

## TONSİLİTİSİN ETİYOLOJİSİNDE VİRUSLARIN ROLÜ

### THE AETIOLOGICAL ROLE OF THE VIRUSES IN TONSILLITIS

Yusuf Özbal\*

Kuten Kurtkan\*\*

**Özet :** Tonsilitisli 28 hastanın tonsiler dokusunda T-ve B- lenfositlerinin dağılımı ve bu lenfositlerde viral antijenler araştırıldı.

1. T-Lenfositler rozet yöntemiyle incelendi ve kronik tonsilitislielerde ortalama % 33.1, akut vak'alarda % 35.6 oranında tesbit edildi. B-lenfositler immünoflöresan yöntemiyle çalışıldı ve kronik hastalarda ortalama % 46.4, akutlarda ise % 41.8 bulundu. B-lenfositlerde sayısal bir artma görüldü ve bu artış kronik hastalarda daha belirgindi.

2. Tonsiler doku lenfositlerinden hazırlanan antijenler KBD ile titrelendirildi. Viruslara özgün antiserumlar kullanılarak 17 kronik vak'anın 6 sında influenza, 5 inde RS, 2 sinde herpes simplex ve 11 akut vak'anın birinde influenza saptandı.

3. Lenfositlerin metafazlarında kromozomal anomaliye rastlanmadı.

**Summary :** The distribution of T-and B-lymphocytes and viral antigens in tonsiler tissue of 28 patients were investigated by serological.

\* K.Ü. Gev. Nes. Tıp Fak., Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Kayseri.

\*\* K.Ü. Gev. Nes. Tıp Fak., Kulak-Burun-Boğaz Bilim Dalı, Kayseri.

1. T-lymphocytes were determined by the rosetting technique in the chronic tonsillitis about 33.1 % and in the acute tonsillitis 35.6 % B-lymphocytes were found by immunofluorescence in the chronic patients about 46.4 % and in the acute cases about 41.8 %. There was a significant increasing of B-lymphocytes in tonsils with chronic tonsillitis when compared to acute inflammation.

2. Antigens which were prepared from lymphocytes of tonsillar tissue were titrated by CF test. The reaction was shown with antisera of influenza in 6 cases, RS viruses in 5 cases, herpes simplex in 2 cases of 17 chronic tonsillitis and of influenza in a case of 11 acute tonsillitis.

3. Chromosomal abnormality were not seen in metaphase of lymphocytes.

## GİRİŞ

Tonsilitis, tonsillerin kronik veya akut seyreden bir iltihabıdır. Etkeni kesin olarak bilinmemekle beraber bazı mikroorganizmalar sorumlu tutulmaktadır. Tonsilitisli hastaların boğaz kültüründe çoğu kez normal boğaz flora bakterileri ve boğaz çalkantı suyunda bazı viruslar izole edilmişse de tonsilitis etkeni olarak hiç bir virus aday gösterilememiştir. Oysa, bakteri izolasyonu yapılamayan ve antibiyotiklerle tedavi edilemeyen orta kulak iltihaplarında respiratory syncytial (RS) virusu sıklıkla tesbit edilmektedir (2).

Tonsiler dokuda epitel ve değişik tipde lenforetiküler hücre vardır. Bu retiküler hücreler immünolojik ve yapısal durumlarına göre T- ve B-lenfositler, monositler ve Null hücreleri olarak gruplandırılır (3, 5). Bu hücrelerin dağılışı periferik kanda, lenfatik dokularda ve malign lenfoproliferatif hastalıklarda çalışılmıştır (1, 6, 9, 10, 19). T-lenfositler periferik kanda % 40-58 (1, 5, 6), kemik iliğinde % 30-80 (6), lenf nodülünde % 18-60 (6,15), tonsilde % 23.6-40.9 (1,13,16), timusda % 98 (16), apendekside % 27.9 (1) ve B-lenfosiller periferik kanda % 12.5-34 (1, 19), kemik iliğinde % 75 (6), apendekside % 54.5 (1), lenf nodülünde % 21-31 (1, 5), tonsilde % 50,3-59.1 (13,16), timusda % 2 (6) oranlarında tesbit edilmiştir. Tonsilitisli hastaların periferik kanlarında ve tonsillerinde T-lenfositlerin azaldığı, B-lenfositlerin arttığı ve IgG, IgA, IgM, IgD ve IgE reseptörleri taşıyan lenfositlerin oranı yaşa göre değiştiği gösterilmiştir (1, 13). Lenfositler-

