

Estudo imunológico em uveítes supostamente toxoplasmóticas

Análise do humor aquoso e do soro de pacientes com uveíte posterior ativa supostamente toxoplasmótica e em pacientes normais, pelas reações de imunofluorescência indireta e imunoenzimática (ELISA).

Euripedes Figueiredo Alessandri¹; Fernando Oréfice²; Evaldo Nascimento³; Fausto Gonçalves de Araujo⁴

I. INTRODUÇÃO

Os avanços nas técnicas de diagnóstico, associados a um conhecimento mais racional por parte dos clínicos e patologistas, têm mostrado a vasta distribuição da toxoplasmose humana. Essa doença apresenta uma extensa variedade de manifestações patológicas, assumindo ainda toda uma gama de espectros clínicos. Isto faz com que pacientes acometidos por ela sejam vistos em consultórios e enfermarias de quase todas as especialidades médicas. Um exemplo notável destas manifestações são as relacionadas com a oftalmologia, em que a toxoplasmose humana tem grande importância como a maior responsável pela retino-coroidite focal granulomatosa correspondendo à cerca de 50% de todas as infecções granulomatosas do segmento posterior do olho¹.

No Brasil, DE ABREU² e ORÉFICE³ demonstraram, respectivamente, o *Toxoplasma gondii* como responsável por 88% e 65% das uveítes posteriores granulomatosas.

A ausência de repercussão sistêmica da toxoplasmose ocular e a alta incidência de toxoplasmose-infecção na população são importantes fatores que dificultam o diagnóstico sorológico da toxoplasmose ocular. Segundo DESMONTS e alii⁴ estas deficiências possivelmente são eliminadas quando se estuda o humor aquoso pois a produção local de anticorpos no olho capacita o oftalmologista a fazer o diagnóstico preciso.

O método de ELISA ("Enzyme Linked Immunosorbent Assay") poderá vir a ser de grande aplicabilidade no imunodiagnóstico de várias doenças infecciosas e parasitárias. Esse método mostrou ser tão sensível quanto os tradicionais métodos de dosagem de antígenos e de anticorpos como a Imunofluorescência e o Radioimunoensaio e permitir a dosagem de pequenas quantidades de antígenos e anticorpos⁵.

ARAÚJO E REMINGTON⁶ utilizando o método de ELISA, destinado a detectar baixas concentrações de antígenos de *T. gondii*, demonstraram que a antigenemia era detectada em 65,2% dos pacientes com toxoplasmose adquirida aguda. A presença de antígenos não foi detectada no soro de indivíduos infectados cronicamente com o *T. gondii*. Antígenos de *T. gondii* foram ainda detectados no líquido amniótico e liquor de recém-nascidos com toxoplasmose congênita.

Baseando nos fatores expostos anteriormente, propusemo-nos a estudar o soro e o humor aquoso de 28 pacientes portadores de retinocoroidite focal granulomatosa ativa, supostamente toxoplasmótica e de 27 pacientes "normais" (sem uveíte) com os seguintes objetivos:

1. — Detectar antígenos do *T. gondii* no soro e no humor aquoso dos pacientes pela técnica de ELISA.
2. — Detectar anticorpos anti-*T. gondii* no soro dos pacientes pela técnica de Imunofluorescência indireta.

II. PACIENTES E MÉTODOS

II.1 — Pacientes

Os 55 pacientes, estudados no presente experimento, foram selecionados no ambulatório e no serviço de uveíte da Clínica Oftalmológica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. (Hospital São Geraldo).

Os pacientes foram divididos em dois grupos:

- 1) — Grupo teste — Este grupo foi constituído por 28 pacientes portadores de uveíte posterior focal aguda supostamente toxoplasmótica. Este diagnóstico foi feito devido ao aspecto clínico

¹ "Fellow" do Serviço de Uveítes do Prof. Fernando Oréfice.

