

POZNATKY A ZKUŠENOSTI ZE STUDIA VIROVÝCH ZÁNĚTŮ JATER

Plk. MUDr. R. BENDA, CSc. a spolupracovníci

Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie Praha

(náčelník: plk. MUDr. Vladimír Kotlář, CSc.)

Virovými hepatitidami (VH) jsme se začali zabývat dost pozdě, neboť vědecké poznání ve světě o sérové žloutence (hepatitidě B) už značně pokročilo a rychle také pokračoval výzkum v r. 1973 vizualizovaného původce hepatitidy typu A. V ČSSR se v této době začínal vyšetřovat povrchový antigen viru hepatitidy B (HBsAg) teprve pomocí precipitačních metod, a tak jsme si uvědomili, že pokroku lze dosáhnout jen postupně a společným úsilím, tzn. týmově. V tabulce 1 je zaznamenán vývoj struktury tvořených spolupracovníckých vztahů při studiu VH typu B — nalevo jsou základní řešitelské laboratoře a napravo ostatní spolupracující jednotky.

Tab. 1

Pracovní tým virové hepatitidy typu B

Prac. TÝM VH-B

	Hlav. řeš. lab.	Spolupráce
1973	Náč. lab.	Klin. lab. ÚVN
1974	Zal. lab. VH (báz. lab. od 1977)	Epid. odd. VÚHEM 2. int., inf. odd. ÚVN
1975	Lab. EIMI	Další klin. odd.
1976		Patol. ÚVN
1977	Zal. bioch. lab.	Krevní transf. ÚVN
1978		Nukl. med. ÚVN Imuna n.p.
1979	Imunochem. ÚSOL	Radioisot. IHE
1980		
1981	KRB (ÚSOL - VÚHEM - IHE)	ÚMG ČSAV Transf. odd. Emo
1982		

V následujících odstavcích budou stručně zhodnoceny dosažené poznatky a zkušenosti, a to podle tematických okruhů práce, nikoli podle časové posloupnosti.

Rutinní diagnostická činnost u VH typu B a její zdokonalování

Obojí bylo a nadále zůstává prvořadou náplní studia. Práce bázev laboratoře až donedávna vycházela ze základního vyšetření HBsAg metodou protisměrné imunoelektroforézy (CIEP)

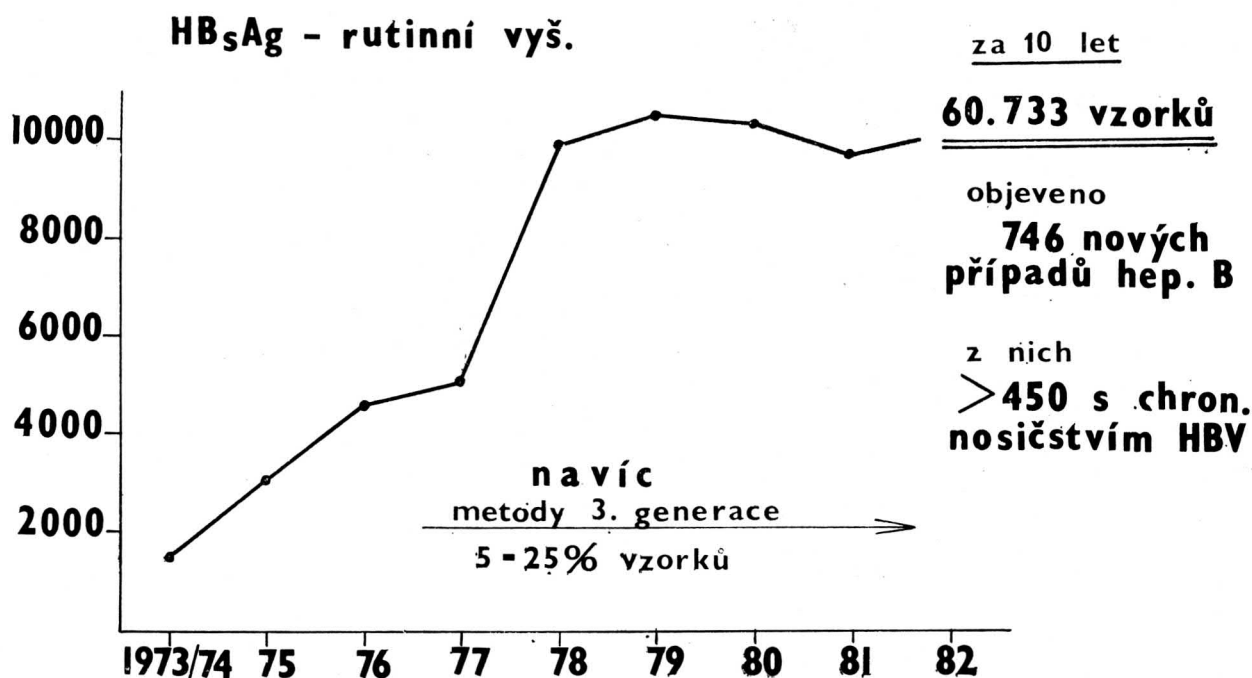
[1]. Objem screeningu se od r. 1973/74 každoročně rozvíjel v závislosti na zainteresovanosti klinických oddělení ÚVN (graf 1); počtu 10 000 vzorků ročně dosáhl v r. 1978 a od té doby zůstává přibližně na stejné úrovni. Stalo se tak po rozkazu náčelníka nemocnice o povinnosti vyšetřovat na HBsAg každého pacienta přijatého k hospitalizaci.