rin sayısal değişimleri ile histopatolojileri arasında bağınıtı yönünden herhangi bir kaynak bulunmamaktadır.

Antibiyotik ve kemoterapötik uygulandıktan sonra tedavi mümkün olmayan vak'alarda tonsillektomi yapıldı. Tonsillerde, immünolojik yöntemle T-ve B-lenfositlerin dağılımı ve serolojik yöntemlerle viral antijenler titrelendirildi.

## Gereç ve Yöntem

### 1. Lenfositlerin ayırımı :

Gevher Nesibe Tıp Fakültesi K.B.B. Kliniğinde antibiyotik ve kemoterapötikle tedavi edilemeyen 5-25 yaşlar arasında, toplam 28 vak'anın 17 si kronik ve 11 i akut tonsilitisli hastaların tonsilleri steril Hanks solusyonu içine alındı. Bu hastalardan ve 5 kontrol gruptan heparinli 3 ml kan sağlandı.

Hanks içinde yıkanan tonsiller bistüri ile küçük parçalara ayrıldı ve 3 ml Medium 199 içinde ezildi. Madeni bir süzgeçten geçirilerek hücre artıklarından arındırılmış homojen süspansiyon haline getirildi (1). İçinde 3 ml ficoll-Hyopaque (Nyegaard Co.) bulunan santrifüj tüpü üzerine tabaka halinde karıştırmadan 3 ml periferik kan veya homojen tonsil hücre süspansiyonu ilave edilerek 1500 dev/dk da 45 dk santrifüj edildi. Orta kısımda lenfositlerden zengin tabaka Pastör pipeti ile alındı ve 3 kez Hanks içinde yıkanarak aynı solusyonla  $3 \times 10^6$  lenfosit/ml ye ayarlandı.

T-lenfositler : T-lenfositlerin sayımında rozet yöntemi uygulandı (16). Defibrine koyun eritrositlerinden (KE) Hanks içinde hazırlanmış % 1 lik süspansiyonu ile eşit hacimde karıştırılmış inaktive fetal dana serumundan 0.08 ml alınarak 0.2 ml  $3 \times 10^6$  lenfosit/ml hücre süspansiyonu üzerine konuldu ve 30 dk 37°C lik etüvde bekletildi. Enkübasyondan sonra KE nin % 1 lik süspansiyonundan tekrar 0.2 ml ilave edilerek 500 dev/dk da 5 dk santrifüjle çöktürüldü ve 4°C de 12 saat tutuldu. Tüp hafifce sallanarak süspansiyondan Pastör pipetiyle bir damla mikroskop lamı üzerine alındı ve lamelle kapatıldı. Rozet teşkil eden, en az 4 eritrosit bağlayan hücrelerin sayısı, 300 lenfosit sayılarak tesbit edildi.

B-lenfositler : Lenfositler Hanks içinde yıkandıktan sonra 0.5 ml  $3 \times 10^6$  lenfosit/ml alındı ve üzerine insan globulinlerine karşı koyun-



larda hazırlanmış florescein isothiocyanate ile işaretli antiserumun (Ig, Wellcome) 1 : 10 dilisyonundan 0.5 ml ilave edilerek 30 dk oda ısısında enkübasyona bırakıldı. Hanks ile 3 kez yıkanan hücreler lam üzerine alındı ve lamelle kapatıldı. Preparasyonlar, Avusturya malı Reichert ultraviyole (UV) flöresan mikroskobu (HBO 200 W Osram cıva buharlı lamba, karanlık alan kondansör, UG ve yeşili absorbe eden filtrelili) ile % 90 gliserin damlatılarak incelendi. UV-ışığı altında bütün hücreler sayılarak (enaz 200 lenfatik hücre) kenar kısımlarında veya enaz 4 granüllü flöresan veren lenfositlerin yüzdeleri alındı.

