

Comparação de técnicas imunológicas *in-house* empregadas na rotina diagnóstica de cisticercose humana

Comparative analysis on in-house immunologic assays used for performing the routine laboratorial diagnosis of human cysticercosis

RIALA6/1389

Sílvia Yukari TOGORO, Edna Malone de SOUZA, Maria Salete ROSA, Adele CATERINO-DE-ARAÚJO, Neuza Satomi SATO

*Endereço para correspondência: Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil, Av Dr. Arnaldo, 355, 10º e 11º andar, Cerqueira César, São Paulo. CEP: 01246-000, tel: 3068 2898, e-mail: neuzasat@uol.com.br.

Recebido: 26.03.2011 - Aceito para publicação: 27.07.2011

RESUMO

Neste estudo foram analisados os resultados obtidos do diagnóstico de cisticercose no Centro de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL), no período de março/2007 a julho/2010. A detecção de anticorpos específicos em 522 amostras de soro e líquido cefalorraquidiano (LCR) foi realizada pelas técnicas de imunofluorescência indireta (IFI) e hemaglutinação indireta (HAI). A frequência de amostras reagentes foi de 11,0% no LCR e 8,2% no soro. Em 50% das amostras não houve informações sobre suspeita clínica de neurocisticercose dos pacientes, sendo disponíveis nos 18,3% e 16,4%, em amostras, respectivamente, de LCR e soro. Nas amostras de paciente com suspeita de neurocisticercose, a positividade foi de 22,6% (LCR) e de 18,4% (soro). Houve associação entre a suspeita clínica e a positividade dos testes ($p > 0.05$). A maioria das amostras testadas foi proveniente do Estado de São Paulo, e 16,9% de amostras de LCR e 35,9% de amostras séricas foram enviados de outros Estados do país. Os ensaios de IFI e HAI apresentaram teste de concordância *Kappa* de 86%. Pela indisponibilidade de *kits* de reagentes diagnósticos de cisticercose em amostras de LCR no mercado, os testes *in-house* produzidos no IAL têm sido de grande relevância para os serviços de saúde pública.

Palavras-chave. cisticercose, *Cysticercus cellulosae*, imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta.

ABSTRACT

The present study aimed at analyzing the results from serologic assays performed for cysticercosis diagnosis at Immunology Center of Instituto Adolfo Lutz (IAL), during the period from March 2007 to July 2010. A total of 522 blood and cerebrospinal fluid (CSF) samples were tested for detecting the specific antibodies using indirect immunofluorescence (IFA) and passive hemagglutination (PHA) assays; the frequency of positivity was 11.0% in CSF and 8.2% in serum samples. No clinical information were reported in 50% of medical requests sent to laboratory; 18.3% of CSF and 16.4% of serum samples were from patients with available data on suspected clinical neurocysticercosis. In samples from patients with suspected neurocysticercosis, the positive results were observed in 22.6% of CSF and 18.4% of serum samples. Association between the clinical suspected neurocysticercosis and the testing positivity was detected ($p > 0.05$). The majority analyzed samples were from São Paulo State and 16.9% of CSF and 35.9% of serum samples were sent by others Brazilian states. The *Kappa* agreement index between IFI and HA assays was 86%. On account of *kits* for diagnosing neurocysticercosis in CSF samples are commercially unavailable, the in-house assays produced at IAL have been relevant for public health services.

Keywords. cysticercosis, *Cysticercus cellulosae*, indirect immunofluorescence, passive hemagglutination.

INTRODUÇÃO

Teníase e cisticercose são infecções causadas, respectivamente, pelas formas adulta e larval de parasitas do gênero *Taenia*. O ciclo de vida da *T. solium* envolve o suíno como hospedeiro intermediário, contendo o cisticercos e o humano como hospedeiro definitivo da forma adulta. Quando o homem torna-se hospedeiro intermediário por meio da ingestão do ovo de *T. solium*, adquire a cisticercose.

O cisticercos pode apresentar-se sob a forma cística, que consiste em uma vesícula contendo escólex em seu interior, conhecida como *Cysticercus cellulosae* e/ou na forma racemosa, com numerosas vesículas em cachos, mas sem o escólex, denominada *Cysticercus racemosus*. O embrião hexacanto pode migrar para diferentes partes do organismo, mas quando esse se aloja no sistema nervoso central, causa a neurocisticercose, a forma mais grave e frequente da doença¹.

As manifestações clínicas da neurocisticercose podem se apresentar de diversas maneiras ou isoladamente, sendo as mais comuns convulsões, epilepsias, cefaleias, hidrocefalia, meningites, distúrbios psiquiátricos entre outras. As crises epiléticas são a apresentação mais comum de neurocisticercose e, geralmente, representam a principal ou única manifestação da doença. A manifestação, ou não, de sintomas é resultante da interação parasita-hospedeiro e depende da intensidade da resposta inflamatória do hospedeiro¹.