² Prof. Adjunto e Chefe do Serviço de Uveítes da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

³ Mestre no Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Básicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

⁴ Cientista da Division of Allergy, Immunology and Infections Diseases, Palo Alto Medical Research Foundation Palo Alto, California, U.S.A.

Endereço para correspondência: Fernando Oréfice — Rua Espírito Santo, 1634/102 — CEP 30.000 - Belo Horizonte-MG

observado, isto é, pela presença de placas de retinocoroidites focais necróticas cicatrizadas, do tipo da toxoplasmose congênita com um ou mais focos evolutivos. O aspecto evolutivo da lesão foi observado pela presença de sinais inflamatórios na câmara anterior e no corpo vítreo além do aspecto fundoscópico. Todos os pacientes foram examinados e estudados clínica e laboratorialmente antes de qualquer tratamento sistêmico ou local (exceto midriáticos).

- 2) — Grupo Controle — Este grupo foi constituído por 27 pacientes portadores de catarata senil que seriam submetidos a tratamento cirúrgico (facetomia). Esses pacientes, além da opacidade cristaliniana, não apresentavam outras alterações oculares ou sistêmicas.

Todos os pacientes foram submetidos a um exame oftalmológico inicial com a seguinte pedéutica:

- a) — Anamnese
- b) — Medida da Acuidade Visual
- c) — Exame Biomicroscópico
- d) — Medida da Pressão Intra Ocular
- e) — Exame Oftalmoscópico

II.2 — Obtenção do humor aquoso

O humor aquoso foi obtido através de paracentese da câmara anterior conforme técnica descrita por AMSLER & VERREY⁷. O humor aquoso aspirado foi conservado em freezer a -20°C .

II.3 — Obtenção do soro

Após a paracentese da câmara anterior, os pacientes foram puncionados na veia mediana do cotovelo para colheita de 15 ml de sangue. Após a obtenção do soro por centrifugação a 1500 G durante 15 minutos, eles foram conservados em Freezer a -20°C .

II.4 — Reação Imunoenzimática — ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

Desenvolvimento do teste.

1 — Controle positivo — Como controle positivo, foi usado o exsudato peritoneal de camundongos infectados com o *T. gondii* após centrifugação a 10.000 G durante 30 minutos e filtração em Millipore (membrana de 0,45 mm) para remover células peritoneais e parasitas. O fluido peritoneal foi misturado volume/volume com soro normal, sendo usado nas diluições de 1:10 a 1:640 em tampão carbonato.

2 — Controle negativo — Como controle negativo, foi usado o soro humano negativo para *T. gondii* diluído 1/5 em PBS.

3 — Execução da reação — Um décimo de ml das diluições dos controles positivos e negativos mais um décimo de ml de cada soro e humor aquoso dos pacientes dos grupos teste e controle foram colocados nos orifícios das placas, contendo F(ab)_2 anti-*T. gondii*⁸. As placas foram incubadas durante duas horas a 37°C . Após esse tempo, foram lavadas com solução salina contendo Tween 20 três vezes sem deixar os orifícios secarem. Em seguida, adicionou-se em cada orifício 0,1 ml do conjugado, sendo novamente incubados durante uma hora a 37°C . Repetiu-se o procedimento da lavagem das placas e adicionou-se 0,1 ml do substrato em cada orifício. Após uma hora, à temperatura ambiente, a reação foi neutralizada, adicionando-se uma gota de (50 μl) de hidróxido de sódio molar (NaOH 3Ml em água destilada).

A leitura da reação foi feita por espectrofotometria, utilizando o "Automatic ELISA Reader" (Dynatech Inc. USA) com filtro para leitura a 405 nm⁶.

II.5 — Reação de Imunofluorescência indireta

Foi realizada, baseando-se no método descrito por CAMARGO⁹.

