

Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. ERICH FRITZ)

Versuch zum Nachweis eines Anti-Antikörpers

Von

MAX-WERNER UNCKELL und GÜNTHER DOTZAUER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 28. August 1960)

A. Einleitung

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, die Bildung von *Anti-Antikörpern* nachzuweisen.

Es wurden Meerschweinchen mit 3 verschiedenen Phythämagglutininen sensibilisiert. Wir hielten es für möglich, daß die Tiere außer Antikörpern gegen das pflanzliche Trägereiweißmolekül auch noch solche gegen die determinante Gruppe bilden, welche eine reproduzierbare, gegen bestimmte Blutgruppen ausgerichtete Agglutination menschlicher Blutkörperchen bewirkt.

Unter der Voraussetzung, daß diese Gruppe identisch mit der determinanten Gruppe der Isohämagglutinine oder zumindest von sehr ähnlicher Struktur ist, war eine Reaktion der sensibilisierten Tiere nicht nur mit den betreffenden Pflanzenextrakten zu erwarten, sondern auch mit den korrespondierenden menschlichen Isohämagglutininen. Prüfungen des aufgeworfenen Problems wären möglich durch Präcipitations- und Agglutinationshemmungsversuche und durch die anaphylaktische Reaktion der sensibilisierten Tiere. Wir sensibilisierten Meerschweinchen und versuchten durch die anaphylaktische Reaktion nach SCHULTZ-DALE am isolierten, überlebenden Uterusmuskel eine eventuelle Anti-Antikörperbildung nachzuweisen.

Prinzip der anaphylaktischen Reaktion nach SCHULTZ-DALE

Der überlebende Uterusmuskel eines sensibilisierten Meerschweinchens, der sich in einer physiologischen, von Sauerstoff durchströmten, körperwarmen Salzlösung befindet, antwortet auf Zugabe kleinster Mengen des spezifischen Antigens zur umgebenden Salzlösung — Badeflüssigkeit — mit einer Kontraktion. Diese Kontraktion entspricht in ihrer Spezifität der serologischen Antigen-Antikörperreaktion.

B. Material und Methode

Es standen drei verschiedene Phythämagglutinine zu unserer Verfügung. Ein selbst aufbereitetes, panagglutinierendes Agglutinin aus

dem Samen von *Phaseolus lunatus*, ein Anti- A_1 aus dem Samen von *Dolichos biflorus* und ein Anti-H-Agglutinin aus dem Samen von *Laburnum alpinum*.

1. *Phaseolus lunatus*

Ernte 1957. (Botanischer Garten der Universität Hamburg, Landwirtschaftlicher Botanischer Garten der Universität Bonn, Botanischer Garten der Technischen Hochschule Dresden, Hortus Botanicus UdSSR Kiew, Hortus Botanicus Coimbra-Portugal.)

Die angetrockneten entkapselten Bohnen wurden feinst zermahlen. 1 g Samenmehl wurde mit 10 ml 0,9% NaCl-Lösung gründlich aufgeschüttelt. 2 Std im Erlenmeyer-Kolben bei 20°C belassen, in Abständen aufschütteln. Dann wurde der Samenextrakt 12 Std im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Anschließend zentrifugiert bei 3000 U/min 20 min.

Das Supernatant hatte bei sofortiger Untersuchung jeweils einen Titer von:

- 1:256 gegen Blutkörperchenaufschwemmungen der Gruppe A_1
- 1:128 gegen Blutkörperchenaufschwemmungen der Gruppe A_2
- 1:128 gegen Blutkörperchenaufschwemmungen der Gruppe B
- 1:128/256 gegen Blutkörperchenaufschwemmungen der Gruppe O

2. Anti- A_1 -Phytagglutinin — ASID

Das ASID-Institut München stellte einen Extrakt aus *Dolichos biflorus*-Samen ohne Farbstoffzusatz zur Verfügung. Die injizierten Extrakte stammten aus einer Charge und hatten über die Dauer der Versuche einen gleichbleibenden Titer von 1:16 gegen Blutkörperchenaufschwemmungen der Gruppe A_1 .

3. Anti- A_2 -Reagens des Serum-Instituts Dr. Hans Molter

Dieser Extrakt stammte ebenfalls aus einer Charge und wurde als handelsübliches Präparat geliefert. Es ist ein Anti-O(H)-Phytagglutinin¹ aus dem Samen von *Laburnum alpinum*. Der Titer war über die Dauer der Versuche gleichbleibend:

- gegen Blutkörperchenaufschwemmungen der Gruppe A_1
- 1:16 gegen Blutkörperchenaufschwemmungen der Gruppe A_2
- 1: 4 gegen Blutkörperchenaufschwemmungen der Gruppe B
- 1:32 gegen Blutkörperchenaufschwemmungen der Gruppe O

Tiermaterial

24 virginelle Meerschweinchen. Bei Beginn der Versuche durchschnittliches Gewicht der Tiere von 250—300 g. Vor dem Entbluten durchschnittliches Gewicht 350—400 g. Die Tiere einer Versuchsreihe wurden von den Tieren anderer Versuchsreihen getrennt gehalten.

I. Sensibilisierungsplan der Versuchsreihe mit *Phaseolus lunatus* (4 Tiere): 0,5 cm³ des Extraktes (0,646% Eiweiß nach KJELDAHL) intraperitoneal, je 0,1 cm³ Extrakt am 3., 6., 9., 12. und 15. Tag. — Entblutung, Uterusexstirpation und Prüfung der anaphylaktischen Reaktion 23—26 Tage nach der letzten Injektion.

II. Versuchsanordnung mit dem Anti- A_1 -Phytagglutinin (6 Tiere). 0,4 cm³ des Extraktes (Eiweißgehalt 0,301% nach KJELDAHL), ebenfalls intraperitoneal. Je

¹ Dem ASID-Institut München und Herrn Dr. MOLTER, Heidelberg, sind wir zu Dank für die großzügige Bereitstellung der Phytagglutinine verpflichtet.

0,1 cm³ am 3., 5., 7., 9. und 11. Tag. Prüfung der anaphylaktischen Reaktion unmittelbar nach der Uterusexstirpation 21—29 Tage nach der letzten Injektion.

III. Versuchsordnung bei der Reihe mit Anti-A₂-Reagens sensibilisierten Tieren (8 Tiere) 0,4 cm³ des Extraktes (Eiweißgehalt 2,37% nach KJELDAHL) am 1. und 3. Tage; je 0,1 cm³ am 5., 7., 9., 11., 13. und 15. Tage. Gleichfalls sofortige Anstellung der anaphylaktischen Reaktion nach Uterusexstirpation 16—18 Tage nach der letzten Injektion.

Die Injektionen erfolgten stets intraperitoneal mittels einer Tuberkulinspritze. Kein Tier schockte.

