

Über Hämagglutination durch Virusarten

Autor(en): **Hallauer, C.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **3 (1947-1948)**

Heft 2-3

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-306884>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Bern

Über Hämagglutination durch Virusarten

Von C. Hallauer

Wie *Hirst* (16, 17) und *McClelland* und *Hare* (27) erstmalig (1941) feststellten, vermag *Influenzavirus* Hühnererythrocyten zu agglutinieren und wird diese Reaktion durch Immuns Serum in spezifischer Weise aufgehoben. Dieser Effekt ist nun keineswegs auf Influenzavirus beschränkt, sondern konnte in der Folge auch für andere Virusarten nachgewiesen werden, nämlich für das Virus der *Hühnerpest* (1, 26, 14), *Vaccine* (31, 5), *Parotitis epidemica* (25), *Mäusepneumonie* (30, 6), *Ectromelie* (13), *equine Encephalomyelitis* (15) sowie für den *pantropen Stamm des Gelbfiebersvirus* (13) und bestimmte *murine Poliomyelitisvirusstämme* (13). Dagegen läßt sich das Phänomen von *Hirst* mit einigen streng neurotrophen Virusarten (menschliche und bestimmte murine Stämme des Poliomyelitisvirus [15], neurotropes Gelbfiebervirus [13], Lyssavirus [13]) sowie Bacteriophagen (15) anscheinend nicht auslösen. Hämagglutinationsreaktionen ähnlicher Art sind nun auch bereits früher und in neuerer Zeit mit bakteriellen Mikroben (*E. Coli* [12, 33], Pneumo- und Streptokokken [13, 15]), Fleckfiebrickettsien (13), Cobragift (7) und den sogenannten Phytoagglutininen (22, 23) festgestellt worden. Fernerhin wäre zu prüfen, ob zwischen der hämolysierenden Wirkung bakterieller Toxine, Giften von Schlangen und Insekten und dem Phänomen von *Hirst* nicht engere Beziehungen bestehen.

Der *Mechanismus der Hämagglutination* durch Virusarten ist bisher nur unzureichend aufgeklärt. Immerhin dürfte sichergestellt sein, daß das Virus selbst hämagglutinierende Eigenschaften besitzt, da der Test von *Hirst* auch mit hochgereinigten Virusproben positiv ausfällt (10, 11, 35, 36, 24), der Hämagglutinations- mit dem Infektiositätstiter und dem antigenen Vermögen weitgehend parallel geht (16, 17, 18) und die Hämagglutination durch virusneutralisierende Sera in spezifischer Weise und entsprechend dem Gehalt an neutralisierenden Antikörpern gehemmt wird (17). Fernerhin steht außer Zweifel, daß zwar die Infektiosität an die hämagglutinierende Funktion gebunden ist, das agglutinierende

Agens jedoch auch noch in schonend inaktivierten Virusproben nachzuweisen ist (17, 18, 24, 30, 6). Dieser Befund führte zur Vorstellung, daß an der Hämagglutination nicht das gesamte Viruspartikel, sondern nur eine bestimmte Viruskomponente, der sogenannte «A-Rezeptor», beteiligt ist. De facto konnte nun aber dieser Rezeptor bisher nicht isoliert werden, so daß auf dessen chemische und biologische Natur einstweilen nur auf Grund indirekter Befunde geschlossen werden kann. Die für das hämagglutinierende Agens nachgewiesene Thermolabilität (18, 28) und Angreifbarkeit durch bestimmte proteolytische Fermente (Trypsin, Chymotrypsin [6]) scheint darauf hinzuweisen, daß der A-Rezeptor ein Eiweißkörper ist. Aus der Analyse der Reaktionskinetik ergab sich fernerhin, daß das agglutinierende Agens rasch und vollständig an das Substrat adsorbiert und nachfolgend eluiert wird, so daß die Annahme wohl gerechtfertigt ist, daß der A-Rezeptor katalytische Funktionen ausübt, d. h. nach Art eines Enzymes wirksam ist (18). Hiermit ergibt sich eine bemerkenswerte Analogie zu dem mit bakteriellen Kulturfiltraten bewirkten, erythrocytenumformenden Prinzip von *Thomsen* (37) und *Friedenreich* (9) und der von *Wienhaus* analysierten Phytoagglutination, die beide als fermentativ bedingte Vorgänge aufzufassen sind.

