

Viroses oculares

diagnóstico clínico e laboratorial

Jacó Lavinsky *

O diagnóstico das patologias oculares de etiologia viral, é freqüentemente dificultado, seja pelo polimorfismo das lesões, seja pela pouca utilização dos recursos laboratoriais disponíveis.

O nosso propósito neste trabalho é apresentar um roteiro sistemático para o diagnóstico das viroses oculares, que compreende o diagnóstico presuntivo, clínico e laboratorial.

1. DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO

— Ausência de lesão supurativa, com exame bacteriológico negativo.

— Hemograma pode revelar leucopenia, diminuição dos polimorfonucleares e aumento dos linfócitos.

— E, finalmente, o estudo citológico conjuntival revela um aumento de células mononucleadas em relação com polimorfonucleares.

2. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

VÍRUS DNA

I — POXVIRIDAE

I.1. Variola-vacinia:

VARÍOLA: Aparece após a manifestação cutânea sistêmica, comprometendo inicialmente as pálpebras. Podendo ocasionar, em seguida, conjuntivite e hemorragia conjuntival, pústulas corneanas e raramente envolvimento uveal; quando isto ocorre pode deixar vitiligo iriano¹.

VACÍNIA: Quando ocorre inoculação accidental no olho o processo é muito grave, levando à ulceração da pálpebra, conjuntivite severa e ceratite disciforme, pústulas e infiltrações marginais com neovascularização da córnea, raramente neurite ou uveíte.

I.2. Molusco Contagioso:

Os nódulos podem ocorrer na pele das pálpebras ou na margem palpebral. E nesta última localização pode se depositar no saco conjuntival, causando conjuntivite ou ceratite.

II — HERPETOVIRIDAE

II.1. Herpes Simplex:

PRIMO-INFEÇÃO: Em recém-nascidos, o comprometimento ocular é adquirido

no trato genital infectado, aparecendo mais freqüentemente uma blefaroconjuntivite com vesículas na margem palpebral e por terem o seu agente proveniente da área genital, se devem ao Tipo II. Em crianças maiores e em adultos, a primo-infecção ocular pode aparecer como blefarite, com vesículas na margem da pálpebra e às vezes com conjuntivite, em dois terços dos casos com lesão corneana. A lesão cutânea lembra o H. Zoster e, se existir dermatite atópica, pode ocorrer sob forma generalizada, chamada de eczema herpético².

INFEÇÃO SECUNDÁRIA (RECURRENTE):

Blefarite e conjuntivite: As vesículas da pálpebra podem ser muito pequenas, freqüentemente passam despercebidas e têm uma evolução semelhante à lesão labial; já a conjuntivite, que normalmente se acompanha da blefarite, é do tipo folicular aguda.

FORMAS CORNEANAS SUPERFICIAIS:

Ceratite dendrítica: É a lesão ocular mais freqüente; normalmente o paciente refere dor ocular, sensação de corpo estranho, lacrimejamento e fotofobia e, ao exame, observamos uma ulceração típica, linear, arborescente com ramificações, e seus bordos, depois de corar com fluoresceína, parecem descolados (fig. 1)³.



Fig. 1 — Ceratite dendrítica por Herpes Simplex.

Além da forma dendrítica típica, as lesões superficiais podem aparecer como microerosões puntiformes, úlceras menores

* Professor Assistente do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

(forma estelar ou aureolar, ou microdendrítica).

A sensibilidade corneana está muito diminuída em contraste com a dor que o paciente refere.

Ceratite geográfica ou amebóide: geralmente se deve à progressão da forma dendrítica levando à ulceração epitelial mais ampla com bordos irregulares. Tem um curso clínico normalmente mais longo que a dendrítica e, em muitos casos, se devem ao uso impróprio de corticóides.