## 2. Serolojik Yöntemler :

Antijen : Hanks içinde hazırlanan lenfositlerin ( $3 \times 10^6$  hücre/ml) 2 ml si 1500 dev/dk da 10 dk santrifüjde çöktürüldü ve 0.2 ml serum fizyolojik (SF) ilave edildi. Soğukda ( $-40^{\circ}\text{C}$ ) dondurulup ve  $37^{\circ}\text{C}$  de çözündürme işlemi 3 kez tekrarlandı. Hücre elemanları çöktürülerek üst sıvı antijen olarak kullanıldı (18).

Kompleman Birleşmesi Deneyi (KBD) : Sever'in (14) mikroteknik yöntemi plastik panellerde uygulandı. Bütün dilisyonlarda veronal tampon solusyonu ( $\text{NaCl}$ , 85 mg/lit; diethyl-barbitürük asid 5.75 mg/lit; sodyum barbitone 2 mg/lit;  $\text{MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  1.68 mg/lit ve  $\text{CaCl}_2$  0.28 mg/lit) 0.025 ml hacimlerde kullanıldı. Antijenlerin 1 : 2-1 : 128 arasında katlı dilisyonları yapıldı. Üzerine herbir test için ayrı ayrı antiserumlar (influenza, parainfluenza, herpes simplex, coxsackie A, RS ve adeno-virus tip 7 viruslarına karşı hazırlanmış) ve 2.5 ünitelik kompleman (Wellcome) damlatılarak bir gece  $4^{\circ}\text{C}$  de tesbit edildi. Hassaslaştırılmış hemolitik sistem ilave edilerek  $37^{\circ}\text{C}$  de 1 saat enkübasyonu takiben 2 saat  $4^{\circ}\text{C}$  de bekletildi ve hemoliz durumuna göre değerlendirildi. Antijen titresi; % 50 üzerinde hemoliz olan en yüksek dilisyon olarak kabul edildi. Pozitif antijen kontrol ve kontrol lenfositlerden hazırlanan negatif antijenlerde aynı işlemler tekrarlandı.

Presipitasyon Deneyi : Noble agar, % 2 oranında SF içinde hazırlandı ve 60x30 mm lamlara yayıldı. Üzerinde açılan deliklerden ortaya KBD de kullanılan antijenler ve kenar deliklere virüslara özgül antiserumlar damlatıldı. Pozitif kontrol için ortaya virus süspansiyonu tatbik edildi. Oda ısısında 4 gün enkübasyondan sonra SF ile yıkandı ve kurutuldu. Bunlar naftalin black boyası (Naphtalin black 10 mg,  $\text{H}_2\text{O}$  450 ml, asetik asid % 12, Sodyum asetat % 16) ile 3 saat boyandı ve % 2 lik asetik asid içinde yıkandı. Son neticeler kuru lam üzerinde okundu.

### 3. Kromozomların Hazırlanması :

Medium 199 içinde % 10 fetal dana serumu ve antibiyotik bulunan 10 ml vasat içinde  $3 \times 10^6$  lenfosit/ml karıştırılarak son konsantrasyonu  $1 \mu\text{g/ml}$  colchicine (Sigma) ilave edildi. Altı saat  $37^\circ\text{C}$  de bekletildikten sonra hücreler çöktürüldü. Üzerine hipotonik solusyon ( $1 \times \text{Hanks} : 9 \times \text{H}_2\text{O}$ ) konuldu ve 15 dk sonra 1 : 2 oranında asetik asid : metanol ile 30 dk tesbit edildi. Santrifüj tüpünden lama alınan damlalar hafifce alevden geçirilerek havada kurutuldu ve % 10 Giemsa ile boyandı. SF ile yıkanan lamlar aseton ve ksilolle temizlendi, ışık mikroskobunda incelendi (8).

