



Antígeno (Australiano) asociado a la hepatitis en el Perú

GERARDO GARRIDO PINSON*
VICTOR MORALES CASTRO**

RESUMEN.— Usando inmunolectroforesis cruzada, se investigó la presencia de antígeno (australiano) asociado a la hepatitis en 630 sujetos divididos en cuatro grupos.

Primer grupo, compuesto por 500 sujetos normales que habitan las tres regiones naturales del Perú. En 300 de ellos, que viven en Lima, a nivel del mar y en 100, en Cerro de Pasco, a 4,200 metros de altura, no se pudo demostrar positividad alguna. En 100 muestras estudiadas de sujetos que viven en Iquitos, en la Selva Amazónica, hubo un porcentaje de positividad del 3%. Segundo Grupo, formado por 100 pacientes con diagnóstico clínico y bioquímico de hepatitis aguda, se subdividió a su vez, en tres subgrupos: El primero conformado por 40 pacientes menores de 20 años de edad, con un solo positivo; el segundo por 55 pacientes mayores de 20 años, con un por-

centaje de positividad del 54.5%. El tercero por 5 pacientes con el antecedente común de una epidemia, ninguno de los cuales fue positivo. Tercer grupo, formado por 15 pacientes con diagnóstico anatómico-patológico de hepatitis crónica en 9 del tipo agresivo y en 6 del persistente, todos ellos negativos. El cuarto y último grupo, constituido por 15 pacientes con diagnóstico histológico de hepatoma, dos de ellos positivos (13.33%).

SUMMARY.— 630 subjects, divided in four groups, were investigated for the presence of hepatitis-associated (Australia) antigen using the technique of Counterimmunolectrophoresis. Group I, made-up by 500 normal subjects, 300 of them living at Lima, at sea level, and 100 in Cerro de Pasco, at 4,200 meters above sea level, no positivity was found in those subjects; in the 100 that lived at Iquitos, in the Amazonian Jungle, a 3% of positivity was found. Group II, formed by 100 patients with clinical and biochemical diagnosis of acute hepatitis was sub-divided in three groups: in the first one were 40 patients under twenty years old, only one of them was positive; in the second there were 55 patients over twenty years old,

* Profesor Asociado de Medicina — Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

** Actualmente interno, Departamento de Pediatría. Eugene — Talmage Hospital. Colegio Médico de Georgia, Augusta, Georgia, U. S. A.

Aceptado para su publicación, 10 mayo 1973.

with 30 positives (54.5%) and the third there were five cases of epidemic hepatitis all negatives. Group III included 9 patients with histological diagnosis of chronic aggressive hepatitis and 6 of chronic persistent hepatitis, all negatives. Group IV conformed by 15 patients with histological diagnosis of primary liver carcinoma, two were positives (13.33%).

Introducción.— El descubrimiento en 1963 por el grupo del Dr. Baruch Blumberg¹ en el suero de un aborígen australiano de un antígeno que reaccionó con un anticuerpo presente en un hemofílico multitransfundido representó el mayor avance en la hepatología en los últimos 30 años, desde que se asoció a la hepatitis aguda con un posible agente infeccioso. Este antígeno debido a su origen recibió, por sus descubridores, el nombre de antígeno australiano el mismo que inicialmente tuvo implicancia de tipo genético. Posteriormente, el mismo grupo demostró que era posible encontrar dicho antígeno en el suero de pacientes con síndrome de Down, leucemia linfocítica, enfermedad de Hodgkin y lepra lepromatosa^{2, 3}. Pero no fue hasta el año de 1967 en que los mismos autores mostraron una relación estrecha entre dicho antígeno y la hepatitis aguda⁴, que comenzó a ser estudiada intensamente por otros grupos que confirmaron su alta incidencia en diferentes hepatopatías sobre todo en las de tipo agudo. Esto hizo que diferentes investigadores le dieran diversos nombres entre ellos el de antígeno hepatitis⁵, antígeno S. H.⁶ y el de antígeno asociado a la hepatitis (A. A. H.)⁷, denominación ésta que usaremos en el presente trabajo, el cual fue iniciado en el año de 1970 y del que hemos presentado dos informes preliminares^{8, 9}.