An welchem *Substrat* das hämagglutinierende Agens am Erythrocyten angreift und welche Zellveränderung die Virushämagglutination bewirkt, ist ebenfalls nur teilweise bekannt. Der von *Parodi* und Mitarbeitern (32) erhobene Befund, wonach der hämagglutinierende Rezeptor des Influenzavirus vorwiegend von den stromafreien Kernen der Hühnererythrocyten adsorbiert wird, konnte schon deshalb nicht befriedigen, weil von den meisten Virusarten auch kernlose Erythrocyten agglutiniert werden. Erwartungsgemäß wurde vielmehr festgestellt, daß mit ausgewaschenen und selbst auf Kochtemperatur erhitzten Erythrocytenstromata prinzipiell dieselbe Adsorption und Elution von Virus wie mit Vollerythrocyten erzielt werden kann (18, 6). Die nachgewiesene Thermostabilität des adsorbierenden Substrates scheint darauf hinzuweisen, daß dasselbe nicht durch ein Eiweiß, sondern möglicherweise durch einen lipoidartigen Körper (vgl. unten) repräsentiert ist. Die Veränderung, welche die Zelloberfläche unter der Einwirkung von Virus erleidet, kann anscheinend dreifacher Art sein und äußert sich: 1. im Auftreten einer «unspezifischen» Panagglutinabilität gegenüber den meisten Normalseren (4), ein Befund, der wiederum mit dem *Thomsen-Friedenreich*-schen Phänomen in auffallender Analogie steht und möglicherweise ebenfalls auf die Ausbildung eines neuen, «multivalenten» Rezeptors hinweist; 2. seltener und bisher nur für das Mumps- und Newcastle disease Virus nachgewiesen, in der Bildung eines virusspezifischen Rezeptors,

der mit Immunsereen (Mumps- bzw. Mononucleose-Serum) unter dem Phänomen der Agglutination reagiert (2, 3), und 3. in der «spezifischen Desensibilisierung» bzw. Inagglutinabilität des Erythrocyten auf die erneute Zufuhr derselben Virusart, die schon zur Vorbehandlung diente (18, 4). Die Annahme liegt daher nahe, daß das reagierende Zellsubstrat durch den vorgängigen Kontakt mit Virus inaktiviert wird und daher nicht mehr disponibel ist. Die wichtige Frage nach der Spezifität dieses Absättigungsvorganges wurde dadurch geprüft, daß die Agglutinabilität von Erythrocyten, die mit bestimmten Virusarten vorbehandelt worden waren, gegenüber heterologen Virusarten und Typen ermittelt wurde. Derartige bisher nur mit wenigen Virusarten durchgeführte Untersuchungen erlaubten die Aufstellung einer Skala, auf welcher die untersuchten Virusarten (Mumps-, Newcastle disease Virus, Influenzavirustypen) nach dem Ausmaß ihrer «desensibilisierenden» Wirkung gruppiert werden konnten. Diese Absättigungsversuche zeigen nun allerdings einen auffallenden Mangel an Spezifität und lassen die Existenz von A-Rezeptoren ungleicher Qualität zweifelhaft erscheinen. Vielmehr erhält man den Eindruck, daß die nachgewiesenen Unterschiede quantitativer Art sind im Sinne einer ungleich starken Veränderung der Zelloberfläche. Diese Vermutung wird durch Versuche bestärkt, in welchen es gelang, mit der im α -Toxin von Cl. Welchi und in Cholerakulturfiltraten vorhandenen Lecithinase Erythrocyten so zu verändern, daß dieselben gegenüber den geprüften Virusarten ebenfalls inagglutinabel wurden, und zwar wiederum in der Reihenfolge, die sich bereits bei der Vorbehandlung mit Virus ergeben hatte (4). Sollte sich dieser Befund bestätigen lassen, so wäre wohl der unspezifische Charakter der Hämagglutination durch Virusarten erwiesen und gleichzeitig festgestellt, daß der Virusrezeptor lipoidspaltendes Vermögen besitzt. Gegen die Annahme einer weitgehenden unspezifischen Wirkung des A-Rezeptors spricht nun allerdings nach wie vor die unzweifelhaft hochspezifische Hemmung der Agglutination durch art- und typenspezifische Immunsereen.