Za celé období do současné doby (září 1982) bylo rutinně vyšetřováno více než 60 000 sér a odhaleno přitom — podle záchytové kartotéky — 746 případů infekce virem hepatitidy typu B (HBV); z nich je daleko přes 450 chronických nosičů HBV nebo nemocných s chronickými záněty jater a jejich následky. V r. 1979 předala bázev laboratoř všechny výsledky svého rutinního vyšetřování 1973—1978 epidemiologickému oddělení jako podklad pro analýzu nosokomiální manifestace VH typu B v našem nemocničním komplexu [13].

Od r. 1977 bylo rutinní vyšetřování HBsAg doplňováno o nálezy technik 3. generace (graf č. 2). V prvním období šlo o různé reakce typu reverzní pasívní hemaglutinace (RPHA) nejdříve s dováženou soupravou HEPATEST, pak s experimentálními šaržemi domácí vyvíjené soupravy HABESAG, v posledních letech se soupravou RAPHADEX-B. Pomocí RPHA bylo přeshetřováno nejvýše 5—10 % všech vzorků. Prověřováním kvality domácí soupravy HABESAG-Imuna a zejména pak odexperimentovaným návrhem jejího konfirmačního doplňku (6) jsme přispěli k úsilí výrobního závodu o vývoj prvního domácího testu 3. generace na HBsAg (bohužel dodneška nedokončeného).

Cenná jsou doplnění poskytovaná nám od roku 1978 RIA-vyšetřeními z oddělení nukleární medicíny ÚVN; postupně byly využity v náš prospěch soupravy firmy Abbott na všechny antigenní systémy HBV. Rozsah tohoto doplňku je ovšem v převaze jenom referenční.

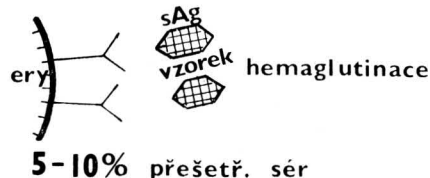
Od r. 1981 užíváme k doplnění rutinní diagnostiky domácí soupravu ELISA-HBsAg-ÚSOL v makro- nebo mikro-provedení [17, 8, 18]. Podíl tohoto přeshetřovacího screeningu stoupal až do 25 % všech vzorků. V právě uplynulém měsíci byla však zrealizována úplná náhrada CIEP mikro-testem ELISA-HBsAg. Citlivostí se souprava téměř vyrovná vyšetřování s pomocí dovážené soupravy RIA-Abbott. Z těchto důvodů lze očekávat zvýšení zachytu VH typu B nejméně asi o 1/4 až 1/3 oproti dřívějšímu. Je ovšem třeba podotknout, že zavedení reakce ELISA nese s sebou nárok na podstatné zvýšení úrovně technického provádění rutinní diagnostiky.



Graf 1. Záznam rutinního vyšetřování na HBsAg v období 1973—1982 (bázová laboratoř hepatitidy VÚHEM)

HBsAg - met. 3. gen.

1977 - RPHA



1978 - RIA

všechny antigenní systémy
pouze ref. či dopl. účel, do 1%

1981 - ELISA < makro mikro



Graf 2. Využívání metod 3. generace při rutinním vyšetřování hepatitidy B ve VÚHEM

Studium morfologie HBV a aplikace pro diagnostiku VH typu B

Technika přímé a imunoelektronové mikroskopie (IEM) promytých a negativně obarve-

ných sedimentů sér je velice náročnou metodou. Tato byla vypracována už během let 1975 až 1976 [19,9] a od té doby patří k výzbroji metod upřesňujících diagnózu vybraných případů hepatitidy typu B [2, 10].

Za celé období bylo provedeno přes 380 analýz. Podle tabulky 2 je hodnocení nálezů založeno na třech markerech:

- a) na hustotě částic,
- b) na podílu Daneových částic (virionů) k množství neinfekčních partiкул HBsAg,
- c) a konečně na výskytu kolujících částicových imunokomplexů (IK).

