

ASPECTE NOI IN ETIOLOGIA HEPATITEI EPIDEMICE

I. László, Sanda Munteanu, Iuliana Both, A. Sebe, V. Filep, Susana Almási

Cu toate cercetările minuțioase din ultimele decenii și în ciuda rezultatelor obținute, problema etiologiei în hepatita epidemică nu este unitară nici până azi. În majoritatea comunicărilor (10, 12, 1, 14, 16), se aduc argumente suficiente în legătura cu rolul virusurilor izolate în etiologia hepatitei, dar rămân pe mai departe divergențe de păreri referitor la virusul „adevărat” al hepatitei (21).

Virusurile izolate până în prezent din hepatită se pot împărți în două grupe:

1. Virusuri care sînt identice sau înrudite serologic cu unul dintre virusurile cunoscute (ECHO-, REO-, Myxo-, Adeno-virusuri).

2. Virusuri necunoscute pînă acum cum sînt Haemovirusurile descrise de *Mc Lean* (14,) virusul *Fa* izolat de *Ward* și colab. (17), virusurile izolate de *László* și colab. (9, 10, 11, 12) sau virusurile izolate de *Jézéquel* și *Steiner* (6).

Deoarece în ultimii ani mai mulți cercetători au izolat adenovirusuri din materiale patologice provenite de la bolnavi de hepatită (7, 8, 19) rolul etiologic al acestora în declanșarea hepatitei a ajuns pe prim plan, fără însă ca aceasta să rezolve divergențele de păreri existente în etiologie.

În lucrarea de față am urmărit să dăm o scurtă privire de ansamblu asupra cercetărilor efectuate de noi referitor la etiologia hepatitei, în perioada 1965—1967. Printre altele ne-am fixat ca temă de cercetat, elucidarea eventualului rol etiologic în declanșarea hepatitei, al adenovirusurilor și al virusurilor hepatitice asociate cu adenovirusuri.

Material și metodă

1. Pentru izolarea virusurilor am folosit metodele publicate anterior (9, 10, 12). Virusurile R. V9, V6, 163 S, izolate de noi în 1962 le-am cultivat pe linia celulară Detroit 6 (VA) (13), care în cursul cercetărilor s-a dovedit cea mai corespunzătoare în acest scop (22). Pentru comparare am trecut tulpinile de virus, atât cele noi cit și cele vechi, pe cultură de rinichi de maimuță (RI CA) și de embrion uman (REU). (Aceste linii le-am primit de la Institutul de inframicrobiologie al Academiei RSR).

Titrul virusurilor l-am calculat după formula lui Reed-Muench

2. Cercetarea comportării virusurilor izolate față de căldură

Suspensia de virus cu titru stabilit a fost tratată la 60° C timp de 30 și 60 și la 65° C timp de 30', după care s-au stabilit din nou titrurile prin inoculare pe linia D6 (VA).

3. Experiențe de imunofluorescență

Dintre metodele care se întrebunțează am folosit metoda directă (15). Serul specific față de virusul R izolat de noi l-am obținut de la iepuri tratați în prealabil. La marcarea serului specific am folosit izothiocianatul de fluoresceină. Localizarea antigenului viral a fost studiată pe linii celulare D6 (VA) infectate cu virusul respectiv, cu ajutorul microscopului de cercetare MC-1 (IOR București).

4. Cercetări serologice.

Cu ajutorul reacției de fixare a complementului, am stabilit titrul anticorpilor față de virusurile hepatitice și adeno- din serul bolnavilor de hepatită după

metoda descrisă într-o lucrare anterioară (9). Ca antigen am folosit virusul hepatic R cultivat pe linia celulară D6 (VA), virusurile H (Moscova), Rc și tipul 3 de adenovirus.

Pentru punerea în evidență a anticorpilor precipitanți față de virusurile hepatice și adeno, am folosit metoda precipitării în agar (5).

5. Experiențe pe animale.

Am examinat separat în două serii de experiențe patogenitatea pentru animale a așa numitelor virusuri hepatice și a unui virus hepatic asociat cu un adenovirus auxiliar (helper virus 1. engl.).