Daß die durch Virus bedingte Hämagglutination auch der Artspezifität, die den hämagglutinierenden Antikörpern zukommt, völlig entbehrt, zeigte sich bei der Prüfung von hämagglutinierenden Virusarten gegenüber den *Erythrocyten verschiedener Tierspecies* (27, 5, 4, 30, 6, 13). Trotz der Unvollständigkeit derartiger Untersuchungen dürfte schon jetzt feststehen, daß das «Spektrum» agglutinabler Erythrocytenarten für jedes Virus, ja selbst für die Typen und Stämme einer Art unterschiedlich groß ist. Die größte Polyvalenz wurde bisher für den Typus B des Influenzavirus nachgewiesen, indem dieser Virustyp nicht nur die

Erythrocyten einer Großzahl von Säugetieren, sondern auch von Vogelarten, Reptilien und Amphibien zu agglutinieren vermag. Das andere Extrem wird durch Virusarten repräsentiert, die wie das Virus der Mäusepneumonie (30, 6) und der Ectromelie (13, 15) nur zwei Erythrocytenarten (Mäuse- und Hamster- bzw. Hühner- und Menschenerythrocyten), oder sogar wie das pantrope Gelbfiebertvirus und bestimmte murine Poliomyelitisvirusstämme (13, 15) nur eine Erythrocytenspecies (Hühner- bzw. Hammelerythrocyten) agglutinieren. Eine merkwürdige Sonderstellung nimmt schließlich das Vaccinevirus (31, 5) ein, das embryonale Hühnererythrocyten überhaupt nicht beeinflusst, dagegen mit ca. 50% von Erythrocytenproben erwachsener Hühner reagiert. Bei dieser Regellosigkeit, die an die Hämagglutination durch Extrakte aus Pflanzensamen und an die von Guyot (12) beschriebene hämagglutinierende Wirkung verschiedener Stämme von *E. Coli* erinnert, läßt sich bisher keine Korrelation zwischen der Empfänglichkeit und der Agglutinierbarkeit der Erythrocyten einer Tierspecies aufdecken.

Dessenungeachtet ergaben sich zwischen dem Phänomen der Hämagglutination und der *Infektiosität von Virusarten* direkte und bedeutende Beziehungen, nämlich durch den Nachweis, daß Influenzavirus von den respiratorischen Epithelzellen empfänglicher Tierspecies ebenso rasch und vollständig wie von Erythrocyten adsorbiert und nachfolgend eluiert wird (19), eine Reaktion, die sich im Hämagglutinationstest unschwer verfolgen läßt. Prinzipiell dasselbe Verhalten konnte für das Virus der Mäusepneumonie nachgewiesen werden, mit dem einen Unterschied, daß das am Gewebe adsorbierte hämagglutinierende Agens nicht spontan eluiert, sondern erst durch stärkeres Erhitzen (70–80° C) liberiert werden kann (30, 6). Eine weitere Analogie zur Hämagglutination ergab sich aus der Feststellung, daß Gewebezellen, die mit nichtinfektiösem A-Rezeptor vorbehandelt werden, einer nachfolgenden Infektion nicht mehr zugänglich sind (40, 39), ein Befund, der wohl mit der Inagglutinabilität virusvorbehandelter Erythrocyten in Parallele steht und auch geeignet wäre, die bei Virusinfektionen so häufig beobachteten Interferenzphänomene (39) verständlicher zu machen. Bei dieser Sachlage ist wohl die Annahme gerechtfertigt, daß die erste Phase der Virusinfektion durch ähnliche fermentative Vorgänge wie bei der Hämagglutination eingeleitet wird, derart, daß mit dem A-Rezeptor identische oder zumindest ähnliche Rezeptoren das Haften des Virus an der Zelle gewährleisten.

Die *praktische Nutzenanwendung* der bereits weitgehend standardisierten Hämagglutinationstechnik (20, 28, 34) ist beträchtlich. Für die Titration von Virus und virusneutralisierenden Antikörpern (17) sowie für die

Differenzierung und Typisierung von Virusarten (16, 17, 21, 26, 14) stehen einfache in-vitro-Reaktionen zur Verfügung. Ebenso besteht die Möglichkeit, Virusarten durch die Adsorption und Elution an Erythrocyten hochgradig zu reinigen und zu konzentrieren, eine Technik, die bereits für die Herstellung elektronenoptischer Präparate (36) und von Impfstoffen (8) Verwendung gefunden hat. Schließlich wäre durch die Isolierung und chemische Identifizierung des Virusrezeptors auch die Aussicht einer Chemoprophylaxe und Therapie der Virusinfektionen in die Nähe gerückt.