Die Phaseolusextrakte wurden vor jeder Injektion frisch zubereitet. Das Anti-A₁ bzw. Anti-A₂-Phytagglutinin der Firmen ASID bzw. Molter wurden jeweils der gleichen Charge entnommen.

Entbluten der Meerschweinchen

Nackenschlag, Eröffnen der A. carotis einer Halsseite durch Stichschnitt. Auffangen des Blutes in einem Erlenmeyer-Kolben. Sofortige Entnahme des Uterusmuskels und Einlegen in eine mit körperwarmer — 39° — Tyrodelösung gefüllte Petrischale. Anlegung je eines Organhäkchens an beiden Enden des Muskels.

Technik

Apparatur zur Untersuchung des Spannungszustandes bzw. des Rhythmus der Bewegung des frisch exstirpierten Uterus der Firma Braun, Melsungen, Monokymograph mit Synchronmotor 1040. — Konstanthaltung der Tyrode-Badeflüssigkeit des Muskels auf 39° durch Thermomix. — Die Papiergeschwindigkeit des 18 cm breiten Kymographen betrug bei unseren Versuchen 8,4 mm/min. — Mittels Magnetsignal wurden Zeitkontrollen im Abstand von einer 1/2 min am unteren Rande des beruhten Papiers markiert.

Versuchsordnung

Apparatur zur Prüfung der anaphylaktischen Reaktion nach SCHULTZ-DALE (44; 9 a, b; 10 b): Im Gegensatz zu DALE (9 a, b) haben wir die Häkchen nicht an den Uterushörnern befestigt. In Vorversuchen mit 20 Meerschweinchen einer anderen Immunisierungsreihe stellten wir fest, daß die Uterushörner von Meerschweinchen im Gewicht von etwa 350 g zu zart waren. Die Organhäkchen rissen leicht aus.

Bei Verwendung des Uteruskörpers hatten wir stets ein Präparat von 2 cm Länge einspannen können.

C. Ergebnisse

I. Sensibilisierungsreihe mit Phaseolus lunatus-Extrakt

Die Uterusmuskulatur der verschiedenen Versuchstiere zeigt in Stärke, Dauer und zeitlicher Aufeinanderfolge unterschiedliche *Normalkontraktionen*. Die individuellen Normalkontraktionen eines jeden Muskels glichen sich annähernd in der Stärke und Dauer. In der zeitlichen Aufeinanderfolge sind die Normalkontraktionen unregelmäßig (Tiere III, V), Tier VI zeigt keine für das bloße Auge erkennbare Normalkontraktion.

Versuche. Die Zugabe von 0,05 ml menschlicher Iso-Anti-A, Iso-Anti-B und Nullmischseren als korrespondierende Antigene zu dem

Panagglutinin — *Phaseolus lunatus* — in die Badeflüssigkeit, führt zu *keinem* für eine anaphylaktische Reaktion typischen Kontraktionsablauf (Tiere III—VI). Erhöhung der Dosis um weitere 0,05 ml der menschlichen Isoagglutinine (Tiere III, IV, VI) vermag gleichfalls keine anaphylaktische Reaktion auszulösen. Lediglich bei V ist auf Zugabe von Iso-Anti-A, 0,05 ml, eine Änderung im Kontraktionsablauf sichtbar, die aber im Vergleich mit den anaphylaktischen Reaktionen auf Zugabe von 0,05 ml des spezifischen Antigens, *Phaseolus lunatus* (Ph), als nicht relevant anzusehen ist.

Kontrolle. Um die Gewißheit zu haben, daß der vorgelegte Uterusmuskel die Fähigkeit, anaphylaktisch zu reagieren, besaß, wurden Kontrollen durch Zugabe des entsprechenden Antigens, hier *Phaseolus lunatus*-Extrakt, vorgenommen.

Die durch eine anaphylaktische Reaktion bedingte Kontraktion zeichnet sich durch den schnellen Eintritt nach der Antigengabe, durch den steilen, die Normalkontraktion an Hubhöhe weit überragenden Anstieg und durch das lange Verweilen des Muskels in diesem verstärkten Kontraktionszustand aus. Die anaphylaktische Reaktion war bei allen Tieren, besonders ausgeprägt bei VI, zu erkennen. Selbst der Muskel, der bis zur spezifischen Antigengabe keine auf dem Kymogramm sich abzeichnende Normalkontraktion gezeigt hatte, antwortete auf die Gabe des *Phaseolus lunatus*-Extraktes mit einer in ihrem Ausmaß nicht erwarteten Reaktion.

II. Sensibilisierungsreihe mit Anti-A₁-Phyttagglutinin ASID

Wir beobachteten wieder die unterschiedlichen Hubhöhen der *Normalkontraktion*.

Versuche. Zugabe von menschlichen Iso-Anti-A-Mischseren hat keine für eine Anti-Antikörperbildung beweisende Kontraktion zur Folge. Der Eindruck besteht vielmehr, daß die Normalkontraktionen auf diese Zugabe hin eher etwas schwächer und seltener werden (VII, IX). Menschliches Immun-Anti-A führt in dieser Versuchsanordnung genauso wenig zu einer anaphylaktischen Reaktion (VII, XI), wie übrigens auch der für die Versuchsanordnung I so wirksame *Phaseolus lunatus*-Extrakt (X, XI). Entsprechend keine Reaktion auf Anti-A₁-Reagens (IX).

Kontrolle. Das Anti-A₁-Phyttagglutinin, als spezifisches Antigen, verursacht in allen Versuchen eine Kontraktion, die in ihrer Stärke der Wirkung von 0,1 ml Tenosin „Bayer“, einem unspezifischen Krampfgift, gleichkommt.

III. Sensibilisierungsreihe mit Anti-A₂-Reagens (MOLTER)

Gehörige Normalkontraktion bei allen Muskeln. Auffällig groß ist die Hubhöhe der *Normalkontraktion* von XVII. Die Kontraktionsstärke

macht die anaphylaktische Reaktion auf Zugabe des spezifischen Antigens undeutlich.

