

APLICACION DEL METODO ELISA PARA EL DIAGNOSTICO DE LA CISTICERCOSIS

Edmundo Téllez Girón,¹ Marta C. Ramos,¹ Leticia Dufour¹ y Margarita Montante¹

Se aplicó el método ELISA a muestras de suero y de líquido cefalorraquídeo para efectuar el diagnóstico inmunológico de cisticercosis y se compararon los resultados con los obtenidos mediante el método de hemaglutinación indirecta.

Introducción

La frecuencia elevada de cisticercosis por *Cysticercus cellulosae*, su distribución en países en desarrollo como Brasil, El Salvador, India y México, así como sus consecuencias patológicas y económicas constituyen un grave problema médico y social. El diagnóstico inmunológico de cisticercosis se ha llevado a cabo mediante una variedad de métodos, tales como precipitación en gel, fijación del complemento, hemaglutinación indirecta (HI) e inmunofluorescencia (1); sin embargo, ninguno de ellos ha sido totalmente satisfactorio o práctico. En 1978 Arambulo *et al.* (2) describieron la aplicación del ensayo inmunosorbente enzima conjugada (ELISA) en 49 muestras de suero de pacientes mexicanos sospechosos de cisticercosis con el que encontraron una positividad de 78%. No obstante, dado que los autores no mencionan si la cisticercosis fue comprobada por otros procedimientos tomográficos o quirúrgicos es posible que algunos resultados fueran falsos positivos o negativos. En 1982 Diwan *et al.* (3) realizaron un estudio similar con sueros y líquidos

cefalorraquídeos almacenados desde 1974 de un grupo de pacientes de México y de Irian Jaya, Indonesia, y hallaron 4% de resultados falsos positivos en los grupos control, así como 21 y 39% de falsos negativos en el grupo de enfermos con cisticercosis. En un estudio de 11 pacientes con cisticercosis en México, Espinoza *et al.* (4) encontraron, por medio de ELISA, 73% de sueros positivos. Estos resultados no concuerdan con los altos niveles de especificidad y de sensibilidad que se describen en términos generales para el método ELISA, del cual se ha comunicado que es tan sensible como el de radioinmunoensayo (5). El propósito de este artículo es informar sobre una experiencia inicial con el método ELISA en la que se trató de evitar algunos factores que afectan los resultados, y se comparan estos con los obtenidos con el método de HI.

Materiales y métodos

Se estudiaron muestras de suero y de líquido cefalorraquídeo de 120 pacientes neurológicos admitidos en el Hospital Central Ignacio Morones Prieto de San Luis Potosí, SLP, México. Las muestras se dividieron en los siguientes grupos:

¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Escuela de Medicina, Departamento de Bioquímica. Dirección postal: Avda. Venustiano Carranza 2405, San Luis Potosí, SLP, 78210, México.

• Grupo A: 10 muestras de suero y de líquido cefalorraquídeo de pacientes internados con hernia de disco lumbar que se tomaron como control negativo.

• Grupo B: 17 muestras de líquido cefalorraquídeo y 14 muestras de suero de pacientes con cisticercosis cerebral diagnosticada por neurocirujanos sobre bases clínicas tales como cefalea, convulsiones, alteraciones visuales o auditivas y falta de equilibrio; pruebas de laboratorio (líquido cefalorraquídeo con alto nivel de proteínas, Pandy positivo, hipoglucorraquia, eosinofilia); tomografía axial computadorizada, y, en ciertas ocasiones, mediante intervenciones quirúrgicas. Las muestras obtenidas en estos últimos casos se enviaron al Departamento de Patología para la confirmación histológica del parásito.

• Grupo C: 93 muestras de líquido cefalorraquídeo y 50 de suero de pacientes con enfermedades del sistema nervioso central crónicas, subagudas y agudas tales como neurosífilis, meningitis tuberculosa, hemorragia cerebral, hematoma cerebral, trombosis cerebral, tumores intracraneos, síndrome de Guillain-Barré, criptococosis cerebral, meningitis bacteriana y meningoencefalitis causada por agentes no identificados.