V dolní části tabulky 2 jsou uvedeny příklady základních diagnostických hodnocení. Stanovení vztahu markerů k diagnóze i tíži a prognóze chronických hepatitid je — kromě jiného — náš vědecký přínos [10].

K morfolickému hodnocení skladby sér, které bylo doplněno ještě o EM průkaz nukleokapsid HBV ve velmi tenkých a pozitivně obarvených řezech jaterní tkáně, se vázala v letech 1976—1980 komplexní studie punkčních jaterních biopsií. Na úkolu, který výběrem pacientů i jinak integroval dr. Stránský [11, 12, 20], se podílela všechna zapojená laboratorní pracoviště VÚHEM a ÚVN (viz výčet metodik v dolní části tabulky 3); kromě uvedených EM vyšetření tu důležitá byla výchozí kategorizace histologická. Definitivní kategorizace 57 případů chronické hepatitidy B je rovněž zřejmá z tabulky 3, ale její horní části. Hlavní přínos této studie spočívá v originálnosti zvolené metodologie.

Studium pokračuje dál od r. 1981, ale za integrace ze strany infekcionista ÚVN, dr. Pultara a dr. Kostrhuna; má za cíl analyzovat situaci nikoli u chronických onemocnění jater, ale

Tab. 2

Elektronově mikroskopické vyšetřování sedimentů sér od pacientů s VH typu B. Některé příklady nálezů

EM SÉROVÉ MARKERY

1. m. hustoty
2. m. Dane - částic (DČ)
3. m. imunokomplexů (IK)

Akutní hep.:

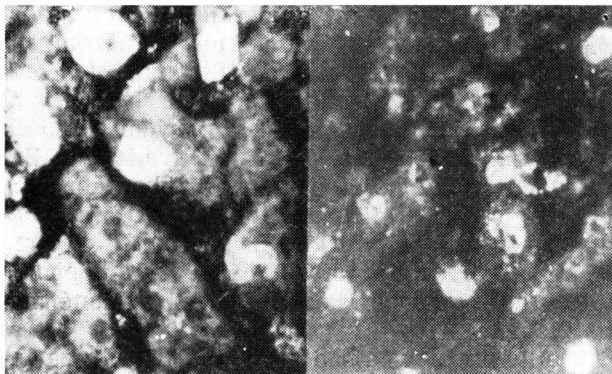
Marker	nemoc	rekonvalescence
hustota	++	+/-
DČ	++	-
IK	+	-

Nosičství HBV:

DČ + IK +	aktivní zánět (CAH, ci)
DČ - IK -	zdravé nosičství
DČ + IK -	indukované inf. nos. progred.

mezi klinicky bezpříznakovými nosiči. Usiluje se o doplnění sérologických parametrů systému HBeAg — anti-HBe k nahrazení IEM.

V hodnocení chronických hepatitid máme stále ještě dluh. Na prvním místě je to imunohistologický průkaz HBcAg v buňkách jaterních biopsií; v současné době je sice k dispozici konjugát FITC pro přímý imunofluorescenční průkaz HBsAg v cytoplasmě hepatocytů (obr. 1a), ale nepodařilo se zatím připravit účinný konjugát pro detekci dřeňového „core“-antigenu (obr. 1b). Druhým nedostatkem je skuteč-



Obr. 1. Imunofluorescenční průkaz HBsAg (a) a HBcAg (b) v jaterních buňkách člověka

Tab. 3

Komplexní vyšetření punkčních biopsií jater od 57 nemocných s chronickým nosičstvím HBsAg. Metodologie vyšetřování s kategorizací upřesněných diagnóz pacientů

NOSIČSTVÍ HBsAg - BIOPSIE

57 PACIENTŮ

- 1 subakut. hepatitis
- 5 asymptomat. „zdravých“ nos.
- 8 fibróz a steatofibróz
- 12 CPH
- 22 CAH
- 9 ci hep.

METODOLOGIE

fyzikální vyš., jat. testy vč. elfo bílk., scintigrafie, CIEP HBsAg, RIA anti-HBc a -HBs, sérové EM markery

biopsie:

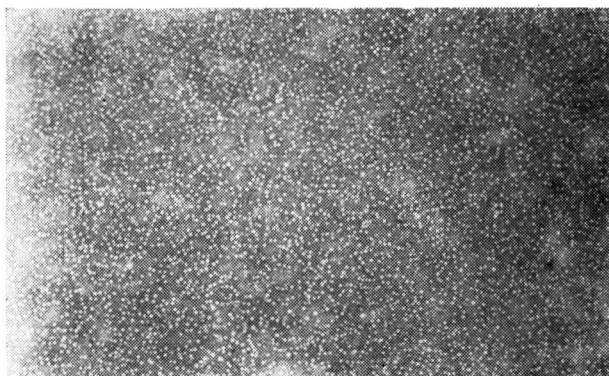
histologie, orcein. barvení, nukleokapsidy HBV (EM)

nost, že u pacientů s chronickými záněty jater nebyl zatím hodnocen imunitní stav metodami klinické imunologie; ve stavu přípravy je studie, kterou bude koordinovat dr. Stránský.

