ARBEITEN
AUS DEM STAATSINSTITUT FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE UND DEM GEORG SPEYER-HAUSE ZU FRANKFURT A. M.

BEGRÜNDET VON **PAUL EHRLICH**

HERAUSGEGEBEN VON

DR. **W. KOLLE**

DIREKTOR DES STAATSINST. FÜR EXP. THERAPIE UND DES GEORG SPEYER-HAUSES,
O. HONORARPROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT FRANKFURT A. M.

Heft 15.

Rud. Oehler, Die Zellverbindung von Paramaecium bursaria mit Chlorella vulgaris und anderen Algen. Mit 2 Figurenskizzen und 2 Tafeln. S. 3—19

H. Dold und G. Klinkhart, Studien über den Einfluß der Technik und anderer äußerer Faktoren auf die Titerhöhe hämolytischer Ambozeptoren. Mit 4 Kurven im Text. S. 21—33

E. Breslau und Fr. Glaser, Versuche mit schwefliger Säure zur Vernichtung überwinternder Stechmücken. S. 35—44

JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER
1922

Paul Ehrlich-
Institut
Bibliothek
Frankfurt a. Main
X
9 (15)

Uebersetzungsrecht vorbehalten.

Die Zellverbindung von Paramaecium bursaria mit Chlorella vulgaris und anderen Algen

Von

Dr. **Rud. Oehler**

Mit 2 Figurenskizzen und 2 Tafeln

Aus dem Georg Speyer-Haus in Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Med. Rat Prof. Dr. W. Kolle).

Ueber die Geschichte und Lehre von den Zoochlorellen gibt gute Auskunft die Zusammenstellung von Biedermann[1]) in Wintersteins Handbuch der Physiologie, sowie die Monographie Buchners[2]). Die letzten Nachrichten über Paramaecium bursaria kommen von Le Dantec[3]) und Pringsheim[4]). Hieran schließen die folgenden Mitteilungen an.

Material und Methoden.

Ich fand im Juni 1921 in einem Wassertümpel weiße Ciliaten, die zu Hause mit Chlorella gefüttert wurden und darauf am Lichte ergrünten. Es war ein Stamm von Paramaecium bursaria. Die weiße Ausgangsform war nicht mehr zu erlangen. Alle Zöglinge waren grün geworden. Auch in jenem Tümpel konnte kein Paramaecium bursaria mehr gefunden werden. Ueber den feineren Zustand der ausgänglichen weißen Paramäcien kann ich also nichts aussagen. Ich nehme aber an, daß dieselben wirklich frei von Chlorellen waren, und daß das Ergrünen von der als Fütterung zugegebenen Chlorella vulgaris herstammt. Die Züchtung wurde auf Einzellenstamm eingestellt. Alle Züchtungen wurden im Reagenzglas gemacht. Als Wasser diente mit destilliertem Wasser verdünnte Knoplösung, etwa 1:20. Die Röhrchen wurden mit etwa 5 ccm dieser Lösung gefüllt und im Dampftopf sterilisiert. Als Nahrung für die Ciliaten wurde gewöhnlich Saccharomyces exiguus von einer Reinkultur auf Traubenzuckerbouillonagar mit der Oese abgenommen und im Wasser aufgeschwemmt. Die Ciliaten wurden mit der Glaspipette dem Röhrchen beigegeben. Ueber die verwendeten Algenkulturen, ihre Wirkung und Eigenschaft siehe später.

---

1) Biedermann, Physiologie des Stoffwechsels. Handbuch der vergl. Physiologie, herausgegeben v. Winterstein, Bd. 2, 1. Hälfte: Die grünen Zellen der Protozoen, S. 409, Jena 1912.

2) P. Buchner, Tier und Pflanze in intrazellulärer Symbiose. Berlin 1921.

3) Le Dantec, Recherches sur la symbiose des algues et des protozoaires. Ann. de l'inst. Pasteur, T. 6, 1892, p. 190.

4) E. Pringsheim, Die Kultur von Paramaecium bursaria. Biolog. Centralbl., Bd. 35, 1915, S. 375.

Die Gewinnung der weißen Paramäcien aus dem grünen Zellverband.

