

MICROELEMENTS AND THEIR IMPORTANCE FOR THE CHILD'S BODY WITH HEMOLYTIC DISEASE OF THE NEWBORNS (literature review)

A.Sh.Arzikulov¹  G.D.Abdullaeva¹  A.G.Arzibekov¹ 

1. Andijan State Medical Institute, Andijan, Uzbekistan.

Abstract.

This article is devoted to the study of the role of microelementoses in newborns with HDN. To date, the influence of the balance of essential ME on the adaptation capabilities of children in the physiological course of this period and in the implementation of pathological syndromes has not been sufficiently studied. The study of changes in the parameters of ME in the dynamics of the neonatal period will allow us to expand our understanding of their content balance and the possibility of predicting early adaptation disorders in newborns. Etiological factors, risks of developing HDN in connection with the quantitative change in ME are discussed. Disturbances in the balance of trace elements can not only aggravate the clinical course of HDN, but also cause complications in the form of metabolic disorders that worsen the adaptation of the newborn to life outside the womb. Complex correction of microelementoses can be part of the therapy to minimize the consequences of hemolysis.

Key words: trace elements, newborns, hemolytic disease, adaptation, metal elements.

Достижения учений о микроэлементах свидетельствуют о значительной роли сбалансированного обеспечения тканей организма микроэлементами (МЭ) в поддержании нормального гомеостаза [2,3,4,5]. В условиях влияния неблагоприятных внутренних и внешних факторов на организм человека, вопросы становления младенческого гомеостаза МЭ при гемолитической болезни новорожденных (ГБН) приобрели особую актуальность [1,6]. При этом следует ожидать изменений гомеостаза МЭ у детей с ГБН еще до рождения ребенка, что находит отражение в процессах адаптации [7].

Несмотря на общий интерес к проблеме микроэлементозов вопрос об их содержании в организме человека освещали недостаточно. Содержание микроэлементов в органах, тканях и биологических жидкостях человека очень неравномерно. Содержание МЭ крови, как правило, невелико [5,6]. Эти данные заслуживают внимания при их сопоставлении с соответствующими показателями при микроэлементозах у детей с ГБН. Одновременно необходимо обратить внимание, что высокие или необычно низкие показатели содержания МЭ в крови у новорожденных могут встречаться и при других заболеваниях.

Действие биоэлементов на организм в большей степени зависит от количества внеклеточной жидкости в тканях, степени развития подкожной клетчатки, а также от содержания кальция в костной ткани и от степени кальцификации других тканей. Особенно много МЭ накапливается в костях и зубах [5,6].

Возрастная динамика концентрации некоторых МЭ в ЦНС связаны с особенностями обменных процессов, свойственных определенному возрастному периоду, и в первую очередь, с изменениями интенсивности окислительных процессов. В исследовании В.А.Бацевича (1988) с помощью нейтронно-активационного анализа установлены закономерные возрастные изменения содержания в пубертатном возрасте, таких МЭ, как цинк.

Для оптимального течения обменных процессов у новорожденных необходимы как минимум девять эссенциальных МЭ (железо, медь, цинк, йод, марганец, хром, селен, молибден, кобальт). Именно перечисленные МЭ выполняют разнообразные функции, в том числе катали-

тическую, структурную и регуляторную. В процессе осуществления этих функций они взаимодействуют с макромолекулами, такими как ферменты, прогормоны, а также с предсекреторными гранулами и биологическими мембранами, участвуя во всех видах обмена веществ. Уровни обмена на которых это происходит, столь фундаментальны, что признаки недостаточности многих МЭ оказываются изменчивыми.

Процессы метаболизма в организме происходят при участии многих металлоферментов, которые обладают микроэлементными координационными центрами металлоферментных комплексов, содержащих также разнообразные металлы (цинк, кобальт, марганец, никель, железо, медь, барий и др). Металлы поглощаемые организмом, и, содержащиеся в тканях и тканевых жидкостях, могут являться активаторами действия ферментов (цинк, марганец, железо, кадмий, кобальт, никель, ртуть, цезий, литий, алюминий) или их ингибиторами (железо, бериллий, стронций, барий, кадмий, ртуть, никель, рубидий).

