodos

Para o desenvolvimento deste trabalho, o projeto de pesquisa "Avaliação do desempenho de ensaios imunoenzimáticos (ELISA) para o diagnóstico de cisticercose no Instituto Adolfo Lutz" foi avaliado no Conselho Técnico e Científico do Instituto Adolfo Lutz

(CTC – IAL 44-P/2023) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa dessa instituição (CEPIAL – CAAE 78131924.0.0000.0059/2025).

Amostras biológicas

No período de 2016 a 2021, em razão da indisponibilidade de um painel de desempenho comercial para avaliação de kits de reagentes para detecção de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae*, o Laboratório de Cisticercose do CIM-IAL selecionou e armazenou a -20°C, de acordo com o volume e estado de conservação, um conjunto composto por 40 amostras, sendo 12 soros e 28 LCRs, com reatividades conhecidas e concordantes nos ensaios de HAI e IFI. Trata-se de amostras provenientes da rotina diagnóstica que, antes do armazenamento, foram codificadas por numeração (anonimizadas), sendo que a única informação presente é referente à reatividade dos anticorpos, reagente e não reagente nos ensaios de HAI e IFI. Em vista disso, a confidencialidade e a privacidade das informações dos pacientes foram preservadas.

Imunoensaios

Foram utilizadas as técnicas *in-house* de HAI e IFI,^{19,26} as quais empregam antígenos do *Cysticercus celulosae*, provenientes de vísceras e músculos de suínos portadores, para a detecção de anticorpos em amostras de soro e LCR.

• Imunofluorescência indireta *in-house*

Uma suspensão do antígeno (cisticercos) foi utilizada como revestimento das lâminas para detecção de anticorpos em amostras de soro e LCR. Inicialmente, as amostras de soro foram diluídas em solução salina tamponada com fosfato (PBS). Em seguida, os soros diluídos e as amostras de LCR puro foram aplicados sobre o antígeno fixado na lâmina. Realizaram-se diluições adicionais das amostras reagentes. Após as etapas de incubação e lavagem, as amostras foram analisadas em microscópio de fluorescência com aumento de 400 vezes.

A amostra reagente para anticorpos IgG anti-cisticercos, que deve apresentar fluorescência na cor “verde maçã brilhante” em toda a membrana do parasita, foi considerada a partir da diluição 1:80 no soro e, no LCR, a partir do estado puro.

• Hemaglutinação Indireta *in-house*

De acordo com o protocolo do laboratório, hemácias extraídas de ganso foram utilizadas como suporte ao antígeno do *Cysticercus celulosae*. Na placa de poliestireno, as hemácias sensibilizadas foram adicionadas ao soro e LCR diluídos. O resultado não reagente foi caracterizado pela formação de um botão compacto sem sedimentação

granular, ao passo que a presença de agregados visíveis, que formaram um tapete no fundo da placa, caracterizou o resultado reagente para o soro a partir da diluição 1:80 e para as amostras de LCR a partir da diluição 1:2.

● Ensaio Imunoenzimático ELISA

Nesta avaliação, dois ensaios imunoenzimáticos do tipo ELISA foram utilizados em razão de sua disponibilidade no Laboratório de Cisticercose do CIM-IAL – o NovaLisa *Taenia solium* IgG [NovaTec Immunodiagnostica GmbH, Dietzenbach, Alemanha] (NL) e o Ridascreen *Taenia solium* IgG [R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemanha] (RD). Os procedimentos dos ensaios de análise das amostras foram seguidos de acordo com os manuais de instruções dos respectivos kits, sendo os resultados dos testes classificados como reagente, não reagente ou indeterminado (valores em torno do *cut off*).

Ambos os kits são recomendados para detecção qualitativa de anticorpos da classe IgG em amostras de soro, preparados com抗ígenos da *Taenia solium* e com o conjugado composto pela enzima peroxidase de rábano (HRP). Há variações entre os seus procedimentos, como o tempo de incubação, a diluição dos reagentes, a diluição das amostras e o cálculo do *cut off* (ponto de corte).