Zusammenfassung

Über das von *Hirst* entdeckte Phänomen der Virushämagglutination ist bisher folgendes bekannt:

1. Außer Influenzavirus besitzen Mumps-, Vakzine-, Gelbfieber-, Poliomyelitis-, Hühnerpest-, Ectromelie- und Mäusepneumovirus hämagglutinierendes Vermögen. Dasselbe ist nachgewiesen für Fleckfiebrickettsien und Bakterien (Pneumo- und Streptokokken, Cholera-vibrionen) und deren Toxine (α -Toxin von Cl. *Welchi*).

2. Zwischen dem Agglutinations- und Infektiositätstiter besteht eine weitgehende Parallelität, so daß die Virusaktivität in vitro bestimmt werden kann.

3. Durch virusneutralisierende Immunsera wird die Hämagglutination in spezifischer Weise aufgehoben. Es besteht somit die Möglichkeit, derartige Sera in vitro zu titrieren. Weiterhin können unter Verwendung von Testsera Virusarten im Hemmungsversuch serologisch differenziert und selbst hinsichtlich ihrer Typenzugehörigkeit identifiziert werden.

4. Die verschiedenen Virusarten unterscheiden sich hinsichtlich ihres «Agglutinationsspektrums», d. h. der Anzahl der agglutinierbaren Erythrocytenarten.

5. Der Mechanismus der Virushämagglutination ist noch unzureichend aufgeklärt. Bisher ist festgestellt, daß:

a) die Infektiosität ohne Verlust der agglutinierenden Wirkung aufgehoben werden kann, so daß anzunehmen ist, daß diese nicht an das gesamte Viruspartikel, sondern an eine bestimmte Komponente desselben («A-Rezeptor») gebunden ist;

b) der A-Rezeptor wahrscheinlich eiweißartiger Natur ist und die Reaktionskinetik (Adsorption und Elution) eines Fermentes aufweist;

c) das Reaktionssubstrat im Stroma der Erythrocyten vorliegt und weitgehend thermostabil ist;

d) die reagierende Zellkomponente durch den Kontakt mit dem Virus inaktiviert wird;

e) verschiedene Virusarten nicht stets an derselben Zellkomponente angreifen.

6. Mit dem A-Rezeptor identische oder ähnliche Virusrezeptoren dürften in der primären Phase der Zellinfektion eine Rolle spielen und an den beobachteten Interferenzphänomenen maßgebend beteiligt sein.

7. Unter Verwendung von Erythrocyten als Adsorbentien gelingt es, Virusarten in hohem Grade zu reinigen und zu konzentrieren.

Résumé

Notions actuelles sur l'hémo-agglutination des virus (phénomène de *Hirst*):

1° En dehors du virus de l'influenza, le virus des oreillons, de la vaccine, de la fièvre jaune, de la poliomyélite, de la peste aviaire, de l'ectromélie et de la pneumonie des souris présente un pouvoir d'hémo-agglutination qu'on a pu mettre aussi en évidence pour les rickettsies du typhus exanthématique et les bactéries (pneumocoques, streptocoques, vibrions cholériques) et leurs toxines (α -toxine de Cl. Welchi).

2° Il existe entre le pouvoir d'agglutination et celui de l'infection un parallélisme étendu, ce qui permet de doser l'activité du virus in vitro.

3° Par des immunosérums qui neutralisent les virus, on empêche l'hémo-agglutination d'une manière spécifique, ce qui permet la titration de ces sérums in vitro. En plus, en utilisant ces sérums test, on peut différencier sérologiquement les différentes espèces de virus et même identifier leurs types.

4° Les divers virus se distinguent d'après leur «spectre d'agglutination», c'est-à-dire par le nombre et l'espèce des érythrocytes agglutinables.

5° Le mécanisme de l'hémo-agglutination du virus n'est pas encore éclairci d'une manière satisfaisante. Mais on sait maintenant

a) qu'on peut réduire le pouvoir infectieux sans perte du pouvoir d'agglutination, si bien qu'on considère que cette action n'est pas liée au virus entier, mais à un élément déterminé («récepteur A»);

b) que le récepteur A est probablement de nature protéinique et possède la réaction cinétique (adsorption et élution) d'un ferment.

c) que la réaction a lieu dans le stroma des érythrocytes; la substance réagissante est nettement thermostable;

d) que l'élément de la cellule qui réagit est inactivé par contact avec le virus;

e) que différentes espèces de virus n'attaquent pas toujours le même élément cellulaire.