Purifikace HBsAg a vývoj testu ELISA

Tato problematika se stala nosným výzkumným programem virologického oddělení. V roce 1979 se podařilo připravit na jeho biochemické laboratoři purifikáty HBsAg z plazmy nosičů (14), které jsou na úrovni zahraničních — neobsazují běžné detekovatelné plazmatické bílkoviny a morfologicky jsou vysoce homogenní, jsou složeny výlučně jen z malých okrouhlých a neinfekčních částic HBsAg (obr. 2). Původní kombinovaná technologie jejich přípravy (tabulka 4) s výsledky, které jsou zřejmé z dat v tabulce 5, byla později ještě vylepšena a zekonomizována co do výtěžku i kvality. Pro kontrolu čistoty preparátů byla vypracována originální spektrofotometrická technika, založená na stanovení poměru obsahu dvou aminokyselin — tryptofanu a tyrosinu (16).

Purifikace HBsAg umožnila přípravu kvalitních zvířecích antisér; imunizovali jsme králíky, morčata a kozu (7). V imunizačním schématu (viz příklady v grafu č. 3) jsme využili



Obr. 2. Morfologická kontrola purifikátu HBsAg (výlučně malé okrouhlé částice rozměru 20–22 nm)

Tab. 4

Postup purifikace HBsAg z pozitivní plazmy dárce

Purifikace HBsAg

- 1 Rekalifikace + thrombin
- 2 PEG - fin. 5,5%
- 3 PEG - fin. 7%, nízké pH
- 4 CsCl grad. UC I. 20 h.
- 5 CsCl grad. UC II. 20 h.
- 6 Sacharózový grad. UC 5 h.

PEG = polyetylglykol
grad. UC = gradientová ultracentrifugace

celkovu intravenózní primo-sensitizaci organismu zvířat (navíc k lokální), což je — kromě jiného — pro nárůst protilátek optimální. Příprava antisér na králících a koze umožnila sestavit a optimalizovat v ÚSOL Praha v krátké době jednoho roku sendvičový způsob imunoenzymatické, resp. imunoperoxidázové detekce HBsAg [17], který je vysoce citlivý a specifický [8, 18] (viz graf č. 4). Poté, co byla ozřejmena vysoká produkční ekonomičnost testu (z jednoho litru séra obojího druhu lze získat reagens pro asi jeden milión vyšetření), bylo rozhodnuto o výrobě soupravy ELISA-HBsAg. K jejímu urychlení vznikla komplexní racionalizační brigáda mezi pracovníky ÚSOL, VÚHEM a IHE. Pracovníci VÚHEM se od r. 1981 významnou měrou podílejí nejen na zabezpečení výroby soupravy, ale i na konstrukci jejích modifikací a na referenční kontrole. Za pionýrskou práci v letech 1979–1980 [4] se nám dostalo všeobecného uznání.