A cisticercose é uma doença considerada negligenciada e de ocorrência global, estando presente na América Latina, África e Ásia, em que as condições sanitárias precárias contribuem para a sua permanência. A Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) considera uma região endêmica aquela que apresenta índices de 1% para teníase humana, 0,1% para cisticercose humana e 5% para cisticercose animal².

No Brasil, não existem dados oficiais da prevalência de neurocisticercose em âmbito nacional. Os dados de prevalência disponíveis no Brasil variam de acordo com a abordagem do estudo e o tamanho da amostragem estudada.

Agapejev et al³ realizaram uma análise crítica de 136 trabalhos publicados no Brasil no período de 1915 a 2002 e calcularam a prevalência média nacional de 4,56 casos para 100 mil habitantes com base em estudos clínicos e necroscópicos. Em estudo realizado com

amostragem superior a 30 mil pacientes, a prevalência foi de 0,2%, na análise de dados clínico, imunológico e radiológico de pacientes internados⁴ ou de pacientes examinados por tomografia computadorizada (TC)⁵.

Em estudos de necropsias a prevalência variou de 1,5% a 2,4%^{6,7}. Já em pacientes internados com epilepsia foi diagnosticado neurocisticercose em 24% por TC⁸. Em Curitiba, a prevalência foi cerca de 9% em diagnóstico realizado por TC em dois períodos distintos^{9,10}.

O diagnóstico da cisticercose pode ser realizado por técnicas de imagens como a TC e a ressonância magnética (RM), ferramentas consideradas por alguns autores como padrão ouro no diagnóstico da neurocisticercose¹¹. No entanto, quando os cisticercos estão localizados nas cisternas basais subaracnóide, a TC e a RM não conseguem detectá-los. Nesses casos os dados clínicos, epidemiológicos e sorológicos ajudam na confirmação de cisticercose. Além disso, a demonstração histológica do parasita a partir de biópsia de uma lesão cerebral ou medular ou do exame de fundo de olho, em casos de cisticercose intraocular, também podem ser conclusivos no diagnóstico da doença¹¹.

As técnicas imunológicas são frequentemente utilizadas para confirmar o diagnóstico de neurocisticercose. Vários testes imunológicos têm sido utilizados na detecção de anticorpos específicos. Entre eles destacam-se: a hemaglutinação (HA), a imunofluorescência indireta (IFI), a técnica de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) e de *immunoblot* como *Enzyme-Linked Immuno-electrotransfer blot* (EITB).

No Instituto Adolfo Lutz (IAL), há mais de 40 anos as técnicas HA e IFI vêm sendo utilizadas na rotina diagnóstica para a pesquisa de anticorpos *anti-C. cellulosae* em amostras de líquido e soro^{12,13}. A técnica de IFI apresenta sensibilidade e especificidade de cerca de 80% a 98%^{13,14} e a reação de HA, apresenta sensibilidade de 81% em amostras de líquido e de 85% em amostras de soro¹³.

Ultimamente as técnicas imunoenzimáticas utilizadas no diagnóstico da cisticercose empregam o antígeno nativo, homólogo ou heterólogo; outras utilizam os antígenos recombinantes ou sintéticos. Quanto ao antígeno nativo de *C. cellulosae*, as frações purificadas a partir de líquido vesicular, escólex ou produto de secreção/excreção apresentam melhores resultados que o extrato salino de antígeno bruto. De um modo geral, a sensibilidade varia de 80% a 100% no soro e 92% a 100%

no líquido, enquanto a especificidade varia de 97% a 100% em ambos os tipos de amostras clínicas¹⁵⁻¹⁷. Dos antígenos recombinantes, o GP50, T24H e TS14 apresentaram resultados promissores, com sensibilidade de 94% a 100% e especificidade de 99% a 100%, considerando os dois tipos de amostras, soro e líquido¹⁸⁻²⁰. Quanto ao antígeno sintético, derivado da família de proteínas de 8 kDa, os resultados são contraditórios. Alguns autores reportam bom desempenho diagnóstico, com sensibilidade e especificidade próxima de 100%^{18, 21}. Por outro lado, Schell et al. observaram baixa sensibilidade no ELISA e melhor desempenho no Western Blot²².