Le Dantec[1]) schreibt: In der Dunkelheit vermindern sich die Chlorellen in den Paramäcien erst rasch, dann langsam. Es ist nicht leicht, so ganz weiße Paramäcien zu erzielen. Was aber frei von Chlorellen geworden ist, bleibt so, auch wenn Belichtung wieder zugelassen wird.

Ich kann das bestätigen. Es dauert 2 Monate bei guter Fütterung mit Saccharomyces exiguus, bis völlige Reinigung von den Chlorelleneinlagerungen erreicht ist. Bei langsamer Vermehrung infolge geringer Fütterung wohl noch länger. Ich versetzte grüne Paramäcien ins Dunkle und übertrug sie auf Folgeröhrchen mit Saccharomyces exiguus als Nahrung. Im 17. Folgeröhrchen erfolgte der Umschlag. Alle Paramäcien aus früheren Röhrchen ergrünten wieder, wenn sie ans Licht kamen. Die ersten nach 2—4 Tagen, die späteren nach 6 bis 10 Tagen. Im 17. Röhrchen konnten nach 10-tägiger Belichtung grüne und weiße Paramäcien nebeneinander beobachtet werden. Es wurden 9 weiße Paramäcien aus dem Röhrchen abgefangen und einzeln eingesetzt und mit Hefe gefüttert. Nach 3 Wochen Belichtung waren die Nachkommen in 4 Röhrchen doch noch grün geworden. Im 18. Folgeröhrchen war und blieb alles weiß, auch bei langer Belichtung. Die Dunkelzucht wurde noch bis zum 25. Folgeröhrchen fortgesetzt, mit gleichem Ergebnis: die Paramäcien blieben am Lichte dauernd weiß.

Man kann den Bestand an eingeschlossenen Chlorellen auch mit dem Mikroskop verfolgen. Die Chlorellen werden bei dunkel gehaltenen Paramäcien nicht nur weniger, sondern auch blasser. Im Leib des Ciliaten sind sie oft schwer zu erkennen. Wenn man aber das Paramaecium unter dem Deckglas zerdrückt, dann läßt sich dessen Leibesinhalt genau durchmustern. Man sieht auch blasse Chlorellen deutlich. Sie werden weniger und weniger. Im 14.—16. Folgeröhrchen waren ihrer nur 2 oder 3 im Paramaecium zu finden.

Was dauernd weiß blieb, zeigte auch keinen Chlorellaeinschluß mehr

Treibt man die Vermehrung der grünen Paramäcien im Dunkeln nicht an, d. h. füttert man nur dann etwas Hefe nach, wenn die Paramäcien sich im Röhrchen vermindern und einzugehen drohen, das ist nach 2—3 Wochen, dann verschwinden die Chlorellen ebenfalls, aber langsamer. Ich habe das 14. und 16. Folgeröhrchen so behandelt. Das Vergleichsröhrchen ergrünte am Licht nach 10 Tagen. Die beiden im Dunkeln gehaltenen Röhrchen wurden nach 25 Tagen ans Licht gebracht. Ihre Paramäcien bleiben nun dauernd weiß. Die wenigen Chlorellen in ihnen waren in der Dunkelheit schließlich doch eingegangen. Was bei starker Vermehrung in 2 Ueberimpfungsstufen vom 16.—18. Folgeröhrchen in 5 Tagen erreicht wurde, wurde bei langsamer Vermehrung in 25 Tagen erreicht.

1) a. a. O. S. 197.

Die Reinigung der grünen Paramäcien von den eingelagerten Chlorellen erfolgt durch Ueberwucherung. Die Paramäcien teilen sich bei guter Fütterung im Dunkeln so rasch wie am Licht. Nicht so die Chlorellen. Auch sie vermehren sich in den gefütterten, dunkel gehaltenen Paramäcien. Aber ihre Teilung hält mit der der Paramäcien nicht Schritt, wenn der Lichtreiz fehlt. Sie werden weniger und weniger, bis schließlich chlorellafreie Paramäcien aufkommen und auf die Folgeröhrchen übertragen werden.

Vielleicht gibt es aber auch eine Reinigung durch Verblassen und die damit zusammenhängende Erschöpfung der Chlorellen. Es ist das auffallend, denn die Zuchtchlorellen im Löfflerröhrchen wachsen im Dunkeln weiter, werden sogar grün, wenn auch etwas matter grün, als am Lichte.