## BULGULAR

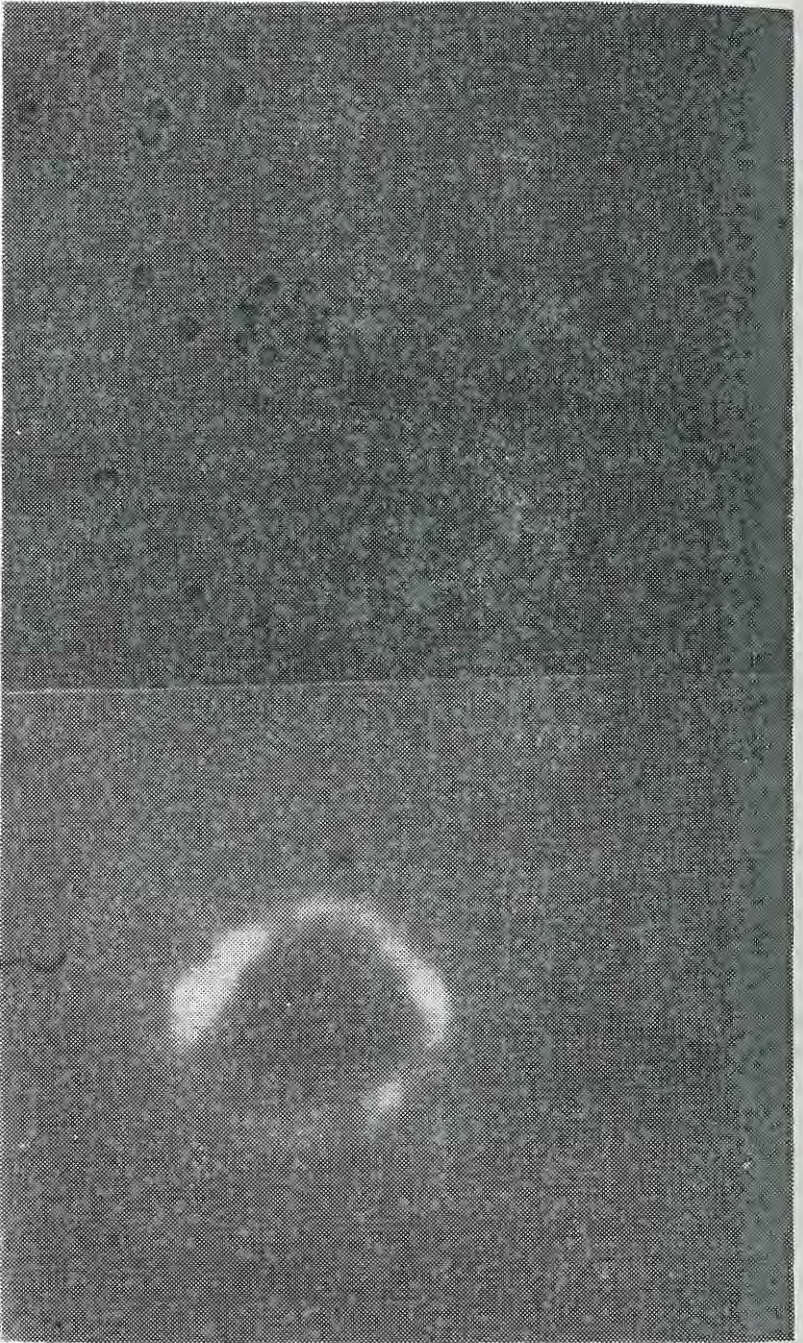
### 1. Tonsilitisli hastaların tonsil ve periferik kanlarında T- ve B-lenfositlerin dağılımı