El presente estudio consiste en la determinación de la incidencia del A. A. H. en sujetos normales que habitan las tres regiones naturales del Perú, y en grupos de pacientes con procesos hepatocelulares tanto agudos como crónicos.

Material y Métodos.— Se estudiaron en total 630 sujetos, divididos en cuatro grupos.

Grupo I (Tabla I).— Compuesto por 500 sujetos sanos, divididos a su vez en tres subgrupos. El primer subgrupo formado por 300 sujetos jóvenes (18 a 21 años), de sexo masculino, que viven en Lima, a nivel del mar, todos ellos con concentraciones normales de transaminasas séricas. El segundo formado por 100 sujetos que viven a 4,200

m. de altura, en la ciudad de Cerro de Pasco, 82 de ellos del sexo masculino y 18 del femenino con un promedio de edad de 33.2 años, todos sin antecedentes de proceso hepatocelular. Y, el tercer y último subgrupo, formado por 100 sujetos que viven en la Selva Amazónica, en la ciudad de Iquitos, 65 del sexo femenino y 35 del masculino, con un promedio de edad de 25.4 años.

Grupo II (Tabla II).— Formado por 100 sujetos con diagnóstico clínico y bioquímico de hepatitis aguda, residentes en Lima, divididos del mismo modo en tres subgrupos. El primero de ellos compuesto por 40 pacientes de menos de 20 años de edad; el segundo por 55 pacientes mayores de 20 años de edad y el tercer subgrupo por 5 pacientes, internos en una institución militar del país, y con antecedentes comunes de un brote epidémico de hepatitis aguda.

Grupo III (Tabla III).— Formado por 15 pacientes con diagnóstico anatomo-patológico de hepatitis crónica, 6 de tipo persistente y 9 de tipo agresivo. En la mayoría de ellos, se tomaron varias muestras de suero en período de actividad clínica y bioquímica.

Grupo IV (Tabla IV).— Constituido por 15 pacientes con diagnóstico anatomo-patológico de carcinoma hepatocelular primario (hepatoma).

A cada uno de los sujetos estudiados se le extrajo sangre venosa y, después de centrifugarla se congeló el suero resultante hasta su uso.

El antisuero usado en el presente trabajo fue de origen humano y se obtuvo en diferentes fuentes, una de ellas del Hospital Genessee de Rochester, New York, por gentileza de la Dra. Marion Brown.

El método usado para detectar el A. A. H. en el presente estudio fue el de la Inmunolectroforesis Cruzada (I. E. C.), siguiendo el método descrito por Gocke y Howe¹⁰ con algunas modificaciones, tal como ha sido descrito por uno de nosotros¹¹. En resumen se usó una lámina de vidrio de 10.2 x 8.3 cm. recubierta por 10 ml. de agarosa al 1% en Tampón Barbitol 0.5 M a pH 8.6. En dicha lámina se abrieron celdas circulares de 2 mm. de diámetro, dispuestas verticalmente en pares a 0.5 cm. de distancia entre sí, hasta un máximo de 45 pares por lámina. se llenó la celda cercana al cátodo con el suero problema (en que se busca el A. A. H.) y en la cercana al ánodo con el antisuero. Se colocó la lámina así preparada en una cuba electroforética llenada previamente con 1,000 ml. de Tampón Barbitol 0.5 M. a pH. 8.6 y

se hizo pasar la corriente con una intensidad de 30 mA., a 100 voltios durante una hora. Se limpió la lámina con agua destilada y solución salina al 0.9% y, luego de fijarla, se procedió a teñirla para una mejor identificación de las líneas.

Resultados

Grupo I (Sujetos normales), tabla I

a) Ninguno de los sueros de los 300 sujetos sanos que habitan en la ciudad de Lima, a nivel del mar, fue positivo. b) Todos los sueros examinados pertenecientes a los sujetos que viven en la ciudad de Cerro de Pasco, a 4,200 m. de altura sobre el nivel del mar, fueron negativos. c) Tres de las muestras de los 100 sujetos que vivían en la ciudad de Iquitos, en la Selva Amazónica, fueron positivos, lo que dio un porcentaje de positividad del 3%.