Las muestras de suero y de líquido cefalorraquídeo se probaron con el método de HI descrito por Téllez Girón *et al.* (6) y con una adaptación del método ELISA comunicado por Diwan *et al.* (3) que utiliza p-nitrofenil fosfato como sustrato. Se empleó una dilución del suero de 1:20 en lugar de 1:50; la lectura final se hizo en forma visual y, además, se transfirió la solución colorida a la celda de un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod 35 común en muchos laboratorios. A dicha solución se añadió 1,9 ml de NaOH 2M, para lograr un volumen que pueda leerse en un espectrofotómetro a 405 nm. En todos los casos se incluyeron controles de sustrato, conjugado y muestras positivas y negativas. Como sugieren Arambulo *et al.* (2),

el antígeno de cisticerco se preparó de un extracto de larvas completas para evitar reacciones cruzadas.

Resultados

Con el método ELISA ninguna de las muestras de los grupos A y C presentaron un color apreciable y el rango de las lecturas espectrofotométricas, absorbancias, fue de 0,006 a 0,090; por este último dato se tomó como valor umbral 0,100. Por otra parte, todas las muestras de líquido cefalorraquídeo y de suero del grupo B presentaron color apreciable y la absorbancia varió entre 0,11 y 0,725. Con el método de HI las muestras de los grupos A y C también dieron resultados negativos. A diferencia del método ELISA, en el grupo B 5 de 17 muestras (29%) dieron falsos negativos; en el caso de los sueros, 3 de 14 muestras (21%) dieron resultados falsos negativos. La aplicación de la prueba *t* a los resultados obtenidos con los métodos de HI y ELISA dio una correlación de +0,82. Los títulos de las muestras positivas en general fueron más altos con el método ELISA que con el de HI. Así, las medias geométricas en las muestras de líquido cefalorraquídeo fueron 1:505 con HI y 1:4 092 con ELISA. Para los sueros los valores fueron 1:700 con HI y 1:5 100 con ELISA.

