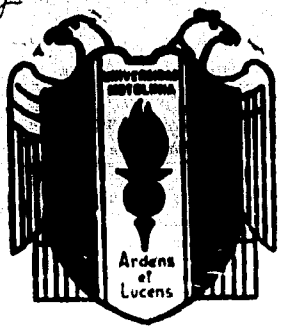


62



# TESIS PROFESIONAL

MA. DE LOS ANGELES DURAN DE LA VEGA

México, D. F.

1961



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

---

UNIVERSIDAD MOTOLINIA

INVESTIGACION DE ANTICUERPOS  
HACIA LOS ADENOVIRUS.

*T E S I S*

que para obtener el título de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

presenta

MA. DE LOS ANGELES DURAN DE LA VEGA

✻



---

México, D. F.

1961

A mis queridos padres con gratitud  
y cariño.

A mis hermanos con cariño.

A la Srta. Q. B. P. Enriqueta  
Pizarro Suárez y Gamba con  
sincero afecto en reconocimiento a  
su acertada dirección y valiosa  
ayuda.

Al Dr. Carlos Campillo Sainz  
con agradecimiento.

A mis maestros.

A mis compañeros.

Trabajo de Tesis realizado en el  
Instituto Nacional de Virología  
de la Secretaría de Salubridad y  
Asistencia.

CONTENIDO:

CAPITULOS

- I.- INTRODUCCION.
- II.- MATERIAL Y M. TODOS.
- III.- RESULTADOS.
- IV.- DISCUSION.
- V.- RESUMEN.
- VI.- BIBLIOGRAFIA.



Los adenovirus son agentes causales de padecimientos respiratorios y conjuntivales, cuya existencia no se sospechó durante muchos años debido a que las enfermedades que producen son semejantes a otros padecimientos respiratorios producidos también por virus de diversos tipos. Fueron descubiertos en forma casi accidental por Rowe y colaboradores en 1953 al utilizar para cultivos de tejidos fragmentos de amígdalas y adenoides extirpados quirúrgicamente. Después de incubar los tejidos, durante algún tiempo, observaron cambios citopatogénicos en las células epiteliales que hacían suponer la presencia de un virus.

Los adenovirus recibieron varios nombres debido a que fueron descubiertos por diversos investigadores casi al mismo tiempo. Se les llamó Agentes AD (Degeneración Adenoidea), RI (Infección Respiratoria), ARD (Padecimiento Respiratorio Agudo), APC (virus Adeno-faringo-conjuntivales) y por último Enders y colaboradores en 1956 les dieron el nombre de Adenovirus.----- (Huebner y Rowe, 1957).

Estos virus se han aislado en diversas partes del mundo (Huebner y Rowe, 1957) como Norteamérica, Europa Occidental, Rusia, Japón, Checoslovaquia y Arabia Saudita, siendo en ésta última región donde se aislaron 6 tipos de adenovirus que se designaron con los números 19 a 24 (Bell y colaboradores, 1959). Recientemente Rosen y colaboradores, 1961, han encontrado 4 tipos más. Son hasta ahora 28 los tipos de adenovirus inmunológicamente diferenciables, que están relacionados por un antígeno común fijador de complemento 23 se han aislado de seres humanos y 5 son de origen simio (Rivers y Horsfall, 1959). Sus características pueden observarse en el Cuadro 1.

CUADRO 1.

Características de los Adenovirus.

Resistentes al éter.

Termoestables.

No patógenos para los animales usuales de laboratorio.

Producen efectos citopatogénicos característicos en -  
células de crisis humano.

Tienen avidéz especial por las células epiteliales.

Producen ácido láctico dando reacción francamente áci-  
da en cultivos de células HeLa.

Se localizan dentro del núcleo de las células.

Se cultivan en células de riñón de mono produciendo -  
alcalinidad.

Tienen 65  $\mu$

Dan reacción de neutralización tipo específica.

Dan reacción de fijación de complemento grupo especi-  
fica.