Rozet yöntemiyle T-lenfositler ve immünofloresan yöntemiyle B-lenfositler incelendi. T-lenfositler, bir lenfositin etrafında 4 veya daha fazla eritrosit bağlayanlar pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 1a). Kenarlarında veya enaz 4 granül flöresan veren lenfositler B-tipi olarak kabul edildi (Şekil 1b). Lenfosit dağılımı kontrol grupla karşılaştırılarak tablo I de özetlendi. T-lenfositlerin ortalama yüzdeleri; kronik vak'aların tonsillerinde % 33.1, periferik kanlarında % 39.0; akut vak'aların tonsillerinde % 35.6, periferik kanlarında % 43.0 ve kontrol grubun periferik kanında % 55.0 oranlarında bulundu. B-lenfositlerin ortalama yüzdeleri; kronik vak'aların tonsillerinde % 46.4, periferik kanlarında % 28.2; akut vak'aların tonsillerinde % 41.8, periferik kanlarında % 35.0 ve kontrol grubun kanında % 14.0 izlendi. Kronik tonsilitisli hastaların tonsil hücrelerinin % 20.5 i ve akut vak'alarda % 32.8 i bu immünolojik yöntemle tanımlanamadı. T-lenfositlerin azalmasına karşın B-lenfositler, tonsillerde belirgin olarak arttığı görüldü. Kontrol gruba oranla artan B-lenfositler, kronik tonsilitisli hastalarda akut hastalardan daha yüksek bulundu.

### 2. Serolojik Bulgular :

Tonsil doku ve periferik kan lenfositlerinden hazırlanan antijenler, çeşitli virüslara özgün antiserumlar kullanılarak KBD ile titrelendirildi. Pozitif kontrol antijenlerle elde edilen 1 : 8 ve yukarı titreler esas alındı ve Tablo II de özetlendi. Toplam 17 kronik vak'



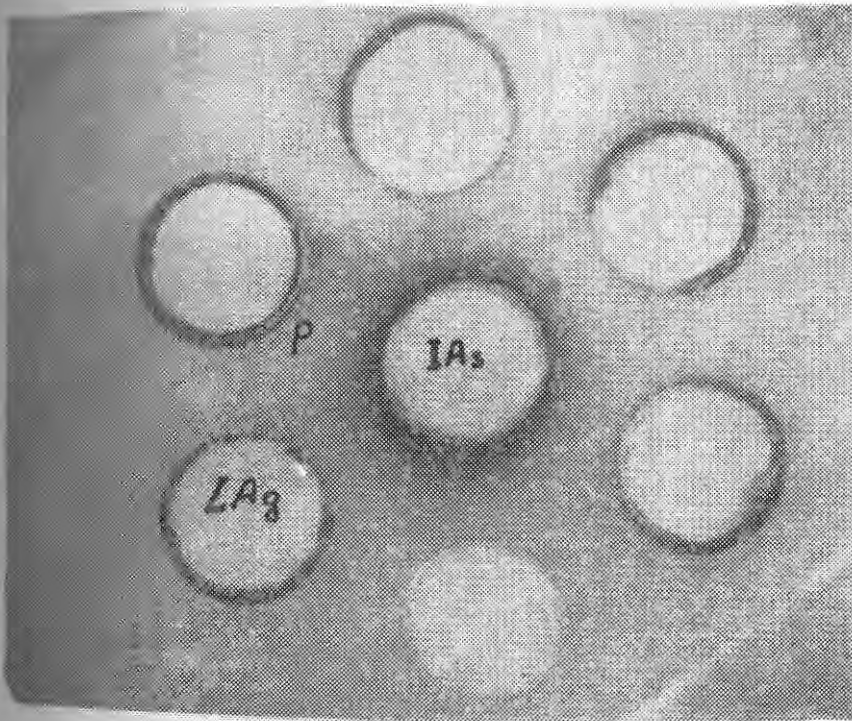


Şekil 1. T ve B lenfositlerin görünüşü

- a) T-lenfosit
- b) B-lenfosit

anın 13 ünde değişik virüslere karşı hazırlanmış antiserumlarla 1 : 8 veya yukarı titrelerde reaksiyon verdi. Bunların 6 sında influenza antiserumlarıyla ortalama 1 : 12, 5 inde RS antiserumuyla ortalama 1 : 7 ve 2 sında herpes simplex antiserumuyla ortalama 1 : 8 titrede değerler elde edildi. Toplam 11 akut tonsiler lenfosit antijenlerinden, ancak birinde influenza antiserumuyla 1 : 8 titrede reaksiyon izlendi. Kontrol grup lenfositlerinden hazırlanan antijenlerle, kullanılan antiserumlar arasında reaksiyon görülmedi ve ortalama titreleri 1 : 4 olarak bulundu.