Grupo II (Pacientes con hepatitis aguda), tabla II

a) Una de las muestras de los 40 pacientes menores de 20 años fue positiva lo que da un porcentaje de positividad del 2.5%. b) De las 55 muestras de pacientes mayores de 20 años, 30 fueron positivas, lo que da un porcentaje de positividad del 54.5%. c) Ninguno de los sueros de los 5 sujetos del brote epidémico fue positivo.

Grupo III (Pacientes con hepatitis crónica), tabla III

Ninguna de las varias muestras del suero obtenidas de los 15 pacientes con hepatitis crónica, tanto del tipo agresivo como persistente fue positiva.

Grupo IV (Pacientes con hepatoma), tabla IV

Dos de los 15 pacientes estudiados fueron positivos, lo que dio un porcentaje del 13.33%.

Discusión.— En 1968 Prince reportó la presencia del A. A. H. en el período de incubación y en la fase temprana de la hepatitis viral postransfusional y postuló que el antígeno era específico para detectar al virus de la hepatitis sérica (HS) y que se encontraba raramente en casos de hepatitis infecciosa (HI)⁶. Posteriormente, el grupo del Dr. Krugman¹², que efectuaba trabajos de investigación sobre hepatitis en la Escuela Estatal de Willowbrook, en los Estados Unidos de Norteamérica, demostró que el antígeno era positivo en caso de niños infectados con la cepa viral denominada MS-2, cepa que tenía un período de incubación prolongada y que se relaciona directamente con la hepatitis sérica y su negatividad en caso de niños infectados con la cepa MS-1, de incubación corta y relacionada con el virus de la hepatitis infecciosa. Este y otros hechos más han llevado al

concepto generalizado de que el A. A. H. se relaciona directamente con el virus de incubación larga o virus SH, o virus B, como también se le conoce. El hecho de que en numerosos trabajos publicados de hepatitis viral aguda en adultos fue imposible correlacionar la antigenemia, con el antecedente de exposición al virus, sirve de argumento al concepto de que ambos virus pueden ser transmitidos tanto por la vía oral como por la vía parenteral, de manera que la detección del A. A. H. puede ser utilizada como un método inmunológico de distinción entre la hepatitis infecciosa y la hepatitis sérica¹³.

Mucho se ha discutido sobre la naturaleza del A. A. H., Blumberg¹⁴ desde el inicio postuló que el antígeno era el agente de la hepatitis aguda o un producto del mismo y enumeró una serie de argumentos bastante convincentes tales como la asociación frecuente del antígeno y la hepatitis aguda y la naturaleza infecciosa de la sangre que contiene el antígeno al ser transfundida en humanos, argumentos que lamentablemente tienen una asociación indirecta con el agente causal de la hepatitis, pues no ha sido posible cultivar en tejidos suero antígeno positivo, ni tampoco se ha demostrado en forma clara la presencia de ácidos nucleicos en preparaciones antígeno positivas¹⁵. Debido a estas características especiales, Blumberg¹⁷ propuso denominar "icron" al agente de la hepatitis B. Un camino diferente y que nos ha dado mayor información ha sido el estudio, bajo el microscopio electrónico, de sueros de pacientes con hepatitis de incubación prolongada, habiéndose podido detectar 3 tipos de partículas. Una pequeña, de forma esférica y de 20 nm. de diámetro; y otra de forma tubular de 20 nm. de diámetro y 100 nm. de longitud; ambas descritas por Almeida¹⁸ y unas partículas más complejas de 42 nm. de diámetro, descritas por Danne¹⁹. Se ha sugerido que esta última partícula puede representar al virion o partícula infecciosa de la hepatitis B y que el A. A. H. formaría parte de la cubierta externa que rodea el núcleo central, cubierta que se originaría en el citoplasma de la célula hepática; del mismo modo, se sugiere que la cubierta interna se formaría en el núcleo de la célula hepática. El núcleo central del virion, despojado de sus cubiertas después del tratamiento con una sustancia detergente (Tween 80) tiene una similitud con el rinovirus^{20, 21, 22}.