Producen un antígeno soluble.

Hemaglutinación positiva con excepción de los tipos -  
12 y 18.

Hilleman y Werner en 1954 fueron los primeros en aislar el virus HI-57 de padecimientos respiratorios agudos y de neumonías atípicas en los reclutas del Ejército Americano; estos estudios se llevaron a cabo en la Escuela de Medicina del Ejército (Huebner, 1953); donde aislaron, en cultivos de tejidos, un agente citopatogénico a partir de lavados de faringe -- que fueron tomados a enfermos con síntomas semejantes a los de la influenza o gripe (Rivers y Horsfall, 1959). En estos pacientes se observó un aumento de los anticuerpos neutralizantes y fijadores de complemento empleando antígeno de este virus. El padecimiento ha recibido varios nombres: fiebre catarral, catarro febril y enfermedad respiratoria aguda, ARE y los adenovirus causantes pertenecen principalmente a los tipos 4 y 7, les siguen en frecuencia los tipos 3 y 14. Esta enfermedad es epidémica, puede ir seguida de neumonitis y neumonías atípicas, pero no dan positiva la reacción de aglutinación en frío. (Rowe y col., 1956). (Southam y col., 1956).

La fiebre faringo-conjuntival, es una enfermedad específica, --- usualmente epidémica, probablemente descrita primero por Derrick en Australia en 1951 y estudiada posteriormente por Cockburn en Denver (Huebner y - Rowe, 1957). La enfermedad es más frecuente en los niños y es causada por los tipos 3 y 7 de adenovirus, sin embargo los tipos 1, 4 y 5 pueden producir también.

La conjuntivitis no bacteriana causada por los adenovirus se presenta como un padecimiento benigno y sin complicaciones en individuos de - todas edades, pero aparentemente es más común en personas de edad avanzada.

La queratoconjuntivitis epidémica (EKC) se presentó en los Estados Unidos principalmente durante la Segunda Guerra Mundial, entre obreros expuestos a lesiones oculares. La infección ha tomado carácter endémico en

Japón en los últimos años y ha sido consignada su aparición en forma esporádica, aunque cada vez más frecuente en el Área del Mediterraneo. Se ha informado sobre epidemias recientes en Escocia, Italia y Alemania (Huebner, - 1958). Esta enfermedad es causada por el adenovirus tipo 8, aislado por primera vez por Jawetz en California en 1955.

Dado que no se han llevado a cabo estudios sobre los adenovirus - en México se juzgó conveniente hacer una exploración para determinar la presencia de anticuerpos debidos a infecciones producidas por estos virus.

La Reacción de Fijación de Complemento, muestra únicamente aquellos anticuerpos debidos a infecciones recientes ya que estos anticuerpos - desaparecen con cierta rapidez de la corriente sanguínea.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Las determinaciones se llevaron a cabo por el método de fijación de complemento, empleando la técnica de Bengtson (Howe y col., 1958. Hall y col., 1959) que consiste en utilizar los reactivos en cantidades de ---- 0.2 ml. y en la cual el volumen total, en cada tubo, es de 1 ml.

Los reactivos incluyen el sistema hemolítico usual, antígenos, - suero sanguíneo problema y los testigos positivos y negativos correspondientes.

1.- Glóbulos rojos de conejo citratados y lavados en solución - salina. Deben ser recientes aunque pueden conservarse en refrigerador por una o dos semanas. Para llevar a cabo estas pruebas la suspensión fue ---- hecha al 2%.

2.- Hemolisina anticonejo glicerolada Difco.- Se conservó en r- refrigerador y se tituló antes de emplearla. El título que se obtuvo fue de 1:8 000, se utilizaron en todas las sueros 2 unidades hemolíticas.

3.- Fibrinógeno.- Se conservó congelado a -20°C para evitar que el título bajara y se tituló siempre antes de llevar a cabo las reacciones. Se obtuvieron títulos de 1:10 y 1:60. Se emplearon también dos unidades de complemento.