Auch eine Schnellreinigung durch chemische Reizung wäre denkbar. Buchner erwähnt, daß Hazdi 1906 grüne Hydren durch 0,5—1,5 Proz. Glyzerin entfärbte. Ich habe solches bei Paramäcien versucht, aber ohne Erfolg. Dagegen sah ich bei Ansätzen von grünen Paramäcien + Saccharomyces exiguus + Traubenzucker manchmal das Auftreten von Weißformen nach etwa 4 Tagen. Weitere Prüfung war nicht möglich.

Die Züchtung der Chlorellen aus Paramaecium bursaria.

Die Chlorellen aus Paramaecium bursaria sind mehrfach gezüchtet worden. Entz[1]), Famintzin[2]), Schewiakoff[3]), Brandt[4]) u. a. zerdrückten Paramäcien und beobachteten die Vermehrung der Chlorellen unter dem Mikroskop. Beyerinck[5]) gelang nach manchen Mißerfolgen, die Züchtung auf der Agarplatte. Erstaunlich ist die Mitteilung von Pringsheim[6]), der die Züchtung der Chlorellen aus seinem grünen Paramaecium bursaria gar nicht erreichen konnte. Er hält die Zoochlorellen von Paramaecium bursaria für nicht getrennt kultivierbar. Er sagt[7]): „Dasselbe fand Haberlandt bei den Algen von Convoluta, die den

1) Geza-Entz, Ueber die Natur der Chlorophyllkörperchen niederer Tiere. Biolog. Centralbl., 1882.

2) A. Famintzin, Beiträge zur Symbiose von Algen und Tieren. Mém. de l'acad. imp. des scienc. St. Pétersbourg, T. 36, 1889; T. 38, 1891 et 1892.

3) W. Schewiakoff, Bemerkungen zur Arbeit von Prof. Famintzin über Zoochlorellen. Biolog. Centralbl., Bd. 11, 1891, S. 475.

4) Brandt, Mitteil. a. d. Zoolog. Station Neapel, 1883.

5) Beyerinck, Kulturversuche mit Zoochlorellen. Bot. Ztg., 1890.

6) Pringsheim, Die Kultur von Paramaecium bursaria. Biolog. Centralblatt, Bd. 35, 1915, S. 375.

7) S. 378.

Wirt nicht überleben, sondern stets mit ihm zugrunde gehen. Die früheren, mit viel roheren Methoden erzielten scheinbaren Erfolge von Entz u. a. dürften also auf Irrtum durch Verunreinigung beruhen."

Das ist ein hartes Wort. Wer die Abbildung von Famintzin sieht, kann sich der Einsicht nicht verschließen, daß dieser Beobachter das Wachstum und die Vierteilung von Chlorellen aus Paramaecium bursaria unter dem Mikroskop verfolgt hat. Pringsheim muß ein besonders ungünstiges Objekt in Händen gehabt haben; einen Stamm von Chlorellen, der ungewöhnlich schwer züchtbar war. Meine grünen Paramäcien gaben ohne Schwierigkeit gute Zuchtergebnisse der aus ihrem Leibe befreiten Chlorellen. Das Verfahren ist einfach. Man gibt auf eine Wasseragarplatte 1:100 einige grüne Paramäcien. Der sie umschließende Wassertropfen wird aufgesogen. Die Paramäcien liegen dann fest auf der Agarfläche. Die Stelle wird auf der Rückseite der Platte bezeichnet. Nach 24 Stunden sind die Paramäcien zerflossen. An ihrer Stelle liegt eine Schar von Chlorellen, welche am Lichte langsam zu einer Kolonie heranwachsen und nach 15—20 Tagen abgeimpft werden können.

Wohl möglich, daß grüne Paramäcien, die in den Gewässern gefunden werden, mehr Schwierigkeit machen. Da in meinem Falle die Chlorellen meiner grünen Paramäcien erst vor wenigen Wochen den weißen Paramäcien eingepflanzt worden waren, mag deren züchterische Wiedergewinnung leichter gewesen sein. Keinenfalls aber möchte ich Pringsheims ablehnendes Urteil über die berichteten Züchtungserfolge anderer unterschreiben. Meine Versuche besagen, daß sich Chlorella vulgaris dem weißen Paramaecium bursaria künstlich einpflanzen läßt; und aus den grünen Paramäcien läßt sich die eingeschlossene Chlorella wieder auslösen und gesondert weiterzüchten.