Os soros de pacientes pertencentes aos grupos teste e controle foram usados puros e nas seguintes diluições: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16.. etc. Após incubação dos soros com o antígeno durante 45 minutos a 37°C , as lâminas foram lavadas pelo PBS, secadas e uma gota do conjugado diluído foi colocado no esfregaço e novamente incubado 45 minutos a 37°C . Em seguida, as lâminas foram novamente lavadas, coloradas pelo Azul de EVANS a 1:4.000 em PBS. A leitura foi realizada usando microscópio com lâmina fluorescente HBO 200 nas objetivas 10 X e 40 X.

As reações Imunoenzimáticas (ELISA) foram realizadas pelo Professor Fausto Gonçalves de Araújo, na "Division of allergy immunology and infectious disease of Palo Alto Medical Research Foundation, Palo Alto, California"; e as reações de Imunofluorescência indireta foram realizadas no laboratório do professor Evaldo Nascimento, localizado no Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

III. RESULTADOS

III.1 — Reação de Imunofluorescência indireta

Grupo teste:

Os resultados mostrados na tabela 1 para os pacientes pertencentes ao grupo teste demonstraram que anticorpos anti-*T. gondii* foram detectados pela reação de Imunofluorescência indireta no soro de 27 pacientes dos 28 estudados, correspondendo a 96,43%, cujos títulos variavam desde soro puro até 1:4.096. Houve predominância do título de 1:256 que correspondeu a 64,28% dos soros testados; em apenas 2 pacientes (7,14%), foi observado positividade da reação em títulos mais elevados que 1:256, sendo que, em um paciente foi positiva até diluição de 1:1.024 e, em outro, até a de 1:4.096.

Grupo controle:

Os resultados mostrados na tabela 2 para os pacientes pertencentes ao grupo controle demonstraram que anticorpos anti-*T. gondii* foram detectados pela reação de Imunofluorescência indireta no soro de 20 pacientes dos 27 estudados, correspondendo a 74,10%, cujos títulos variavam desde soro puro até 1:256. O resultado mais frequente nesse grupo foi a positividade da reação até a diluição de 1:256, que foi observado em 11

pacientes (40,70%); não sendo observado nenhum paciente com título mais elevado que este. Em 6 pacientes (22,20%), a reação de Imunofluorescência foi positiva apenas no soro puro.

III.2 — Reação Imunoenzimática (ELISA)

III.2.1 — Soro

A reação Imunoenzimática foi capaz de detectar antígenos do *T. gondii* no soro de 4 pacientes (14,28%) do grupo teste (Tabela 1) e de 2 pacientes (7,40%) do grupo controle (Tabela 2). Veja Gráfico.

III.2.2 — Humor Aquoso

Os resultados da reação Imunoenzimática para antígenos do *T. gondii* nas amostras de humor aquoso dos pacientes tanto do grupo teste quanto do grupo controle (Tabela 1 e 2) foram todos negativos, com o mesmo padrão de leitura apresentado pelo controle negativo. Portanto, a reação Imunoenzimática, quando realizada no humor aquoso, não detectou a presença de antígenos do parasito em nenhum paciente como mostra as Tabelas 1 e 2.

TABELA 1

Níveis de anticorpos circulantes anti-*T. gondii* e de antígenos detectados no soro e no humor aquoso dos pacientes pertencentes ao grupo teste

Número dos pacientes (P)	Imunofluorescência indireta no soro (Título 1:)	Reação imunoenzimática (ELISA)	
		soro	humor aquoso
P 1	1024	NR***	NR
P 5,10,15,26	64	NR	NR
P 7	p*	NR	NR
P 11	4095	NR	NR
P 12	4	NR	NR
P 21	16	NR	NR
P 6	256	Reativo (1.087)*	NR
P 16	256	Reativo (1.451)	NR
P 20	256	Reativo (0.755)	NR
P 24	256	Reativo (0.049)	NR
P 2,3,4,8,9,13,14,17,18,19,22,23,25 e 28	256	NR	NR
P 27	NR	NR	NR