1. În cercetările preliminare am studiat pe 36 cobai, rolul etioninei în declanșarea hepatitei experimentale și concomitent am cercetat acțiunea simultană a virusurilor hepatice și a adenovirusurilor asupra ficatului de cobai.

O parte dintre animalele de experiență, după tratare prealabilă cu etionină 1% (1 ml etionină 1% i. p. 8 zile), au primit virus hepatic R (DCP 50 = 0,2 ml din diluția de virus 10⁻⁴); după 3 luni li s-a administrat suspensie de adenovirus tip 3 (DCP 50 = 0,2 ml din diluția de virus 10⁻⁶). Animalele au fost sacrificate la 7 luni după ultima inoculare. În cadrul experienței de mai sus au fost inoculate 8—8 animale după cum urmează:

- grupa: cobai inoculați cu virus R.
- grupa: cobai inoculați cu adenovirus tip 3.
- grupa: cobai inoculați cu etionină.
- grupa: cobai inoculați cu virusurile R + adeno
- 4 cobai sănătoși.

Ficatul animalelor sacrificate a fost studiat din punct de vedere histopatologic.

2. În parrea a doua a experiențelor am inoculat 32 hamsteri (*Cricetus auratus*). La cultivarea virusurilor folosite pentru inoculare am folosit metoda descrisă mai sus, cu excepția virusurilor adeno 3 + V9 H și 226 + V9 H care pentru hibridizare au fost cultivate împreună în modul următor:

— după infectarea liniilor celulare D6 (VA) cu adenovirus tip 3 și respectiv cu virus 226, la trei ore s-a făcut infectarea acestora cu virusul V9 H (DCP 50 = 0,2 ml din diluția de virus 10⁻⁶).

Datele experiențelor efectuate pe animalele de laborator sînt redată schematic în tabelul de mai jos:

Notarea grupei	Nr. animalelor inoculate	Virusul folosit la inoculare	Locul inoculării și cantitatea inoculată	Timpul dintre inoculare și sacrificare	Decese spontane	Nesacrificate
A	5	R	1 ml i. p. 2 X	1 lună	1	—
B	3	V9	"	"	—	—
C	3	Adeno ₁	"	"	1	—
D	7	226	"	"	—	—
E	5	Adeno ₁ + V9H	"	"	1	—
F	7	226+V9H	"	"	—	3
G	—	—	—	—	2*	—

Observație: animalele notate cu * au fost de asemenea sacrificate

Rezultate

1 Rezultatele izolării și cultivării virusurilor sint cuprinse în tabelul nr. 1.

A) Efectul citopatic al virusurilor pe linia D ₆ (VA)						B) Efectul citopatic al virusurilor pe linia R ₁ CA						C) Efectul citopatic al virusurilor pe linia REU		
R	V9	V6	163	226	Adeno ₁	R	V9	V6	163	226	Adeno ₁	R	V9	226
+	+	+	-	k	+	+	-	-	+	+	-	+	k	+
+	+	+	+	k	+	+	-	+	-	k	-	k	k	+
+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	k	-	k	k	+
+	+	k	k	+	+	+	k	k	+	k	-	k	k	+
+	+	+	-	k	+	k	+	-	k	k	-			
k	+	k	+	+	+	+	k	k	k	k	-			
k	+	+	-	+	+	+	k	k	k	k	-			
+	-	+	+	+	+									
+	+	+	+	+	+									
+	k	k	+	+	+									
+	-	k	k	+	+									
+	k	k	k	+	+									
+	k	+	+	+	+									

Observație: + = efect citopatic; - = lipsa efectului citopatic; k = efect citopatic dubios, greu de apreciat.

Constatarea noastră referitoare la multiplicarea virusurilor pe diferitele culturi celulare sint următoarele:

a) Pe linia celulară D₆ (VA) virusurile produc efect citopatic evident în medie după 7.1 zile (13). Uneori acest fenomen dispare pentru a reapare în pasaje următoare. Dintre virusurile studiate acest fenomen poate fi observat la tulpinile R, V9, V6 și în special la tulpina 163. În cazul tulpinii 226 cu ocazia primelor pasaje efectul citopatic este greu de apreciat însă se stabilizează ulterior. La microscopul electronic această tulpină prezintă caracteristicile adenovirusurilor. Menționăm că efectul citopatic manifestat de virusurile izolate de noi, prezintă maximum de intensitate în a 10-a, 14-a zi de la inoculare.

b) Efectul citopatic produs de tulpinile izolate de noi pe linia rinichi de maimuță — notată R₁ CA — este inconstant, fapt observat mai ales în cazul tulpinii 226.