Versuche. Wie bei den vorherigen Kymogrammen verursachten die korrespondierenden Antigene keine anaphylaktische Kontraktion des

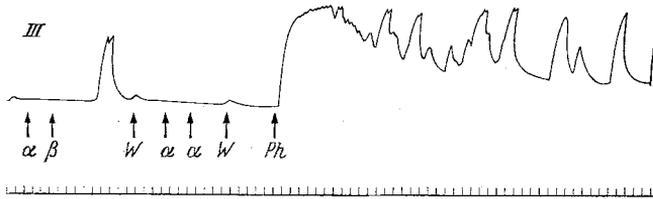


Abb. 1

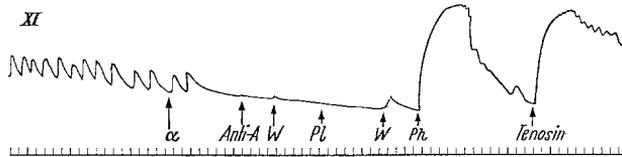


Abb. 2

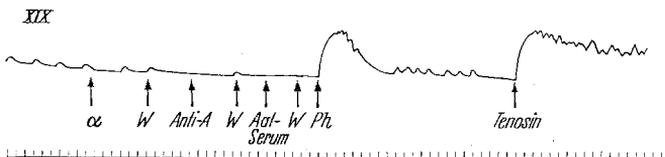


Abb. 3

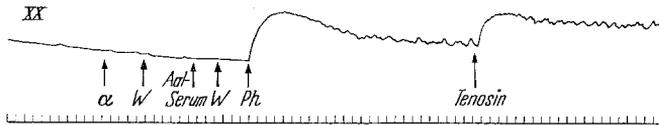


Abb. 4

Abb. 1—4. 4 Kymogramme werden gezeigt. Die römischen Zahlen beziehen sich auf den Befund eines einzelnen Versuchstieres. — III *Phaseolus lunatus*; XI Anti-A₁; XIX und XX Anti-A₂. — Die Pfeile weisen auf den Zeitpunkt und die Art der verschiedenen Serumzugaben hin (α = Iso-Anti-A-Mischserum; β = Iso-Anti-B-Mischserum; α β = Iso-Nullmischserum; *Anti-A* = Immun-Anti-A-Serum; *Anti-B* = Immun-Anti-B-Serum; *Ph* = Phyttagglutinin, mit dem die Sensibilisierung des jeweiligen Tieres vorgenommen wurde; *Pl* = *Phaseolus lunatus*; *W* = Wechsel der Badeflüssigkeit.) Zeitmarkierung am unteren Rande des Kymogramms; Zackenabstand 30 sec

Uterusmuskels (Iso-Anti-A, Nullmischserum und Anti-A₁-Serum vom Aal).

Anti-A₁-Phyttagglutinin und *Phaseolus lunatus* sind in dieser Versuchsreihe völlig wirkungslos.

Kontrolle. Das Ausmaß und die Form der Kontraktionen auf Zugabe des spezifischen Antigens zeigen eine starke Ähnlichkeit mit der Wirkung von Tenosin auf den Uterusmuskel. Versuch XIV ist mißlungen.

Es bereitete große Schwierigkeiten, den sehr kleinen und zarten Muskel einzuspannen. Die Organhäkchen rissen mehrmals aus. Das Uteruspräparat mußte verworfen werden.

Zusammenfassung

1. Der überlebende Uterusmuskel der Meerschweinchen war gegen den jeweiligen Pflanzenextrakt sensibilisiert.

2. Eine Anti-Antikörperbildung konnte nicht nachgewiesen werden; eine gleichzeitige Sensibilisierung gegen die korrespondierenden Antigene heterogener Herkunft konnte nicht festgestellt werden.

3. Am Beispiel von *Phaseolus lunatus* wird die hohe Empfindlichkeit der Schultz-Daleschen Reaktion demonstriert. Die Zugabe von 0,05 ml Extrakt mit einem Eiweißgehalt von 0,646 g-% (entspricht 6^{-4} g Eiweiß) zur Badeflüssigkeit des Muskels (50 ml) vermochte den sensibilisierten Uterusmuskel zur kräftigen Kontraktion zu bringen.

D. Das Problem des Anti-Antikörpers

1. Theoretische Überlegungen über die Möglichkeit der Entstehung echter Anti-Antikörper

Da der Antikörper ein Eiweiß ist, muß er für einen artfremden Organismus ein Antigen sein. Es ist vorstellbar, daß die Molekülgruppe, die spezifisch mit dem homologen Antigen reagiert, in einem fremden Organismus als determinante Gruppe wirkt. Der gegen sie gebildete Antikörper („Anti-Antikörper“) wäre dann in der Lage, die spezifischen Funktionen des Antikörpers, wie Agglutination, Präcipitation usw. aufzuheben.

Das Problem der Bildung von Anti-Antikörpern ist häufig angesprochen worden, hat aber zu wenig befriedigenden Ergebnissen geführt.

2. Literaturübersicht zum Problem des Anti-Antikörpers

EHRlich und MORGENROTH¹¹ immunisierten Ziegen mit *Rinderblut lysierendem Kaninchenserum*. Das *Immunserum* der Ziegen hemmte die Rinderblutlyse des *Kaninchensersums*. Andere Versuche zeigten aber, daß jedes Normalantikaninchenserum den gleichen Effekt hatte.

FORD¹³ immunisierte Hühner mit *Normalkaninchenserum*, das einen normalen Agglutinationstiter von 1:5 gegenüber Hühnererythrocyten hatte. In einer anderen Versuchsanordnung wurden Hühner mit *Immunantihühnerserum* von Kaninchen — Agglutinationstiter 1:60 — immunisiert. Nach Mischung des von diesen Hühnern gewonnenen *Serums* in einem optimalen Verhältnis mit dem *Normal- und Immunkaninchenserum* erfolgte nach Entfernung des Präcipitats im Supernatant im

Gegensatz zu den Kontrollen mit Normalhühnerserum *keine* Agglutination der Hühnererythrocyten. Die Untersuchungen von FORD wurden durch HYDE und PARSONS²² wiederholt und noch dadurch erweitert, daß sie Kaninchen mit *Normal-* und *Immunantikaninchenserum* von Hühnern immunisierten. Das normale *Hühnerserum* enthielt ein kräftigeres Agglutinin gegen Kaninchenerythrocyten als das normale Kaninchenserum gegen Hühnererythrocyten. Im Gegensatz zu den Befunden FORDs wurde in den *Immunseren keine* „anti-agglutinierenden“ Eigenschaften festgestellt. Der Überstand agglutinierte je nach Versuchsanordnung Kaninchen- oder Hühnerblutkörperchen.

BÁRÁNY² versuchte durch die parenterale Zufuhr von Antikörper enthaltenden Seren eine Bildung von Anti-Antikörpern hervorzurufen und diese durch den Schultz-Daleschen Versuch nachzuweisen. 6 virginnelle Meerschweinchen erhielten an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 0,25; 0,5 und 1,0 cm³ *Anti-Diphtherie-Pferdeserum* subcutan injiziert. Nach einer Inkubationszeit von 3 Wochen wurde mit den Uterushörnern der Schultz-Dalesche Versuch unternommen. In der einen Versuchsanordnung wurden die Uteri von 3 Tieren zuerst mit Normalpferdeserum abgesättigt. Es erfolgte jeweils eine starke anaphylaktische Reaktion. Dann wurde das *Anti-Diphtherie-Pferdeserum* der Badeflüssigkeit der Muskel zugetropft. Eine anaphylaktische Reaktion wurde von BÁRÁNY nicht beobachtet.