O antígeno heterólogo de *Cysticercus longicollis*, o metacéstódio da *T. crassiceps*, vem sendo explorado como fonte alternativa de antígeno. As frações antigênicas de baixo peso molecular de 14 e 18 kDa, extraídas do fluido vesicular, mostraram-se úteis para o diagnóstico da neurocisticercose humana. A sensibilidade variou de 95% a 100% em amostras de líquido e soro, e a especificidade foi de 99% a 100% no líquido e 80% a 100% no soro²³⁻²⁵.

Não obstante, os bons resultados obtidos com os testes imunoenzimáticos ainda não foram introduzidos no IAL. Por isso o presente trabalho tem como objetivo comparar os resultados da técnica de IFI e HA, da rotina diagnóstica de cisticercose do Centro de Imunologia (CIM) do IAL, realizada no período de março de 2007 a julho de 2010 e analisar a correlação dos resultados imunodiagnósticos com alguns aspectos clínicos e gênero dos pacientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Foram analisados resultados de 522 amostras, sendo 290 líquidos e 232 soros, não pareados, da rotina diagnóstica de cisticercose do CIM do IAL, do período de março de 2007 a julho de 2010. As amostras de líquido e soro eram procedentes de outros serviços de saúde pública da cidade e Estado de São Paulo e outras regiões do Brasil.

Amostras controle

As amostras controle reagente e não reagente usadas para a validação dos testes de IFI e HA foram obtidas a partir de amostras da rotina diagnóstica de cisticercose no CIM do IAL. Foram utilizados dois líquidos e dois soros para validação da IFI, quatro líquidos e quatro soros para HA.

Diagnóstico sorológico

As técnicas utilizadas para o diagnóstico sorológico da cisticercose do CIM do IAL foram IFI e HA, kits preparados *in-house*, seguindo os procedimentos padronizados nesse laboratório^{13, 14}. O *C. cellulosae* foi extraído de músculo de suínos, o antígeno particulado obtido por maceração dos cisticercos em gral e peneirados em peneira tipo *Tyler* 48 com tamis 0,0297 nm foi usado na reação de IFI. Para a reação de HA foi utilizado antígeno solúvel obtido por sonicação dos cisticercos obtidos de músculo de suínos.

Reação de Imunofluorescência Indireta (IFI)

A lâmina foi preparada pela aplicação de 15µl de suspensão do antígeno em tampão PBS 0,15M pH 7,2 de modo que o sobrenadante tivesse cerca de 15 partículas de antígeno por campo, em objetiva de 20 vezes, em microscopia de campo claro. Depois as lâminas foram secas à temperatura ambiente e armazenadas à -20 °C.

A diluição das amostras e a lavagem das lâminas foram realizadas com PBS 0,15M pH 7,2. A reação foi realizada inicialmente com soros em diluições de 1/10, 1/20, 1/40 e 1/80 e os líquidos, depositados puros. Para as amostras reagentes foram realizadas diluições adicionais na razão 2 até 1/320 no soro e 1/32 no líquido. Foram depositados 12µL de cada diluição ou de cada amostra sobre a lâmina que foi incubada por 30 minutos a 37 °C em câmara úmida. As lâminas foram lavadas três vezes com PBS em cuba de Coplin por cinco minutos cada e, secas em estufa por cinco minutos a 37 °C. O conjugado, cujo título foi 300, foi diluído em Azul de Evans 0,001% e depositado 12 µL em cada área da reação. As lâminas foram incubadas, lavadas com PBS e secas como descrito anteriormente. A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência com aumento de 400 vezes (Olympus).

Reação de hemaglutinação (HA)

Para a reação de HA foi utilizada hemácia de ganso macho formalizada como suporte para o antígeno solúvel de *C. cellulosae*. O kit foi preparado de acordo com a técnica padronizada anteriormente¹³.

A reação de HA foi realizada em placa de poliestireno de fundo V de 96 poços, sendo as amostras e os controles diluídos em PBS 0,15M pH 6,4 a partir da diluição 1/10 a 1/160 para soros e de 1/2 a 1/32 para líquidos. Para cada diluição, foram utilizadas duas colunas da placa, adicionando 25 µL de hemácias sensibilizadas em uma

coluna e 25 µL de hemácias controle em outra. A placa foi agitada por cinco minutos, seguida de incubação por uma hora em câmara úmida à temperatura ambiente.

Análise dos resultados

A análise estatística dos dados foi efetuada utilizando-se o programa EpiInfo, versão 6.0 para o cálculo do Qui-quadrado, sendo adotado um nível de significância de 5%. Foram calculados índices de co-positividade, co-negatividade e *Kappa* para os ensaios de IFI e HA²⁶.