* Absorção em 405 nm

** p = reativo no soro puro

*** NR = não reativo

TABELA 2

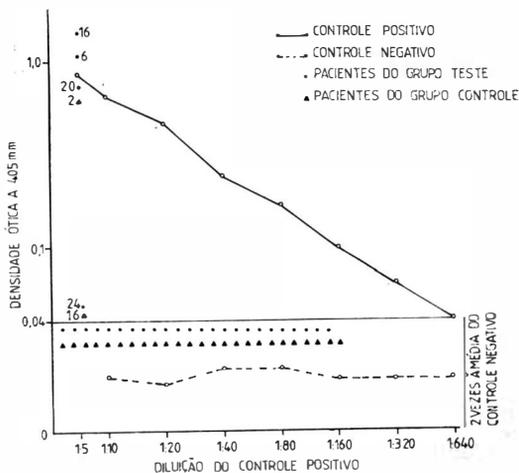
Níveis de anticorpos circulantes anti-*T. gondii* e de antígenos detectados no soro e no humor aquoso dos pacientes pertencentes ao grupo controle

Número dos pacientes (P)	Imunofluorescência indireta no soro (Título 1:)	Reação imunoenzimática (ELISA)	
		soro	humor aquoso
P 5,10,14,23	p**	NR***	NR
P 3,13	16	NR	NR
P 6	64	NR	NR
P 1,4,7,8,12,18,9,20,21,22,26	256	NR	NR
P 2	p	Reativo (0.707)*	NR
P 16	p	Reativo (0.045)	NR
P 9,11,15,17,24,25,27	NR	NR	NR

* Absorção em 405 nm

** p = reativo no soro puro

*** NR = não reativo



No gráfico acima estão indicados os resultados da reação imunoenzimática para antígenos *T. gondii* no soro dos pacientes. A linha traçada na densidade óptica 0,04 corresponde a 2 vezes a média dos resultados dos controles negativos. Resultados acima desta linha, são positivos para antígenos do parasita. Assim, os soros dos pacientes 6, 16, 20 e 24 do grupo teste e dos pacientes 2 e 16 do grupo controle são considerados positivos.

Estes resultados estão expressos em unidades de densidade óptica e a leitura do teste foi feita em um "Automatic ELISA reader" (Dynatech Inc. USA) com filtro para leitura a 405 nm.

IV — COMENTÁRIOS

IV.1 — Paracentese de Câmara anterior

Os pacientes submetidos à paracentese da câmara anterior, quando eram examinados 48 horas após, apresentavam apenas discreta cicatriz corneana linear e periférica, visualizada somente à cuidadosa biomicroscopia.

Das 55 paracenteses realizadas neste trabalho, ocorreram as seguintes complicações: o paciente 5 do grupo teste apresentou na câmara anterior, discreta hemorragia que foi totalmente reabsorvida em 48 horas, e o paciente 12, do mesmo grupo, apresentou delaminação da membrana de Descemet, acompanhada de edema local. O edema regrediu espontaneamente em uma semana.

IV.2 — Conservação do soro e do humor aquoso

O soro e o humor aquoso foram conservados em Freezer a -20°C por um período

de que variou de 4 dias a 11 meses. O material foi conservado sem nenhuma substância preservativa.

Esse período de conservação pareceu não influenciar nos resultados obtidos neste trabalho. A maioria dos trabalhos realizados, estudando soro e humor aquoso, também utilizou material conservado por período de tempo semelhante ao nosso^{10,11,12}.

Após esse período de conservação, o material foi liofilizado e enviado para execução da reação imunoenzimática no "Palo Alto Medical Research Foundation", California, Estados Unidos da América do Norte.

IV.3 — Reação de Imunofluorescência indireta

Os resultados obtidos nesse trabalho vieram confirmar que a reação de Imunofluorescência indireta para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* no soro, é um método que não permite fazer o diagnóstico de certeza da toxoplasmose ocular nem precisar o grau de atividade dessa doença^{4,13,14}.

Exemplificando as causas de falha temos:

1 — Em 74,1% dos pacientes do grupo controle, a reação de Imunofluorescência foi positiva, isto considerando como resultado positivo qualquer título encontrado, mesmo em soro puro (sem diluições).