Agar-jel presipitasyon deneyinde aynı antijenler kullanıldı. Ancak, kronik vak'aların birinden hazırlanan tonsiler lenfosit antijeniyle influenza antiserumu arasında presipitasyon çizgisi tesbit edildi (Şekil 2). Bu antijenin titresi 1 : 16 olarak KBD ile gösterildi.

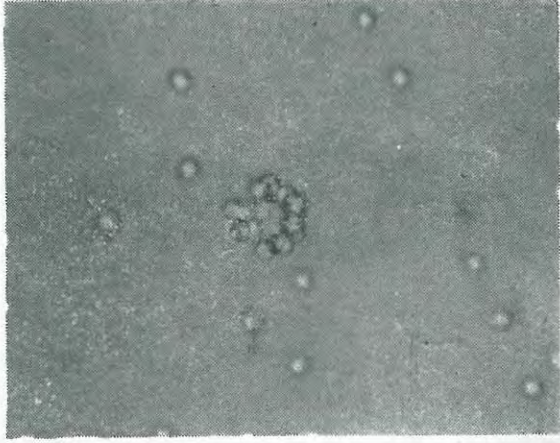


Şekil 2. Tonsil lenfositlerinden hazırlanan antijen (LA<sub>g</sub>) ile influenza anti serumu (IA<sub>s</sub>) arasında oluşan presipitasyon (P)



### 3. Kromozom analizi :

Tonsiller doku ve periferik kan lenfositlerinde kromozomal anomalie rastlanmadı.



TABLO I. Tonsilitisli hastaların tonsil ve periferik kanında T- ve B- lenfositlerin dağılımı

Lenfosit Kaynağı	% T-Lenfosit Ortalaması	% B-Lenfosit Ortalaması
Periferik kan	36.9	40.9
Kronik tonsilitisli vak'alar (17) :		
Tonsil	33.1	46.4
Periferik kan	39.0	28.2
Akut tonsilitisli vak'alar (11) :		
Tonsil	35.6	41.8
Periferik kan	43.0	35.0
Kontrol Grup :		
Periferik kan	55.0	14.0
Diğer kaynaklar :		
Alexopoulos ve Ark. (1)		
Tonsil	23.6	59.1
Periferik kan	50.0	12.5
Appendex	27.9	54.5
Tabata ve ark. (16)		
Tonsil	22.6	38.7



TABLO II. Tonsiler doku lenfositlerinin hazırlanan antijenlerin KBD ile titrelendirilmesi

Antikor kaynağı : Standart antiserumlar	Tonsiller doku lenfositlerinden hazırlanan antijen :						
	Kronik vak'alar (17)			Akut vak'alar (11)			Nor. grup
	≥1:4	<1:4	GOT*	≥1:4	<1:4	GOT	GOT
İnfluenza	11	6	1:12	10	1	1:5	1:2
Parainfluenza	7	0	1: 4	11	0	1:4	1:4
Herpes simpleks	15	2	1: 8	11	0	1:2	1:2
Coxsackie A	17	0	1: 2	11	0	1:2	1:2
RS	12	5	1: 7	11	0	1:4	1:4
Adenovirus tip 7	17	0	1: 2	11	0	1:2	1:2