Bioquímicamente, el antígeno ha mostrado ser una macromolécula con una movilidad electrofo-

rética de alfa globulina y está conformado principalmente por proteína y en menos proporción por lípidos²³. Se ha demostrado que la determinante antigénica está dada por la fracción proteica²⁴.

Los resultados del presente trabajo muestran ciertas características importantes. El grupo de 300 jóvenes normales, de la Costa, en los cuales se investigó A. A. H. fue negativo. Es bueno anotar que todos ellos tenían niveles de transaminasas dentro de límites normales. Estudios efectuados en otros países han mostrado que en sujetos de países occidentales de un nivel socio-económico probablemente similar a nuestro grupo, la incidencia del antígeno es menor que 1 por 1,000, cifra equivalente a la nuestra. Es bueno recalcar el hecho de que se ha demostrado una más alta incidencia del A. A. H. en poblaciones de un nivel socio-económico bajo, por lo que es importante ampliar nuestros estudios en otros grupos de pobladores de la Costa. Del mismo modo, el grupo de residentes normales de la altura examinados, muchos de los cuales trabajaban en las minas o eran sus familiares, fue también negativo. Aunque reconocemos que el grupo estudiado no es lo numeroso que hubiera sido de desear, esta negatividad podría estar en relación con otros factores genéticos y/o ambientales del andino peruano. Es interesante anotar que estudios epidemiológicos han mostrado que existe una predisposición de tipo autosomala recesiva a la positividad y persistencia de la antigenemia en sujetos sin antecedentes de enfermedad (portadores sanos), lo que sugiere que es de esperar una predisposición de tipo racial para la mayor o menor positividad del A. A. H. en diferentes poblaciones²⁵. Por otro lado, se postula que la persistencia de la antigenemia en sujetos que inician un proceso de hepatitis aguda o en sujetos con procesos como síndrome de Down, leucemia, lepra lepromatosa, y uremia crónica se debería a variaciones individuales del huésped a través de fenómenos del tipo de inmunidad celular después del contacto con el virus^{26, 27}. Los sujetos normales que habitan en la ciudad de Iquitos, en la Selva Amazónica, presentaron una incidencia del 3% de positividad. Es importante señalar que en un reporte que incluyó la detección del A. A. H. en un grupo de aborígenes que viven en las márgenes del río Ucayali, en la Selva Amazónica Peruana, se encontró una positividad del 14% la que fue relacionada con la mayor incidencia que se encuentra en sujetos que habitan zonas tropicales, sugiriéndose entre otras

posibilidades la del contagio por medio de vectores en dichas poblaciones²⁸. Recientemente, ha sido posible demostrar en países tropicales donde la hepatitis es endémica, la presencia del A. A. H. en homogenizados de diferentes clases de mosquito y otros artrópodos²⁹, esto ha sido confirmado por otro grupo³⁰ que obtuvo los mosquitos en un parque público de New Jersey, U. S. A., lo cual muestra el peligro potencial que significa el mosquito como trasmisor de hepatitis y las implicancias en el Perú, donde, tanto en la Selva Amazónica como en los valles de la Costa, esta vía de infestación podría jugar un rol importante en la transmisión de la hepatitis aguda y otros procesos infecciosos.

El grupo de sujetos con diagnóstico clínico y bioquímico de hepatitis aguda sin antecedentes de ingesta de drogas ni de otros procesos infecciosos fue dividido en 3 subgrupos; el primero de ellos estaba formado por sujetos menores de 20 años, solamente uno de ellos fue positivo. Esta positividad está en concordancia con lo reportado en otras series, en grupos de pacientes de la misma edad y muestran de que en ellos la infestación más común es con el virus de incubación corta o virus A no relacionado con el A. A. H.^{13, 31}. En el segundo subgrupo compuesto por sujetos adultos mayores de 20 años de edad, hubo una incidencia de positividad del 54.5%, cifra algo más baja que la encontrada en nuestros estudios preliminares^{8, 9, 11}, en probable relación con los diferentes antiseros usados, pero que de todos modos demuestra que en los adultos residentes en Lima estudiados, hay una predominancia de hepatitis debido al virus de incubación larga o virus B. En lo que se refiere al tercer subgrupo, nuestros resultados concuerdan con lo publicado en otras series³², referente a la negatividad de los sueros obtenidos de casos de hepatitis aguda epidémica. En estos casos, estudios epidemiológicos bien diseñados, han demostrado claramente que el tiempo de incubación de los mismos, está en relación con el virus A o virus de incubación corta o virus H. I.