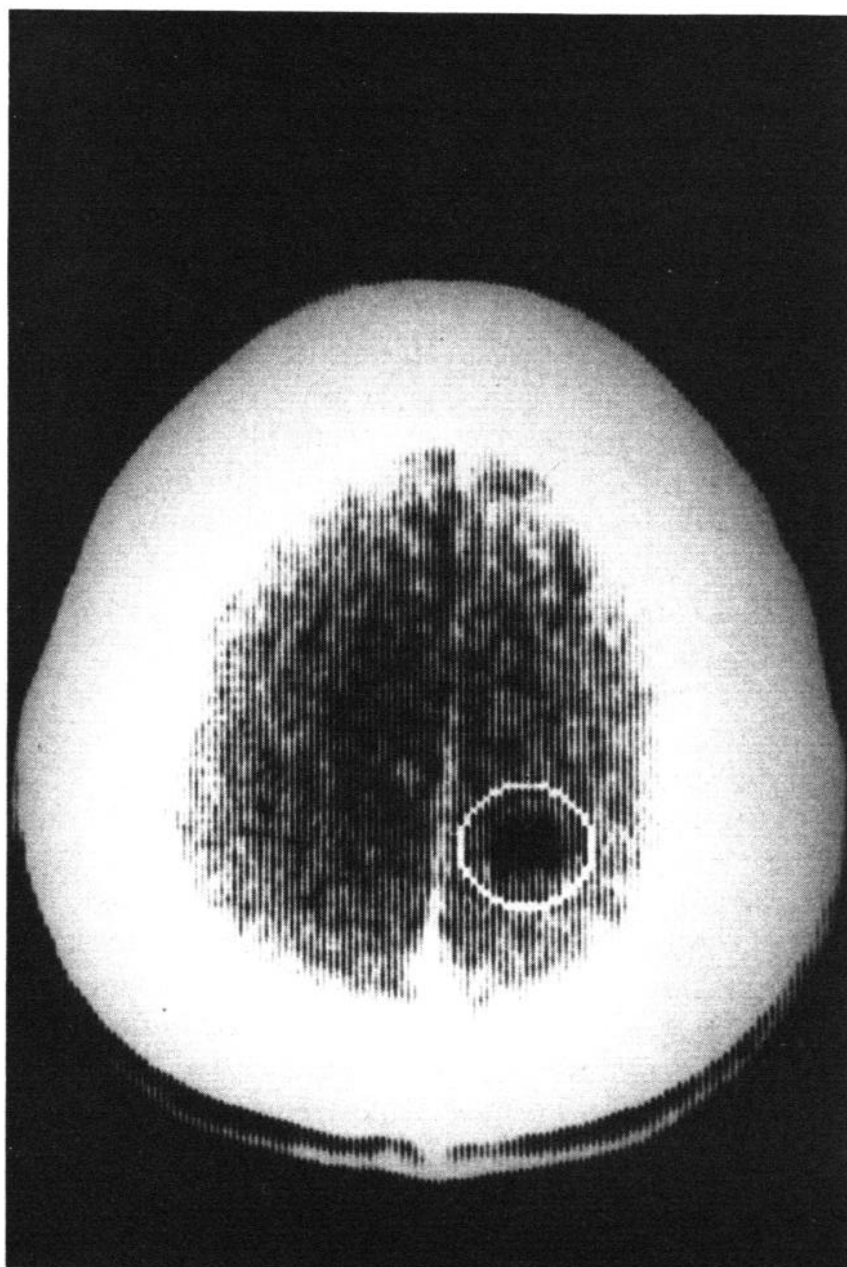
Conclusiones

Desde el punto de vista clínico el método ELISA ayuda a establecer el diagnóstico de cisticercosis cuando el enfermo no presenta una sintomatología definida. Tal fue el caso de un paciente de 25 años de edad con pequeños nódulos en la lengua, tórax y extremidades. Cinco años atrás dos nódulos semejantes se habían diagnosticado como cisticercos mediante biopsia. El paciente relató una historia antigua de teniasis no comprobada parasitológica-

mente; desde hacía cinco años padecía cefalea ocasional y no presentaba ningún otro síntoma. Un examen de líquido cefalorraquídeo que incluyó una prueba negativa para cisticercosis con HI dio resultado normal, pero cuando se aplicó el método ELISA se obtuvo un resultado positivo visual de 1:32 con una lectura espectrofotométrica de 0,335 (umbral = 0,100). Una semana después se realizó una tomografía axial computadorizada que mostró la presencia de una larva activa, según la describen diversos autores (7, 8), en el lóbulo temporal derecho (figura 1).

En caso de diagnóstico dudoso el método ELISA es útil para comprobar la enfermedad, como lo fue en un paciente de 60 años de edad, con historia de convulsiones durante 10 años y que desarrolló hipertensión intracraneana. La tomografía axial computadorizada mostró una lesión de baja densidad localizada a nivel de la cisterna magna y el cerebelo, que podría haber sido un tumor cerebeloso. El análisis de líquido cefalorraquídeo dio un resultado positivo para cisticercosis de 1:32 con HI y de 1:128 con ELISA. La absorbancia fue de 0,749. En vista de la hipertensión intracraneana

Tomografía axial computadorizada que muestra la presencia de *Cysticercus cellulosae* activo en el lóbulo temporal derecho de un paciente asintomático.



se realizó una intervención quirúrgica y se encontró un cisticerco racemoso (*Cysticercus racemosus*) que fue confirmado histopatológicamente (9).

El método ELISA es más confiable y práctico que otras pruebas inmunológicas para el diagnóstico de la cisticercosis, y más sensible que el de HI puesto que con él no se obtuvieron resultados falsos negativos en tanto que con HI se obtuvo un 29%. Este valor concuerda con las comunicaciones de otros autores que han obtenido hasta un 40% de falsos negativos (10). Por las medias geométricas de los títulos obtenidos también se deduce que el método ELISA es más sensible que el de HI, lo cual puede tener importancia práctica, sobre todo en enfermos con niveles bajos de anticuerpos o para propósitos epidemiológicos.