Úlceras epiteliais indolentes: são defeitos epiteliais relativamente grandes, que geralmente estão associados com ceratites herpéticas profundas ou com úlceras geográficas tratadas. Ocorre anestesia corneana profunda e pela perda do epitélio, existe um acentuado edema da córnea, com dobras na membrana de Descemet e ceratite bolhosa.

Em paciente com ceratites estromais severas, a necrose dos tecidos profundos leva também à necrose epitelial, deixando úlceras redondas ou ovais, relativamente profundas com bordos abruptos chamados de **ceratite metaherpética**.

FORMAS CORNEANAS PROFUNDAS:

Ceratite disciforme: ocorre no estroma corneano devido a uma reação imunológica, em que o paciente apresenta acentuada baixa de acuidade visual, sem dor e com uma lesão discóide, com perfil biconvexo, comprometendo o parênquima do centro da córnea. Tem como característica, o espetacular resultado no seu tratamento, quando usado colírio de cortisona, confirmando o fato de ser de origem imunitária e não devido à ação própria do vírus, onde estaria absolutamente contraindicado o colírio com cortisona ⁴.

Ceratites focais profundas: foco localizado de inflamação pode ocorrer em qualquer nível dentro do estroma corneano, podendo ocasionalmente se tornar necrótico e se associar com perda do epitélio corneano suprajacente. Estes focos são ocasionalmente acompanhados por edema localizado, pregas na M. de Descemet e precipitados ceráticos.

Ceratite estromal difusa: em paciente com infecção herpética ocular prévia, as camadas profundas do estroma corneano podem estar difusamente afetadas, geralmente sem as lesões superficiais típicas. Isto geralmente ocorre depois do uso de corticóides.

Todas as formas de ceratite estromal podem levar ao adelgaçamento da córnea, e em alguns casos a inflamação corneana de repetição pode chegar a necrose e afetar a substância corneana e a M. de Descemet exposta (descemetocelose) e, finalmente, perfurar.

IRIDOCICLITE HERPÉTICA: A inflamação da uvea anterior geralmente ocorre por extensão de um processo corneano ou na ausência deste ⁵. Clinicamente, no primeiro caso, as manifestações são variáveis, desde discreta hiperemia, exudatos e precipitados ceráticos até formas mais graves onde podem ocorrer pregas na M. de Descemet, aumento da pressão intra-ocular e hifema ⁶. Já na irite primária temos a íris edematosa, hifema, hipopion e dores agudas ⁷. Em trabalho por nós realizado experimentalmente, constatamos em cobaias uma significativa participação imunológica na gênese das manifestações clínicas ⁸.

II.2. Varicela-Zoster:

VARICELA: nas pálpebras podem ocorrer lesões semelhantes às que ocorrem em outras áreas do corpo, começando por erupção macular com edema que em horas se tornam pápulas e vesículas. Já na conjuntiva, uma reação inflamatória catarral discreta, que normalmente cura sem seqüelas mas, se formar vesículas, surgirão pústulas e ulcerações.

Na córnea, o mais freqüente é um edema próximo à região límbica, com vascularização. Em raros casos, lesões epiteliais e parenquimatosas (disciforme) com iridociclite. Pode ocorrer ainda, iridociclite de leve e severa, com finos precipitados ceráticos, exudatos fibrinosos.

Finalmente, foi descrito como ocorrências raras, glaucoma, coriorretinite exudativa focal, neurite óptica, atrofia óptica, envolvimento do 5.º e 6.º pares cranianos oftalmoplegia interna.

HERPES ZOSTER: o Herpes Zoster afeta o ramo oftálmico do nervo trigêmio, geralmente unilateral, somente em poucos casos bilateral. Em relação à freqüência, o comprometimento desta área se encontra em segundo lugar, porque o primeiro é o zoster torácico.

A doença tem como sinais e sintomas prodrômicos a astenia, cefaléia, febre e náusea, seguido de dor na zona dermatológica, antes do surgimento da erupção.