6° Des récepteurs de virus identiques ou analogues au récepteur A pourraient jouer un rôle dans la première phase de l'infection cellulaire et prendre part d'une manière décisive aux phénomènes d'interférence observés.

7° L'emploi d'érythrocytes comme élément d'adsorption permet une concentration et une purification très élevées des virus.

Riassunto

I seguenti fatti sono conosciuti fino ad ora sul fenomeno della virus-emo-agglutinazione, scoperto da *Hirst*:

1.° Oltre al virus influenzale, posseggono la proprietà dell'emo-agglutinazione i virus delle seguenti affezioni: parotite epidemica, virus vaccinale, febbre gialla, poliomielite, peste dei polli, ectromelia e polmonite a virus dei topi. Lo stesso fenomeno è stato dimostrato anche per le Rickettsie del tifo esantematico, certi batteri (pneumo- e streptococchi, vibrioni del colera) e le loro tossine (α -tossina di Cl. Welchi).

2.° Tra il titolo di agglutinazione e intensità della virulenza esiste un largo parallelismo, tanto che si può così determinare in vitro l'attività del virus.

3.° La emo-agglutinazione è inibita dai immunosieri che neutralizzano il virus. Esiste quindi la possibilità, di titolare tali sieri in vitro. Inoltre con l'ausilio di sieri test si possono differenziare sierologicamente con la prova di inibizione le specie di virus e si può per fine identificare il tipo.

4.° Le diverse specie e tipi di virus si differenziano rispetto al loro «spettro di agglutinazione», cioè rispetto al numero e al tipo degli eritrociti agglutinabili.

5.° Il meccanismo della virus-emo-agglutinazione non è ancora completamente chiarito. Finora si sono provati i seguenti fatti:

a) La virulenza può essere diminuita senza perdita della azione agglutinante, così che è da ritenersi che questa virulenza non è legata a tutte le particelle del virus, ma invece a una determinata componente del virus stesso (A-recettore);

b) il recettore A è verosimilmente di natura proteica e mostra la reazione cinetica di un fermento (adsorbimento ed eluzione);

c) il substrato della reazione si trova nello stroma degli eritrociti ed è termostabile in alto grado;

d) la componente cellulare che reagisce è inattivata dal contatto con il virus;

e) diverse specie di virus non attaccano sempre la medesima componente cellulare.

6.° Insieme con il recettore A, identici o simili virus-recettori dovrebbero giocare un ruolo nella fase primaria dell'infezione cellulare e partecipare in maniera importante ai fenomeni di interferenza.

7.° Con l'ausilio degli eritrociti come mezzi di adsorbimento si riesce a purificare e concentrare in alto grado le specie di virus.

Summary

The following information is given regarding the phenomenon of virus hæmagglutination discovered by *Hirst*:

1. In addition to influenza virus, the following viruses are capable of producing hæmagglutination: mumps, smallpox, yellow fever, poliomyelitis, fowl plague, ectromelia, mouse pneumonia. The same has also been proved for *Rickettsia prowazeki* and bacteria (pneumo- and streptococci, vibrio comma) and their toxins (α -toxin of *Cl. Welchii*).

2. There is a close parallel between the agglutination and infectiosity titres, so that the virus activity can be determined in vitro.

3. The hæmagglutination is suppressed in a specific manner by virus neutralising immune sera. The possibility exists of titrating such sera in vitro. Moreover, by use of test sera in inhibition experiments, it is possible to differentiate viruses serologically from one another and to identify them with respect to the type to which they belong.

4. The different kinds of virus are distinguished with respect to their "agglutination spectrum", i.e. the number and type of the agglutinable erythrocytes.

5. The mechanism of virus hæmagglutination is still insufficiently elucidated. So far it has been established that:

a) the infectiosity can be abolished without loss of the agglutination effect, so that it may be assumed that this is not connected with the whole virus particle but only with a certain component of it ("A-receptor");

b) the A-receptor is probably of a protein-like nature and exhibits the reaction kinetics (adsorption and elution) of an enzyme;

c) the reaction substrate is in the stroma of the erythrocytes and is thermostable;

d) the reacting cell component is inactivated by contact with the virus;

e) different types of virus do not invariably attack the same cell-component.