4.- Antígeno.- Se empleó el líquido obtenido de los cultivos de tejidos inoculados con la cepa de adenovirus tipo 6, centrifugado a 1 500 rpm, durante diez minutos, para eliminar células y detritus celulares. La titulación del antígeno se hizo con los sueros inanes prepararon en mono (Macacus rhesus). Los títulos obtenidos fueron de 1:12 y 1:64 para dos antígenos diferentes y se utilizaron cuatro unidades de antígeno.

5.- Suero sanguíneo.- Se emplearon sueros humanos, que se mantuvieron congelados hasta el momento de hacer las reacciones, se descongelaron y descomplementaron a 56°C durante media hora.

Todas las diluciones se efectuaron en solución de cloruro de sodio al 0.85%, p/v.

Procedimiento:

Sueros humanos.- Se tomaron de 5 a 10 ml de sangre, por punción venosa, a 154 estudiantes de ambos sexos, provenientes de tres escuelas profesionales distintas que representaban diferentes niveles socio-económicos; sus edades oscilaron entre diecisiete y veintiocho años. Se separaron los sueros por centrifugación y se mantuvieron congelados hasta que se efectuaron las reacciones de fijación de complemento.

Sueros de mono.- Se escogieron dos monos (*Macacus rhesus*) para inmunizarlos y preparar los sueros inmunes. Antes de ser inoculados se les tomó una muestra de sangre por punción venosa para separar el suero sanguíneo y obtener así el testigo de suero negativo. Estos monos se inocularon con el adenovirus tipo 6, aplicándoles durante tres días seguidos 0.5 ml por vía intramuscular y 0.5 ml por vía subcutánea repartido en dos sitios (solamente el primer día se aplicó 1 ml por vía intravenosa). Se dejaron pasar cinco días y volvió a aplicarse en la misma forma. Esta operación se repitió durante tres semanas y se sangraron una semana después obteniéndose así el suero positivo, el cual posteriormente se tituló.

Antígenos.- Se prepararon dos lotes de antígeno, uno en células de riñón de mono y el segundo en células HeLa, (Ver lámina I). Se inocularon diversas cepas de adenovirus de la colección del Instituto Nacional de Virología (1 a 9 y 11 a 14) tanto en tubos como en botellas de células HeLa y en células tripsinizadas de riñón de mono, el tipo 6 fue el que presentó mayor

efecto citopatogénico en menor tiempo en células HeLa, por lo que se escogió únicamente este adenovirus para preparar el antígeno aprovechando que estos virus tienen un antígeno común de grupo.

El efecto citopatogénico causado por esta cepa de virus en las células HeLa empezó a notarse al segundo día observándose destrucción total de las células para el sexto día, (Ver lámina II).

El virus se inocularó en botellas con el objeto de obtener mayor cantidad de antígeno, los líquidos cosechados de los cultivos de tejido nos proporcionan grandes cantidades de virus relativamente libres de proteínas, se centrifugaron a 2 000 rpm durante diez minutos para eliminar detritus celulares, sin eliminar la partícula viral ya que este material también se empleó para la inmunización de los monos, y se evitó así la centrifugación a altas velocidades.

El virus que se empleó como antígeno en la reacción de fijación de complemento se tituló también en cultivos de tejidos empleando tanto células de riñón de mono como células HeLa. Se hicieron diluciones decimales del virus a partir de  $1 \times 10^{-1}$  hasta  $1 \times 10^{-6}$  en solución salina estéril. Se inocularon 5 tubos con 0.1 ml de cada dilución, por tubo, se dejaron 5 tubos sin inocular como testigos de tejidos. Las lecturas se efectuaron a intervalos regulares desde el tercer día, fecha en la cual el virus a la dilución  $1 \times 10^{-1}$  empezó a producir ligero efecto citopatogénico en las células HeLa, presentándose para el sexto día destrucción total de los tejidos. La destrucción completa producida por los virus a diluciones mayores se presentó al octavo día. En células tripsinizadas de riñón de mono la destrucción fue más lenta y a un menor título.