— **Erupção cutânea:** a erupção segue o trajeto retilíneo do nervo afetado, com grupos de papulas eritematosas. Estas papulas se tornam vesículas e, raramente, bolhas. O líquido vesicular, inicialmente claro, fica opaco pelo acúmulo de leucócitos; nas áreas formam-se crostas, que dessecam e curam dentro de semanas. Ficam cicatrizes e maiores, se ocorrer remoção das crostas ou infecção secundária.

A pele circundante é eritematosa, edematosa, e levemente endurecida. O edema pode se estender além da linha mediana da pálpebra e envolver a pálpebra oposta. A

hiperestesia pode ser tão intensa que fica impossível examinar o olho. Pode ocorrer entropion, triquiase por cicatrização da pálpebra (Fig. 2).



Fig. 2 — Erupção cutânea por Herpes Zoster. (Ilustração Prof. Paulo Galvão).

— **Conjuntivite:** transitória, geralmente do tipo papilar, raramente folicular.

— **Ceratouveíte:** é raro o comprometimento corneal e uveal a menos que o nervo nasociliar esteja comprometido e, se ocorrer, aparecerá junto com vesículas na ponta ou no lado do nariz. Podendo aparecer com aspecto dendrítico, embora mais elevado e sem extremidades arredondadas como no Herpes Simplex, ou com opacidades estromais pequenas e com margens definidas, ou também sob a forma disciforme.

A irite geralmente ocorre com as ceratites, podendo entretanto se manifestar sem ceratite. Chama a atenção a perda da sensibilidade corneana que pode persistir por 6 a 12 meses.

— **Glaucoma:** pode ser severo, ou ocorrendo o aumento de P.O. somente no início e baixando depois.

— **Distúrbios motores:** pseudoptose, devido ao aumento do peso da pálpebra superior ou devido à fotofobia associada à ceratite. Pode haver comprometimento do 3.º,

4.º e 6.º pares cranianos, com limitação dos músculos que inervam; usualmente, a função retorna em dois meses, aproximadamente.

— **Exoftalmo:** proptose com paralisia dos músculos extra-oculares, quemose e edema palpebral. Esta complicação pode simular celulite orbitária.

A neuralgia post-herpética pode ser muito intensa.

II.3. Citomegalovírus:

As manifestações vistas nos recém-nascidos dependem da fase em que ocorreu a infecção; portanto, se antes ou depois da organogênese. Podendo levar a sinéquias anteriores, associadas com catarata, fragmentação do epitélio pigmentar da íris, gliose das fibras nervosas, hemorragias periféricas extensas, neovascularização da camada de células ganglionares da retina e necrose retiniana, microftalmia, pseudocolobomas retinianos e atrofia ótica. E, em 1/4 dos casos com citomegalovírus tem coriorretinite unilateral, associada com a prematuridade.

II.4. Mononucleose Infecciosa:

Pode ocorrer edema palpebral e de tecido periorbitário, conjuntivite com hipermia, hemorragias subconjuntivais, foliculos e papilas, pseudomembranas e granulomas.

Ainda episclerite nodular, ceratite epitelial ou parenquimatosa com vascularização, uveíte granulomatosa e, menos frequentemente, papiledema, edema e hemorragias retinianas.

III — ADENOVIRIDAE:

As manifestações oculares principais, são a febre faringo-conjuntival, conjuntivite folicular, ceratoconjuntivite epidêmica e, raramente, lesões endoculares.

III.1. Febre faringo-conjuntival:

Após um período de incubação, de 2 a 10 dias, encontramos principalmente nasofaringite, conjuntivite folicular e febre, e adenopatia geralmente sub-maxilar. Podendo ainda ocorrer coriza, distúrbios gastrointestinais ou meningismo⁹, cefaléia, otite catarral e queda do estado geral¹⁰. Se deve mais comumente ao adenovírus tipo 3, podendo, entretanto, ser devido aos tipos 4 e 7.

III.2. Conjuntivite folicular:

Inicialmente, unilateral, e, usualmente, envolve o fornix inferior; segue-se o comprometimento do olho contra-lateral de uma forma mais branda, podendo estar presente adenopatia preauricular.