Adenovirusul tip 3 nu produce efect citopatic pe această linie.

c) Pe linia rinichi de embrion uman (REU), virusurile hepatice nu produc modificări apreciable cu excepția agentului transmisibil similar adenovirusurilor — virusul 226.

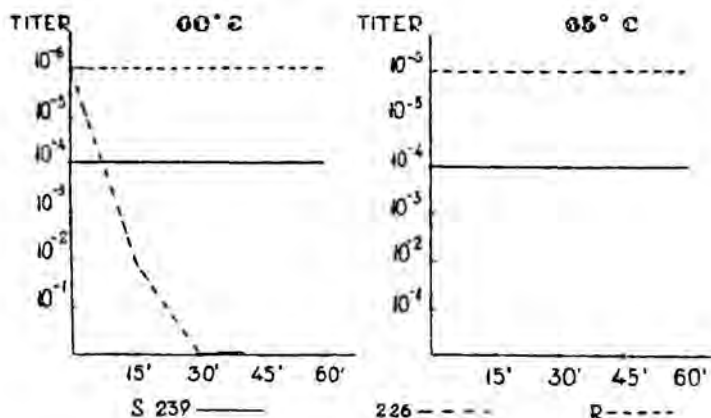
Titrul virusurilor izolate (0.2 ml din diluție conținând DCP 50) oscilează între 10⁻⁴ și 10⁻⁶ (la S 239 este 10⁻⁴, la virusurile R, 163 și la tulpinile 226, V9 și V6 este 10⁻⁶).

Titrarea s-a efectuat pe linia Detroit 6 (VA). Este interesant fenomenul produs de tulpina R care în diluția 10⁻⁶ produce un efect citopatic mai intens decât în concentrații mai mari.

2. Cercetarea comportării virusurilor izolate, față de căldură.

Intrucât și în cercetările noastre anterioare am observat că virusurile hepatice izolate de noi manifestă o termorezistență relativă (9) și pornind de la ideea că această însușire se modifică în cursul pasajelor, am determinat din nou comportarea lor față de temperaturile ridicate.

Rezultatele obținute sint cuprinse în graficul de mai jos:



Din cele trei tulpini examinate, virusul S 239 nu-și schimbă titrul nici după o oră la 60°C (titrul DCP 50 = 0,2 ml 10^{-4}), la fel se comportă și tulpina R (titrul rămâne constant după tratarea de 30' la 65°C). Tulpina 226 însă după 15' la 65°C își modifică titrul la 10^{-2} , iar după 30' își pierde efectul citopatic.

3. Experiențe de imunofluorescență.

Urele celule din cultura Detroit 6 (VA), infectate cu virusul S 239 în prezența serului specific anti-R, prezintă fluorescență măreată, mai ales la nivelul citoplasmei. Menționăm că și în culturile celulare infectate și tratate ulterior cu acridin-orange, acumularea ARN se observă în citoplasmă.

La celulele infectate cu virusul 226 nucleul prezintă o fluorescență mai măreată fapt observat și la celulele infectate cu tulpina R. Pentru ca fenomenul descris să aibă loc, trebuie să existe o înrudire serologică între virusurile R. 226 și S 239.

4. Cercetări serologice.

În tabelul 2 este cuprins titrul anticorpilor fixatori de complement față de adenovirusuri (Adeno 3. H și R_c) și de virusul hepatitic R, proveniți din serul a 16 bolnavi de hepatită, 19 donatori de sînge sănătoși și 12 donatori cu disproteinemie. Din serul celor 16 bolnavi de hepatită am determinat și prezența anticorpilor precipitanți față de adenovirusuri (tabelul nr. 2).

Din rezultate reiese că la doi din cei 16 bolnavi de hepatită, în ser nu s-au găsit anticorpi fixatori de complement față de adenovirus, și la unul față de virusul hepatitic R. Din experiențe se desprinde și faptul că prezența anticorpilor precipitanți nu este în corelație cu titrul anticorpilor fixatori de complement.