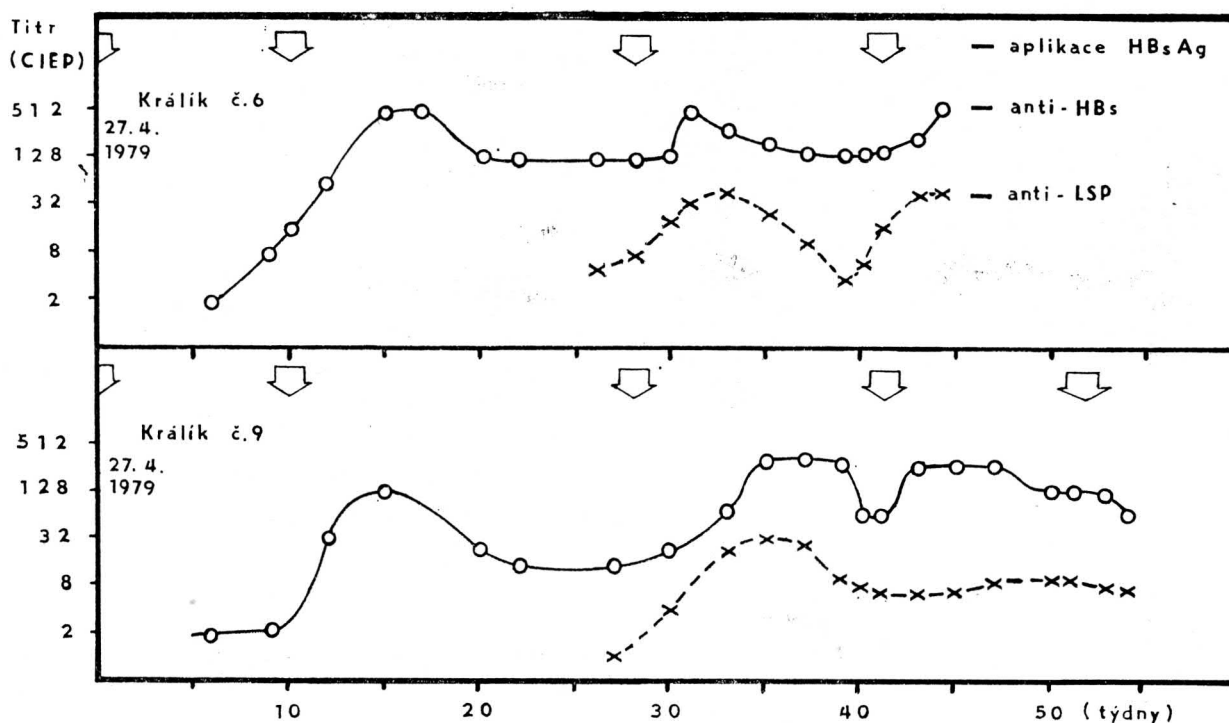
K purifikaci HBsAg se vážou ještě další dílčí tematiky. Tak např. byly studovány v r. 1980 až 1981 různé modifikace testu ELISA na detekci protilátek anti-HBs ve zvířecích sérech (na principu povlečení pevné fáze purifikovaným antigenem, nikoli protilátkou jako u soupravy na HBsAg). Zkušenosti ze studia této reakce (viz graf č. 5) se staly v r. 1981 východiskem ke spolupráci s ÚMG ČSAV na úkol, jehož cílem je získání klonovaných buněčných hybridních linií, schopných produkovat monoklonální protilátky anti-HBs.

Novum ze současného výzkumu jsou také výchozí zkušenosti se systémem HBeAg — anti-HBe. Na biochemické laboratoři byla zavedena rheoforéza k detekci tzv. e-antigenu HBV a jsou už také získány nevelké zásoby lidských sér, obsahujících vysoké koncentrace jedné či druhé složky systému. Také je k dispozici několik jaterních nekropsů s vysokým obsahem HBcAg a HBeAg. Toto činí reálným brzký pokus o izolaci obou posledně jmenovaných antigenů HBV jako předpoklad k dalším aplikacím na poli

Tab. 5

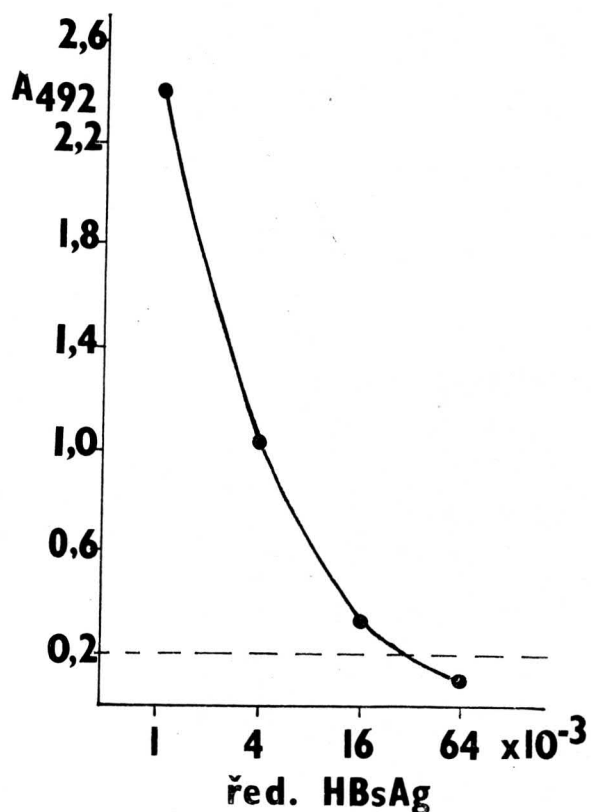
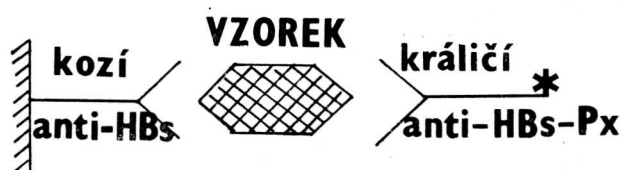
PARAMETRY ZAČÁTKU A KONCE PURIFIKACE HBsAg

MATERIÁL	OBJEM ml	PROTEIN mg/ml	EXT. KOEF. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$, 280	HBsAg RID	VÝTĚŽ. %	PURIFIK. ÚČINNOST %
VÝCH. PLASMA	2.019	58,0	8,2	22	100	1
PURIFIKÁT č. 16	14	0,75	64,7	217	7	761



Graf 3. Dva protokoly z přípravy hyperimunních sér k HBsAg u králíků

ELISA - HBsAg



diagnostiky hepatitidy B; prvním úkolem je sestavit reakci ELISA na systém HBeAg — anti-HBe.