Необходимо отметить, что все эти химические элементы оказывают большое влияние на организм, вступая в связь с органическими веществами, синтезируемыми в живых клетках [7, 10]. Они влияют на оплодотворение, развитие, рост, жизнеспособность, его иммунобиологические свойства, дыхательную функцию гемоглобина и прочие важнейшие функции. Проявления и синдромы истинного дефицита МЭ у новорожденных с ГБН доказана только для железа, меди, цинка, селена, молибдена, кобальта [11].

Организм здорового человека обладает достаточно четкой саморегулирующей системой гомеостаза. Для большинства МЭ основными регуляторами механизмами гомеостаза являются процессы всасывания, преимущественно из желудочно-кишечного тракта, а также экскреция с мочой и калом [12]. МЭ поступают в организм из пищи и в значительно меньшем количестве из воздуха. Для развивающегося организма важен трансплацентарный путь обеспечения микроэлементами. Выделяются МЭ из организма с мочой, калом и в небольшом количестве с потом, волосами и менструальной кровью [13, 14].

Повышенное содержание элементов в рационе питания сопровождается увеличением их концентрации в тканях. При избыточном поступлении МЭ вступает в действие система элиминации.

В частности, может происходить блокирование процессов их всасывания в желудочно-кишечном тракте и последующее выведение с калом. Всосавшийся в кровь избыток МЭ выводится с мочой, желчью, потом и молоком, а также откладывается в депо. Дефект определенного звена системы, обеспечивающий микроэлементный гомеостаз, приводит к тому, что в организме может возникнуть недостаток или избыток МЭ, сопровождающийся соответствующими клиническими симптомами и развитием заболевания [13].

Часто встречающиеся патологические изменения процессов пищеварения и всасывания у беременной женщины могут стать основой нарушения обмена МЭ при ГБН. Рядом исследователей [14, 15] отмечено увеличением чисел клеток Панета с большим и максимальным, а также и с низким умеренным содержанием цинка. Как известно, уровень абсорбции цинка в желудочно-кишечном тракте связан с содержанием цинксвязывающего лиганда.

Таким образом, существует несколько путей регуляции баланса МЭ. Однако, значение каждого из них неодинаково для различных МЭ при ГБН. Так, для меди, железа, цинка основным путем регуляции является изменение уровня абсорбции, в то время как для йода и кадмия наиболее важный путь их регуляции в организме – экскреция с мочой. Последний путь для большинства МЭ составляет не более 1-4% от их количества, выделяемого с калом [16]. Пусковым механизмом абсорбции ряда МЭ (железо, цинк и др) в желудочно-кишечном тракте является снижение их концентрации в тканевых депо. Однако путь передачи информации от тканей к эпителиоцитам слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта еще неизвестен. Следовательно, баланс МЭ - это частная форма общей гомеостатической системы организма. Элементный статус новорожденного зависит, прежде всего от состояния плаценты и характера его питания беременной. При анализе рациона питания женщины детородного возраста, (190), были получены следующие данные о дефиците потребления следующих химических элементов: I (80%), Se (80%), Zn (60%), Fe (17%), Cu (4%). То есть рацион питания женщин не

соответствовал физиологическим потребностям, что создавало предпосылки для алиментарных дефицитов этих жизненно важных микронутриентов [17,18].

Алиментарная и метаболическая коррекция микроэлементного статуса представляет собой непростую задачу. Не всегда она может быть решена только с помощью простого замещения отсутствующего или умеренно дефицитного МЭ. В природе широко распространены координированные влияния нескольких МЭ. Существуют пары и триады МЭ, которые оказывают синергическое или онтогонистическое влияние на различные физиологические и патологические показатели. Выявлены также взаимодействия между железом и цинком, железом и марганцем, кадмием и медью.

Более глубокое изучение механизмов абсорбции и элиминации приносит все новые доказательства участия в них регулирующих систем организма - нервной, эндокринной и иммунной.

Таким образом, воспалительные, дистрофические и особенно атрофические изменения слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки неизбежно сопровождаются нарушениями всасывания. Это, прежде всего, относится к хроническим дуоденитам с глубокой перестройкой слизистой оболочки. При мальабсорбции проксимальных отделов тонкой кишки нарушается всасывание железа и цинка [18].