III.3. Ceratoconjuntivite epidêmica:

Causada principalmente pelo adenovirus tipo 8, com conjuntivite folicular no fornix inferior, edema na prega semilunar e carúncula, quemose, petéquias e equimose. Na córnea uma ceratite caracterizada por infiltrados sub-epiteliais discretos, pequenos e redondos, localizados na área pupilar que desaparecem em semanas ou meses sem deixar, normalmente, seqüelas (Fig. 3).

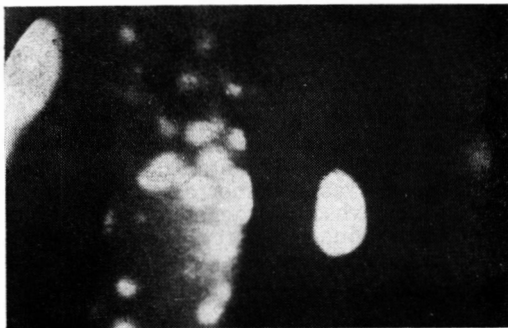


Fig. 3 — Cerato conjuntivite epidêmica por Adenovirus.

Nesta condição o envolvimento sistêmico pode faltar, ou, principalmente se em crianças, com manifestações discretas.

IV — PAPOVAVIRIDAE:

VERUGA: quando localizado na margem palpebral, a lesão causa mecanicamente uma ceratoconjuntivite discreta.

VÍRUS RNA

I — PARAMIXOVIRIDAE

I.1 — Sarampo:

Nas fases iniciais ocorre conjuntivite catarral aguda, na maioria dos casos. Depois aparecem as manchas de Koplik na boca, conjuntiva, carúncula e prega semi-lunar, injeção conjuntival, lacrimejamento e fotofobia. Como complicações, podem ocorrer: neurite ótica, ceratite e paralisia dos músculos extra-oculares.

I.2. Parotidite epidêmica (cachumba):

Ocorre comumente um edema corneano transitório, com diminuição da acuidade visual, sem sinais inflamatórios oculares. Pode haver uveíte ou inflamação da glândula lacrimal e, como sinal de envolvimento meníngeo, neurite ótica ou paralisia de pares cranianos.

II — TOGAVIRIDAE

II.1 — Rubéola:

Catarata usualmente completa e bilateral, microftalmia, glaucoma, coriorretinite e atrofia iriana.

3. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Como no diagnóstico de infecções bacterianas, existem três maneiras fundamentais para a identificação dos vírus no laboratório:

- Evidenciação direta do vírus (microscopia)
- Isolamento do vírus (cultura)
- Testes imunológicos

COLETA DE MATERIAL:

O material infectado pode provir das secreções lacrimais e conjuntivais, da escarificação de úlceras corneanas, do líquido de elementos eruptivos palpebrais e, finalmente, do Humor Aquoso.

O isolamento do vírus com atividade requer a coleta do material de forma correta, preservação adequada, escolha de animais suscetíveis para inoculação e o cultivo em tecidos apropriados.

A coleta deve ser o mais precoce possível, antes de qualquer tratamento. Deve ser feita em condições estéreis e englobando pre que possível os elementos celulares, por escarificação corneana ou conjuntival; em outras ocasiões utilizando-se um pequeno bastonete, com algodão na extremidade, para coletar o material.

A coleta do material deve ser realizada, de preferência, no laboratório, mas, em caso contrário, o produto será colocado em suspensão de 1 ml de Solução de Hanks ou outro meio de cultura de tecido, adicionando concomitantemente antibiótico e antifúngicos para evitar contaminação secundária. No caso específico do Humor Aquoso a remessa é feita sem diluir¹¹.