In einer zweiten Versuchsanordnung wurden die Uteri der 3 weiteren Tiere zuerst mit Normalpferdeserum, dann mit Normalrinderserum abgesättigt. Danach wurde ein *Anti-Diphtherie-Serum vom Rind* der Badeflüssigkeit des Muskels zugegeben. Eine anaphylaktische Reaktion erfolgte nur auf das Normalpferdeserum.

Der Autor faßt zusammen, der negative Ausfall der Versuche schließt *nicht* aus, daß Antikörper als Antigene wirken könnten. In dieser Arbeit wird die Wiedergabe der Kymogramme vermißt. Es fehlt auch der Hinweis auf die Zeit, die der Autor vergehen ließ, bis nach der auf das Normalpferdeserum hin erfolgten anaphylaktischen Reaktion, das *Anti-Diphtherie-Serum von Pferd und Rind* der Badeflüssigkeit des Uterusmuskels zugesetzt wurde. Es kann also nicht sicher ausgeschlossen werden, ob es sich lediglich um eine Ermüdungserscheinung der Muskel gehandelt hatte.

Die Arbeit von KRAUS und EISENBERG²⁷ beschäftigt sich mit der Frage, ob nach der Behandlung verschiedener Tierarten mit *Diphtherieantitoxin*, *Typhusagglutinin* und *Ziegenlactosenserum* Gegensubstanzen entstehen, die deren Wirkung aufheben. Das *Diphtherieantitoxin* und das *Typhusagglutinin* hatten nach Zusatz der betreffenden *Seren*, die Anti-Antitoxine bzw. Anti-Anti-Agglutinine enthalten sollten, denselben Flockungs- bzw. Agglutinationstiter wie die Kontrollseren.

In einer anderen Versuchsanordnung immunisierten die Autoren Kaninchen gegen Ziegenmilch und erhielten auf diese Weise ein *Lactoserum*, das neben einer präcipitierenden Wirkung auf das Ziegenmilcheiweiß auch noch Hämolyse gegen Ziegenerythrocyten besaß. Dieses *Lactoserum* wurde Ziegen injiziert, aus denen die Autoren glaubten ein *Antiserum* gewonnen zu haben, das die Wirkung der *Immunkaninchenserum* — Präcipitation des Ziegenmilcheiweißes und Lyse der Ziegenerythrocyten — neutralisierte.

KRAUS und EISENBERG führen diese Wirkung auf ein Antihämolysin und ein Antipräcipitin ohne einen gültigen Beweis zurück. Die Ergebnisse dieser Versuche lassen sich folgendermaßen interpretieren: die Ziegen haben nur einen Antikörper gegen das Kanincheneiweiß gebildet. Da die spezifisch gegen Ziegenmilcheiweiß und Ziegenerythrocyten gerichteten determinanten Gruppen Teilstücke des Kanincheneiweißes sind, müssen sie von jedem Antikaninchenserum miterfaßt werden.

GOLDBERG und DE GARA¹⁶ immunisierten Kaninchen mit *Seren von rheumatischen Kindern*. Das *Serum* dieser Kaninchen wurde mit dem Serum sicher nicht rheumatischer Erwachsener absorbiert und dann im Präcipitationsversuch gegen Rheumatikersera getestet. Eine Präcipitation wurde nicht beobachtet.

Im Hinblick auf die Therapie des Schwarzwasserfiebers versuchten VOIGT und VOIGT⁵⁰ die Möglichkeit der Bildung eines Antihämolysins nachzuweisen. *Hämolyzierende Seren* erhielten sie von Kaninchen, die mit gewaschenen Erythrocyten der Blutgruppen 0, A, B und AB vorbehandelt waren. Mit *diesen Seren* wurden normale Kaninchen immunisiert. Die *Antiseren* der Kaninchen, die ein Antihämolysin enthalten sollten, konnten aber die Hämolyse durch die *hämolyzierenden Kaninchenserum* weder verhindern noch hemmen. „Erfolg“ hatten die Autoren durch Immunisierung eines Lammes mit *Hammelblutkörperchen lysierendem Kaninchenserum*. Das *Immunserum* dieses Lammes hob je nach dem Grad der Verdünnung die Wirkung des lysierenden *Kaninchenserum* auf oder hemmte sie. Wurden die Hammelblutkörperchen, die mit einem Gemisch von „Antihämolysin“ und *Hämolysin* behandelt worden waren, in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, und ließ man nun das *hämolyzierende Serum* allein auf sie einwirken, so trat Hämolyse ein. Die Blutkörperchen waren also selbst nicht resistent gegenüber dem Lysin. Ob es sich hier um ein echtes „Antihämolysin“ handelt, ist *sehr fraglich*. Bei diesen Versuchen handelt es sich praktisch wiederum nur um eine Absorption des Kanincheneiweißes einschließlich der determinanten Gruppe, die die Hämolyse bewirkt.

LAPORTE, PEREZ u. Mitarb.³¹ haben Kaninchen mit den spezifischen *Präcipitaten der syphilitischen Flockungsreaktion* behandelt und erhielten ein *Serum*, das spezifisch in Präcipitation und Komplementbindung mit

dem Serum syphilitisch erkrankter Menschen reagierte. Nach Ansicht der Autoren kann es sich hierbei nur um einen echten Anti-Antikörper handeln. KRÜPE konnte die von LAPORTE u. Mitarb. gewonnenen Ergebnisse nicht bestätigen. Immunisierungsversuche zur Frage der Anti-Antikörperbildung mit Antigen-Antikörperkomplexen erscheinen uns sehr ungeeignet.

BINGEL⁵ immunisierte Kaninchen mit *Paratyphus B agglutinierenden Seren* von Mensch und Kaninchen. Der Komplementverbrauch eines Gemisches von *agglutinierendem Serum* und des *Kaninchenimmunsersums* sollte mit einem Gemisch des *agglutinierenden Serums* und eines indifferenten Serums — als Kontrolle — verglichen werden. Alle *agglutinierenden Seren* ergaben mit den Kontrollseren, die gleiche bzw. verwandte Agglutinine besaßen, keine Komplementbindung. Mit physiologischer Kochsalzlösung erfolgte gleichfalls keine Reaktion. Komplementbindung wurde jedoch nachgewiesen, wenn die *agglutinierenden Seren* mit den betreffenden *Antiseren* zusammengebracht wurden. Es ergaben sich deutliche Bindungstiter, sowohl mit dem homologen als auch mit dem heterologen *Antiserum*. In der Diskussion seiner Arbeit erklärt BINGEL: Ob es tatsächlich die Agglutinine sind, die in diesen Versuchen Antigencharakter zeigten, oder andere Antikörper der agglutinierenden Seren, ist irrelevant, solange es darauf ankommt festzustellen, ob Bakterienantikörper schlechthin ihrerseits antigen sein können.