En seguida se llevaron a cabo pruebas de neutralización para comprobar la identidad de los anticuerpos encontrados en los sueros de los monos inmunizados por nosotros con el adenovirus tipo 6 y contar así con sue-

ros positivos conocidos para la titulación del antígeno que se emplearía en la reacción de fijación de complemento. Esta prueba se llevó a cabo en células de riñón de mono. Los sueros de los monos se inactivaron a  $56^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos y se hicieron diluciones al doble desde 1:8 hasta 1:128. Estas diluciones se pusieron en contacto con cantidades iguales del adenovirus tipo 6, diluido de acuerdo con su título. Se dejaron durante una hora a  $37^{\circ}\text{C}$  y se inocularon 0.2 ml en cada tubo, se emplearon seis tubos por dilución del suero. Se inocularon tubos testigo con virus diluido en la misma forma y se dejaron otros tubos sin inocular como testigos de tejidos.

Se obtuvo la neutralización parcial para el suero del primer mono en la dilución 1:128 y total en la dilución 1:64, con el suero del segundo mono la neutralización parcial se presentó en la dilución 1:64 y total en la dilución 1:32.

La Reacción de Fijación de Complemento se llevó a cabo de la siguiente manera:

Los sueros después de ser descongelados e inactivados se diluyeron con solución salina 1:4 y 1:8 y se llevaron a cabo reacciones de fijación de complemento con los sueros así diluidos para eliminar todos aquellos que no tuvieran anticuerpos o los tuvieran a títulos tan bajos que pudieran hacernos sospechar una reacción inespecífica y dejar únicamente los sueros positivos que se cuantificarían posteriormente. Para esta segunda parte del trabajo se utilizaron diluciones de los sueros desde 1:4 hasta 1:4 096.

Se colocaron en cada uno de los tubos 0.2 ml de la dilución del suero en solución salina. En seguida se agregaron 0.2 ml del complemento previamente diluido y 0.2 ml del antígeno diluido también, de acuerdo con su título. Se agitaron los tubos por un minuto y se incubaron en baño maría a  $37^{\circ}\text{C}$  durante una hora. Después de este tiempo a cada tubo se le agregaron 0.4 ml de una mezcla previamente preparada de hemolisina y glóbulos rojos -



en sus diluciones correspondientes, agitando nuevamente e incubando una hora más a 37°C, después de lo cual se hizo la lectura verificando antes la hemolisis total en los tubos testigo exceptuando el del suero positivo y el de los glóbulos rojos que no deben presentar hemolisis. Se incluyeron en las reacciones tubos testigo de antígeno, glóbulos rojos, suero positivo y suero negativo.

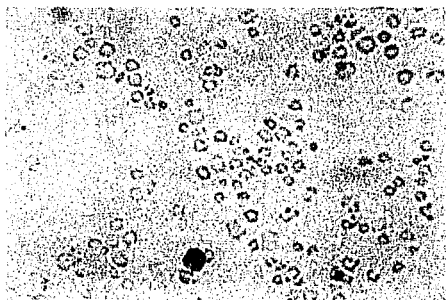
Los tubos se marcaron con +++ cuando presentaron inhibición de la hemolisis en un 100%; con ++ cuando la inhibición fue del 75%; con + del 50%; con - del 25% y negativo cuando la hemolisis fue total.