Nos casos em que há suspeita de vírus frágeis, como o Herpes ou Varicela-Zoster, se impõe uma refrigeração com gelo seco ou neve carbônica, colocados no interior de uma embalagem isotérmica. Já os Adenovirus, Vacinia e Variola podem ser expedidos a temperatura ambiente, tendo, entretanto, o cuidado de reduzir ao mínimo o tempo de transporte.

EVIDENCIAÇÃO DIRETA DO VÍRUS:

Os vírus podem ser identificados por microscopia eletrônica, assim como por imunofluorescência, onde os antígenos virais podem ser localizados em células contamina-

das. E ainda por microscopia convencional podem ser vistas as alterações histopatológicas determinadas pelos vírus.

Com a microscopia eletrônica o resultado é obtido com maior rapidez, porém exige uma equipe laboratorial treinada para esta técnica.

A imunofluorescência é um método específico, que permite a exteriorização, inclusive, das formas virais incompletas ou não virulentas e, em oftalmologia, é empregada principalmente para o diagnóstico do Herpes e Adenovirus. Para o Herpes utiliza-se o material proveniente da escarificação de lesões superficiais e Humor Aquoso nos casos em que há lesões profundas; já para o diagnóstico do Adenovirus, o material provém da escarificação conjuntival.

ISOLAMENTO DO VÍRUS:

Os vírus podem crescer em células de cultura ou de animais. A identificação é baseada na natureza do efeito citopático produzido em células de cultura. Para uma identificação positiva, é necessário ainda uma tipagem sorológica do material isolado ¹².

As informações clínicas guiarão a escolha do sistema celular, ou seja, animal, ovo de galinha embrionado ou tecidos de cultura e, assim, o material coletado é posto em contato com as células sensíveis ao vírus em suspeição.

O exame consiste na observação do efeito citopático, que é a degeneração e necrose destas células em consequência da multiplicação viral.

Muitos vírus têm efeito citopático característico, permitindo um diagnóstico presuntivo rápido, em particular quando se conhece a síndrome clínica. Os Adenovirus, além do efeito citopático, induzem ao agrupamento de grandes células redondas como racimos de uvas; já o Herpes Simplex produz um estímulo para que as células fiquem mais redondas e uniformes.

Pode-se ainda utilizar a inoculação do material na córnea de animais sensíveis (coelho), seja por escarificação (Teste de Grütter) ou, simplesmente, por instilação; como resultado, obtém-se uma ceratite típica.

Para o Herpes a cultura em células é preferida, podendo-se isolar o vírus em 60 a 70% dos casos de ceratites epiteliais ativas, especialmente em ceratites dendríticas e geográficas; nas ceratites intersticiais e metaherpéticas quase sempre a cultura é negativa. O efeito citopático ocorre 2 a 5 dias após a inoculação. (Foto 4).

Os vírus Varicela-Zoster são coletados a partir do líquido das vesículas no início da erupção, e teremos o efeito citopático a partir do 8.^o dia.

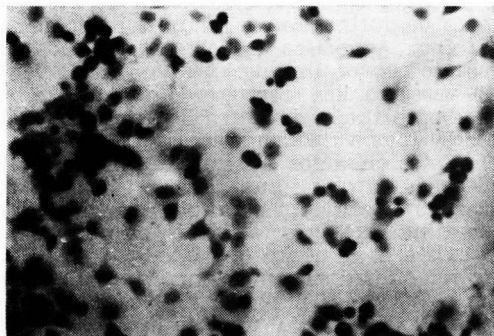


Fig. 4 — Efeito citopático em células de cultura produzido pelo vírus Herpes Simplex.

Finalmente, os Adenovirus são isolados a partir de esfregaços conjuntivais ou faríngeos e o efeito citopático aparece somente 4 a 6 semanas depois.

Além do efeito citopático, a multiplicação dos vírus promovem a formação de **corpos de inclusão** característicos, que podem estar no citoplasma, núcleo ou em ambos, dependendo do vírus que os tenha produzido. Além da localização, ajudam também para o diagnóstico, as variações de coloração destes corpos de inclusão, pois alguns são basofílicos e outros eosinofílicos.