Resumidamente, durante a avaliação das amostras no kit NL, os soros foram diluídos 1:100 em tampão de diluição da amostra e, logo após, foram dispensados 100 µL nas respectivas cavidades das tiras de microtitulação pré-revestidas com抗ígenos de *T. solium*; houve então lavagem e adição de conjugado enzimático (proteína A conjugada com peroxidase). Adicionou-se o substrato tetrametilbenzidina (TMB) para a visualização de imunocomplexos, quando presentes. A reação foi interrompida pela adição de ácido sulfúrico e foi realizada a leitura das absorbâncias a 450/620 nm. O resultado de cada amostra foi calculado como o valor de absorbância (DO) da amostra multiplicado por 10 e dividido pelo valor médio de absorbância do controle de corte (*cut off*), e expresso em unidades NovaTec (NTU), conforme orientações do fabricante. Os parâmetros de interpretação dos resultados são não reagente (<9), reagente (>11) e indeterminado (de 9 a 11, zona cinza).

No kit RD, os soros foram diluídos na razão 1:50 em tampão de amostras. O procedimento assemelha-se ao descrito para o kit NL. A avaliação dos resultados foi por meio do valor do índice de reatividade – dividiu-se o valor de DO da amostra pelo valor do *cut off* (resultado da média das DO dos controles negativos mais o fator de correção de 0,150). A interpretação seguiu os seguintes parâmetros: não reagente (<0,9), reagente (>1,1) e indeterminado (de 0,9 a 1,1).

Para a definição da melhor diluição do LCR no kit RD, algumas amostras foram previamente avaliadas na diluição 1:50, conforme preconizado pelo fabricante em amostras

de soro. Visto que para esta matriz a diluição não foi adequada, o próximo passo foi a avaliação do LCR na diluição 1:2 e, quando necessário, empregou-se a amostra pura em ambos os ELISA. O índice de reatividade foi estabelecido pela divisão dos valores da DO de cada amostra pelo valor do *cut off* da reação – calculado pela média de amostras negativas para anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* somada a três desvios padrão.

Os resultados das amostras de LCR e de soro deste estudo, já estabelecidos como reagentes ou não reagentes nos ensaios de IFI e HAI (IFI-HAI) e considerados como referência em nosso laboratório, foram comparados aos dos ELISA. Em razão de essas amostras não conterem informações clínicas dos pacientes e tampouco dos exames de imagens, foram aplicados os cálculos de co-positividade (sensibilidade relativa) e de co-negatividade (especificidade relativa) entre os ensaios, cujos resultados foram expressos em porcentagem (%).

Os níveis de concordância entre os resultados de IFI-HAI/RD e IFI-HAI/NL foram interpretados por meio do índice *kappa* (*K*), conforme proposto por Altman (1999)^{27,28} e adaptado de Landis e Koch (1977). O valor *K*<0,2 representa concordância ruim; de 0,21 a 0,4, regular; de 0,41 a 0,6, moderada; de 0,61 a 0,8, boa; e de 0,81 a 1,00, muito boa.

Resultado

Das 40 amostras avaliadas, 70% (28) foram de LCR e 30% (12) de soro. Das amostras de LCR, 16/28 (57,1%) e das de soro 5/12 (41,7%) foram classificadas como positivas nos ensaios de IFI-HAI. Nas Figuras 1 e 2 estão apresentados os resultados das amostras de LCR e soro, respectivamente, para os ensaios de IFI-HAI e ELISA dos kits RD e NL. Das 28 amostras de LCR, 100% foram analisadas no RD, enquanto no NL, apenas 60,7% (17/28), sendo nove amostras reagentes e oito não reagentes nos ensaios IFI-HAI.

Figura 1. Resultados das amostras de LCR nos ensaios para anticorpos anti-cisticercos de *T. solium*

Amostra de LCR	Imunoensaio		
	IFI-HAI	RD	NL
419	Reagente	Indeterminado	Não avaliado
719	Reagente	Reagente	Reagente
821	Não reagente	Não reagente	Não reagente
1.521	Não reagente	Não reagente	Não reagente
1.621	Reagente	Reagente	Reagente
2.520	Reagente	Reagente	Reagente
4.419	Reagente	Reagente	Não avaliado
4.720	Reagente	Reagente	Reagente
5.021	Reagente	Reagente	Reagente
5.121	Reagente	Reagente	Não avaliado
6.420	Não reagente	Não reagente	Não reagente
6.720	Reagente	Reagente	Reagente
7.220	Reagente	Reagente	Reagente
7.619	Reagente	Reagente	Reagente
7.818	Reagente	Não reagente	Não avaliado
8.317	Reagente	Reagente	Reagente
8.521	Não reagente	Não reagente	Não avaliado
8.621	Não reagente	Reagente	Não reagente
8.821	Não reagente	Não reagente	Não reagente
8.921	Não reagente	Não reagente	Não reagente
9.021	Não reagente	Não reagente	Não reagente
9.121	Não reagente	Não reagente	Não avaliado
9.318	Reagente	Reagente	Não avaliado
9.518	Reagente	Reagente	Não avaliado
9.521	Não reagente	Não reagente	Não avaliado
10.021	Não reagente	Não reagente	Não avaliado
10.918	Não reagente	Não reagente	Não reagente
11.018	Reagente	Reagente	Não avaliado
Pool NR	Não reagente	Não reagente	Não reagente