Také jsme již zahájili pokusy o EM vizualizaci původců hepatitidy non-A non-B vedle jiných dílčích témat z oblasti VH typu B.

Ještě doplním: všechno, co je vhodné, zavádíme do praxe OHEO a dalších laboratoří. V roce 1980 jsme obhajovali dvě závěrečné zprávy rezortního plánu výzkumu (3, 4) — obě s příznivým hodnocením.

Dosavadní výsledky studia VH typu A

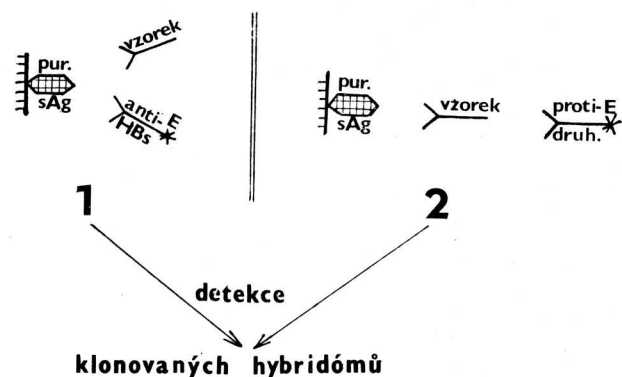
Mimo plán jsme se zabývali vědeckým objasněním etiologie akutních žloutenek r. 1979 (5). Základním poznatkem se stala vizualizace a identifikace imunokomplexovaných částic HAV v extraktech stolic od pacientů hospitalizovaných v ÚVN.

Díky iniciativě dr. Vodáka byly tyto nálezy doplněny průkazem specifické protilátkové odezvy u pacientů s pomocí dovezené RIA-soupravy HAVAB-Abbott. Přínosem je také společné zpracování prvního imunologického přehledu VH typu A u nás (21), a to z nevelkého souboru sér obyvatel Prahy přelomu let 1979 a 1980 (graf č. 6).

Od r. 1981 máme za cíl vytvořit (v kooperaci s ÚSOL a IHE Praha) experimentální podklady pro soupravu ELISA na časně protilátky k HAV. Zatím byl na biochemické laboratoři virologického oddělení vypracován — s lidskými protilátkami k HAV — test ELISA na průkaz virové-

Graf 4. Princip a citlivost imunoenzymatického testu na HBsAg, přijatého do výroby Ústavu sér a očkovacích látek

ELISA anti-HBs ve zvířecích antisérech



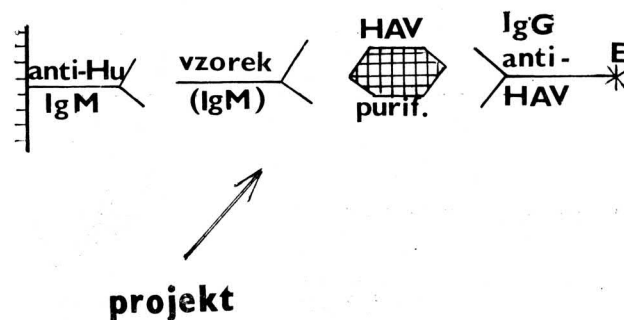
Graf 5. Princip dvou modifikací imunoenzymatického testu na protilátky k HBsAg ve zvířecích antisérech

TESTY na hep. A

ELISA - HAV



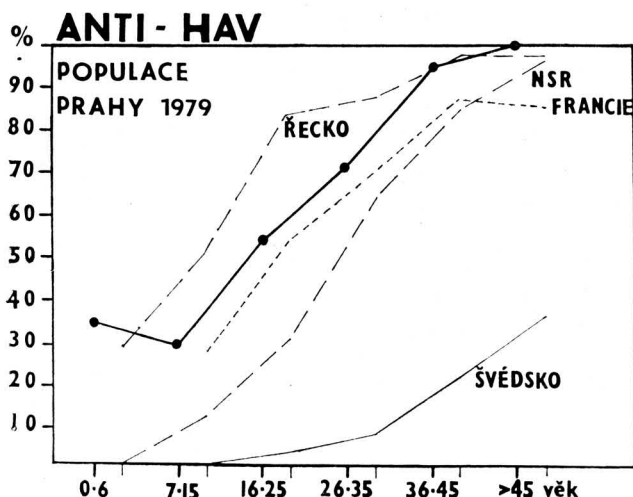
ELISA - IgM anti - HAV



Graf 7. Princip imunoenzymatických testů na průkaz hepatitidy A (detekce HAV ve stolicovém extraktu nemocných a průkaz časných protilátek v séru)