6. Virus receptors identical with or similar to the A-receptor may play a role in the primary phase of cell infection and take a decisive part in the observed interference phenomena.

7. By use of erythrocytes as adsorbents it is possible to purify and concentrate viruses to a high degree.

1. *Burnet*: Austral. J. exper. Biol. a. med. Sci. **20**, 8 (1942). – 2. *Burnet*: Brit. J. exper. Path. **27**, 244 (1946). – 3. *Burnet und Anderson*: Brit. J. exper. Path. **27**, 236 (1946). – 4. *Burnet, Mc Crea und Stone*: Brit. J. exper. Path. **27**, 228 (1946). – 5. *Clark und Nagler*: Austral. J. exper. Biol. a. med. Sci. **21**, 103 (1943). – 6. *Curnen und Horsfall*: J. exper. Med. (Am.) **85**, 105 (1946). – 7. *Flexner und Noguchi*: J. exper. Med. (Am.) **6**, 277 (1902). – 8. *Francis und Salk*: Science **96**, 499 (1942). – 9. *Friedenreich*: Z. Immunit. forsch. **64**, 455 (1929). – 10. *Friedewald*: J. exper. Med. (Am.) **78**, 347 (1943). – 11. *Friedewald und Pickels*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **52**, 261 (1943); J. exper. Med. **79**, 301 (1944). – 12. *Guyot*: Zbl. Bakter. usw. I, **47**, 640 (1908). – 13. *Hallauer*: Schweiz. Z. Path. u. Bakt. **9**, 553, Suppl. (L 946). – 14. *Hallauer*: Arch. Virusforsch. **3**, 356 (1947). – 15. *Hallauer*: unveröffentlichte Versuche. – 16. *Hirst*: Science **94**, 22 (1941). – 17. *Hirst*: J. exper. Med. (Am.) **75**, 49 (1942). – 18. *Hirst*: J. exper. Med. (Am.) **76**, 195 (1942). – 19. *Hirst*: J. exper. Med. (Am.) **78**, 99 (1943). – 20. *Hirst und Pickels*: J. Immunol. (Am.) **45**, 273 (1942). – 21. *Hudson, Siegel und Markham*: J. exper. Med. (Am.) **77**, 467 (1943). – 22. *Kobert*: Lehrbuch der Intoxikationen, Stuttgart 1893. – 23. *Landsteiner und Raubitschek*: Zbl. Bakter. usw. I, **45**, 660 (1907). – 24. *Lauffer und Miller*: J. exper. Med. (Am.) **80**, 521 (1944). – 25. *Levens und Enders*: Science **102**, 117 (1945). – 26. *Lush*: J. comp. Path. a. Ther. **53**, 157 (1943). – 27. *McClelland und Hare*: Canad. publ. Health J. **32**, 530 (1941). – 28. *Miller*: J. exper. Med. (Am.) **80**, 507 (1944). – 29. *Miller und Stanley*: J. exper. Med. (Am.) **79**, 185 (1944). – 30. *Mills und Dochez*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **57**, 140 (1944); **60**, 141 (1945). – 31. *Nagler*: Med. J. Austral. **1942**, 281. – 32. *Parodi, Lajmanovich und Mittelman*: Riv. Inst. Bacteriol. «C. G. Malbran» **12**, 312 (1944). – 33. *Rosenthal*: J. Immunol. (Am.) **45**, 545 (1943). – 34. *Salk*: J. Immunol. (Am.) **49**, 87 (1944). – 35. *Sharp, Taylor, McLean, Beard, D., Beard, W. S., Feller und Dingle*: Science **98**, 307 (1943). – 36. *Taylor, Sharp, Beard, D., Beard, W. S., Dingle und Feller*: J. Immunol. (Am.) **47**, 261 (1943). – 37. *Thomsen*: Z. Immunit.forsch. **52**, 85 (1927). – 38. *Wienhaus*: Biochem. Z. **18**, 228 (1909). – 39. *Ziegler und Horsfall*: J. exper. Med. (Am.) **79**, 361 (1944). – 40. *Ziegler, Lavin und Horsfall*: J. exper. Med. (Am.) **79**, 379 (1944).