Fonte: elaborada pelo autor.

LCR: líquido cefalorraquidiano; IFI-HAI: ensaios de imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta; RD: kit Ridascreen; NL: kit NovaLisa; Pool NR: amostras de LCR com resultado negativo para anticorpos anti-cisticercos.

Na avaliação do LCR pelos kits imunoenzimáticos RD e NL, por ser o LCR uma matriz diferente do soro, os índices de reatividade foram calculados utilizando-se o *cut off* específico para esse tipo de amostra. Por haver amostras de soro na mesma placa de reação, foi também calculado o *cut off* com os controles dos kits e, paralelamente, os índices dos LCRs foram estimados em ambos. Não houve discrepância nos resultados dos índices, ou seja, as reatividades – positiva e negativa – foram mantidas.

Conforme a Figura 2, as 12 amostras de soro foram analisadas no ELISA NL, e 11 destas no ELISA RD.

Figura 2. Resultados das amostras de soro para anticorpos anti-cisticercos de *T. solium* nos diferentes imunoensaios

Amostra de Soro	Imunoensaio		
	IFI-HAI	RD	NL
819	Reagente	Não reagente	Indeterminado
1.021	Não reagente	Reagente	Não reagente
2.519	Reagente	Reagente	Indeterminado
2.616	Não reagente	Não reagente	Não reagente
2.621	Não reagente	Indeterminado	Não reagente
2.719	Reagente	Reagente	Não reagente
3.219	Reagente	Não reagente	Reagente
5.120	Reagente	Não reagente	Reagente
8.021	Não reagente	Não reagente	Não reagente
9.321	Não reagente	Reagente	Não reagente
9.821	Não reagente	Reagente	Não reagente
10.321	Não reagente	Reagente	Não reagente

Fonte: elaborada pelo autor.

IFI-HAI: ensaios de imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta; RD: kit Ridascreen; NL: kit NovaLisa.

De acordo com a Figura 2, dos cinco soros com resultados reagentes (IFI-HAI) para esses anticorpos, quatro amostras foram positivas no RD e apenas duas no NL. A amostra 819 apresentou índice de reatividade próximo ao limite superior da faixa preconizada para resultados indeterminados (0,9 – 1,1) do kit RD e, quando reavaliada, manteve perfil semelhante. Para o kit NL essa amostra foi não reagente. As sete amostras de soro não reagentes nos ensaios de IFI/HAI, identificadas como 1.021, 2.616, 2.621, 8.021, 9.321, 9.821 e 10.321, apresentaram-se no NL como não reagentes (7/7), ou seja, houve concordância de 100%. No kit RD, dessas sete amostras de soro não reagentes, não foi possível avaliar a 2.621 devido a volume insuficiente; no entanto, nas demais seis, apenas os resultados de duas (2/6) foram concordantes (33,3%) com os ensaios de IFI/HAI.

No [Quadro 1](#) estão apresentados os valores de co-positividade, co-negatividade e a interpretação do grau de concordância pelo índice *K* em amostras de soro e LCR entre os imunoensaios – IFI-HAI versus RD e IFI-HAI versus NL.

Quadro 1. Índice de concordância, co-positividade e co-negatividade entre os imunoensaios

Teste sorológico	IFI-HAI/ELISA RD		IFI-HAI/ELISA NL	
Concordância (porcentagem)	54,50%	89,3%	75%	100%
Índice (K)	0,191	0,789	0,486	1,000
Erro padrão	0,267	0,115	0,257	0,000
IC 95%	(-0,332-0,715)	(0,564-1,015)	(-0,018-0,990)	(1,000-1,000)
Concordância observada	0,55	0,89	0,75	1,00
Concordância esperada	0,44	0,49	0,51	0,50
Grau de concordância	Ruim	Bom	Moderado	Muito bom
Co-positividade (porcentagem)	80%	87,5%	40%	100%
Co-negatividade (porcentagem)	33,3%	91,7%	100%	100%
Amostra (n)	Soro (11)	LCR (28)	Soro (12)	LCR (17)

Fonte: elaborado pelo autor.