Souhrn

Příspěvek je zhodnocením desetiletého úsilí o diagnostický pokrok na úseku virových zánětů jater. Hlavní přínos představují výsledky týmového řešení úkolů rezortního plánu výzkumu předcházející pětiletky. V chodu rozsáhlé rutinní diagnostiky hepatitidy B byly uplatněny a nakonec zavedeny sérologické metody 3. generace, byly ovládnuty a v praxi využity morfologické metody s negativním barvením sedimentů sér, bylo provedeno komplexní zpracování jehlových jaterních biopsií od pacientů s chronickými formami zánětu jater a jejich následků, purifikací HBsAg byly vytvořeny podmínky pro vývoj testu ELISA na HBsAg a pro výrobu kvalitních souprav na tomto principu ve výrobním závodu. Studium nosokomiální manifestace hepatitidy B a široká účast odborných lékařů i laboratorních specialistů na většině shora uvedených dílčích směrů práce přispěly k uplatnění moderních přístupů surveillance hepatitidy B v našem nemocničním komplexu. Významný je také přínos vojenských odborníků vědeckému objasnění etiologie explozivních žloutenek r. 1979. Výsledky jako celek vytvořily dobré předpoklady pro pokračování a prohloubení výzkumu VH v 7. pětiletce. V letech 1981 až 1982 byla vypracována technika ELISA pro



Graf 6. Protilátková proměřenost malého vzorku populace Prahy k viru hepatitidy A na předělu r. 1979 a 1980. Srovnání se situací v některých evropských zemích

ho antigenu ve fekálních extraktech [15] (viz graf č. 7 nahoře), hlavně k účelu monitorování purifikace HAV. Reakce bylo využito i k diagnostickým účelům. Obtíž dalšího výzkumu je nedostatek materiálu bohatého na virus — přesto už byly zahájeny pokusy o jeho purifikaci. Pracovní skupina kooperuje s odborníky civilního sektoru (ÚSOL, IHE) a je ve vazbě na oddělení nukleární medicíny ÚVN, kde už vyšetřují — s dováženou RIA-soupravou HAVAB-M — protilátky třídy IgM.

Závěrečné zhodnocení

Společnou prací jsme určitě přispěli metodickému a vědeckému poznání na poli virových hepatitid v ČSSR. Je však také třeba poznamenat, že ve světě mezitím došlo k dalšímu nebývalému progresu na tomto úseku, takže máme dál co dohánět.

detekci HAV ve stolicových extraktech, jsou připraveny podmínky pro konstrukci testu ELISA u systému HBeAg — anti-HBe, bylo zahájeno úsilí o morfologickou vizualizaci původců hepatitidy non-A non-B, ve spolupráci s ČSAV probíhá výzkum monoklonálních protilátek anti-HBs a další.

Přes nesporný úspěch výzkumu nadále zaostráváme v možnostech vysoce kvalifikované diagnostiky a specifické diferenciace VH.

Poznámka: Předneseno na vědecké konferenci k 25. výročí založení VÚHEM v září 1982 v Sázavě u Žďáru nad Sázavou.