Для развития микроэлементоза необходимо сочетание сразу нескольких патогенетических факторов, способствующих клиническим проявлениям заболевания. При оценке степени выраженности гипомикроэлементозов применение понятия групп риска, формирующихся по признаку осложнения выявленных показателей от допустимого уровня. Условно допустимым уровнем считалось такое количество вещества в организме или критическом органе, которое при постоянном его содержании не вызывает изменений состояния здоровья, обнаруживаемых современными методами исследований. Всех лиц с превышением допустимого уровня по одному или нескольким элементам необходимо углубленное и целенаправленное медицинское обследование и проведение профилактического применения препаратов, содержащих МЭ [19].

Известно, что в процессе кроветворения играют значительную роль ряд эссенциальных МЭ. Так, железо является структурной частью гемоглобина, и его дефицит приводит к нарушению гемоглобинообразования и развитию анемии. Цинк, в результате своего прямого участия в обмене нуклеиновых кислот и синтеза белков, существенно влияет на процессы кроветворения и на продолжительность жизни клеток, так как он стабилизирует структуру клеточных мембран, 85% цинка крови содержится в эритроцитах. Причиной гипохромных анемий, может, служит также дефицит меди, поскольку медь через окислительные ферменты влияет на обмен железа, обеспечивая синтез гемоглобина и созревание эритроцитов. Именно медь способствует переходу железа в органически связанную форму и переносу его в костный мозг. Физиологический синергизм в процессах кроветворения есть между медью и железом, кобальтом и цинком. Проведенные исследования содержания эссенциальных МЭ у детей выявили снижение уровня железа в сыворотке крови у 54,7%, цинка - у 30,3%, меди – у 29,5%. Причем, дефицит всех трех МЭ был установлен у 23,8% обследованных детей [19].

Согласно данным А.В.Скального (1999), изучавшего распространенность основных гипер и гипомикроэлементов, наиболее часто выявлялись гипомикроэлементозы железа и цинка, способствующие снижению сопротивляемости и адаптационной способности организма детей, ухудшению показателей их роста и развития. Кроме того, у детей с хроническими заболеваниями, часто выявлялись дисбалансы цинка и меди. Возможно, особенности минерального обмена, определялись особенностями хронической патологии, которая имела у обследованных детей и их матерей. Для больных с гастродуоденитами была характерна высокая частота распространенности дисбаланса цинка (38%), меди (35%), железа (31%), для больных с пиелонефритами - дефицита цинка и меди (по 50%), железа (25%).

Обмен МЭ в раннем детском возрасте менее совершенен, чем у взрослых. Проблема баланса МЭ на ранних этапах онтогенеза у детей с ГБН, несомненно, имеет большое значение, однако многое в ней до сих пор еще не изучено. Это особенно относится к периодам

внутриутробного развития, периодам новорожденности и раннего детства. В печени ребенка к моменту рождения концентрация многих МЭ во много раз выше, чем в любой другой период его последующей жизни. В частности, содержания меди в 16 раз, а цинка в 2 раза больше, по сравнению с младенческим и ранним детским возрастом. Это период микроэлементного благополучия, когда новорожденный снабжен даже избытком этих веществ.

Как известно из литературных источников [20], в организме новорожденного содержится максимальное количество большинства МЭ (явление «сверх-запасания») в связи с повышенной потребностью внутриутробного и постнатального развития. Однако уже в течение первых месяцев жизни наступает значительное уменьшение этого резерва микроэлементов. Пополнение их содержания увеличивается только во второй половине первого года жизни [21]. Рядом исследований [1,2,3,4,5,6] показано, что под влиянием патологических состояний во время беременности и родов у новорожденных нарушается гомеостаз МЭ. В.А.Таболкин с соавт. (1986) основной причиной этих нарушений считали функциональные и морфологические изменения в плаценте, происходящее при вирусных и бактериальных заболеваниях женщин во время беременности [12].