RESULTADOS

No período de março de 2007 a julho de 2010 foram analisadas 522 amostras não pareadas, sendo 290 líquors e 232 soros, para o diagnóstico sorológico de cisticercose. De acordo com a distribuição das amostras (Figura 1a), o número de amostras de líquido foi superior ao de soro, com exceção do ano de 2010, em que o número de amostras de soro foi proporcionalmente maior que o dos anos anteriores, quando analisados sete meses da rotina. A frequência de amostras reagentes no líquido (Figura 1b) foi de 11,02%, com variação de 10,4% a 12,1%, e no soro (Figura 1c) foi de 8,17%, com variação de 0% a 17,2%. Os resultados foram considerados confiáveis uma vez que as amostras controle positivo e negativo deram os resultados esperados em ambos os testes, HA e IFI (dados não apresentados).

A procedência das amostras de líquido foi principalmente do Estado de São Paulo (43,8%) e da cidade de São Paulo/Grande SP (39,3%), enquanto que as amostras de soro predominaram na cidade de São Paulo/Grande SP (37,5%) e outros Estados do Brasil (35,9%).

A suspeita clínica foi dividida em neurocisticercose, cisticercose, HIV, distúrbios neurológicos incluindo convulsões e epilepsias, outras sintomatologias, como febre e meningites, e suspeita clínica não informada. A análise da distribuição das amostras de acordo com a suspeita clínica mostrou que cerca de 50% dos pedidos de exames não informam a suspeita clínica, independente do tipo da amostra. Dos pedidos em que se obteve a informação de suspeita clínica, a que prevaleceu foi a neurocisticercose, sendo 18,3% para líquido e 16,4% para soro, seguido de cisticercose com 6,2% e 11,6%, respectivamente para líquido e soro e nos portadores de HIV, 8,6% para líquido e 1,7% para soro.

Os resultados reagentes nos testes de IFI e HA foram observados em somente 11% das amostras de

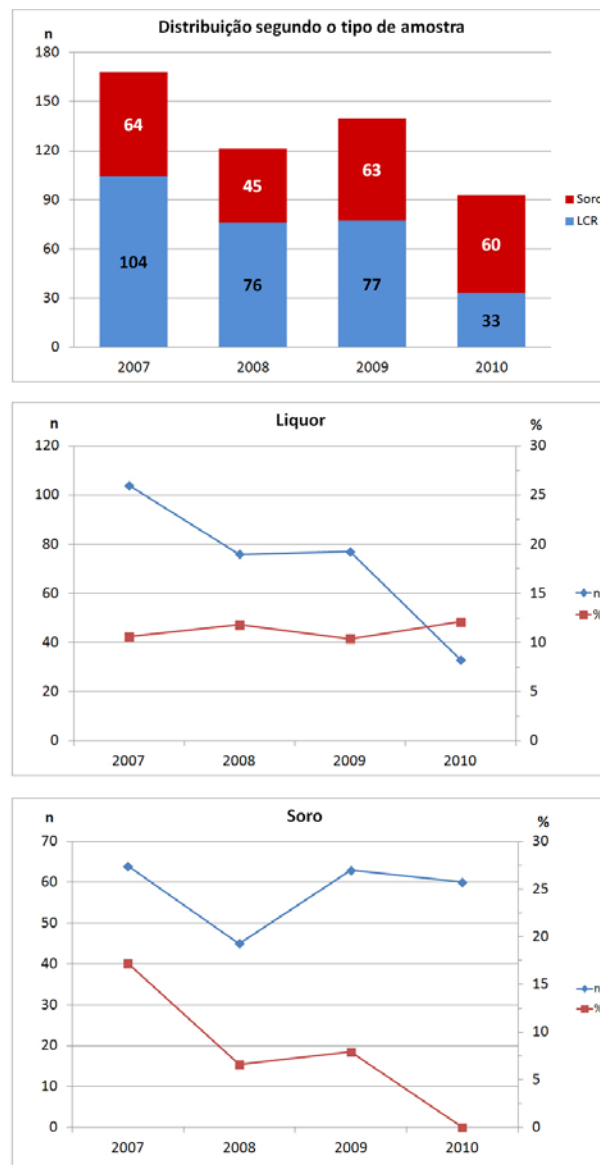


Figura 1. Distribuição das amostras (a), a frequência de positivities e o número de amostras de líquido (b) e soro (c) encaminhadas ao IAL para o diagnóstico de cisticercose, analisadas no período de março de 2007 a julho de 2010 (n= número de amostras e %= frequência de amostra reagente)

líquor e 8,2% das amostras de soro. Entre as amostras de líquido cuja suspeita clínica não foi informada, a frequência de amostras com resultado reagente foi de 7,7%. Dos pacientes com suspeita clínica de cisticercose, cinco amostras de soro e três de líquido apresentaram resultado reagente. Nenhuma amostra de paciente com HIV resultou reagente para cisticercose.