La indivizi cu disproteinemie, reacția de fixare a complementului a dat rezultate negative, față de adenovirusuri în 3 cazuri, iar față de virusul hepatitic R într-un singur caz. În serul celor 19 donatori de sînge aparent sănătoși, s-au pus în evidență anticorpi fixatori de complement față de virusul adeno în 11 cazuri și față de virusul hepatitic R în 10 cazuri.

5. Experiențe pe animale.

1. În experiențele preliminare am reușit să constatăm următoarele:

— Deși cobaii nu reacționează clinic la infecția cu produse patologice sau virus hepatitic, după tratare prealabilă cu etionină, în ficatul animalelor infectate, au apărut modificări histopatologice considerabile ca: infiltrații poli- și mononucleare în parenchimul hepatic, acumularea pigmentilor biliari, și balonizarea celulelor etc.

Dispariția totală a structurii hepatice și distrugerea masivă a parenchimului hepatic, a fost constatată în urma suprainfectării cu adenovirus, a animalelor în prealabil inoculate cu virus hepatitic. Acest fenomen nu este general deoarece a fost observat numai la 2 din cele 8 animale infectate.

În ficatul animalelor inoculate numai cu virus R sau adeno 3 nu s-au produs modificări caracteristice hepatitei.

2. Modificările hepatice, constatate pe baza tabloului histopatologic, la hamsterii inoculați în cursul seriei a 2-a de experiențe, sînt următoarele:

Dintre virusurile hepatitice, virusul R a determinat cele mai evidente modificări hepatice; la patru din cele cinci animale inoculate cu virus R, aceste modificări se manifestă prin hemoragii și alterații celulare întinse. La un animal de experiență, modificările sînt așa de marcate încît, între zonele de necroză și de infiltrație celulară, cu greu se pot găsi cîteva celule hepatice întegre. Credem că, destrucțiunile produse de această tulpină, se datoresc efectului patogen propriu tulpinii, care manifestă și o patogenitate umană marcată (9).

Virusul V9 produce de asemenea zone de necroză, însă modificările nu sînt așa de accentuate ca în cazul virusului R. Leziuni asemănătoare celor produse de virusurile hepatitice se observă și în cazul inoculării animalelor cu tipul 3 de adenovirus și cu tulpina 226. În cazul infectării animalelor cu adenovirus asociat cu tulpina V9 H, infiltrațiile celulare din ficat sînt mult mai extinse apărînd chiar și fascicule de țesut conjunctiv printre trabeculele hepatice.

Modificări asemănătoare, produce și virusul 226 asociat cu tulpina V9 H.

Din cele de mai sus reiese că virusul hepatitic în asociație cu un adenovirus produce în ficatul hamsterilor cele mai grave modificări, în timp ce fiecare din cele două virusuri inoculate separat, produce destrucții celulare mai reduse. Destrucții celulare apar și în cultura Detroit 6 (VA) în cazul infectării simultane cu cele două virusuri.

Discutarea rezultatelor

Cu ocazia studierii proprietăților morfologice, biologice și serologice ale virusurilor izolate din cazuri de hepatită, am ajuns la concluzia că aceste virusuri sînt diferite de cele cunoscute pînă în prezent (9, 10, 11).

Lucrările apărute, în ultimii ani, ca cea a lui Jézéquel și Steiner (6) sau a lui Babudieri și colab. (1), confirmă observațiile noastre publicate anterior. Jézéquel și Steiner observă în culturi de celule atît modificări citoplasmice cît și nucleare. Virusurile izolate de ei, ca mărime, se deosebesc foarte puțin de cele observate de noi în culturile celulare infectate cu produse patologice recultivate de la bolnavi cu hepatită.

Dimensiunea virusurilor după Babudieri ar fi 20, după Jézéquel 24, și după rezultatele noastre 15 milimicroni (9).

Dispariția efectului citopatic și reparația acestuia în pasajele următoare s-ar putea explica prin apariția fenomenului de autointerferență (13).