Существуют группы риска детей младенческого возраста, в которых дефицит МЭ встречается более часто. Причинами относительного дефицита МЭ являются гипотрофия и незрелость недоношенного ребенка (масса тела, 1000 г и менее), продолжительное парентеральное питание, рецидивирующая диарея и кишечная мальабсорбция, длительный катоклизм, синдром короткого кишечника, очень низкая концентрация МЭ в грудном молоке. В исследованиях [16,18] результаты проведенной коррекции дисбаланса МЭ показали высокую эффективность лечения большинства заболеваний детей препаратами МЭ: при атопическом дерматите – улучшение отмечалось в 100% случаев, у часто болеющих – в 95%. При заболеваниях ЖКТ коррекция минерального обмена оказалась мало эффективной для основного заболевания. В случае задержки развития детей во всех случаях коррекции препаратами МЭ отмечен положительный эффект.

Недостаточность МЭ опасна тем, что длительно не проявляется клинически (период «скрытого голода»). Дело в том, что недостаток каждого МЭ может привести к вполне конкретной катастрофе обмена веществ. Поэтому, существует необходимость идентифицировать клинические эквиваленты, того или иного дефицитного состояния.

По данным В.В.Софронова с соавт (1996), при патологическом течении беременности отмечено некоторое повышение уровня цинка и железа, что связано с гиперосмолярным состоянием крови и снижением выделительной функции почек, характерным для тяжелых форм позднего токсикоза беременных. Особого внимания заслуживал уровень содержания цинка у рожениц при преждевременных родах: он был снижен вдвое по сравнению с беременными контрольной группы, причем тенденция к снижению цинка отмечалась уже при угрозе прерывания беременности. Выявлена корреляционная зависимость частоты невынашивания беременности от уровня цинка. Таким образом, преждевременные роды происходят на фоне резкого снижения цинка [19]. У рожениц, перенесших ОРВИ в первой и/или второй половинах беременности, уровень цинка и железа существенно не отличался от здоровых рожениц.

Изучение динамики содержания изучаемых МЭ [20] позволили констатировать селективность транспорта МЭ в системе «мать-плацента-плод». Во всех группах детей с патологическим течением беременности имело место достоверное снижение содержания цинка в пуповинной крови. Установлена активизация селективного трансплацентарного переноса цинка в организм плода. Преждевременным родам сопутствовало критически низкое содержание цинка в крови роженицы, что вероятно, формировало экстремальный ТМИ функционирования системы трансплацентарного переноса цинка – наблюдалась обратная корреляционная связь между его концентрациями в сыворотке крови матери и ребенка (21, 22, 23, 24).

Таким образом, неблагоприятное сочетание МЭ у детей, рожденных при осложненном течении беременности, являлось свидетельством нарушений транспортной функции плаценты и залогом дезадаптации детей в период новорожденности.

Изменения содержания МЭ в сыворотке крови новорожденных в течение раннего не-

натального периода, по данным С.О.Ключникова с соавторами (1995), отражают процессы метаболической адаптации и характеризуется снижением уровня МЭ, кроме железа и меди, в 1-е сутки жизни с последующим постепенным восстановлением исходных значений к 5-м суткам, резким повышением содержания меди и цинка на 3-е сутки жизни. Динамика уровня МЭ у новорожденных, развивавшихся в условиях ГБН, зависела, главным образом, от массы тела при рождении и, в меньшей степени, от выраженности неврологической симптоматики (25, 26, 27, 28).

До настоящего времени недостаточно изучено влияние баланса содержания эссенциальных МЭ на возможности адаптации детей в условиях физиологического течения этого периода и при реализации патологических синдромов. Изучение изменения параметров МЭ в динамике неонатального периода позволит расширить наши представления об их балансе содержания и возможности прогнозирования нарушений ранней адаптации у новорожденных.

Гемолитическая болезнь новорождённых (ГБН) — это состояние, возникающее в результате иммунологического конфликта между кровью матери и плода, приводящее к разрушению эритроцитов у ребёнка. Патогенез этого заболевания может быть тесно связан с нарушениями обмена микроэлементов (микроэлементозами), что влияет на тяжесть и развитие осложнений. Рассмотрим основные патогенетические связи:

Железо. В результате разрушения эритроцитов при ГБН высвобождается большое количество гемоглобина, что может привести к избыточному накоплению железа в организме новорождённого (гемосидероз). Это состояние вызывает повреждение тканей и органов, особенно печени, почек и сердца, а также нарушает баланс железа. Дефицит железа может развиваться позднее, из-за увеличенных потребностей организма при восстановлении кроветворения.