Em relação à suspeita clínica de neurocisticercose, a frequência de amostras reagentes foi de 22,6% no líquido e 18,4% no soro e verificou-se associação estatisticamente

significante entre a suspeita clínica de neurocisticercose e a positividade dos testes em ambas as amostras, líquido ($p = 0,003$) e soro ($p = 0,028$).

A análise da distribuição das amostras de acordo com o gênero foi equilibrada no período analisado. De um modo geral, 54% das amostras, líquido (157/290) e soro (126/232), provinham de pacientes do gênero masculino. Quanto aos resultados, as amostras pertencentes ao gênero feminino apresentaram maior proporção de reatividade no líquido (12,6%) e soro (11,9%); enquanto no gênero masculino a positividade observada foi de 10,4% e 5,5%, respectivamente para líquido e soro. No entanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa nos dois tipos de amostras, líquido ($p=0,562$) e soro ($p=0,080$).

Com relação ao desempenho dos testes IFI e HA, o índice *Kappa* apresentou concordância quase perfeita entre os testes, sendo de aproximadamente 86% no líquido e 87% no soro. Quanto à co-positividade e co-negatividade nas amostras de líquido e de soro ficaram em torno de 86% e 99%, respectivamente.

A Figura 2 ilustra a reação de imunofluorescência indireta. Na ausência de anticorpos específicos contra o antígeno do *C. cellulosae*, a reação apresenta uma coloração avermelhada (Figura 2a) e na presença de anticorpos específicos a superfície do antígeno apresenta fluorescência verde (Figura 2b).

DISCUSSÃO

A cisticercose humana representa importante problema de saúde pública em áreas carentes de condições sanitárias e de políticas de saúde e também em países desenvolvidos que recebem imigrantes de regiões

com elevada prevalência de teníase. A Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) considera a ausência de dados epidemiológicos de cisticercose um dos principais obstáculos para o planejamento satisfatório de campanhas para a prevenção e a erradicação da doença²⁷. No Brasil, a notificação compulsória para esse agravo foi instituída por meio da Portaria nº 1.100, de 24 de maio de 1996, quando foram implantadas medidas para o controle da endemia. No entanto, nem todos os Estados/regiões seguem o que preconiza a Portaria e a subnotificação ainda é um problema real^{3,28}.

No presente estudo foram analisados os resultados da rotina diagnóstica para cisticercose/neurocisticercose realizada no período de março de 2007 a dezembro de 2010. O total de amostras reagentes nos testes de IFI e HA foram de 32 líquidos e 19 soros e a frequência média de resultados positivos foi de 11,0% no líquido e 8,2% no soro.

Em estudo realizado anteriormente, a frequência de resultados positivos observada no líquido foi de 5,5% para o período de janeiro de 2003 a dezembro de 2006 e de 11,3% em 2007²⁹. Curiosamente observamos um aumento estatisticamente significativo na proporção de amostras reagentes de líquido a partir de 2007. Quanto às amostras de soro ocorreu o inverso. A frequência média de amostras reagentes no período de 2003 a 2007 foi de 12,8%, segundo Souza et al.²⁹, com uma redução considerável no período analisado no presente estudo.

Em relação ao ano de 2010, não houve resultado reagente em amostras de soro, entretanto a frequência de resultados positivos em amostras de líquido foi alta (12,1%), considerando que foi analisado somente sete meses da rotina diagnóstica. Nesse período foi observado aumento

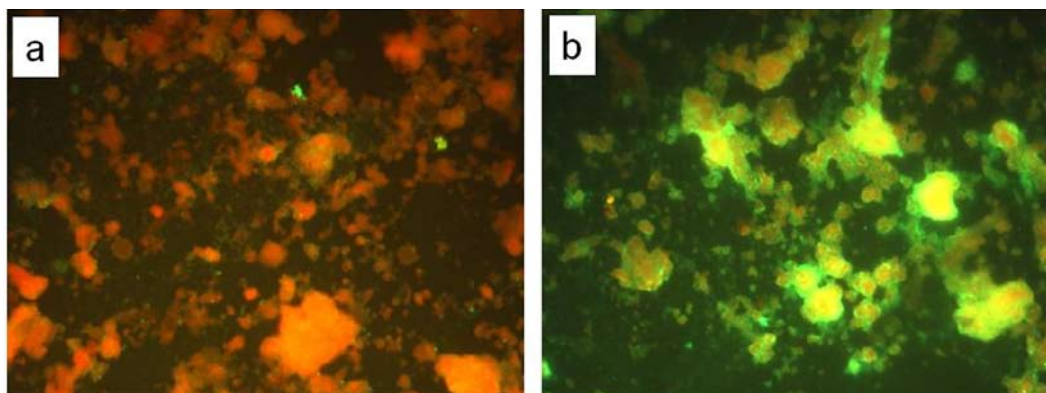


Figura 2. Aspecto na reação de IFI para pesquisa de anticorpos específicos para cisticercose (a) amostra não reagente e (b) amostra reagente, em microscopia de fluorescência com aumento de 400X. Fotografia: câmera QColor 3 - Cooled RTV (Olympus) e programa Image - Pro Plus (Media Cybernetics)