K: kappa; IC: intervalo de concordância; n: número de amostras; IFI-HAI: ensaios de imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta; LCR: líquido cefalorraquidiano; RD: kit Ridascreen; NL: kit NovaLisa.

Conforme o Quadro 1, os melhores resultados foram observados nas amostras de LCR, embora os kits RD e NL sejam recomendados para soros.

Discussão

Com o aprimoramento do controle sanitário dos animais ao longo dos anos, há maior dificuldade na extração de cisticercos a partir de suínos infectados, impossibilitando a obtenção de抗ígenos para a sensibilização de placas e lâminas utilizadas nos ensaios de HAI e IFI, respectivamente. Logo, torna-se evidente a necessidade de o Laboratório de Cisticercose do CIM-IAL buscar outras metodologias de detecção de anticorpos e conhecer seu desempenho frente às amostras avaliadas em nossa instituição. O melhor cenário seria aquele em que houvesse disponibilidade em nosso laboratório de imunoensaios baseados em抗ígenos recombinantes, os quais forneceriam alternativas ao diagnóstico da cisticercose humana e poderiam melhorar a reproduzibilidade do teste.[21,29,30](#)

O diagnóstico da NCC é baseado em critérios clínicos, epidemiológicos, técnicas de neuroimagem e testes laboratoriais. A sorologia tem papel na triagem e na confirmação de resultados e, sempre que possível, deve ser utilizada em conjunto com os exames de imagem. No entanto, deve-se levar em consideração que há evidências limitadas quanto à sensibilidade e à especificidade dos testes de detecção de anticorpos, principalmente em amostras de soro, nas quais reações cruzadas podem ocorrer com outras infecções por cestóides.^{3,29} Como observado neste estudo, o nível de concordância foi melhor entre os ensaios em amostras de LCR quando comparadas ao soro, para ambos os kits de ELISA, sobretudo com a presença de resultados falso-reagentes, que demonstram a baixa especificidade do ensaio. No estudo de Pialarissi *et al* (1987),¹⁹ a sensibilidade e a especificidade estimadas para os ensaios de IFI e HAI em amostras de LCR foram de 87,2% e 88,8%, e de 98,9% e 96,8%, respectivamente. Ressaltamos que essas técnicas padronizadas *in-house*, na época,^{19,26} foram as mesmas utilizadas no Laboratório de Cisticercose do CIM-IAL.

Na comparação pareada (IFI-HAI/ELISA), os valores de concordância *kappa* para as amostras de soro foram de 75% no teste NL e 54,5% no RD, que não são considerados satisfatórios. Os resultados não reagentes do kit NL ($n = 9$) excederam os de IFI-HAI ($n = 7$); em contrapartida, o número de amostras positivas do RD superou ($n = 8$) o encontrado nos ensaios de IFI-HAI ($n = 5$). Quanto ao LCR, as porcentagens de concordância dos resultados (IFI-HAI/ELISA) foram de 89,3% no teste RD e de 100% no NL. Ainda que o ELISA para detecção de anticorpos (IgG) contra antígenos da *T. solium* seja considerado de bom desempenho e mais prático na rotina laboratorial, nossos resultados, apesar da limitação no número de amostras analisadas, demonstram que a identificação de anticorpos séricos pode ter pouco valor diagnóstico. Geralmente, a sensibilidade dos testes imunológicos para casos de NCC em humanos é mais baixa em amostras de soro do que nas de LCR. No entanto, em áreas remotas a coleta do LCR não é um procedimento rotineiro.³⁰

Muito tem sido feito para melhorar o desempenho analítico dos testes diagnósticos de cisticercose. A diversidade de testes disponíveis no mercado e os diferentes cenários nos quais se realiza o diagnóstico, principalmente envolvendo grupos heterogêneos de pacientes em que a presença de anticorpos para outras infecções parasitárias podem reconhecer os antígenos do cisticerco, contribuem para resultados falso-reagentes. Um dos problemas mais comuns é a perda de especificidade devido às reações sorológicas cruzadas.³⁰⁻³² Por outro lado, investigadores relatam a baixa sensibilidade de detecção dos testes imunológicos, independentemente do antígeno empregado pelo fabricante, em razão da menor concentração de anticorpos durante a fase de calcificação do parasita e do número e tipo de lesões encontradas no indivíduo.^{9,20,33,34}