După Wagner (20), în cursul infecției virotice din cauza caracterului intermitent al producerii de interferon și al reproducerii virusurilor, efectul citopatic poate să dispară.

Instabilitatea efectului citopatic, este una din caracteristicile cultivării virusurilor hepatitice pe linii celulare standard.

Din materialul experimental de pînă acum, am izolat în trei cazuri virusuri corespunzătoare adenovirusurilor, dar alți autori ca Teoharova și colab.



Fig. nr. 1.

Fig. nr. 1. Agenți similari adeno-virusurilor izolate din hepatită (tul-pina 226). Mărime: 16.500 x, viru-suri localizate în nucleul celulei D-6 (VA).

Fig. nr. 2: Bandă de precipitație în jurul antigenului adeno-3 în prezența serurilor de la bolnavi de hepatită

Fig. nr. 3: Fluorescență în cito-plasma celulelor D-6 (VA) infec-tate cu virusul S₂₃₀ sub acțiunea serului specific anti-R. Ob. im. 90 x, Oc. 10 x.

Fig. nr. 4. Modificări asemănătoare cu cele din hepatită în ficatul hamsterilor inoculați cu virusul hepatitic R. Ob. 10 x, Oc. 10 x.



Fig. nr. 2.



Fig. nr. 3.

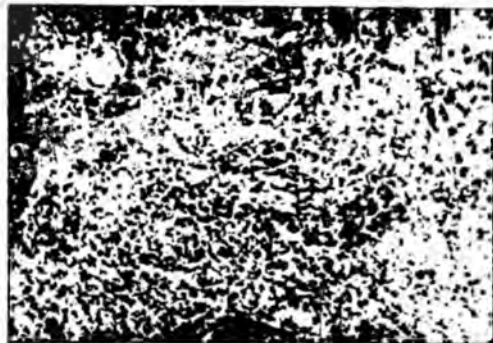


Fig. nr. 4.



Fig. nr. 5: Ficat de hamster inoculat cu virusul Vg. Ob. 10 x. Oc. 10 x.

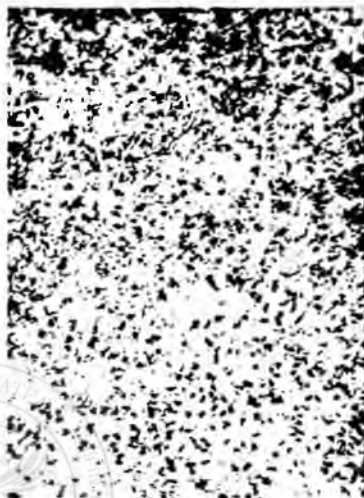


Fig. nr. 6: Ficat de hamster inoculat cu virus adeno-3. Ob. 10 x. Oc. 10 x.

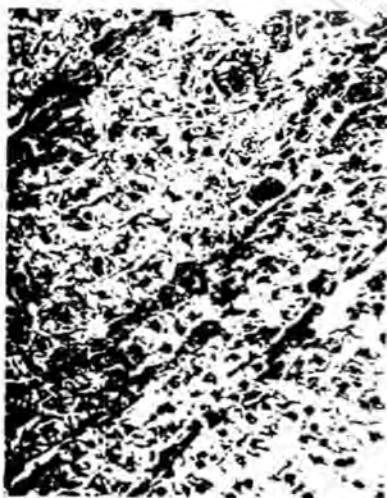


Fig. nr. 7: Ficat de hamster inoculat cu virusurile adeno-3 + VgH. Apariția elementelor țesutului conjunctiv. Ob. 40 x. Oc. 10 x.



Fig. nr. 8: Ficat de hamster inoculat cu virusurile 226 + VgH. Focare de necroză. Ob. 20 x, Oc. 10 x.

Tabelul nr. 2.