Цинк. Цинк участвует в процессах кроветворения и стабилизации клеточных мембран, включая мембраны эритроцитов. При его дефиците наблюдается повышение разрушимости клеточных мембран, что может усугубить гемолиз. Кроме того, цинк участвует в активации антиоксидантной системы, которая играет важную роль в защите клеток от оксидативного стресса, возникающего при массивном разрушении эритроцитов.

Медь. Медь является компонентом фермента церулоплазмина, который участвует в транспорте железа и его включении в гемоглобин. Дефицит меди может нарушать процессы эритропоэза и усиливать анемию у новорождённых. Кроме того, медь участвует в антиоксидантной защите организма, что важно при условиях гемолиза.

Селен. Селен является важным компонентом глутатионпероксидазы — фермента, который защищает клетки от оксидативного стресса. При недостатке селена способность организма новорождённого справляться с окислительным повреждением клеток снижается, что может усугубить повреждения, вызванные гемолизом.

Магний. Магний участвует в регуляции клеточного метаболизма и поддержании стабильности клеточных мембран. Его дефицит может приводить к нарушению функционирования клеточных мембран и повышению риска гемолиза.

Кальций. Кальций играет важную роль в поддержании осмотического баланса и проницаемости клеточных мембран. Его избыток или дефицит может привести к нарушению нормального функционирования эритроцитов, что способствует усилению гемолиза.

Таким образом, нарушения баланса микроэлементов могут не только утяжелить клиническое течение ГБН, но и вызвать осложнения в виде метаболических нарушений, ухудшающих адаптацию новорождённого к жизни внеутробно. Комплексная коррекция микроэлементозов может являться частью терапии для минимизации последствий гемолиза.

List of references

[1] Алимova, О., Х. Сирожиддинова, Н. Ортыкбаева, Г. Сувонова, и Ш. Миллиева. «Особенности акушерско-гинекологического анамнеза матерей новорожденных с гемолитической болезнью». Журнал вестник врача, т. 1, вып. 1, март 2022 г., сс. 12-14.

[2] Антонов А.Г., Дегтярев Д.Н., Нароган М.В., Карпова А.Л., Сенькевич О.А., Сафаров А.А., Сон Е.Д., Малютина Л.В. Гемолитическая болезнь плода и новорожденного. Клинические ре-

комендации // Неонатология: новости, мнения, обучение, 2018. Т. 6, № 2. С. 131-157.

[3] Белаусова Т.В., Андрюшина И.В. // Вопросы современной педиатрии. – 2015. –Т.14, №1. – С.23–30.

[4] Бойко Н.В., Модель Г.Ю., Алехина В.И. Особенности адаптации новорожденных, перенесших внутриутробные гемотрансфузии. Кубанский научный медицинский вестник. 2018; 25(3): 34-9.

[5] Белкина М.Л., Верещагина В.С., Абинова А.В., Ледяйкина Л.В., Раздолькина Т.И. Особенности течения гемолитической болезни новорожденных в Республике Мордовия по данным ГБУЗ РМ «ДРКБ» г. Саранска // Научный форум. Сибирь, 2019. Т. 5, №. 1. С. 65-68.

[6] Володин Н.Н., и др. Желтухи новорожденных.// Клиническое руководство.М.: ГЭОТАР-медиа, 2019, С.192

[7] Дегтярев Д.Н., Карпова А.Л., Малютина Л.В., Нароган М.В., Сафаров А.А., Сенькевич О.А., Сон Е.Д. Гемолитическая болезнь плода и новорожденного (ГБН). Клинические рекомендации 2017 // Журнал международной медицины (Педиатрия/Неонатология), 2017. № 6 (29). С. 73-85.

[8] Дударева Ю.А., Гурьева В.А., Ручейкина Н.Ю. Акушерские аспекты гемолитической болезни новорожденных при АВО-изоиммунизации. Гинекология. 2021, 23 (6): 559-562

[9] Agrawal A, Hussain KS, Kumar A. Minor blood group incompatibility due to blood groups other than Rh(D) leading to hemolytic disease of fetus and newborn: a need for routine antibody screening during pregnancy. Intractable Rare Dis Res. 2020;9(1):43–7.