El grupo III conformado por 15 pacientes con diagnóstico histológico de hepatitis crónica, en 6 de ellos del tipo persistente y en 9 del tipo agresivo, fueron negativos, a pesar de haberse efectuado la toma de muestra en diferentes oportunidades cuando el cuadro clínico y bioquímico indicaban actividad de la enfermedad. Esto contrasta con la mayoría de las series publicadas, las cuales muestran que la incidencia del A. A. H. en la hepatitis

TABLA I

INCIDENCIA DE PRESENTACION DE ANTIGENO (AUSTRALIANO)
ASOCIADO A LA HEPATITIS (A. A. H.) EN SUJETOS NORMALES

Procedencia de los Sujetos		Número de Sujetos	Sexo		Edad (años)	Número de Sujetos positivos
Región	Ciudad		Másculino	Femenino		
Costa	Lima	300	300		18-21	0 (0%)
Sierra	Cerro de Pasco	100	82	18	33.2 *	0 (0%)
Selva	Iquitos	100	35	65	25.4 *	3 (3%)
T O T A L		500	417	83		3 (0.6%)

* Edad promedio

TABLA - II

INCIDENCIA DE PRESENTACION DE ANTIGENO (AUSTRALIANO) ASOCIADO A LA HEPATITIS EN HEPATITIS VIRAL AGUDA (100 pacientes)

Número de pacientes	Edad/Tipo	Número pacientes positivos
40	Menores de 20 años	1 (2.5%)
55	Mayores de 20 años	30 (54.5%)
5	"Epidémica"	0 (0.0%)

TABLA - III

INCIDENCIA DE PRESENTACION DE ANTIGENO (AUSTRALIANO) ASOCIADO A LA HEPATITIS EN HEPATITIS CRONICA (15 pacientes)

Tipo	Número Pacientes	Número de pacientes positivos
Agresiva	9	0 (0%)
Persistente	6	0 (0%)

TABLA - IV

INCIDENCIA DE PRESENTACION DE ANTIGENO (AUSTRALIANO) ASOCIADO A LA HEPATITIS EN CARCINOMA HEPATOCELULAR PRIMARIO

Número de pacientes	Número de pacientes positivos
15	2 (13.33%)

crónica varía alrededor del 30%³³ y concuerda con los resultados negativos obtenidos por Velasco en Chile³⁴. Si pensamos que el factor etiológico de la hepatitis crónica no es único, es dable esperar diferencias de incidencias de antigenemia en hepatitis crónica en los diferentes países debido a que los factores causales y los huéspedes son diferentes.

El cuarto y último grupo estuvo formado por 15 pacientes con diagnóstico anatómo-patológico de carcinoma hepatocelular primario. Se demostró en dos de ellos (13%) la presencia del A. A. H. en las muestras de suero estudiadas. Es interesante anotar que se discute la posibilidad de que el virus de la hepatitis aguda sea un agente etiológico importante del hepatoma debido a la alta positividad (de 25 a 80%) que han mostrado algunas series estudiadas^{35, 36, 37, 38}. Contrastando con la experiencia aportada por otros en que se han encontrado porcentajes muy bajos o negativos^{39, 40, 41}. Es indudable que hay que considerar otras posibilidades además de la relación causal del virus de la hepatitis con el hepatoma, tales como por ejemplo el hecho de que muchos de estos pacientes han podido recibir transfusiones de sangre con anterioridad a la toma de la muestra o el hecho de

la conocida asociación del hepatoma con la cirrosis macronodular que puede haber tenido como antecedente un cuadro de hepatitis viral. En la actualidad estamos concluyendo un trabajo sobre la incidencia del A. A. H., anti-A. A. H. y alfa fetoproteína en un grupo más amplio de pacientes con hepatoma, tomando en consideración las posibilidades antes enunciadas⁴².