Serul cercetat	Titrul anticorpilor fixatori de complement în serul bolnavilor de hepatită față de virusurile				Anticorpi precipitanți față de virusul Adeno ₃
	Adeno ₃	H	Rc.	R (hep).	
212	1/128	1/64	1/64	1/64	negativ
213	negativ	negativ	negativ	1/2	pozitiv
214	negativ	negativ	negativ	1/128	pozitiv
215	1/128	1/128	1/128	1/128	negativ
216	1/256	1/128	1/128	1/128	pozitiv
217	1/64	1/16	1/16	1/128	pozitiv
218	1/256	1/128	1/512	1/128	pozitiv
219	1/128	1/128	1/128	1/64	negativ
220	1/32	1/4	1/4	1/64	pozitiv
221	1/8	1/2	1/4	1/64	pozitiv
222	1/2	negativ	1/2	1/128	pozitiv
223	1/512	1/512	negativ	1/128	pozitiv
224	1/4	1/2	1/2	1/128	pozitiv
225	1/8	1/2	1/4	1/128	pozitiv
226	1/8	1/16	1/16	1/128	pozitiv
233	1/8	1/8	1/16	negativ	pozitiv

Serul examinat	Titrul anticorpilor fixatori de complement în serul donatorilor cu disproteinemie față de virusurile	
	Adeno ₃	Virusul hepatitic R
17	1/8	1/32
18	1/8	1/8
19	1/2	1/8
20	1/4	1/32
21	negativ	1/4
22	negativ	negativ
23	1/128	1/64
24	1/16	1/64
25	1/32	1/128
26	1/128	1/128
27	1/8	1/128
28	1/64	1/64

Serul examinat	Titrul anticorpilor fixatori de complement în serul donatorilor de sînge aparent sănătoși față de virusurile			v hep. R.
	Adeno ₃	Virusul hepatitic R.	Adeno ₃	
29	negativ	negativ	42. negativ	1/2
30	negativ	negativ	43. 1/4	1/32
31	1/2	negativ	44. 1/32	1/128
32	negativ	negativ	45. 1/8	1/32
33	1/4	1/128	46. 1/8	negativ
34	1/2	1/2	47. 1/32	1/128
35	1/16	1/32		
36	1/32	1/64		
37	1/32	1/128		
38	negativ	negativ		
39	negativ	negativ		
40	1/16	1/64		
41	1/128	1/128		

(19), *Kerim-Zade* (8) și *Köhler* și colab. (7), raportează izolarea unui număr mai mare de adenovirusuri din cazurile de hepatită. Izolarea unui număr mare de agenți corespunzători adenovirusurilor, face necesară elucidarea rolului pe care îl au aceștia în producerea hepatitei.

Pe baza cercetării materialului experimental, se pare că adenovirusurile au un anumit rol în etiologia hepatitei. Deoarece, în materialele de biopsie provenite de la bolnavii de hepatită, la examinări electronmicroscopice, nu s-au găsit nici o dată elemente corespunzătoare adenovirusurilor tipice, față de aceasta, două din virusurile izolate de noi, au disociat în prezența glutathionului în două particule — una de 15 și alta de 90 milimicroni, se pare că virusurilor hepatitice, care și în cazul experiențelor clasice de filtrare s-au dovedit cu mult mai mici decât adenovirusurile, li se asociază adenovirusuri.

Se pare că, în etiologia hepatitei, adenovirusurile nu au un rol primordial, ci de virus auxiliar („helper virus“). În acest caz virusurile hepatitice se comportă ca virusuri defective. În literatura de specialitate, o serie de articole se ocupă de problema virusurilor defective, a căror cunoaștere vine în sprijinul presupunerilor noastre. După *Butel* și *Rapp* (3) agentul MAC defectiv se multiplică numai în prezența adenovirusului ajutător, observație asemănătoare semnalează și *Casto* și colab. (4) la AAV-1 (Adeno-Associated-Virus), și *Rowe* și *Baum* (16) în legătură cu reproducerea virusului hibrid al adenovirusului tip 7 și al virusului SV 40 — E 46“.

Examinările serologice au confirmat apariția anticorpilor — față de adenovirusuri în hepatită, care în multe cazuri coincide cu apariția anticorpilor față de virusurile hepatitice.

Cercetările de imunofluorescență, admit concluzii referitoare la localizarea antigenelor în celulă, cât și la existența unui anumit grad la înrudire serologică între virusurile hepatitice și adenovirusuri.

Din faptul că, la hamsteri virusul hepatitic asociat cu un adenovirus, produce modificări hepatice mult mai însemnate decât fiecare din cele două virusuri separat, se poate conchide, că adenovirusurile izolate de la bolnavii de hepatită, se comportă ca virus auxiliari care stimulează reproducerea virusului hepatitic cu proprietăți defective.