MILGROM, DUBISKI und WOŹNICZKO³⁵ fanden unter 2000 menschlichen Blutproben 10 Seren, die, ähnlich wie das Coombs-Serum, menschliche Blutkörperchen, die mit inkompletten Rh-Antikörpern beladen waren, agglutinierten. Der agglutinierende Faktor erwies sich als thermostabil. Er ließ sich durch mit Rh-Antikörpern beladene Erythrocyten sowie durch Antikörpereluate neutralisieren. Nach Ansicht der Autoren handelt es sich am ehesten um einen gegen Antikörperglobulin gerichteten Antikörper. Mischungen solcher menschlichen Antiglobulinseren mit inkompletten Anti-Rh-Seren verhalten sich wie komplette Anti-Rh-Seren, indem sie Erythrocyten mit den entsprechenden Rh-Antigenen in NaCl-Lösung zu agglutinieren vermögen. Die menschlichen Antiglobulinseren können beim Coombs-Test die tierischen Seren ersetzen. Dabei ist es unnötig, die beladenen Erythrocyten zu waschen. MILGROM u. Mitarb. fanden in der Krankengeschichte und Familienanamnese keine auffallenden Zusammenhänge bei den Patienten, die diesen „Anti-Antikörper“ besaßen. Sie halten die Anti-Antikörper für eine Abnormität in der Zusammensetzung der Serumproteine. Diese Abnormität konnte aber in der Elektrophorese nicht bestätigt werden:

Eine neue Möglichkeit, das Problem des Anti-Antikörpers zu lösen, bietet sich durch Immunisierungsversuche mit den Phythämagglutininen.

Diese Substanzen würden in geradezu idealer Weise die Kriterien erfüllen, die DOERR^{10a} zum Nachweis des Anti-Antikörpers aufgestellt hat.

Nach DOERR kann man erst von der Existenz echter Anti-Antikörper überzeugt sein, wenn das im Immunisierungsversuch gewonnene *Antiserum* nicht nur mit dem homologen „*Antikörperantigen*“, sondern auch mit *Antikörpern*, die, in ihrem Artglobulinaufbau gänzlich von dem homologen Antikörperantigen verschieden, bezüglich der serologischen Spezifität aber gleich sind, in signifikant deutlicher Stärke in Reaktion tritt.

RENKONEN^{41b} immunisierte Kaninchen mit gereinigten Eiweißextrakten aus *Vicia cracca-Samen* (Anti-A). *Antikörper* wurden erhalten, die in der Komplementbindung spezifisch mit *Vicia cracca-Extrakten* reagierten. Im Agglutinationshemmungstest hoben sie die A₁-Hämagglutination auf, aber nicht die der menschlichen Iso-Anti-A-Seren. RENKONEN zog aus diesen Versuchen den Schluß, daß das *Vicia cracca-Globulin* vom menschlichen Iso-Anti-A verschieden ist.

M. KRÜPE^{29c} hält diese Folgerung für zu weitgehend. RENKONEN habe einen Antikörper gegen das *Vicia cracca-Globulin* erhalten, ohne aber zu wissen, ob überhaupt Antikörper gegen die spezifische Anti-A-Molekülgruppe des *Vicia-cracca-Globulins* entstanden seien.

KRÜPE^{29c} immunisierte Kaninchen mit gereinigten *Iso-Anti-A-Agglutininlösungen*, in einer zweiten Versuchsanordnung Mäuse mit den *pflanzlichen Anti-O-Globulinlösungen* aus *Cyt. Laburnum alpinum-Samen*. In der Präzipitationsreaktion konnte mit den *Immunkaninchenseren* kein Anhalt für die Bildung eines Anti-Antikörpers gefunden werden. Die Reaktionen der *Seren* gegenüber *Iso-Anti-B* und *Iso-Anti-AB-Seren* waren von gleicher Stärke. In der Agglutinationshemmungsreaktion schien nur eine schwach erkennbare stärkere Hemmung der Iso-Anti-A-Agglutination gegenüber A₁ vorhanden zu sein, im Vergleich zu derjenigen der Iso-Anti-B-Agglutination gegenüber B-Erythrocyten.

Bei den mit pflanzlichen *Anti-O(H)-Agglutininen* immunisierten Mäusen beobachtete KRÜPE lediglich in der Agglutinationshemmungsreaktion Antiglobuline, die die spezifische Agglutination der *Cyt. Laburnum alpinum-Extrakte* gegenüber O-Erythrocyten in gewisser Stärke hemmten.

Befunde der Komplementreaktion mit den *Immunkaninchenseren* sprachen deutlich für eine gewisse Spezifität der erhaltenen Antikörper gegen die Anti-A-Gruppe der Agglutininträger, indem sowohl das homologe Iso-Anti-A stärker als das Iso-Anti-B in Reaktion trat, als auch pflanzliche Anti-A-Agglutinine aus Limabohnen deutliche Bindungstitere aufwiesen.

KRÜPE will seine Untersuchungsergebnisse mit Vorsicht im positiven Sinne des Problems bewertet wissen. Er ist der Ansicht, daß man erst

dann von der antigenen Eigenschaft der prosthetischen Antikörpergruppe überzeugt sein kann, wenn es gelingen sollte, ein Anti-Agglutinin zu gewinnen, das in der Agglutinationshemmungsreaktion mit dem homologen und anderen, gänzlich heterologen, Agglutininträgern mit gleichsinniger Wirkungsgruppe zu reagieren in der Lage ist.

E. Kritik der Ergebnisse der Voruntersucher

I. Ergebnisse mit „positivem“ Resultat

a) Absorption des Trägereiweißmoleküls der *Antikörper* täuscht ein positives Ergebnis vor, da die determinanten Gruppen miterfaßt werden (EHRlich, MORGENROTH, FORD, EISENBERG, VOIGT und VOIGT).