Se considerarmos a concordância quase perfeita entre os ensaios de IFI e HAI, identificados em nosso laboratório por Togoro *et al* (2011),³⁵ com a classificação do índice

kappa de 87,2% para o soro e 85,9% para o LCR, a co-positividade em torno de 86% e a co-negatividade maior que 98%, provavelmente os resultados desta avaliação são os verdadeiramente reagentes e não reagentes para cisticercose, uma vez que as amostras avaliadas eram 100% concordantes nesses ensaios (IFI-HAI).

No que concerne aos ensaios imunoenzimáticos RD e NL, apesar das altas taxas de sensibilidade e especificidade relatadas nos insertos dos kits, esses dados não foram adequados para o estabelecimento do desempenho clínico do teste.³⁶ Na avaliação de Garcia *et al* (2018),¹⁰ que empregaram os kits RD e NL, a sensibilidade estimada para detectar anticorpos no soro de pacientes com NCC viável foi de 22,2% e 44,4%, e a especificidade estimada (indivíduos sem a doença) foi de 52,2% e 71,1%, respectivamente. Em contrapartida, Carod *et al* (2012)³⁶ observaram melhor sensibilidade (71,4%) do RD e maior especificidade (95,6%) do NL. No teste RD é notável a baixa especificidade, que pode estar intimamente relacionada à sua maior sensibilidade e, portanto, levar a resultados falso-reagentes. Em nossos resultados, verificamos a sensibilidade relativa de 80% do RD e a especificidade relativa de 100% do NL.

Vale destacar que, embora não fosse objetivo deste trabalho, foi aplicado o teste de concordância *kappa* entre os testes RD e NL nas amostras de soro ($n = 11$) e nas de LCR ($n = 17$), que apresentaram valores de 18,2% e 94,1%, respectivamente. Os resultados demonstram a grande discrepância entre os testes de ELISA nas amostras de soro.

Deve-se notar que há algumas limitações neste estudo, como o número e volume das amostras de soro e LCR avaliadas e a disponibilidade dos testes imunoenzimáticos. Por serem amostras remanescentes da rotina diagnóstica, o volume recebido é variável e, em algumas vezes, insuficiente para todos os ensaios. Os ensaios de IFI e HAI para cisticercose são frequentemente utilizados como diagnóstico diferencial para outras doenças neurológicas; sendo assim, a positividade é baixa. Portanto, foram selecionadas amostras que produziram resultados nos dois ensaios (IFI e HAI), de modo a possibilitar uma avaliação mais robusta quando comparados aos do ELISA. É importante ressaltar que, por se tratar de um procedimento de coleta mais invasivo, as amostras de LCR encaminhadas ao IAL são de baixo volume e, muitas vezes, são compartilhadas com outros laboratórios para diagnóstico concomitante de outras patologias. Adicionalmente, foram necessárias várias diluições das amostras de LCR para a padronização do ELISA (ensaio preconizado somente para soro), havendo maior consumo dessas. Além disso, essas amostras não foram recebidas pareadas com amostras de soro.

É primordial para o refinamento dos valores encontrados nas pesquisas que um número maior de amostras seja analisado, especialmente de pacientes com NCC em diferentes estágios – cisto viável imaturo ou maduro, cisto degenerado e cisto calcificado –, já que a resposta humoral está diretamente relacionada ao estágio e ao

número de cistos.³⁶ Também é necessária a diversificação do grupo controle, que deve incluir indivíduos sadios e com comorbidades diferentes. Outra restrição foi a falta de dados, que impossibilitou estimar a sensibilidade e a especificidade diagnóstica dos ensaios RD e NL de nossas amostras.

Pesquisas têm mostrado que a especificidade do ELISA é maior para o LCR do que para o soro, especialmente nos casos malignos de pacientes com NCC.^{8,20,22,24,37-39} Em nosso trabalho, a concordância dos resultados com os ensaios de IFI-HAI foi muito maior para o LCR do que para o soro. No entanto, qualquer mudança no procedimento da técnica existente e em uso requer a validação do respectivo desempenho analítico.^{40,41} Indubitavelmente, requerimentos mínimos, tais como acurácia e precisão, devem ser garantidos para que se possa assegurar a execução alcançada, o que não foi possível pelo número de testes (ELISA) e amostras, insuficientes para esta avaliação.