LAMINA I



Campo microscópico mostrando  
la apariencia normal de las  
células HeLa. (x 125)

LAMINA II



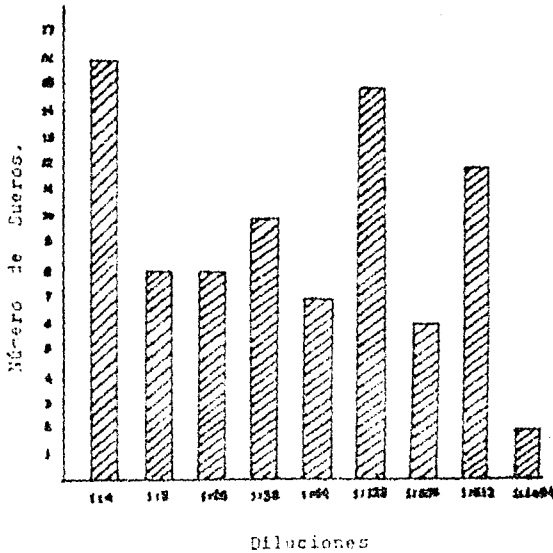
Campo microscópico mostrando  
el efecto citopatógeno de  
los adenovirus en las células  
HeLa (x 125)

### III RESULTADOS.

Se llevó a cabo, por medio de la reacción de fijación de complemento el estudio de 154 sueros sanguíneos de adultos jóvenes, obtenidos en las condiciones ya descritas. Hubo 84 sueros positivos (54%), de los cuales 68, que corresponden al 44% resultaron positivos en diluciones mayores de 1:8 y dieciséis sueros (10%) presentaron reacción positiva débil en dilución de 1:4. Solamente se consideraron aquellos sueros que hubieran dado lugar a reacciones positivas francas en diluciones superiores a 1:8 para hacer mayores diluciones. Correspondieron a este grupo 68 sueros de los cuales 42 (61%) fijaron complemento en diluciones que oscilaron entre 1:64 y 1:1 024 y se encontraron títulos entre 1:8 y 1:32 en los otros 26 sueros. Ver Figura 1.

Cuando se obtuvieron datos clínicos de 140 personas, se notó una correlación entre aquellos individuos que tenían títulos altos en sus sueros y los que manifestaban haber padecido infecciones respiratorias recientes y frecuentes. El 76% de los sueros con título alto hacia los adenovirus, pertenecían a personas que manifestaron haber padecido afecciones respiratorias frecuentes y recientes, a diferencia de 17 personas (74%) de las 70 cuyos sueros dieron resultados negativos y que también habían padecido este tipo de infecciones. Ocho de las 24 personas cuyos sueros tuvieron títulos entre 1:4 y 1:8 también habían padecido afecciones respiratorias similares. Ver Figura 2.

FIGURA 1.



Títulos de Anticuerpos hacia los Adenovirus  
 obtenidos en la Reacción de Fijación de  
 Complemento realizada con los sueros  
 positivos de los individuos estu  
 dandos.

FIGURA 2.

Relación entre las Enfermedades Respiratorias Frecuentes y el Título de -  
Anticuerpos Obtenido en los Sueros de los Individuos Estudiados.

		Número de personas con enfermedades respiratorias.		
		No. de Sueros	Recientes	No Recientes
Suero. Positivos	Título Alto ≤ 1:64	46	35 (76%)	11 (24%)
	Título Bajo ≥ 1:64	24	8 (33%)	16 (67%)
Sueros negativos		70	17 (24%)	53 (76%)
Sueros sin datos clínicos		14	--	--
Número total de Sueros		154	60	80

## IV

## DISCUSION.

En el estudio que se llevó a cabo con los sueros de 154 estudiantes se encontró que el 54% de ellos contenía anticuerpos fijadores de complemento hacia los adenovirus. Sesenta y ocho sueros (44%) tuvieron títulos superiores a 1:8 y se observaron reacciones positivas débiles en la dilución 1:6 en los dieciséis sueros restantes (10%).

Los títulos más altos que se obtuvieron correspondieron a la dilución de 1:1 024 de los sueros. Entre los positivos con título alto 42 muestras, es decir 61% tuvieron títulos que oscilaron entre 1:64 y 1:1 024, mientras que 39% dieron reacciones positivas a diluciones de 1:8 a 1:64. Entre estos últimos hubo ocho sueros cuyos títulos fueron muy bajos. Los resultados obtenidos nos indican que las infecciones -- causadas por adenovirus se encuentran ampliamente difundidas en nuestro medio.