Die Befunde von FORD sind insofern bemerkenswert, weil sie von den Nachuntersuchern HYDE und PARSONS nicht bestätigt werden konnten. Während FORD seine Untersuchungen auf optimale Mischungsverhältnisse der Antikörper mit den „Anti-Antikörpern“ abstellte, sind die Ergebnisse von HYDE und PARSONS unter Umständen dadurch erklärbar, daß ihr Angebot des „Anti-Antikörpers“ quantitativ unzureichend war.

b) Als ein *Fehler im Ansatz* der Versuche muß das Ergebnis von LAPORTE u. Mitarb. bewertet werden, da die Immunisierung nicht mit dem Antikörper allein, sondern mit dem Produkt der Antigen-Antikörperreaktion erfolgte. Ganz abgesehen davon konnten die Nachuntersuchungen von KRÜPE diesen Befund der Autoren nicht bestätigen. MILGROM u. Mitarb. verkennen die serologische Wirksamkeit der von ihnen gefundenen menschlichen Antiglobulinseren, wenn sie diese für Anti-Antikörper halten. Mit dem gleichen Recht könnten dann auch tierische Coombs-Seren als Anti-Antikörper bezeichnet werden. Ein Coombs-Serum ist nach heutiger Vorstellung ein Antikörper gegen das menschliche Globulin und nicht gegen die determinante Gruppe dieses Globulins, die bereits durch die Rh-Antigene spezifisch gebunden ist.

c) BINGEL kommt auf Grund der *Komplementbindungsreaktion* zu einer Bejahung der Existenz von Anti-Antikörpern. Die Komplementbindungsreaktion ist aber in ihrer Spezifität umstritten^{10b, 43} und erscheint daher ungeeignet, eine sichere Aussage zu unserer Problemstellung zuzulassen. Es sei hierzu DOERR^{10b} zitiert: „Aus diesen Beispielen geht hervor, daß das Komplementbindungsverfahren versagen oder zu irrigen Schlüssen verleiten kann, wenn es sich darum handelt, den Antigencharakter einer unbekannt Substanz sicher festzustellen.“ Hierunter fallen auch die Ergebnisse, die KRÜPE mit der Komplementbindungsreaktion erhalten hat.

II. Ergebnisse mit „negativem“ Resultat

a) Den Versuchen von GOLDBERG und DE GARA ist entgegenzuhalten, daß das Trägereiweißmolekül vom Kaninchen *gleichzeitig* determinante Gruppen gegen das menschliche Globulin ganz allgemein und gegen das Immunglobulin von Rheumatikern besitzen kann. Absorption mit Seren von Nichtrheumatikern könnte also beide determinante Gruppen aus dem Kaninchenserum entfernen und damit das negative Ergebnis erklären.

b) BÁRÁNY hat praktisch nur seine Befunde veröffentlicht. Eine eingehende Kritik ist daher nicht möglich.

c) Im Agglutinationshemmungsversuch ist es RENKONEN nicht gelungen, mit Kaninchenimmenserum gegen *Vicia cracca*-Extrakte (Anti-A₁-Phyttagglutinin) die A₁-Hämagglutination menschlicher Iso-Anti-A-Seren zu hemmen oder aufzuheben. Dieser Befund läßt folgende Deutung zu:

1. Es gibt keine Anti-Antikörper.

2. Die Tiere haben keinen Antikörper gegen die Anti-A₁-Gruppe des *Vicia cracca*-Eiweißes gebildet.

3. Die Anti-A-Gruppe des Pflanzenextraktes ist völlig von der Anti-A-Gruppe menschlicher Isoagglutinine verschieden.

Vor diese Situation, daß er keinen dieser Punkte sicher beantworten kann, wird jeder Untersucher gestellt, der zur Problemstellung des Anti-Antikörpers mit pflanzlichen Hämagglutininen immunisiert und zu einem negativen Ergebnis kommt.

F. Kritik der eigenen Untersuchungsergebnisse

Wir sensibilisierten 4 Meerschweinchen mit einem panagglutinierenden Pflanzenextrakt (*Phaeolus lunatus*), 6 Meerschweinchen mit einem Anti-A₁-Phyttagglutinin (*Dolichos biflorus*) und 8 Meerschweinchen mit einem Anti-A₂-Phyttagglutinin (*Laburnum alpinum*).

Wir gingen von der Voraussetzung aus, daß die determinanten Gruppen der Phythämagglutinine, die gegen bestimmte menschliche Blutgruppen spezifisch ausgerichtet sind, identisch oder zumindest von verwandter Struktur mit denen der menschlichen Isohämagglutinine sind. Durch die anaphylaktische Reaktion nach SCHULTZ-DALE konnte gezeigt werden, daß sämtliche Tiere *nur* gegen das spezifische Pflanzenantigen sensibilisiert waren und nicht gleichzeitig gegen die heterogenen Antigene der gleichen serologischen Aktivität. Es ist uns also nicht gelungen, den Beweis für die Bildung eines Anti-Antikörpers zu bringen.

Unsere Untersuchungen sind möglicherweise eine Stütze der Hypothese von HOOKER und BOYD²¹. Danach gibt es keine prothetische Anti-

körpergruppe am Globulinmolekül. Der Antikörperbezirk des Globulins entspricht einer Tasche, in deren Form das entsprechende Antigen eingepaßt wird.

Die Wahl der Phyttagglutinine erschien uns besonders geeignet, die strengen Bedingungen zu erfüllen, die DOERR für den Beweis einer Existenz echter Anti-Antikörper aufgestellt hat.

Auf jede chemische Behandlung der Samenmaterialien wurde verzichtet, um eine Denaturation der Pflanzeneiweiße zu vermeiden.

Die phytoserologischen Arbeiten von MORITZ hatten uns dazu angeregt, die anaphylaktische Reaktion für die Problemstellung zu verwenden. Die Empfindlichkeit der anaphylaktischen Reaktion nach SCHULTZ-DALE^{44, 9a, b, 10b} ist der Präcipitationsmethode überlegen^{37g}.