na demanda de soro de outros Estados, particularmente do Estado do Rio Grande do Sul (35/60) para investigação de possível surto da doença na região.

Os testes utilizados nesta rotina apresentam sensibilidade em torno de 80% em amostras de líquido^{13, 30}, no entanto, somente 22,6% dos pacientes com suspeita clínica de neurocisticercose apresentaram resultado reagente. A falta de maiores informações clínicas dos pacientes dificulta a interpretação desses resultados. A análise pelo teste de Qui-quadrado, contudo, mostrou que existe associação entre a suspeita clínica de neurocisticercose e a positividade dos testes, em ambas as amostras.

A influência da infecção por HIV na história natural da cisticercose precisa ainda de estudos mais profundos. Serpa et al.³¹ realizaram uma revisão de literatura em 2006 e identificaram 27 relatos de casos sobre a co-infecção HIV e neurocisticercose, dos quais 61% apresentaram lesões múltiplas no parênquima cerebral. No presente estudo, nenhuma amostra de pacientes com suspeita clínica de HIV apresentou teste reagente para cisticercose, quer seja no líquido ou soro. Uma vez que a neurocisticercose é uma doença que apresenta uma diversidade de manifestações clínicas, podendo ser confundida com outras patologias que acometem o sistema nervoso, o imunodiagnóstico para cisticercose pode ser requisitado como diagnóstico diferencial de infecção do sistema nervoso central em pacientes com HIV.

Estudos recentes revelam que os hormônios sexuais podem interferir na infecção por teníase e cisticercose. Em suínos observa-se maior frequência de cisticercose durante a gestação, quando os níveis de progesterona estão significativamente aumentados. A castração de animais machos naturalmente infectados, com *T. solium*, induz ao aumento da prevalência de cisticercose³². Em um estudo *in vitro* foi demonstrado que a progesterona induz a invaginação do escólex e estimula o crescimento do cisticercos de *T. solium*³³.

Em humanos, alguns estudos indicam que a resposta imune do hospedeiro na infecção do sistema nervoso central pelo cisticercos pode ser influenciada pelo gênero. No estudo conduzido por Kelvin et al.³⁴ em 171 pacientes com neurocisticercose, os autores observaram associação entre o número de cistos na fase de degeneração e o gênero; o número de cistos foi 1,8 vezes maior em pacientes do gênero feminino.

No presente estudo, a proporção de resultados reagentes foi maior nos pacientes do gênero feminino, em ambas as amostras, 1,2 vezes no líquido e 2,1 vezes

no soro. No entanto, essas diferenças não foram estatisticamente significantes.

Agapejev et al.³ constataram o predomínio de neurocisticercose no gênero masculino, mas uma manifestação clínica mais grave nas pacientes femininas. Esses resultados podem ter um viés decorrente da abordagem de cada estudo ou mesmo das diferenças no acesso aos serviços de saúde.

Os testes sorológicos realizados no CIM/IAL, IFI e HA, apresentaram concordância quase perfeita de acordo com a classificação do índice *Kappa*, sendo 85,9% para o líquido e 87,2% para o soro. A co-positividade foi de 86% e a co-negatividade maior que 98%.

As técnicas imunoenzimáticas têm sido utilizadas para o diagnóstico de cisticercose e apresentam maior sensibilidade e especificidade^{15, 18, 23} e os imunoenaios utilizando antígenos recombinantes apresentam desempenho diagnóstico promissor^{18-20,35}. Atualmente o *Enzyme-Linked Immunoelctrotransferblot* (EITB) é considerado um dos testes imunológicos mais confiáveis para o diagnóstico da cisticercose, que utiliza antígenos purificados por cromatografia com lectina. A avaliação inicial do ensaio EITB indica sensibilidade de 98% e especificidade de 100% em amostras de soro e líquido³⁶.

Nenhum desses testes, todavia, está disponível no comércio. Atualmente no Brasil apenas dois kits de ELISA para o diagnóstico de cisticercose estão aprovados pela Anvisa, ambos para detecção de anticorpos IgG anti-*T. solium* e anti-*C. cellulosae* em amostras de soro³⁷. Um de procedência nacional e outro de fabricação alemã, esse último com sensibilidade de 100% e especificidade de 93%, segundo o fabricante.