\* GOT : Geometrik Ortalama Titre

## TARTIŞMA

Tonsilitisli hastaların boğaz kültürlerinde bazı mikroorganizmalar ve boğaz çalkantı sularında viruslar izole edilmişse de, hastalığın bir immünolojik hadise olduğu görüşü devam etmektedir. Tonsillerin T- ve B-lenfositleri üzerinde yapılan araştırmalarda, B-lenfositlerin arttığı (% 59.1) ve T-lenfositlerin azaldığı % 23.6) saptanmıştır (1). Normal periferik kanda; % 40-58 oranında T-lenfositler ve % 12.5-34.0 B-lenfositler bulunmaktadır (5, 10, 19). Lenf nodüllerinde ise, T-lenfositler % 18-60 ve B-lenfositler % 31 olarak izlenmiştir (4, 9, 15). Vak'alarımızın tonsiler dokusunda B-lenfositlerin yüzdeleri periferik kan lenfositlerine oranla artmış ve T-lenfositler azalmıştır. Kontrol grubun periferik kan lenfositleri ile karşılaştırıldığı zaman yine T-lenfositlerinde bir azalma ve B-lenfositlerinde ise bariz bir artma görülmektedir. B-lenfositlerdeki bu artış, kronik vak'alarda akut vak'lara oranla daha belirgindir. Bu bulgular Alexopoulos ve ark'nın (1) tonsilitislielerde yaptıkları çalışmayı doğrulamaktadır. Tonsiler doku hücrelerinin % 20.5-32.8 inin identifikasyonu bu immünolojik yöntemle tesbit edilememiştir.

Lenfoproliferatif ve bazı malign hastalıklarda B-tipi lenfositler fazladır ve bunların çoğu transforme hücrelerdir (11). Kronik tonsi-

litislilerde B-lenfositlerin yüksek oranda bulunması transforme B-tipi hücrelerin artması demektir. B-tipi transforme lenfositlerin artımı bir antijenik stimülasyonun sonucu olduğu düşünülmektedir. Akdeniz tipi lenfomalı hastaların ince barsak lamina propriasında B-tipi transforme lenfositlerin yaygınlığı, hasta serum ve jejonal sıvısında anormal immünoglobulin salınımı ile immünoglobulin düzeyinde artma gösterilmiştir (12). B-lenfositlerin transformasyonunda ve anormal immünoglobulin yapımında hazırlayıcı faktör, immünoglobulin sentezini kontrol eden genleri değiştiren bir virusun onkojenik etkisi ileri sürülmektedir (11). Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda virus veya virusa benzer partikül görülmediği halde, bu hastalığın etiolojisinde bir virus olabileceği görüşü savunulmaktadır (11, 17). Tonsilitisli vak'alarımızda da B-tipi lenfositler artmıştır ve tonsiller dokuda bazı viruslar serolojik olarak tesbit edilmiştir. Bunlarında etiolojisinde bazı virusların olabileceği düşünülür niteliktedir. Genetik denge esasına göre bir virus tarafından transformasyona uğramış B-lenfositlerin kromozomlarında bir anomali beklenebilir. Hücrelerin, adenovirus ve Epstein-Barr viruslarıyla enfeksiyonundan sonra meydana gelen kromozomal anomaliye (8) benzer durumlar, vak'alarımızın tonsiler doku lenfositlerinde rastlanmamıştır. İnfeksiyöz mononükleoz'lu hastaların lenfositlerinde kromozomal anomali bulunmadığı halde, Epstein-Barr virusuna karşı antikolar, hasta serumlarında yüksek düzeyde bulunmuştur (7).

Tonsil B-tipi lenfositlerinde artış ve buna neden antijenik bir stimülasyon bulunmuştur. Kronik tonsilitisli hastaların tonsiler dokusunda influenza, herpes simplex ve RS virusları seroloji yöntemleriyle saptanmıştır. Bu viruslar, kronik tonsilitisin etiolojisinde önemli rol oynayabileceği düşünülür niteliktedir. Çabalar, tonsiler doku lenfositlerinden doku kültürü hazırlanmalı, nükleik asid hibridizasyon yöntemiyle etken olabilecek virusun replikasyonu ve elektron mikroskobu ile viral partikülün tesbiti için yönlendirilmelidir.