Si bien es cierto que pueden producirse reacciones cruzadas en sueros de enfermos con esquistosomiasis y equinococosis en aquellos países donde prevalecen estas enfermedades, la posibilidad se reduce si se utiliza el antígeno descrito por Arambulo et al. (2). El método tiene las ventajas de que no requiere equipo muy especializado, usa reactivos estables y se puede aplicar con facilidad en cualquier laboratorio. Entre las desventajas del método ELISA se debe mencionar, como señalan Espinoza et al. (4), la dificultad que tienen ciertos países para importar reactivos biológicos. Otro inconveniente común a todos los procedimientos inmunoenzimáticos es la interpretación de los resultados por el médico, quien debe ser informado de los valores normales, umbral, e índices de absorbancias de cada laboratorio.

Con todo, por su sencillez y economía el método ELISA se recomienda como primer paso en el diagnóstico de la cisticercosis ya que, junto con la tomografía axial

computadorizada, puede contribuir al diagnóstico del 100% de los casos. Cuando se pueda adquirir el equipo automático para ELISA, este método seguramente será el adecuado para el diagnóstico de la cisticercosis. Por último, cabe señalar que debido al pequeño número de casos investigados es difícil llegar a una conclusión definitiva y es probable que se requiera una confirmación posterior; no obstante, los resultados son un estímulo para continuar trabajando con este método en el control de la cisticercosis.

Resumen

La frecuencia elevada de cisticercosis en países en desarrollo y sus efectos patológicos y económicos señalan la necesidad de contar con una prueba satisfactoria para diagnosticar esta enfermedad. En el Hospital Central Ignacio Morones Prieto de San Luis Potosí, SLP, México, se realizó un estudio en el que se comparó la sensibilidad del ensayo inmunosorbente enzima conjugada (ELISA) con la del método de hemaglutinación indirecta (HI), para diagnosticar la cisticercosis. Por medio de ambos métodos se analizaron muestras de líquido cefalorraquídeo y de suero de 120 pacientes neurológicos que se dividieron en dos grupos control y un grupo de 17 casos de cisticercosis cerebral confirmada. Las muestras de los grupos control resultaron negativas con ambos procedimientos, pero en el grupo de enfermos de cisticercosis con el método de HI se obtuvo 29% de resultados falsos negativos, en tanto que con ELISA no se obtuvo ninguno. Se concluye que el método ELISA es más sensible que el de HI puesto que con él no se lograron resultados falsos negativos ni positivos; sin embargo, en vista del pequeño número de casos investigados no es posible llegar a una conclusión definitiva. ■

REFERENCIAS

1. Flisser, A., Pérez-Montfort, R. y Larralde, C. The immunology of human and animal cysticercosis: a review. *Bull WHO* 57(5):839-856, 1979.
2. Arambulo III, P. V., Walls, K. W., Bulloch, S. y Kagan, I. G. Serodiagnosis of human cysticercosis by microplate. *Acta Trop (Basel)* 35:63-67, 1978.
3. Diwan, A., Coker-Vann, M., Brown, P., Subianto, D. B., Yolken, R., Desowitz, R., Escobar, A., Gibb, C. y Carleton, D. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibody to cysticerci of *Taenia solium*. *Am J Trop Med Hyg* 31:364-369, 1982.
4. Espinoza, B., Flisser, A., Plancarte, A. y Larralde, C. Immunodiagnosis of human cysticercosis: ELISA and immunoelectrophoresis. In: Flisser, A., Willms, K., Laclete, J. P., Larralde, C., Ridaura, C. y Beltran, F. eds. *Cysticercosis*. New York, Academic Press, 1982. pp. 163-170.
5. Voller, A., Barlett, A. y Bidwell, D. E. Enzyme-immunoassays for parasitic diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 70:98-106, 1976.
6. Téllez Girón, E. y Ramos, M. C. Un método inmunológico para el diagnóstico de cisticercosis cerebral. *Acta Cient Potosina* 8:319-331, 1978.
7. Botero, D. y Castano, S. Treatment of cysticercosis with praziquantel in Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 31(4):810-821, 1982.
8. Wiederholt, W. C. y Grisolla, J. S. Cysticercosis. An old scourge revisited. *Arch Neurol* 39:533, 1982.
9. Berman, J. D., Beaver, P. C., Cheever, A. Q. y Quindien, E. A. Cysticercus of 60 milliliter volume in human brain. *Am J Trop Med Hyg* 30:616-619, 1981.
10. Mahhajan, R. C., Chopra, J. S. y Chitbara, M. B. Comparative evaluation of indirect hemagglutination and complement fixation test in serodiagnosis of cysticercosis. *Indian J Med Res* 63:121-125, 1975.