Literatur

- ¹ ABEL, J. J., and S. KUBOTA: J. Pharmacol. exp. Ther. **13**, 243 (1919). Zit. aus W. C. BOYD^{8a}.
- ² BÁRÁNY, E.: Ein mißlungener Versuch die Bildung von Anti-Antikörpern nachzuweisen. Acta path. microbiol. Scand. **12**, 274 ((1935).
- ³ BAUM, W.: Systematic serology of the family Cucurbitaceae, with special reference to the genus Cucurbita. The Serological Museum, Bull. **13**, 5. New Brunswick, N.J. (U.S.A.): Rutgers University 1954.
- ⁴ BERTARELLI, E.: Die Verwendung der biologischen Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit besonderer Berücksichtigung der Wicke. Zbl. Bakt., Abt. II **11**, 8 (1904).
- ⁵ BINGEL, F.: Können Antikörper antigen sein? Z. Hyg. Infekt.-Kr. **131**, 1 (1950).
- ⁶ BOOM, B. K.: Botanisch-serologische Onderzoekingen. Diss. Wageningen 1930.
- ⁷ BORDET, J., et O. GENGOU: Sur l'existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens. Ann. Inst. Pasteur **15**, 289 (1901).
- ^{8a} BOYD, W. C.: Fundamentals of immunology, third edit. New York: Interscience Publishers, Inc. 1956.
- ^{8b} BOYD, W. C., and R. M. REGUERA: Hemagglutinating substances for human cells in various plants. J. Immunol. **62**, 333 (1949).
- ^{9a} DALE, H. H.: The anaphylactic reaction of plain muscle in the guinea pig. J. Pharmacol. exp. Ther. **4**, 167 (1912/13).
- ^{9b} DALE, H. H., and P. P. LAIDLAW: A method of standardising pituitary extracts. J. Pharmacol. exp. Ther. **4**, 75 (1912/13).
- ^{10a} DOERR, R.: Die Immunitätsforschung, Bd. I, Teil 1, S. 61—62. Wien: Springer 1947.
- ^{10b} DOERR, R.: Die Immunitätsforschung, Bd. III. Die Antigene. Wien: Springer 1948.
- ^{10c} DOERR, R.: Zit. aus KIMMIG²⁴.
- ¹¹ EHRlich, P., u. J. MORGENROTH: Zit. aus H. SCHMIDT⁴³, S. 419.
- ¹² ELFSTRAND, M.: Über Blutkörperchen agglutinierende Eiweiße. Görbersdorfer Veröfftl. hrsg. v. R. KOBERT, S. 1—159. Stuttgart: Ferdinand Enke 1898.
- ¹³ FORD, W. W.: Beitrag zur Lehre von den Hämagglutininen. Z. Hyg. Infekt.-Kr. **40**, 363 (1902).
- ¹⁴ FORSSMAN, J.: Die Herstellung hochwertiger spezifischer Schafhämolyse ohne Verwendung von Schafblut. Biochem. Z. **37**, 78 (1911).

- ¹⁵ GILG, E., u. P. N. SCHÜRHOFF: Die Serodiagnostik in der botanischen Verwandtschaftsforschung. *Englers bot. Jb.* **60**, 439 (1926).
- ¹⁶ GOLDBERG, H. P., and P. F. DE GARA: On the individual specificity of human serum. *J. Immunol.* **60**, 555 (1948).
- ¹⁷ GRUBER, M., u. H. E. DURHAM: Eine neue Methode zur raschen Erkennung der Choleravibrionen und Typhusbazillen. *Münch. med. Wschr.* **13**, 285 (1896).
- ¹⁸ HAMMOND, H. D.: Systematic serological studies in Ranunculaceae. The Serological Museum, Bull. 14, 1. New Brunswick, N. J. (U.S.A.): Rutgers University 1955.
- ¹⁹ HANNIG, E., u. W. SLATMANN: Phytoserologische Untersuchungen. I. Über die Ausschaltung der „Normalringe“ an der Schichtfläche zwischen Antigen und Normalserum bei der Präzipitationsmethode. *Planta (Berl.)* **5**, 277 (1928).
- ²⁰ HERZOG, P.: Spezifische Phyttagglutinine aus *Ononis spinosa*-Wurzel. *Z. Immun.-Forsch.* **117**, 53 (1959).
- ²¹ HOOKER, S. B., and W. C. BOYD: Test of alternation (“Lattice”-) hypothese with divalent and trivalent haptens. *J. Immunol.* **42**, 419 (1941).
- ²² HYDE, R. R., and E. J. PARSONS: Concerning the production of antiagglutinins. *Amer. J. Hyg.* **5**, 245 (1925).
- ²³ JOHNSON, M. A.: The precipitin reaction as an index of relationship in the Magnoliaceae. The Serological Museum, Bull. 13, 1. New Brunswick, N.J. (U.S.A.): Rutgers University 1954.
- ²⁴ KIMMIG, J.: Allergie und ihre Bedeutung für die neuzeitliche Medizin. Im Selbstverlag der Universität Hamburg 1957.
- ²⁵ KOBERT, R.: Lehrbuch der Intoxikationen, 2. Aufl., Bd. 2, S. 695ff. Stuttgart: Ferdinand Enke 1906.
- ²⁶ KOWARSKI, A.: Über den Nachweis von pflanzlichem Eiweiß auf biologischem Wege. *Dtsch. med. Wschr.* **27**, 442 (1901).
- ²⁷ KRAUS, R., u. Ph. EISENBERG: Über Immunisierung mit Immunsustanzen. *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.* **31**, 208 (1902).
- ²⁸ KROHN, V.: Eine serodiagnostische Nachprüfung der Sympetalen des Königsberger Stammbaums. *Bot. Archiv* **37**, 328 (1935).
- ^{29^a} KRÜPE, M.: Blutgruppenspezifische pflanzliche Eiweißkörper (Phyttagglutinine). Stuttgart: Ferdinand Enke 1956.
- ^{29^b} KRÜPE, M., u. Ch. BRAUN: Über ein pflanzliches Hämagglutinin gegen menschliche B-Blutzellen. *Naturwissenschaften* **39**, 284 (1952).
- ^{29^c} KRÜPE, M., u. E. POWILLEIT: Beitrag zum Problem des Anti-Antikörpers. *Z. Hyg. Infekt.-Kr.* **134**, 198 (1952).
- ^{29^d} KRÜPE, M.: Unveröffentlicht. Zit. aus^{29^c}.
- ^{30^a} LANDSTEINER, K.: Die Spezifität der serologischen Reaktionen. Berlin: Springer 1933.
- ^{30^b} LANDSTEINER, K., and M. W. CHASE: Studies on sensitization of animals with simple chemical compounds; anaphylaxis induced by picryl chloride an 2:4-dinitrochlorobenzene. *J. exp. Med.* **66**, 337 (1937).
- ^{30^c} LANDSTEINER, K., u. H. LAMPL: Über die Abhängigkeit der serologischen Spezifität von der chemischen Struktur. *Biochem. Z.* **86**, 343 (1918).
- ^{30^d} LANDSTEINER, K., u. H. RAUBITSCHEK: Beobachtungen über Hämolyse und Agglutination. *Zbl. Bakt., I. Abt.* **45**, 660 (1907).
- ³¹ LAPORTE, R., J. J. PEREZ et L. HARDRE DE LOOZE: Sur les propriétés antigéniques de la «réagine» syphilitique. *Ref. Presse méd.* **54**, 149 (1946).
- ^{32^a} MAGNUS, W., u. H. FRIEDENTHAL: Ein experimenteller Nachweis natürlicher Verwandtschaft bei Pflanzen. *Ber. dtsch. bot. Ges.* **24**, 601 (1906).
- ^{32^b} MAGNUS, W., u. H. FRIEDENTHAL: Über die Spezifität der Verwandtschaftsreaktion der Pflanzen. *Ber. dtsch. bot. Ges.* **25**, 242 (1907).