2 — Em apenas 2 pacientes 7,14% do grupo teste, a reação de Imunofluorescência foi positiva em diluições acima de 1:256, mostrando, na maioria dos casos, que a toxoplasmose ocular (tipo infecção) não é acompanhada de títulos elevados de anticorpos no soro. Esse resultado vem enfatizar que, para o diagnóstico da toxoplasmose ocular, os títulos de anticorpos circulantes não precisam ser elevados, sendo qualquer título significativo, desde que associado à clínica^{1,4,13,15}.

IV.4 — Reação Imunoenzimática (ELISA) no humor aquoso

Como demonstraram as Tabelas 1 e 2, a reação para antígenos de *T. gondii*, realizada nas amostras de humor aquoso de todos os pacientes, apresentou resultados não reativos. Descartamos a possibilidade de ocorrer qualquer suspeita com relação ao mau funcionamento da reação, uma vez que ela foi controlada por reagentes padronizados previamente, incluindo soros controles reativos e não reativos. Porém, é possível que a liofilização do material tenha alterado os antígenos que pudessem estar presentes no humor aquoso; tal alteração, possivelmente, não ocorreria no soro, porque os antígenos ou estariam sob a forma de complexos, portanto com seus sítios de ligações bloqueados, ou seriam protegidos pela alta

concentração de proteínas, principalmente a albumina.

A maioria dos trabalhos publicados sobre o estudo do humor aquoso em toxoplasmose ocular pesquisou a concentração de anticorpos anti-*T. gondii* e a sua relação com os anticorpos no soro^{10,11,12,14,16}. Entretanto encontramos apenas 1 trabalho na literatura que se propôs a estudar antígenos do *T. gondii*, pelo método de ELISA, no humor aquoso e no soro em toxoplasmose ocular. Com esse propósito TABBARA¹⁷ estudou o soro e os fluidos oculares (humor aquoso e corpo vítreo), obtidos de olhos de coelhos com retinocoroidite toxoplasmática induzida experimentalmente, e não detectou antígenos de *T. gondii* em amostras de humor aquoso, mas foram detectados no corpo vítreo, nas proximidades de lesões retinocoroidianas em atividade. Sendo assim, nossos resultados constituem os primeiros relatos sobre a detecção de antígenos na câmara anterior de pacientes com suspeita de toxoplasmose ocular.

Os resultados do estudo do humor aquoso e a sua comparação com os obtidos no soro têm sido decepcionantes e surpreendentes: AMSLER & VERRY⁷ isolaram microorganismos no humor aquoso em apenas raríssimos casos. WITMER¹¹ obteve resultados satisfatórios em apenas 10% dos pacientes submetidos à paracentese para a análise do humor aquoso. No presente trabalho, não conseguimos detectar antígenos de *T. gondii* no humor aquoso, de 28 pacientes com quadro clínico muito sugestivo de toxoplasmose ocular aguda com reação na câmara anterior.

Concordamos com RAHI¹⁸, quando disse que as investigações imunológicas em uveítes apesar de resolverem alguns problemas etiológicos, desmascararam várias outras aberrações imunes, que são difíceis de explicar.

V. — CONCLUSÕES

1. — A reação de Imunofluorescência indireta para toxoplasmose foi positiva no soro de 74,10% dos pacientes do grupo controle. Esse grupo foi constituído por pacientes portadores de catarata senil, que não apresentavam outras alterações oculares, nem história ou alterações sistêmicas sugestivas de toxoplasmose.

2. — A reação de Imunofluorescência indireta para toxoplasmose foi positiva no soro de 96,43% dos pacientes do grupo teste. Esse grupo foi constituído por pacientes com quadro clínico muito sugestivo de toxoplasmose ocular em atividade. Em apenas 7,14% desses pacientes a reação foi positiva em títulos superiores a 1:256.