ELISA diagnosis of cysticercosis (Summary)

The high frequency of cysticercosis in developing countries and its pathologic and economic impact point up the need for a satisfactory test to diagnose the disease. A study conducted at the Ignacio Morones Prieto Central Hospital in San Luis Potosí, SLP, Mexico, compared the sensitivity of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect hemagglutination (IH) in diagnosing cysticercosis. Both methods were used to analyze cerebrospinal fluid and serum samples of 120 neurologic patients who were divided into two

control groups and one group of 17 confirmed cases of cysticercosis. The samples of the control groups were negative with both procedures, but false negative results were obtained among 29% of the cysticercosis group using IH, while no such results were produced by ELISA. Although tests indicate that ELISA is more sensitive than IH, since no false diagnoses, either positive or negative, were obtained with it, the small number of cases examined is insufficient to make such results conclusive.

Aplicação do método ELISA para o diagnóstico de cisticercose (Resumo)

A alta frequência da cisticercose nos países em desenvolvimento e seus efeitos patológicos e econômicos ressaltam a necessidade de contar com um teste satisfatório para diagnosticar essa

doença. No Hospital Central Ignacio Morones Prieto de San Luis Potosí, SLP, México, fez-se um estudo no qual se comparou a sensibilidade do ensaio imunosorvente enzima-conjugada

(ELISA) com a do método de hemaglutinação indireta (HI), para diagnosticar a cisticercose. Usaram-se os dois métodos para analisar amostras de líquido cefalorraquidiano e de soro de 120 doentes neurológicos que se dividiram em dois grupos controle, e um grupo de 17 casos de cisticercose cerebral confirmada. As amostras dos grupos controle foram negativas com ambos procedimentos, porém, no grupo de

doentes de cisticercose, usando o método de HI obtiveram-se 29% de resultados falsos negativos. Por outro lado, usando o ELISA não se obteve nenhum. Conclui-se que o método ELISA é mais sensível que o de HI, visto que com ele não se obtiveram resultados falsos negativos nem positivos; embora, em vista do pequeno número de casos pesquisados não seja possível chegar a uma conclusão definitiva.

Diagnostic de la cysticercose par la méthode d'ELISA (Résumé)

Le nombre élevé de cas de cysticercose dans les pays en voie de développement, les effets pathologiques et leurs répercussions économiques sont suffisants pour justifier la mise au point d'un test pour le diagnostic de cette maladie. A l'hôpital central Ignacio Morones Prieto de San Luis Potosí, SLP, Mexique, la sensibilité d'une technique de titrage avec immuno-adsorbant lié à une enzyme (ELISA) a été comparée avec celle d'une technique d'hémagglutination indirecte (HI). Les échantillons de liquide céphalorachidien et de sérum de 120 malades neurologiques, divisés

en deux groupes contrôle et un groupe de 17 cas de cysticercose cérébrale, ont été analysés à l'aide des deux techniques. Aussi bien l'ELISA que l'HI ont donné des résultats négatifs dans le cas des échantillons contrôle. Par contre, l'ELISA n'a donné aucun faux négatif lors de l'examen des cas de cysticercose cérébrale alors que l'HI en a donné 29%. La technique d'ELISA est plus sensible que l'HI puisqu'elle n'induit pas à l'estimation de résultats faux positifs ou faux négatifs. Il n'est cependant pas possible de parvenir à une conclusion définitive en vue du nombre restreint de cas examinés.