- 33 MÄKELÄ, O.: Studies in hemagglutinins of leguminosae seeds. Academic Diss. Helsinki 1957.
- 34^a MEZ, C.: Anleitung zu serodiagnostischen Untersuchungen für Botaniker. Bot. Archiv **1**, 177 (1922).
- 34^b MEZ, C., u. H. ZIEGENSPECK: Der Königsberger sero-diagnostische Stammbaum. Bot. Archiv **13**, 483 (1926).
- 34^c MEZ, C., u. H. ZIEGENSPECK: Zur Theorie der Serodiagnostik. Bot. Archiv **12**, 163 (1925).
- 35 MILGROM, F., S. DUBISKI and G. WOŹNICZKO: Human sera with "Anti-Antibody". Vox Sang. **1**, 172 (1956).
- 36 MOLLISON, RH.: Zit. aus H. SCHMIDT⁴³, Fortschritte der Serologie. Verh. Dtsch. Ges. Rassenforschung.
- 37^a MORITZ, O.: Zur Kritik der Phytoserologie. Biol. Zbl. **48**, 431 (1928).
- 37^b MORITZ, O.: Weitere Beiträge zur Kritik und zum Ausbau phytoserologischer Methodik. Planta (Berl.) **7**, 759 (1929).
- 37^c MORITZ, O.: Die serologische Analyse von Proteinkomplexen (Protenomen) als Methode der biologischen Verwandtschaftsforschung. Ber. dtsch. bot. Ges. **49**, 76 (1931).
- 37^d MORITZ, O.: Prinzipien und Beispiele der Anwendung phytoserologischer Methodik. Planta (Berl.) **15**, 647 (1932).
- 37^e MORITZ, O.: Serologische Untersuchungen an Getreidebastarden. Ber. dtsch. bot. Ges. **51**, (52) (1933).
- 37^f MORITZ, O.: Über serologische Verwandtschaftsforschung. Züchter **6**, 217 (1934).
- 37^g MORITZ, O., u. H. L. ROHN: Untersuchungen zum Problem der serologischen Fernreaktionen. Planta (Berl.) **47**, 16 (1956).
- 37^h MORITZ, O., u. H. VOM BERG: Serologische Studien über das Linswickenproblem. Biol. Zbl. **51**, 290 (1931).
- 38 NUTTAL, G. H. F.: Blood immunity and blood relationship. Cambridge: Cambridge University Press 1904.
- 39 PORTIER, P., et C. RICHET: C. R. Soc. Biol. (Paris) **54**, 170 (1902). Zit. aus BOYD^{8a}.
- 40 POWER and CAMBIER: Pharmac. J. and Transact., 711 (1890). Zit. aus M. KRÜPE^{29a}.
- 41^a RENKONEN, K. O.: Studies on hemagglutinins present in seeds of some representatives of the family of Leguminosae. Ann. med. exp. Fenn. **26**, 66 (1948).
- 41^b RENKONEN, K. O.: Studies on the nature of hemagglutinins present in seeds. Ann. med. exp. Fenn. **28**, 45 (1950).
- 42 SCHMIDT, G.: Die Hämagglutination, im besonderen menschlicher B-Blutzellen durch Extrakte aus dem Samen von Evonymus vulgaris. Z. Immun.-Forsch. **111**, 432 (1954).
- 43 SCHMIDT, H.: Fortschritte der Serologie, 2. neubearb. Aufl. Darmstadt: Dr. Dietrich Steinkopff 1955.
- 44 SCHULTZ, W. H.: Physiological studies in anaphylaxis I-II. J. Pharmacol. exp. Ther. **1**, 549 (1909/10); **2**, 221 (1910/11).
- 45 SCHULTZE, H. E., M. SCHOENENBERGER u. H. D. MATHEKA: Zur Kenntnis der Gamma-Globuline und antitoxischer Immunglobuline. Behringwerk-Mitteilungen **26**, 21 (1952).
- 46 SCHÜTZE, A.: Über weitere Anwendung der Präzipitine. Dtsch. med. Wschr. **27**, 442 (1901).
- 47 SLATMANN, W.: Phytoserologische Untersuchungen II. Vergleichende Untersuchungen über die Kapillarmethode ohne Phosphat und die Mezsche Präzipitationsreaktion. Planta (Berl.) **6**, 277 (1928).

- ⁴⁸ STILLMARK, H.: Über Ricin, ein giftiges Ferment aus dem Samen von *Ricinus communis* L. und einigen anderen Euphorbiaceen. Inaug.-Diss. Dorpat 1888.
- ^{49^a} TOBISKA, J., u. D. WIEDERMANN: Ein Beitrag zur Frage der chemischen Natur der Phythämagglutinine. *Z. Immun.-Forsch.* **117**, 114 (1959).
- ^{49^b} TOBISKA, J.: Untersuchungen von 100 neuen Pflanzen auf ihren Phyt-agglutiningehalt. I. Mitt. *Z. Immun.-Forsch.* **117**, 156 (1959).
- ^{49^c} TOBISKA, J.: Phyttagglutinine von weiteren 75 neuen Pflanzen. II. Mitt. *Z. Immun.-Forsch.* **117**, 190 (1959).
- ^{49^d} TOBISKA, J.: Über die Unterschiede des Phyttagglutiningehaltes verschiedener Samenproben derselben Pflanzenart. III. Mitt. *Z. Immun.-Forsch.* **117**, 198 (1959).
- ⁵⁰ VOIGT, E. M., u. C. VOIGT: Über Antihämolytisches Serum. (Versuch zur Schwarzwasserfieberfrage.) *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* **38**, 232 (1934).
- ⁵¹ WIDAL, F.: Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. *Soc. méd. des hôpit.* **26**, 6 (1896).
- ⁵² WOLF, H.: Über die praktische Brauchbarkeit spezifischer pflanzlicher Häm-agglutinine. Inaug.-Diss. Hamburg 1955.
- ⁵³ WOLFF-EISNER, A.: Über die Urticaria vom Standpunkt der neuen Erfahrungen über Empfindlichkeit gegenüber körperfremden Eiweißsubstanzen. *Derm. Zbl.* **10**, 164 (1907).
- ⁵⁴ WYCKHOFF, R. W. G., J. VAN DER SCHEER and F. H. CLARKE: Electrophoretic analysis of several hyperimmune horse sera. *J. Immunol.* **39**, 65 (1940).
- ⁵⁵ ZIEGENSPECK, H.: Sero-diagnostischer Stammbaum des Pflanzenreichs. *Bot. Archiv* **9**, 38 (1925).

Dr. MAX-WERNER UNCKELL und Prof. Dr. GÜNTHER DOTZAUER,
Institut für Gerichtliche Medizin der Universität,
Hamburg 13, Harvestehuder Weg 10