Conclusão

A neurocisticercose continua uma doença zoonótica tropical negligenciada. O imunodiagnóstico pode mitigar a necessidade dos exames de neuroimagem e assim oferecer ao paciente diagnóstico e tratamento adequados. Entretanto, obstáculos como disponibilidade e precisão desconhecida dos ensaios imunológicos dificultam o diagnóstico laboratorial, de modo que não se podem garantir resultados mais fidedignos. Embora pesquisas adicionais sejam necessárias para se avaliar um maior número de amostras de LCR, no presente estudo os melhores índices de concordância entre os ensaios foram observados nessas amostras ao invés de nas amostras de soro.

Agradecimentos

Ao Dr. Celso Francisco Hernandes Granato, por compartilhar seu conhecimento e experiência, que certamente fizeram a diferença no desenvolvimento do trabalho.

Às profissionais Mayra Simioni Zaparoli e Paula Ordonhez Rigato, do Centro de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz Central, pela disponibilidade e tempo dedicado ao nosso projeto.

Referências

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 8^a ed. Brasília, DF; 2010. [acesso 20 março 2025]. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svs/doencas-diarreicas-agudas/doencas-infecciosas-e-parasitarias_guia-de-bolso.pdf/view.
2. Organização Pan-Americana da Saúde. Diretrizes da OMS para o manejo da neurocisticercose por *Taenia solium*. Washington, DC; 2022. <https://doi.org/10.37774/9789275725245>.
3. García HH, Gonzalez AE, Evans CA, Gilman RH, Cysticercosis Working Group in Peru. *Taenia solium* cysticercosis. Lancet. 2003; 362(9383):547-56. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14117-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14117-7).
4. Singh G, Burneo JG, Sander JW. From seizures to epilepsy and its substrates: neurocysticercosis. Epilepsia. 2013; 54(5):783-92. <https://doi.org/10.1111/epi.12159>.
5. Del Brutto OH. Neurocysticercosis. Neurohospitalist. 2014; 4(4):205-12. <https://doi.org/10.1177/1941874414533351>.
6. Brotto W. Aspectos neurológicos da cisticercose. Arq Neuro-Psiquiatr. 1947; 5(3):258-94. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X1947000300005>.
7. Lonardoni MVC, Bertolini DA, Silveira TGV, Arraes SMAA, Svidzinski TIE, Cardoso RF, et al. Frequência de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* em indivíduos de cinco municípios da região norte do estado do Paraná - Brasil. Rev Saúde Pública. 1996; 30(3):273-9. <https://doi.org/10.1590/S0034-89101996000300011>.
8. García HH, Del Brutto OH. Imaging findings in neurocysticercosis. Acta Trop. 2003; 87(1):71-8. [https://doi.org/10.1016/s0001-706x\(03\)00057-3](https://doi.org/10.1016/s0001-706x(03)00057-3).
9. Sako Y, Takayanagui OM, Odashima NS, Ito A. Comparative study of paired serum and cerebrospinal fluid samples from neurocysticercosis patients for the detection of specific antibody to *Taenia solium* immunodiagnostic antigen. Trop Med Health. 2015; 43(3):171-6. <https://doi.org/10.2149/tmh.2015-04>.
10. García HH, Castillo Y, Gonzales I, Bustos JA, Saavedra H, Jacob L, et al. Low sensitivity and frequent cross-reactions in commercially available antibody detection ELISA assays for *Taenia solium* cysticercosis. Trop Med Int Health. 2018; 23(1):101-5. <https://doi.org/10.1111/tmi.13010>.
11. García HH, Gonzalez AE, Gilman RH, for the Cysticercosis Working Group in Peru. *Taenia solium* cysticercosis and its impact in neurological disease. Clin Microbiol Rev. 2020; 33(3):e00085-19. <https://doi.org/10.1128/cmr.00085-19>.
12. Anadure RK, Vinny PW, Saxena R, Mohimen A, Sivasankar R. A multicentric study on the clinical profile, serology, neuroimaging and treatment of neurocysticercosis. J Clin Diagn Res. 2020; 14(10):OC10-OC14. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2020/45202.14109>.