BIBLIOGRAFIA

1. Blumberg, B. S.: Polymorphism of serum proteins and the development of isoprecipitines in transfused patients. Bull. N. Y. Acad. Med., 40: 377, 1964.
2. Blumberg, B. S., Alter, H. J. y Visnich, S.: A "new" antigen in leukemia sera J. A. M. A., 191:541, 1965.
3. Blumberg, B. S.: An inherited serum isoantigen in leukemia and Down's Syndrome. J. Clin. Invest., 45: 988, 1966.

4. Blumberg, B. S., Gerstley, B. J. S., Hungerford, D. A., London, W. T. y Stunick, A. I.: A serum antigen (Australia antigen) in Down's Syndrome, leukemia and hepatitis. *Ann. Intern. Med.*, 66: 929, 1967.
5. Gocke, D. J. y Kavey N. B. Hepatitis antigen. *Lancet*, 1: 1055, 1969.
6. Prince, A. M.: An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 60: 814, 1968.
7. Mc Collum, R. W.: Serum antigen in viral hepatitis. *J. Infect. Dis.*, 120: 641, 1969.
8. Garrido-Pinson, G. y Morales-Castro, V. Antígeno asociado a la hepatitis en el Perú. XII Congreso Panamericano de Gastroenterología. Punta del Este, Uruguay, 1971.
9. Garrido-Pinson, G. y Morales-Castro, V. Antígeno asociado a la hepatitis en el Perú. III Congreso Peruano de Gastroenterología. Lima, 1972.
10. Gocke, D. J. y Howe, C. Rapid detection of Australia antigen by Counterimmunoelectrophoresis. *Journal of Immunology*, 101: 1031, 1970.
11. Morales-Castro, V.: Antígeno asociado a la hepatitis (Antígeno Australiano). Estudio de un grupo aparentemente sano y en hepatitis viral aguda en nuestro medio. Tesis Bachiller No. 3306, U. P. C. H., 1971.
12. Giles, J. P., Mc Collum, R. W., Berndtson, L. W. y Krugman, S.: Viral hepatitis: relation of Australia/SH antigen to the Willowbrook MS-2 strain. *New Eng. J. Med.*, 281: 119, 1969.
13. Prince, A. M., Hergrove, R. L., Smuness, W., Cherubin, C. E., Fontana, V. J. y Jeffries, G. H. Immunologic distinction between infectious and serum hepatitis. *New Eng. J. Med.*, 282: 987, 1970.
14. Blumberg, B. S., Stunick, A. I., London, W. T. y Millman, I.: Australia antigen and hepatitis. *New Eng. J. Med.*, 283: 349, 1970.
15. Jozwiak, W., Koscielak, J., Mardalinski, K., Brosko, W. J., Nowoslawski, A. y Koczewiak, M. R. N. A. of Australia antigen. *Nature New Biol.*, 229: 92, 1971.
16. Hirschman, S. Z., Vernace, S. J. y Schaffner, F.: DNA polymerase in preparations containing Australia antigen. *Lancet*, 1: 1099, 1971.
17. Blumberg, B. S., Millman I., Stunick, A. I. y London W. T.: The nature of Australia antigen and its relation to antigen-antibody complex formation. *J. Exp. Med.*, 134: 320, 1971.
18. Almeida, J. D., Zuckerman, A. J., Taylor, P. E. y Waterson, A. P. Immunoelectron microscopy of the Australia-SH (serum hepatitis) antigen. *Microbios*, 1: 117, 1969.
19. Dane D. S., Cameron, C. H. y Moya Briggs.: Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet*, 1: 695, 1970.
20. Almeida J. D., Rubenstein, D. y Stott, E. J.: New antigen-antibody system in Australia-antigen-positive hepatitis. *Lancet*, 2: 1225, 1971.
21. Popper, H. y Mackay, I. R. Relation between Australia antigen and Autoimmune hepatitis. *Lancet*, 1: 1161, 1972.
22. Sherlock, S. Progress Report : Long-incubation (virus B, HAA associated) hepatitis. *Gut*, 13: 297, 1972.