3. — Antígenos de *T. gondii* foram detectados pela reação Imunoenzimática (ELISA) no soro de 14,28% dos pacientes do grupo teste e no soro de 7,40% dos pacientes do grupo controle.

4. — A reação Imunoenzimática (ELISA) para antígenos de *T. gondii* realizada nas amostras de humor aquoso de todos os pacientes, (grupo teste e grupo controle) apresentou resultados não reativos.

5. — Os resultados obtidos com a reação Imunoenzimática (ELISA), no sentido de detectar antígenos de *T. gondii*, quer no soro, quer no humor aquoso de pacientes com suspeita de toxoplasmose ocular em atividade, não trouxeram nenhum esclarecimento diagnóstico. Entretanto, mais estudos devem ser feitos para avaliar o real valor de reação Imunoenzimática (ELISA) para antígenos no imunodiagnóstico de toxoplasmose ocular.

RESUMO

A toxoplasmose ocular é uma importante causa de uveítes em todo o mundo. Apesar de sua importância em oftalmologia, ainda existem vários fatores que dificultam seu diagnóstico de certeza, o que impossibilita estimar sua real incidência.

Uma abordagem racional desse problema é o estudo comparativo do humor aquoso e o do soro em pacientes suspeitos clinicamente de toxoplasmose ocular. Os trabalhos existentes na literatura pesquisaram a concentração de anticorpos anti-*T. gondii* no humor aquoso e no soro por vários métodos; parece-nos que este é o primeiro trabalho publicado que pesquisou a presença de antígenos de *T. gondii* no humor aquoso e soro em toxoplasmose ocular humana.

Foram examinados um total de 55 pacientes, divididos em dois grupos: grupo teste, constituído por 28 pacientes portadores de uveítes posteriores aguda supostamente toxoplasmática e grupo controle, constituído de 27 pacientes portadores de catarata senil. Foi realizada reação de Imunofluorescência indireta para anticorpos anti-*T. gondii* no soro e a reação Imunoenzimática (ELISA) para antígenos de *T. gondii* no humor aquoso e no soro de todos os pacientes.

Anticorpos anti-*T. gondii* foram detectados pela reação de Imunofluorescência indireta no soro de 96,43% dos pacientes do grupo teste e de 74,10% dos pacientes do grupo controle.

Antígenos de *T. gondii* foram detectados pela reação Imunoenzimática (ELISA) no soro de 14,28% dos pacientes do grupo teste e no soro de 7,40% dos pacientes do grupo controle.

A reação Imunoenzimática para antígenos de *T. gondii* quando realizada no humor aquoso, não detectou a presença de antígenos em nenhum paciente.

SUMMARY

Ocular toxoplasmosis is an important etiology of uveitis all over the world. Literature review shows that, despite its importance in ophthalmology, there are still some facts which make it hard to be diagnosed with certainty, making it difficult to estimate its real incidence.

A rational approach of this problem is the comparative study of aqueous humor and serum, in patients clinically suspected of having ocular toxoplasmosis. Those works written in literature have researched the antibody anti-*T. gondii* concentration in the aqueous humor and in the serum, through several methods; it seems to us, that this is the first work published which has researched the presence of *T. gondii* antigens in the

aqueous humor and in the serum of human ocular toxoplasmosis.

A total of 55 patients were examined, divided in two groups: the test group of 28 patients with acute posterior uveitis supposedly caused by toxoplasmosis and, a control group of 27 patients with senile cataracts. An indirect immunofluorescence reaction for antibodies anti-*T. gondii* in the serum and also the "Enzyme Linked Immunosorbent Assay" (ELISA) for antigens of *T. gondii* in the aqueous humor and in the serum of all the patients were performed.

Antibodies anti-*T. gondii* were detected by the indirect immunofluorescence reaction in the serum of 96,43% of the patients in the test group and in the serum of 74,10% of the patients in the control group.

Antigens of *T. gondii* were detected by the "Enzyme Linked Immunosorbent Assay" (ELISA) in the serum of 14,28% of the patients in the test group and in the serum of 7,40% of the patients in the control group.