A falta de um teste padronizado para amostras de líquido faz com que o diagnóstico laboratorial realizado no IAL tenha um papel importante no diagnóstico da neurocisticercose, pois utiliza kits *in-house* originalmente padronizados para os dois tipos de amostras, líquido e soro. Desse modo, esses testes têm sido de suma importância para os serviços de saúde pública nos últimos 40 anos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação do Desenvolvimento Administrativo (FUNDAÇÃO) pela bolsa concedida à Sílvia Y. Togoro. Trabalho de Conclusão de Curso de Aprimoramento Profissional (PAP-1) do Programa Técnicas de Imunodiagnóstico e Controle de Qualidade do IAL – 2010, de autoria de Sílvia Y. Togoro.

REFERÊNCIAS

1. Takayanagui OM, Odashima NS. Clinical aspects of neurocysticercosis. *Parasitol Int*. 2006;55(Suppl 1):S111-5.
2. OPAS. Organização Panamericana de Saúde. Epidemiologia y control de la teníase / cisticercosis en América Latina. Washington; 1994. Versão 3.0.
3. Agapejev S. Clinical and epidemiological aspects of neurocysticercosis in Brazil: a critical approach. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2003;61(3B):822-8.
4. Machado AB, Pialarissi CS, Vaz AJ. Human cysticercosis diagnosed at a general hospital, São Paulo, SP (Brazil). *Rev Saúde Pública*. 1988;22(3):240-4.
5. Mendes EC, Silva SS, Fonseca EA, Souza HR, Carvalho RW. Human neurocysticercosis in Baixada Fluminense, Rio de Janeiro State, Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2005;63(4):1058-62.
6. Chimelli L, Lovalho AF, Takayanagui OM. Neurocysticercosis: contribution of autopsies in the consolidation of mandatory notification in Ribeirão Preto-SP, Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1998;56(3B):577-84.
7. Lino-Junior RS, Faleiros AC, Vinaud MC, Oliveira FA, Guimarães JV, Reis MA, et al. Anatomopathological aspects of neurocysticercosis in autopsied patients. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2007;65(1):87-91.
8. Trevisol-Bittencourt PC, Silva NC, Figueredo R. Prevalence of neurocysticercosis among epileptic in-patients in the west of Santa Catarina-southern Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1998;56(1):53-8.
9. Grazziotin AL, Fontalvo MC, Santos MB, Monego F, Kolinski VH, Bordignon RH, et al. Epidemiologic pattern of patients with neurocysticercosis diagnosed by computed tomography in Curitiba, Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2010;68(2):269-72.
10. Narata AP, Arruda WO, Uemura E, Yukita S, Blume AG, Suguiura C, et al. Neurocysticercosis. A tomographic diagnosis in neurological patients. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1998;56(2):245-9.
11. Del Brutto OH, Sotelo J. Neurocysticercosis: an update. *Rev Infect Dis*. 1988;10(6):1075-87.
12. Livramento JA. Contribution of immunofluorescent reactions in the cerebrospinal fluid to the study of neurocysticercosis. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1981;39(3):261-78.
13. 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 São Paulo*. 1997;39(1):29-33.
14. Pialarissi CS, Vaz AJ, de Souza AM, Nakamura PM, Camargo ED, Silva MV, et al. Comparative study of serological tests in the immunological diagnosis of neurocysticercosis. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1987;29(6):367-73.
15. Costa JM. Immunoenzymatic test (ELISA) in the diagnosis of neurocysticercosis: study of various antigenic extracts in the detection of IgG antibodies in serum and cerebrospinal fluid samples. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1986;44(1):15-31.
16. Molinari JL, Garcia-Mendoza E, de la Garza Y, Ramirez JA, Sotelo J, Tato P. Discrimination between active and inactive neurocysticercosis by metacestode excretory/secretory antigens of *Taenia solium* in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg*. 2002;66(6):777-81.
17. Zimic M, Pajuelo M, Rueda D, Lopez C, Arana Y, Castillo Y, et al. Utility of a protein fraction with cathepsin L-Like activity purified from cysticercus fluid of *Taenia solium* in the diagnosis of human cysticercosis. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;80(6):964-70.
18. Bueno EC, Scheel CM, Vaz AJ, Machado LR, Livramento JA, Takayanagui OM, et al. Application of synthetic 8-kD and recombinant GP50 antigens in the diagnosis of neurocysticercosis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;72(3):278-83.
19. Silva MRM, Maia AAM, Espindola NM, Machado LR, Vaz AJ, Silva FH. Recombinant expression of *Taenia solium* TS14 antigen and its utilization for immunodiagnosis of neurocysticercosis. *Acta Trop*. 2006;100(3):192-8.
20. Lee YM, Handali S, Hancock K, Pattabhi S, Kovalenko VA, Levin A, et al. Serologic Diagnosis of Human *Taenia solium* Cysticercosis by Using Recombinant and Synthetic Antigens in Quick ELISATM. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;84(4):587-93.
21. Hancock K, Khan A, Williams FB, Yushak ML, Pattabhi S, Noh J, et al. Characterization of the 8-kilodalton antigens of *Taenia solium* metacestodes and evaluation of their use in an enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis. *J Clin Microbiol*. 2003;41(6):2577-86.
22. Scheel CM, Khan A, Hancock K, Garcia HH, Gonzalez AE, Gilman RH, et al. Serodiagnosis of neurocysticercosis using synthetic 8-kD proteins: comparison of assay formats. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;73(4):771-6.
23. Bueno EC, Vaz AJ, Machado LD, Livramento JA. Neurocysticercosis: detection of IgG, IgA and IgE antibodies in cerebrospinal fluid, serum and saliva samples by ELISA with *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* antigens. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2000;58(1):18-24.
24. Peralta RH, Vaz AJ, Pardini A, Macedo HW, Machado LR, De Simone SG, et al. Evaluation of an antigen from *Taenia crassiceps cysticercus* for the serodiagnosis of neurocysticercosis. *Acta Trop*. 2002;83(2):159-68.
25. Espindola NM, Iha AH, Fernandes I, Takayanagui OM, Machado LR, Livramento JA, et al. Cysticercosis immunodiagnosis using 18- and 14-kilodalton proteins from *Taenia crassiceps cysticercus* antigens obtained by immunoaffinity chromatography. *J Clin Microbiol*. 2005;43(7):3178-84.
26. Fleiss A. The architecture of clinical research. Saunders, 1985. In: Ferreira AW, Ávila SLM, editors. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
27. Murrell KO, editor. WHO-FAO-OIE Guidelines for the surveillance prevention and control of taeniosis - cysticercosis. Paris-France: WHO/OIE/FAO; 2005.
28. Benedeti MR, Falavigna DL, Falavigna-Guilherme AL, Araujo SM. Epidemiological and clinical profile of neurocysticercosis patients assisted by the Hospital Universitário Regional de Maringá, Paraná, Brazil. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2007;65(1):124-9.
29. Souza EM, Rosa MA, Levi AMA. Perfil sorológico das amostras com suspeita de cisticercose enviadas ao Instituto Adolfo Lutz Central - São Paulo- período de 2003 a 2007. 44º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 7 de março de 2008. Porto Alegre, RS; 2008. p. 145.