#### KAYNAKLAR

1. Alexopoulos, C., Papayannis, A.G. and Gardikas, C.: Increased proportion of B lymphocytes in human tonsils and appendixes, *Acta Haemat* 55 : 95, 1976.
2. Berglund, B., Salmivalli, A. and Grönroos, A.: The role of respiratory Acta Oto-laryn 63 : 445, 1967.
3. Craddock, C.G., Longmire, R., Mc Millan, R.: Lymphocytes and the immune response, *New Engl J Med* 285 : 324, 1971.

4. Jaffe, E.S., Shevach, E.M., Frank, M.M., Berrard, C.W. and Green, I.: Nodular lymphoma. Evidence for origin from follicular B lymphocytes, *New Engl J Med* 290 : 813, 1974
5. Jondal, M., Holm, G. and Wigzell, H.: Surface markers on human T and B lymphocytes. I.A large population of lymphocytes forming non-immune rosettes with sheep red blood cells, *J Exp Med.* 136:207, 1972.
6. Gupta, S. and Good, R.A.: Subpopulations of human T lymphocytes. III. Distribution and quantitation in peripheral blood, cord blood, tonsils, bone marrow, thymus, lenf nodes and spleen, *Cellular Immunology* 36 : 263, 1978.
7. Marston, S.D., Almond, E.J., Bishun, N.P., Maunsell, E.D. and Sutton, R.N.: A «virus free» cell line derived from a patient with infectious mononucleosis, *J Clin Path* 25 : 701, 1972.
8. Özbal, Y.: EBV ile enfekte olan fibroblastlarda anormal kromozomlar, *Doğa* 11 : 30, 1978.
9. Pincus, S., Bianco, C. and Nussenzweig, V.: Increased proportion of complement -receptor lymphocytes in the peripheral blood of patients with chronic lymphocytic leukemia, *Blood* 40 : 303, 1972.
10. Preudhomme, L. and Seligman, M.: Surface bound immunoglobulins as a cell marker in human lymphoproliferative diseases, *Blood* 40 : 777, 1972.
11. Rambaud, J.C. and Matuchansky, C.: Alpha-chain disease pathogenesis and relation to mediterranean lymphoma, *Lancet* 1 : 1430, 1973.
12. Seligmann, M., Mihaesco, E., Frangione, B.: Studies on alpha chain disease, *Ann N Y Acad Sci.* 190: 487, 1971.
13. Sesterhenn, K., Kruger, G.R.F. and Uhlmann, Ch.: Percent distribution of T-and B-cells in tonsils of children, juvenils and adults, *Arch Oto Rhinolaryng* 218 : 37, 1977.
14. Sever, J.L.: Application of a microtechnique to viral serological investigation, *J Immunol* 88 : 320, 1962.
15. Silveiro, N.P.A., Mendes, N.F. and Tolnai, M.E.A.: Tissue lokalization of two population of human lymphocytes distinguished by membrane receptors, *J. Immun* 108 : 1456, 1972.
16. Tabata, T., Enomoto, T., Fujimura, N. and Hiramatsu, K.: Immunological function of human tonsils with special reference to E-and EAC-binding lymphocytes, *Acta Otolaryng* 77 : 150, 1974.
17. Uzunalimoğlu, B., Batman, F. Özoran, Y., Uzunalimoğlu, Ö. ve Kerse, İ.: Alfa-zincir hastalığı, elektronmikroskopik gözlemler, *Patoloji Bull.* 5 : 33, 1978.
18. Vonka, V., Benyesh-Melnick, M. and Mc Combs, R.M.: Antibodies in human sera to soluble and viral antigens found in Burkitt lymphoma and sera to soluble and viral antigens found in Burkitt lymphoma and other lymphoblastoid cell line, *J Natl Cancer Inst* 44 : 865, 1970.
19. Wilson, J.D. and Nossal, G.J.V.: Identification of human T and B lymphocytes in normal peripheral blood in chronic lymphocytic leukaemia, *Lancet* ii : 788, 1971.