The "Enzyme Linked Immunosorbent Assay" (ELISA) for antigens of *T. gondii* when performed with the aqueous humor didn't detect the presence of any antigens of the parasite in any of the patients.

REFERÊNCIAS

1. TABBARA, K. F. — Management of ocular toxoplasmosis. In: The Francis I. Proctor Foundation of Research in Ophthalmology & Department of Ophthalmology University of California. The Proctor Symposium on Clinical Management of Infections Diseases of the eye. San Francisco, 1981. p. 194-210.
2. DE ABREU, M. T.; HIRATA, P. S.; BELFORT, R. J. & DOMINGUES, S. — Uveítes em São Paulo: estudo epidemiológico, clínico e terapêutico. Arq. Bras. Oftalmol. 43: 10-6, 1980.
3. OREFICE, F. — Síndrome do olho vermelho. In: MARRA, U. D. — Medicina ambulatorial. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1982. Cap. 80, p. 494-505.
4. DESMONTS, G.; BARON, A.; OFFRET, G.; COUVREUS, J. & LELONG, M. — La production locale d'anticorps au cours des toxoplasmosis oculaire. Arch. Ophthalmol. 20: 137-45, 1960.
5. VOLLER, A.; BIDWELL, D. E. & BARTLET, A. — Enzyme Immunoassay in diagnostic medicine: theory and practice. Bull. W.H.O., 53: 55-65, 1976.
6. ARAÚJO, F. G. & REMINGTON, J. S. — Antigenemia in recently acquired toxoplasmosis. J. Infect. Dis., 141: 144-50, 1980.
7. AMSLER, M. & VERRY, F. — De l'utilité pratique de la ponction de la chambre antérieure. Ophthalmologica, 105: 144-50, 1943.
8. ENGVALL, E. & PERLMANN, P. — Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): quantitative assay of immunoglobulin G. Immunochemistry, 8: 871-4, 1971.
9. CAMARGO, M. E. — Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 6: 117-8, 1964.
10. DESMONTS, G. — Definitive serological diagnosis of ocular toxoplasmosis. Arch. Ophthalmol., 76: 839-51, 1966.
11. WITMER, R. — Clinical implications of aqueous humor studies in uveitis. Am. J. Ophthalmol., 86: 39-46, 1978.
12. GOICHOT, E. L. & MICHEL, E. B. — Intérêt de l'étude détaillée de la sérologie quantitative de l'humeur aqueuse pour le diagnostic de la toxoplasmosis oculaire: A propos de 180 cas. J. Fr. Ophthalmol., 3: 21-6, 1980.
13. JACOBS, L.; COOK, M. K. & WILDER, H. C. — Serologic data on adults with histologically diagnosed toxoplasmic chorioretinites. Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Oto-laryngol., 58: 193-9, 1954.
14. HAUT, J. & CAMPINCHI, T. — The Laboratory. In: CAMPINCHI, R.; FAURE, J. P.; BLOCH-MICHEL, E.; HAUT, J. — Uveitis, Springfield, Charles G. Thomas, 1973. p. 263-306.
15. BELFORT, R. J.; HIRATA, P. S. & DE ABREU, M. T. — Uveítes; estudo de 250 casos consecutivos. Arq. Bras. Oftalmol. 41: 193-9, 1978.
16. CAMPINCHI, R.; BRASNU, C.; TRABELSI, S. & DUFIER, J. L. — Notions récentes sur la rétinocoroidite toxoplasmique. J. Fr. Ophthalmol., 1: 377-84, 1978.
17. TABBARA, K. F. — Developments at the Ralph, M. and SOPHIE K. Heintz Laboratory. Proctor Bull., 4: 1-3, 1981.
18. RAHI, A. H.; HOLBOROW, E. J.; PERKINS, E. S.; GUNGEN, Y. Y. & DINNING, W. J. — Immunological investigation in uveites. Trans. Ophthalmol. Soc. U.K., 96: 113-22, 1976.