De acuerdo con los datos clínicos proporcionados por los estudiantes observamos que un porcentaje elevado (76%) de las personas -- cuyos títulos en la Reacción de Fijación de Complemento, eran altos -- habían padecido infecciones respiratorias frecuentes y recientes; 24% de los individuos cuya Reacción de Fijación de Complemento resultó negativa informaron también haber sufrido infecciones respiratorias recientes. Es difícil determinar si éstos padecimientos respiratorios -- que manifiestan las personas son o no debidas a los adenovirus dado -- que las infecciones que producen estos virus son similares a otras infecciones respiratorias (Bell y col., 1956), pero la diferencia entre estos dos porcentajes nos da idea de que muchas de las infecciones respiratorias que se producen son causadas por adenovirus.

A pesar de que las infecciones respiratorias son de carácter leve constituyen un problema económico social de importancia en cualquier comunidad humana ya que son la causa más elevada de ausentismo - entre empleados, escolares y obreros, y tienen por lo tanto, una enorme repercusión sobre la capacidad productiva de una nación. Estas son enfermedades que pueden presentarse varias veces durante el año; en un estudio llevado a cabo en la ciudad de Cleveland, Ohio, en el cual se vigilaron 61 familias durante un periodo de observación que comprendió un año se obtuvo un promedio de más de seis ataques de infecciones respiratorias por persona por año. Todos estos padecimientos son de una contagiosidad muy elevada lo que explica su rápida diseminación dentro de una comunidad.

Las enfermedades producidas por adenovirus, son también como ya indicamos un problema médico y económico y debe por lo tanto intentarse la posibilidad de disminuir, al mínimo, su frecuencia, esto se logra si sobre la base de un mejor conocimiento de su epidemiología, se instituyen medidas preventivas eficaces.

Las vacunas polivalentes antiadenovirus preparadas con virus muertos protegen a los individuos inmunizados. Se han preparado con mezclas de virus en cultivos de tejidos de riñón de mono tratadas con formalina; así como también con virus vivos atenuados, dando lugar a la aparición de anticuerpos en los individuos vacunados. (Hitchcock y col., 1960, Flint y Stone, 1961).

Ha sido importante demostrar la amplia difusión de estos virus en nuestro medio ya que un número considerable de enfermedades respiratorias pueden evitarse por medio de la aplicación de vacunas que son útiles en la prevención de estos padecimientos, así como en la disminución de su frecuencia.

y

### RESUMEN.

Se llevó a cabo una encuesta con el objeto de determinar por medio de la reacción de fijación de complemento, qué incidencia tienen las infecciones producidas por adenovirus en nuestro medio, ya que no se tenía ningún dato sobre este tipo de infecciones respiratorias en México.

Se estudiaron 154 sueros sanguíneos tomados de estudiantes - que provenían de tres escuelas profesionales distintas y que representaban diversos niveles socio-económicos, sus edades oscilaron entre 17 y 28 años.

En el 54% de los sueros estudiados se encontraron anticuerpos hacia los adenovirus, los que fueron titulados por medio de la reacción de fijación de complemento empleando la técnica de Ben-tson. De estos el 10% tuvo un título muy bajo indicando probablemente una infección no reciente. El antígeno se preparó en cultivos de tejidos, se empleó únicamente el adenovirus tipo 6 aprovechando que estos virus tienen un antígeno común de grupo.

Se relacionaron también los datos clínicos de 140 de estas personas con los títulos obtenidos en sus sueros observándose un alto porcentaje de personas con afecciones respiratorias frecuentes y un título elevado de anticuerpos en su sangre.