Os corpos de inclusão produzidos pelos Herpes e Adenovirus são intra-nucleares, sendo os primeiros eosinofílicos e os segundos basofílicos; já os produzidos pelo tracoma são intracitoplasmáticos e basofílicos.

A sua origem é controversa, supondo-se que sejam conseqüentes da reação celular à infecção ou colônias virais ¹³.

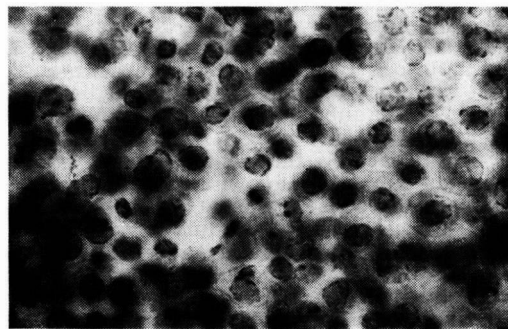


Fig. 5 — Corpos de inclusão nucleares eosinofílicos (corpos de Lipschütz) devido a infecção pelo vírus Herpes Simplex.

TESTES IMUNOLÓGICOS:

SOROLOGIA: Consiste na identificação no soro do paciente de anticorpos específicos para um vírus em particular. Os testes mais usuais são: a fixação de complemento, hemaglutinação, neutralização, precipitação, aglutinação e imunofluorescência.

O diagnóstico sorológico é positivo quando ocorre uma ascensão do título (quatro vezes maior) comparada à amostra coletada no início da infecção com outra coletada duas a três semanas após.

Estes métodos apresentam algumas limitações, já que o aumento do título de anticorpos ao antígeno viral pode ser muito pequeno nas infecções oculares, ou porque, caso exista o aumento do título, pode não estar relacionado ao problema imediato, mas sim a infecções pregressas. Para afirmar o papel etiológico do vírus, devemos ter um aumento do título de anticorpos relacionados à evolução da doença¹⁴.

Nos casos de suspeita de Herpes Simplex pesquisa-se anticorpos séricos por fixação de complemento ou neutralização. Estes testes têm especial valor nas primo-infecções ou nas infecções secundárias, se ocorrer um aumento da taxa de anticorpos, comparando o início da infecção com duas a três semanas após. No Humor Aquoso são postos em evidência em muito pequenas quantidades, mas um coeficiente apreciável é visto em casos de uveíte ou de ceratites intersticiais.

TESTES CUTÂNEOS: Têm interesse principalmente no diagnóstico das ceratites intersticiais e profundas, principalmente em trabalhos experimentais, pouco utilizados no homem.

Consiste na injeção cutânea do antígeno viral e na observação da reação (eritema e induração) 24 e 48 horas após.

A interpretação se faz pela medida da reação, assim como a observação da ocorrência de reação síndrome de atenuação ou de agravação.

TESTE DO MIF OU LIF: É aceito como o melhor teste para o estudo da imunidade celular in vitro. Permite verificar a atividade dos Linfócitos T, especificamente, pela medida de um de seus mediadores (linfocinas), que é o fator de inibição de Macrófagos (MIF) ou de Leucócitos (LIF). A quantificação é feita comparando as medidas da migração dos macrófagos ou leucócitos, com ou sem contato com o antígeno viral que se esteja pesquisando.

Este método foi descrito pela primeira vez por Rich & Lewis (1932). Os métodos mais empregados são os do tubo capilar (George & Vaughan, 1962)¹⁵ e da gota de agarose (Harrington & Stastny, 1973)¹⁶, onde se observa a inibição da migração promovida pelo contato com antígeno, em

volta da extremidade de um tubo capilar ou de uma gota de agarose, respectivamente.

RESUMO

O autor apresenta o presente trabalho abordando os diferentes aspectos clínicos e laboratoriais para o diagnóstico das viroses oculares. Para esta finalidade inicia pela sugestão de aspectos clínicos para o diagnóstico presuntivo.