13. Costa JM, Mineo R, Livramento JA, Camargo ME. Detecção pelo teste imunoenzimático ELISA de anticorpos IgM anti-*Cysticercus cellulosae* no líquido cefalorraqueano na neurocisticercose. Arq Neuro-Psiquiatr. 1985; 43(1):22-8. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X1985000100004>.
14. Van Acker L, Toribio L, Chachage M, Zeng H, Devleesschauwer B, García HH, et al. Accuracy of immunological tests on serum and urine for diagnosis of *Taenia solium* neurocysticercosis: A systematic review. PLoS Negl Trop Dis. 2024; 18(11):e0012643. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012643>.
15. Huang X, Wang Z, Kou J, Liu H, Mao D, Yu Z, et al. A large cohort of neurocysticercosis in Shandong province, eastern China, 1997-2015. Vector Borne Zoonotic Dis. 2019; 19(12):901-07. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2447>.
16. Weinberg M. Recherche des anticorps spécifiques dans la distomatose et la cisticercose. CR Soc Biol Paris. 1909; 66:219-21. [acesso em 20 março 2025] Disponível em: <https://wellcomecollection.org/works/j27wg4a2>.
17. Moses A. Dos métodos biológicos de diagnóstico nas cisticercoses. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1911; 3(2):320-7. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761911000200008>.
18. Ueda M, Nakamura PM, Waldman EA, Chieffi PP, Souza AMC, Spir M, et al. Frequência de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* em população de risco para cisticercose e em segmento de população considerado supostamente normal, em regiões do estado de São Paulo, Brasil. Rev Inst Adolfo Lutz. 1984; 44(1):25-8. <https://doi.org/10.53393/rial.1984.44.36819>.
19. Pialarissi CSM, Vaz AJ, Souza AMC, Nakamura PM, Camargo ED, Silva MV, et al. Estudo comparativo de testes sorológicos no diagnóstico imunológico da neurocisticercose. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1987; 29(6):367-73. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651987000600006>.
20. Togoro SY, Souza EM, Sato NS. Diagnóstico laboratorial da neurocisticercose: revisão e perspectivas. Bras Patol Med Lab. 2012; 48(5):345-55. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442012000500007>.
21. García HH, O'Neal SE, Noh J, Handali S, Cysticercosis Working Group in Peru. Laboratory diagnosis of neurocysticercosis (*Taenia solium*). J Clin Microbiol. 2018; 56(9):e00424-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00424-18>.
22. Corona T, Pascoe D, González-Barranco D, Abad P, Landa L, Estañol B. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1986; 49(9):1044-9. <https://doi.org/10.1136/jnnp.49.9.1044>.
23. Macedo HW, Peralta RHS, Cipriano A, Sarmento MR, Vaz AJ, Peralta JM. Avaliação de testes imunológicos para o diagnóstico da neurocisticercose. J Bras Patol Med Lab. 2002; 38(2): 93-103. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442002000200005>.
24. Michelet L, Fleury A, Scuitto E, Kendjo E, Fragoso G, Paris L, et al. Human neurocysticercosis: comparison of different diagnostic tests using cerebrospinal fluid. J Clin Microbiol. 2011; 49(1):195-200. <https://doi.org/10.1128/JCM.01554-10>.
25. Goyal G, Phukan AC, Hussain M, Lal V, Modi M, Goyal MK, et al. Sorting out difficulties in immunological diagnosis of neurocysticercosis: Development and assessment of real time loop mediated isothermal amplification of cysticercal DNA in blood. J Neurol Sci. 2020;408:116544. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2019.116544>.