Literatura

1. Benda, R. - Máchová, M. - Vančurík, J.: Vyšetřování sér se zvýšenou hladinou transamináz jako účinná cesta odkrývání hepatitidy B mezi pacienty ambulantních a lůžkových jednotek. *Voj. zdrav. Listy*, 44, 1975, s. 166—170.
2. Benda, R. - Jelínková, A. - Novák, M. - Máchová, M. - Helm, R. - Stránský, J. - Jerie, M.: Diagnostika hepatitidy typu B elektronově mikroskopickým průkazem sérového korpuskulárního antigenu a jeho imunních komplexů. *Čas. Lék. čes.*, 116, 1977, s. 1483—1489.
3. Benda, R. - Jelínková, A. - Helm, R. - Stránský, J. - König, J. - Šprinc, L. - Novák, M. - Kostrhun, L. - Jerie, M. - Máchová, M.: Ovládnutí a výzkum metod průkazu antigenu Australia. [Závěrečná zpráva.] Praha, VÚHEM 1980.
4. Benda, R. - König, J. - Helm, R. - Mančal, P. - Němeček, V. - Jelínková, A.: Purifikace HBsAg a vývoj některých speciálních reagentů k průkazu hepatitidy typu B. [Závěrečná zpráva.] Praha, VÚHEM 1980.
5. Benda, R. - Jelínková, A. - Vodák, M. - Helm, R. - Rehn, F. - Novák, M.: Etiologie akutních zánětů jater v explozivní epidemii 1979 v České socialistické republice. *Čas. Lék. čes.*, 119, 1980, s. 563—567.
6. Helm, R. - Benda, R.: Zkušenosti s průkazem HBsAg reverzní pasívní hemaglutinací. *Čs. Epidem.*, 30, 1981, s. 199—202.
7. Helm, R. - König, J. - Němeček, V. - Mančal, P. - Benda, R.: Výchozí experimentální podklady k přípravě vysoce aktivních zvířecích antisér k HBsAg. *Zprávy Sevac*, v tisku.
8. Helm, R. - Mančal, P. - Kyselová, M. - König, J. - Benda, R.: Citlivost a specifická průkazu HBsAg pomocí soupravy ELISA HBsAg Macro I. In: *Sborník IV. z Konference čs. virologů v září 1981. Praha 1981*, s. 150—152.
9. Jelínková, A. - Novák, M. - Helm, R. - Benda, R. - Máchová, M.: Morfologie antigenu hepatitidy B a jeho imunokomplexů. *Voj. zdrav. Listy*, 47, 1978, s. 262 až 265.
10. Jelínková, A. - Helm, R. - Benda, R. - Stránský, J. - Novák, M.: Průkaz Daneových částic a cirkulujících imunokomplexů HBsAg u chronických forem hepatitidy B v elektronovém mikroskopu. *Čs. Epidem.*, 30, 1981, s. 148—155.
11. Jelínková, A. - Stránský, J. - Benda, R. - Helm, R. - Šprinc, L. - Vodák, M. - Novák, M.: Unusual electron microscopy findings in liver biopsies from patients with viral hepatitis B. *Acta virologica*, 25, 1981, s. 57 až 59.
12. Jelínková, A. - Stránský, J. - Helm, R. - Vodák, M. - Benda, R.: EM vyšetřování jaterních biopsií, sér a protilátek u pacientů s chronickou hepatitidou B. X. jubilejní hepatologické dny, 21.—25. 5. 1980 Karlovy Vary a Gastroenterologický den II. interního odd. ÚVN, 4. 6. 1980, Praha.
13. Kahlich, R. - Benda, R. - Caha, J. - Skočil, J. - Sedmidubský, V. - Paleček, A. - Helm, R.: Studium podkladů pro racionální prevenci vybraných nosokomiálních nákaz. [Závěrečná zpráva.] Praha, VÚHEM 1980. s. 90 až 145.
14. König, J. - Benda, R. - Němeček, V. - Helm, R. - Jelínková, A.: Purifikace povrchového antigenu viru hepatitidy typu B. *Čs. Epidem.*, 29, 1980, s. 323—333.
15. König, J. - Jelínková, A. - Helm, R. - Mančal, P. - Vodák, M. - Benda, R.: Vypřacování metody ELISA pro průkaz HAV z extraktů stolic. In: *Sborník IV. z Konference čs. virologů v září 1981. Praha 1981*, s. 150 až 152.
16. König, J. - Helm, R. - Novák, M.: Biochemická charakteristika purifikátů HBsAg. In: *Sborník IV. z Konference čs. virologů v září 1981. Praha 1981*, s. 128 až 129.
17. Mančal, P. - Benda, R. - König, J. - Helm, R. - Němeček, V.: ELISA HBsAg Macro I. Souprava na detekci povrchového antigenu viru hepatitidy B metodou ELISA. *Zprávy Sevac*, 4, 1981, s. 131—134.
18. Mančal, P. - Benda, R. - König, J. - Helm, R. - Němeček, V. - Kyselová, M.: Sensitivity and specificity of Czechoslovak ELISA HBsAg Sevac tests: Comparison with other third-generation tests and counter-electrophoresis. *J. Hyg. Epidem. Microb. Immunol.*, 1983.
19. Novák, M. - Benda, R. - Jelínková, A. - Máchová, M. - Helm, R.: Metodická problematika elektronově mikroskopického průkazu antigenu hepatitidy B a imunních komplexů s protilátkami k jeho povrchové složce. *Voj. zdrav. Listy*, 47, 1978, s. 31—39.
20. Stránský, J. - Šprinc, L. - Polomís, V. - Vodák, M. - Jerie, M. - Helm, R.: Klinická, biochemická, histologická a scintigrafická diagnostika chronické hepatitidy B. X. jubilejní hepatologické dny, 21.—25. 5. 1980, Karlovy Vary a Gastroenterologický den II. interního odd. ÚVN, 4. 6. 1980, Praha.
21. Vodák, M. - Helm, R. - Benda, R.: Protilátky proti viru hepatitidy A u zdravých osob. *Čas. Lék. čes.*, 120, 1981, s. 152—154.

Klíčová slova: Virové hepatitidy; Purifikace HBsAg.