Seguem na apresentação, os diferentes quadros clínicos oculares das diferentes viroses oculares, causadas pelos vírus relacionados a seguir: Variola-Vaccinia; Mollusco Contagioso; Herpes Simplex; Varicela-Zoster; Citomegalovírus; Mononucleose Infecciosa; Adenovírus; Sarampo; Rubéola.

E, finalmente, aborda as possibilidades de confirmação laboratorial do diagnóstico, empregando os métodos de evidência direta do vírus, isolamento do vírus por cultura e os testes imunológicos.

SUMMARY

The author presents this work, talking about the different clinical and laboratory aspects to the diagnosis of the ocular viruses.

To this, he begins suggesting clinical aspects to the presumptive diagnosis.

It follows in the presentation the different clinical findings of the different ocular viruses, related below: Variola Vaccinia; Molluscum Contagiosum; Herpesvirus Simplex; Varicella-Zoster; Cytomegalovirus; Mononucleosis; Adenovirus; Measles; Rubella.

And finally, the talks about the possibilities of the laboratory confirmation of the diagnosis, using the methods of direct evidence of the virus and isolation of the virus by culture and immunological tests.

BIBLIOGRAFIA

1. VERIN, P. — Pathologie infectieuse. — II — Pathologie virale. Arch. Ophth. 30: 337-335, 1970.
2. DAWSON, C. R. & TOGNI, B. — Herpes simplex eye infections: clinical manifestations, Pathogenesis and Management. Surv. Ophthalmol. 21: 121-135, 1976.
3. ULLERN, M. — Formes superficielles de l'herpes cornéen. Revue Chibret D'ophtalmologie, 89: 39-49, 1978.
4. POULIQUEN, Y. — Formes profondes de l'herpes cornéen. Revue Chibret D'ophtalmologie, 89: 51-63, 1978.
5. KIMURA, S. J. — Herpes simplex uveitis: A clinical and experimental study. Tr. Am. Ophth. Soc. 60: 440-470, 1962.
6. DENIS-LASSALLE, J. — Uveites virales. In: L'uvéite phénomènes immunologiques et allergiques. Paris, Masson & Cie, 1970, Editeurs.
7. BIETTI, G. B. — Le rôle des virus dans l'étiologie des uveïtes. Docum. Ophthal. XIV: 135-165, 1960.
8. LAVINSKY, J. — Uveite experimental com vírus do Herpes simplex (VHS I) em cobaias: estudo clínico e imunológico. Tese, Belo Horizonte, 1975.
9. FEDUKOWICZ, H. B. — Viruses, External infections of the eye, 2a. ed., New York, 1978, Appleton-Century-Crofts.
10. NEWELL, F. W. & ERNEST, J. T. — Infectious ocular diseases and granulomas, Ophthalmology, Principles and concepts — 3a. ed., Saint Louis, 1974, The C. V. Mosby Company.
11. DENIS, J. — Keratites virales — Encycl. Méd. Chir., Paris, Ophtalmologie, 3-1974, 21200 — D-20.
12. FENNER, F. J. & WHITE, D. O. — Medical Virology — 2a. ed., New York, 1976, Academic Press.
13. SUITE, T. — Microbiology of the eye — 3a. ed., Rochester, 1964, American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology.
14. ACTON, J. D.; KUCERA, L. D.; MYRVIK, Q. N.; EISER, R. — Virologia, 1a. ed. esp. Mexico, 1977, Nueva Editorial Interamericana, S.A.
15. GEORGE, M. & VAUGHAN, J. H. — In vitro cell migration as a model for delayed hypersensitivity. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111: 514-521, 1962.
16. HARRINGTON, J. R. Jr. & STASTNY, P. — Macrophage migration from an agarose droplet: development of a micromethod for assay of delayed hypersensitivity. J. Immunol. 110: 752-759, 1973.