26. Ferreira AP, Vaz AJ, Nakamura PM, Sasaki AT, Ferreira AW, Livramento JA. Hemagglutination test for the diagnosis of human neurocysticercosis: development of a stable reagent using homologous and heterologous antigens. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 1997; 39(1):29-33. <https://doi.org/10.1590/s0036-46651997000100006>.
27. Cohen JA. Coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas*. 1960; 20(1):37-46. [acesso 4 março 2025]. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/001316446002000104>.
28. Altman DG. Practical statistics for medical research. Inter-rather agreement. 8^a ed. London: Chapman & Hall; 1999. p. 403-9.
29. Hernández-González A, González-Bertolín B, Urrea L, Fleury A, Ferrer E, Siles-Lucas M, et al. Multiple-bead assay for the differential serodiagnosis of neglected human cestodiases: neurocysticercosis and cystic echinococcosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2022; 16(1):e0010109. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010109>.
30. Melki J, Kouadio TN, Nowakowski M, Razafiarimanga Z, Soumahoro MK, Peltres S, et al. Production and evaluation of a new set of recombinant antigens for the serological diagnosis of human cysticercosis. *Exp Parasitol*. 2024; 263-4:108803. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2024.108803>.
31. Costa JM, Ferreira AW, Makino MM, Camargo ME. Spinal fluid immunoenzymatic assay (ELISA) for neurocysticercosis. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 1982; 24(6):337-41. [acesso em 20 março 2025]. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rimtsp/article/view/196809/181204>.
32. Montenegro T, Gilman RH, Castillo R, Tsang V, Brandt J, Guevara A, et al. The diagnostic importance of species specific and cross-reactive components of *Taenia solium*, *Echinococcus granulosus*, and *Hymenolepis nana*. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 1994; 36(4):327-34. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651994000400005>.
33. Biondi GF, Mucciolo RG, Nunes CM, Richtzenhain LJ. Immunodiagnosis of swine cysticercosis by indirect ELISA employing a heterologous antigen from *Taenia crassiceps* metacestode. *Vet Parasitol*. 1996; 64(4):261-6. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00928-0](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00928-0).
34. Barcelos ISC, Ferreira MS, Moura LP, Biondi GF, Costa-Cruz JM. Use of the paired samples (cerebrospinal fluid and serum) in immunodiagnostic of active and inactive human neurocysticercosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005; 100(4):427-9. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000400014>.
35. Togoro SY, Souza EM, Rosa MS, Caterino-de-Araujo A, Sato NS. Comparação de técnicas imunológicas in-house empregadas na rotina diagnóstica de cisticercose humana. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2011; 70(3):383-90. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/32548>.
36. Carod JF, Randrianarison M, Razafimahefa J, Ramahefarisoa RM, Rakotondrazaka M, Debruyne M, et al. Evaluation of the performance of 5 commercialized enzyme immunoassays for the detection of *Taenia solium* antibodies and for the diagnosis of neurocysticercosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012; 72(1):85-9. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.09.014>.
37. Espinoza B, Ruiz-Palacios G, Tovar A, Sandoval MA, Plancarte A, Flisser A. Characterization by enzyme-linked immunosorbent assay of the humoral immune response in patients with neurocysticercosis and its application in immunodiagnosis. *J Clin Microbiol*. 1986; 24(4):536-41. <https://doi.org/10.1128/jcm.24.4.536-541.1986>.

38. Costa JM. Teste imunoenzimático (ELISA) no diagnóstico da neurocisticercose: estudo de diferentes extratos antigenicos na detecção de anticorpos IgG em amostras de soro e de líquido cefalorraqueano. Arq Neuro-Psiquiatr. 1986; 44(1):15-31. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X1986000100002>.
39. Bonametti AM, Basile MA, Vaz AJ, Baldy JLS, Takiguti CK. Índice de positividade da reação imunoenzimática (ELISA) para cisticercose no líquido cefalorraquidiano (LCR) e no soro de pacientes com epilepsia. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1992; 34(5):451-8. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651992000500013>.
40. Rabenau HF, Kessler HH, Kortenbusch M, Steinhorst A, Raggamb RB, Berger A. Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. J Clin Virol. 2007; 40(2):93-8. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.07.009>.
41. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Veras MASM. Performance validation of Western blot for anti-HIV antibody detection in blood samples collected on filter paper (DBS). J Bras Patol Med Lab. 2017; 53(1):5-12. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20170002>.

Contribuição dos autores

Edna Malona de Souza: curadoria de dados, análise formal e revisão e aprovação final do manuscrito; Cyro Alves de Brito: supervisão, análise formal, revisão e aprovação final do manuscrito; Elaine Lopes de Oliveira: análise de dados, revisão e aprovação final do manuscrito; Raquel dos Anjos Fazioli: revisão e aprovação final do manuscrito; Márcia Jorge Castejon: análise de dados, elaboração, revisão e aprovação final do manuscrito.

Preprint

O manuscrito não foi previamente publicado em servidores preprint.

Aprovação dos autores

Os autores participaram efetivamente do trabalho, aprovam a versão final do manuscrito para publicação e assumem total responsabilidade por todos os seus aspectos, garantindo que as informações sejam precisas e confiáveis.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesse de natureza política, comercial e financeira no manuscrito.

Financiamento

Os autores declaram que não houve fontes de financiamento.