## VI

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Bell, J.A., R. Burckind, S. Taffenberger, Jr., 1956.  
"Studies of Adenovirus (AFC) in Volunteers". Am. J. Pub. Health. 46, 1130-1136.
- 2.- Bell, J.A. Jr., D.E. McCoub, E.S. Murray, H.C.H. Chang y J.S. Snyder, 1959.  
Adenoviruses isolated from Saudi Arabia. I. Epidemiologic features.  
Am. J. Trop. Med. and Hyg. 8, 492-500.
- 3.- Enders, J.H., J.A. Bell, J.H. Dengle, T. Francis, Jr., -  
J.A. Hilleman, E.S. Huebner y A.H. Payne, 1956.  
"Adenovirus; Group Name Proposed for new respiratory ----  
tract viruses". Science 124, 119-120.
- 4.- Hilleman, J. A. y J.H. Warner, 1954.  
"Discovery of new agent from patients with acute respiratory illness".  
Tr. a. Soc. Exper. Biol. and Med. 82, 183-184.
- 5.- Hilleman, J., E.H.S. Torrey y H.H. Synge, 1953.  
"Transmission of m. with attenuated live adenovirus".  
J. Hyg. 51, 577-582.
- 6.- Huebner, E.S., 1958.  
"Clinical Importance of New Respiratory Viruses". Postgraduate Medicine, 23, 356-359.
- 7.- Huebner, E.S. y W.L. Rowe, 1957.  
"Adenoviruses as etiologic Agents in Conjunctivitis and Pterygoconjunctivitis" Am. J. Ophth. 42, 20-25.

- 8.- Jawetz, E., S. Mizura, A.R. Nicholas, P. Thygeson y L. Hanna, 1955.  
 "New type of AFC virus from epidemic Keratoconjunctivitis"  
 Science 122, 1190-1191.
- 9.- Rivers, T.M. y F.L. Horsfall Jr., 1959.  
 "Viral and Rickettsial Infections of Man" 3<sup>ed</sup> J.B. ----  
 Lipincott Company.
- 10.- Rosen L., S. Soren, J.A. Bell, 1961.  
 "Four Newly Recognized Adenoviruses". Proc. Soc. Exp. --  
 Biol. and Med. 107, 434-437.
- 11.- Rowe, W.P. y R.J. Huebner, 1956.  
 "Present Knowledge of the Clinical Significance of the Adenoidal Conjunctival Group of Viruses". Am. J. of Trop. Med. and Hyg. 2, 451-460.
- 12.- Rowe, W.P., R.J. Huebner y J.A. Bell, 1957.  
 "Definition and Outline of Contemporary Information on --  
 the Adenovirus Group". Ann. N.Y. Acad. Sci. 67, 255-261.
- 13.- Rowe, W.P., R.J. Huebner, L.K. Gilmore, R.H. Parrott y T.G. Ward, 1959.  
 "Isolation of a Cytopathogenic agent from Human Adenoids - Undergoing Spontaneous Degenerations in Tissue Culture".  
 Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 84, 570-573.
- 14.- Rowe, W.P., R.J. Huebner, J.W. Hartley, T.G. Ward y R.J. Parrot, 1955.  
 "Studies of the Adenoidal-Pharyngeal-Conjunctival (AFC) ---  
 Group of Viruses". Am. J. Hyg., 61, 197-218.

14.- Deane, J.H., G.B. Seal, R.G. Huebner, J.E. Whiteside, R.L. Hollridge y R.C. Turner, 1956.

"A Study of the Role of Adenoviruses in Acute Respiratory Infections in a Navy Recruit Population". Am. J. Hyg. 64, 311-319.

15.- Southern, C.M., H.R. Hilleman, y J.R. Werner, 1956.

"Pathogenicity and Oncolytic Capacity of HI Virus Strain 11-57 in Man". J. Lab. Clin. Med. 47, 573-582.

16.- Gowdyr A., J.F. Sanders y A. Holloway, 1952.

"Complement Fixation with Brunhilde and Lansing Poliovirus Viruses Propagated in Tissue Culture". Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 79, 296-300.

17.- Tait H., y J. Stone, 1961.

"An Adenovirus Vaccine Potency Test". J. Immunol. 86, ---- 353-356.