Rezumat

Condițiile specifice de cultivare a virusurilor izolate din hepatită, frecvența instabilitate a efectului citopatic, apariția de elemente asemănătoare adenovirusurilor printre virusurile izolate din hepatită, examinările serologice și de imunofluorescență ridică problema corelației dintre hepatită și adenovirusuri în etiologia bolii.

Din faptul că virusurile hepatitice asociate cu adenovirusuri produc modificări in vitro pe linia celulară Detroit 6 (VA) mai repede decât separat, că modificările din ficatul hamsterilor sînt mai accentuate în cazul inoculării simultane a celor două virusuri, putem trage concluzia că virusurile hepatitice sînt virusuri defective și ca atare, înmulțirea și patogenitatea lor depinde de adenovirusurile auxiliare.

Sosit la redacție: 9 octombrie 1967.

Bibliografie

1. BABUDIERI B., FIASCHI E., NACCARATO R., SCURO L. A., PAPA GENEVIEVE: Ann. Ist. Super. Sanità (1965), 1, 478; 2. BUCHNER BARBARA K., SHREEVE M.: Canad. J. Publ. Health (1964), V, 55, 299; 3. BUTEL J. S., RAPP F.: Virology (1967), 31, 573; 4. CASTO B. C., ATCHISON R. W., HAMMON W. McD.: Virology (1967), 32, 52; 5. CROWLE A. J.: J. Lab. Clin. Med. (1960), 55, 593; 6. JÉZEQUEL A. M., STEINER J. W.: Canad. J. Publ. Health (1964), 55, 299; 7. KÖHLER H., APODACA J., SPRINGER D.: Zbl. Bakt. Parasit. Infektionskr

Hyg. I. Orig. (1967), 202, 11; 8. KERIM-ZADE K.: Vopr. virusol. (1962), 5, 582, 9
LÁSZLÓ I., PÉTER M., FILEP V., BÁLINT E., ÁBRAHÁM A., IZSÁK B., AL-
MÁSI SUSANA, SABÁU MONICA, KASZA L.: Revista Medicală (1964), 10, 280;
10. LÁSZLÓ J., BÁLINT E., FILEP V., PÉTER M., ÁBRAHÁM A., ALMÁSI
SUSANA: Nature (1965), 207, 326; 11. LÁSZLÓ J., PÉTER M., FILEP V., BÁLINT
E., ALMÁSI SUSANA: Z. ges. inn. Med. (1966), 21, 174; 12. LÁSZLÓ I., PÉTER
M., FILEP V., ÁBRAHÁM A., BÁLINT E., PAÁL GYÖRGYI, DOMOKOS L.,
KASZA L., BEDŐ S.: Revista Medicală (1962), 8, 47; 13. LÁSZLÓ I., PÉTER M.,
FILEP V., ALMÁSI SUSANA, SABÁU MONICA: Simpozion de hepatită, 12. nov.
1966, Tg.-Mureș; 14. Mc LEAN, I. W. Jr.: Postgrad. Med. 1964; 35/5, 481;
15. NESTORESCU N.: Bacterologie medicală. Edit. Med. București, 1965; 16.
ROWE W. P., BRAUN S. G.: J. Exp. Med. (1965), 122/5, 955; 17. SUZUKI S.,
NAKAGAWA T.: Ann. Report. Inst. Virus Res., Kyoto Univ. (1964), V, 7, 115;
18. TAYLOR A. R., RIGHTSEL W. A., BOGGS J. D., Mc LEAN I. W. Jr.: Am
J. Med. (1962), XXXII, 5, 679; 19. TEOHAROVA M., LAGO P. M., ROGES R.,
ANDONOV P.: Boletín Higiene y epidem. (1963), I—III, 79; 20. WAGNER R.: Bact.
Rev. (1963), 27/1, 72; 21. WHO. Expert. Committee on Hepatitis. Second Report.
WHO. Geneva (1964); 22. WIENER F., LÁSZLÓ I., SZÉKELY K.: Experientia
(1967), 23, 84.