[10] Al-Riyami A.Z., Al-Salmani M., Al-Hashami S.N., Al-Mahrooqi S., Al-Marhoobi A., Al-Hinai S. et al. Intrauterine fetal blood transfusion: descriptive study of the first four years' experience in Oman. Sultan Qaboos Univ. Med. J. 2018; 18(1): e34-42.

[11] Bruno A.M., Rosenbloom J.I., Woolfolk C., Conner S.N., Tuuli M.G., Macones G.A. Neonatal outcomes after percutaneous umbilical cord blood sampling†. J. Matern. Fetal Neonatal Med. 2019 Mar 25: 1-6. <https://dx.doi.org/10.1080/14767058.2019.1593960>.

[12] Bekdache G.N., Mylopoulos M., Kulasegaram K.M., Windrim R. Pedagogical strategies in teaching invasive prenatal procedures: a scoping review protocol. BMJ Open. 2019; 9(5): e024629. <https://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2018-024629>.

[13] Garabedian C., Rakza T., Drumez E., et al. Benefits of Delayed Cord Clamping in Red Blood Cell Alloimmunization. // Pediatrics. – 2016. – Vol.137. – e20153236.

[14] Vivanti A., Benachi A., Huchet F-X., Ville Y., Cohen H. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2016. – Vol.215 E1–E5.

[15] Monitoring and management of hemolytic disease of the fetus and newborn based on an international expert Delphi consensus.// American Journal of Obstetrics and Gynecology. Volume 232, Issue 3, March 2025, Pages 280-300.

[16] Dong XY, et al. Causes of severe neonatal hyperbilirubinemia: a multicenter study of three regions in China. World J Pediatr. 2021;17(3):290–7.

[17] Devin Yu Pharm. Live birth prevalence of hemolytic disease of the fetus and newborn in the United States from 1996 to 2010. AJOG Global Reports. Volume 3, Issue 2, May 2023, Pages 100-203.

[18] Donepudi R.V., Moise K.J. Jr. Intrauterine transfusion complicated by umbilical artery thrombosis. Case Rep. Obstet. Gynecol. 2019; 2019: 5952326.

[19] Domellof M., Szitanyi P., Simchowicz V., et al. // Clin. Nutr. – 2018. – Vol.37. – P.2354–2359.

[20] Dai, C., Chen, C., Jiang, L. et al. Severe neonatal hyperbilirubinemia secondary to combined RhC hemolytic disease, congenital hypothyroidism and large adrenal hematoma: a case report. BMC Pediatr 22, 539 (2022).

[21] Deka D., Dadhwal V., Sharma A.K., Shende U., Agarwal S., Agarwal R. Perinatal survival and procedure-related complications after intrauterine transfusion for red cell alloimmunization. Arch. Gynecol. Obstet. 2016; 293(5): 967-73.

[22] Kattimani V.S., Ushakiran C.B. Hemolytic disease of the newborn due to ABO incompatibility. Int. J. Contemp. Pediatr., 2018, Vol. 5, no. 2, 605.

[23] Kassa RT, Gudeta H, Assen ZM, Mulugeta Demlev T, Teshome GS. Neonatal hyperbilirubinemia: prevalence and associated etiologic factors among newborns admitted to Tikur Anbessa Referral Hospital, Ethiopia. *J Pregnancy Child Health*. (2018) 05(04):1–8

[24] Garcia-Prat M., Álvarez-Sierra A., Aguiló-Cucurull et al. Extended immunophenotyping reference values in a healthy pediatric population. *Cytometry B Clin Cytom*. 2019 . Vol.96, № 3. P. 223-233;

[25] Jerković Raguž M., Šumanovic Glamuzina D, Brzica J. et al. The Incidence and effects of alloimmunization in pregnancy during the period 2000 - 2013. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2017. Vol.77, № 7. P. 780-785.

[26] Lake EA, Abera GB, Azese GA, Gebeyu NA, Demissie BV. Prevalence of neonatal jaundice and its associated factors in neonatal intensive care units of public hospitals in Mekelle city, Northern Ethiopia. *Hindawi International Journal of Pediatrics*. (2019) 2019:1054943

[27] Landsteiner K. Über Agglutionserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wein. Klein. Wschr.*, 1901, Vol. 14, pp. 1132-1134

[28] Landsteiner K. Zur Kenntniss der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. *Zentr. Bacteriol.*, 1900, Vol. 27, pp. 357-366.