30. Simonetti AB, Teixeira J. Behavior of the indirect immunofluorescence reaction and of cerebrospinal fluid parameters in neurocysticercosis. *Arq Neuro-psiquiatr*. 1987;45(1):33-43.
31. Serpa JA, Moran A, Goodman JC, Giordano TP, White AC, Jr. Neurocysticercosis in the HIV era: a case report and review of the literature. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(1):113-7.
32. Morales J, Velasco T, Tovar V, Fragoso G, Fleury A, Beltran C et al. Castration and pregnancy of rural pigs significantly increase the prevalence of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis. *Vet Parasitol*. 2002;108(1):41-8.
33. Escobedo G, Camacho-Arroyo I, Hernandez-Hernandez OT, Ostoa-Saloma P, Garcia-Varela M, Morales-Montor J. Progesterone induces scolex evagination of the human parasite *Taenia solium*: evolutionary implications to the host-parasite relationship. *J Biomed Biotechnol*. 2010; (ID-591079): 1-10.
34. Kelvin EA, Carpio A, Bagiella E, Leslie D, Leon P, Andrews H, et al. The association of host age and gender with inflammation around neurocysticercosis cysts. *Ann Trop Med Parasitol*. 2009;103(6):487-99.
35. Hancock K, Pattabhi S, Whitfield FW, Yushak ML, Lane WS, Garcia HH, et al. Characterization and cloning of T24, a *Taenia solium* antigen diagnostic for cysticercosis. *Mol Biochem Parasitol*. 2006;147(1):109-17.
36. Tsang VC, Brand JA, Boyer AE. An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis*. 1989;159(1):50-9.
37. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa – Pesquisa de produtos para saúde registrados. [acesso 2011 Jan 11]. Disponível em: [http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto_correlato/rconsulta_produto_internet.asp].