23. Backer, L. F., Smith, K. O., Gettle, W. D. y Shulman N. R.: Some antigenic and physical properties of virus-like particles in sera of hepatitis patients. *J. Immunol.*, 102: 1259, 1969.
24. Kim, C. Y. y Brissel, D. M.: Stability of the lipid and protein of hepatitis-associated (Australia) antigen. *J. infect. Dis.*, 12: 470, 1971.
25. Blumberg, B. S., Frielaender, J. S., Woodside, A.: Hepatitis and Australia antigen : autosomal recessive inheritance of susceptibility to infection in human. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 62: 1108, 1969.
26. Stunick, A. I., Levine, P. H., London, W. T. y Blumberg, B. S.: Frequency of Australia antigen in patients with leukemia in different countries. *Lancet*, 1: 1200, 1971.
27. Dudley, F. J., Fox, R. A. y Sherlock, S.: Cellular immunity and hepatitis-associated Australia antigen liver disease *Lancet*, 1: 723, 1972.
28. Blumberg, B. S., Stunick, A. I. y London, W. T.: Hepatitis and leukemia : Their relation to Australia antigen. *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 44: 1566, 1968.
29. Prince, A. M., Metselaar, D., Kafuko, G. W., Murwaya, L. G., Ling, G. M., Overby, L. R.: Hepatitis B. antigen in wild-caught mosquitoes in Africa. *Lancet*, 2: 247, 1972.
30. Dick, S., Tamburro, C. y Leevy, C. M.: Hepatitis B. antigen in urban-caught mosquitoes. *Gastroenterology*, 64: 170, 1973.
31. London, W. T., Stunick, A. F. y Blumberg, B. S.: Australia antigen and acute viral hepatitis. *Ann. Int. Med.*, 70: 55, 1969.
32. Prince, A. M. Role of serum hepatitis in chronic liver diseases *Gastroenterology*, 60: 913, 1971.
33. Wright, R.: The Australia antigen in auto-immune liver disease. En "Immunology of the liver". Editado por Smith, M. y William, R. William Heinemann Medical Books Ltd., 1971.
34. Velasco, M. y Katz, R.: Australia antigen in the Chilean population En "Immunology of the liver". Editado por Smith, M y William, R. William Heinemann Medical Books Ltd., 1971.
35. Sherlock, S., Fox, R. A., Niazi, S. P. y Scheuer, P. J.: Chronic liver disease and primary liver-cell cancer with hepatitis associated (Australia) antigen in serum. *Lancet*, 1: 1243, 1970.
36. Hadziyannis, S., Merikas, G., Afroudakis, A. y Crustosi A.: Hepatitis-associated antigen and alfa fetoproteina in primary liver-cell carcinoma in Greece. *Gut*, 12: 764, 1971.
37. Tong, M. J., Sun, S. C., Schaeffer, B. T., Scale, C. S., Chew, B. K., Fung, W. P., Tan, A. Y. O. y Shanmugaratnam, K.: Hepatitis associated antigen and hepatocellular Carcinoma in Taiwan. *Ann. Int. Med.*, 75: 687, 1971.
38. Vogel, C. L., Anthony, P. P., Natu Mody y Baaker, L. F.: Hepatitis-associated antigen in Ugandan patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 2: 621, 1970.
39. Simons, M. J., Yap, E. H. y Yu, M.: Australia antigen in Singapore chinese patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 1: 1149, 1971.40.
40. Welsh, J. D., Brown, J., Arnold, K., Chandler, A. M., Hoang Minh Man y Tran Dieu Thuc.: Hepatitis associated antigen in hepatocellular carcinoma in South Vietnam. *Lancet*, 1: 540, 1972.
41. Lee, A. K. Y.: Australia antigen in Hong Kong Chinese. *Lancet*, 1: 1119, 1972.
42. Garrido-Pinson, G. y Casanova, L.: A. A. H., anti A. A. H. y alfa fetoproteina en carcinoma hepatocelular primario en el Perú. (En preparación).