Die Einführung der Chlorellen in Paramaecium bursaria.

Wie die Verbindung von Paramaecium bursaria und Chlorellen geschlossen wird, schildert Le Dantec folgendermaßen:

Er zerdrückt grüne Paramäcien und füttert mit der Masse ein lichtes Paramaecium bursaria. Er belädt sich mit Grundkörpern, diese werden nicht verdaut, sondern bleiben im Plasma liegen, manche werden wieder ausgestoßen, andere aber vermehren sich durch Teilung. Erst liegen sie in einer Vakuole, dann verschwindet die Vakuole und die Chlorella liegt im Plasma. Die Symbiose ist hergestellt. Ich habe dieser Beobachtung nichts abzustreichen. Zweifellos gehen die Dinge so vor sich, wie Le Dantec beschreibt. Doch ist wesentlich, wie lange sie halten. Ich vermag einer Chlorella, die im Plasma liegt, nicht anzusehen, ob sie verdaut werden wird oder ob sie ausgestoßen wird, oder ob sie bleibt und sich vermehrt. Das kann nur der Züchtungsversuch feststellen. Die Zellverbindung Paramaecium bursaria und

Chlorella ist eine dauernde, wenn sie nach Tagen noch gefunden wird. Sie ist eine fortzüchtbare Zellverbindung, wenn sie bei Fütterung mit chlorellafreier Nahrung auf Folgeröhrchen übertragen werden kann.

Werden grün beladene Paramäcien mit Saccharomyces exiguus gefüttert und auf Folgeröhrchen übertragen, so vermehren sie sich. Am Lichte gehalten, bleiben sie chlorellenhaltig. In der Dunkelheit verlieren sich die Chlorellen. Erst dadurch, daß die Chlorellen trotz gangbarer Verdauungsarbeit nicht verschwinden, erkennen wir, daß sie nicht verdaut werden. Und erst daraus, daß sie am Lichte trotz lebhafter Paramäcienvermehrung in allen Folgeröhrchen immer wieder in den nachgewachsenen Paramäcien gefunden werden, sehen wir, daß sie sich in den Paramäcien teilen und mit deren Vermehrung gleichen Schritt halten.

Die Zeit, in der die Verbindung von Paramaecium bursaria + Chlorella zustande kommt, war in meinen Zuchtversuchen ganz verschieden.

In einem Ansatz mit Chlorella ab Paramaecium bursaria kam in 24 Stunden volles Ergrünen aller Paramäcien des Zuchtröhrchens zustande. In anderen Ansätzen dauerte es wesentlich länger. Weiße Paramäcien, mit obigem und mit anderen Chlorellastämmen versetzt, hatten dasselbe Licht wie jene und kamen nach 30 Tagen nicht über einen grünlichen Farbenschimmer hinaus. Mikroskopisch fand sich hier nur geringe Beladung mit Chlorellen im Plasma: etwa 10—20 Chlorellen auf eine Paramäcienzelle. Die voll ergrünten Ciliaten halten ihrer wohl 200 und mehr. Beachtenswert ist, daß jene schwach beladenen Paramäcien bei Fütterung mit Hefe sich am Lichte nach und nach stärker beladen, so daß das 3. Folgeröhrchen deutlich grünliche, das 5. vollauf grüne Paramäcien führt. Alles bei gleicher Beleuchtung.

Verwendete Stämme von Chlorella vulgaris.

Ich habe verschiedene Stämme von Chlorella vulgaris mit Paramaecium bursaria zusammengebracht. Dieselben heißen:

1) Chlorella Frankfurt; in Reinzucht gewonnener Stamm aus Mainwasser.

2) Chlorella ab Paramaecium bursaria; gewonnen aus Paramäcien, die mit Chlorella Frankfurt beschickt waren und über viele Folgeröhrchen bei Hefefütterung als grüner Paramäcienstamm fortgezüchtet waren. Keine bakterienfreie Reinzucht.

3) Chlorella Genf; als Reinzucht von Chlorella vulgaris von Prof. Chodat in Genf bezogen.

4) Chlorella Baaren; als Reinzucht unter dem Namen Chlorella vulgaris von Frl. Dr. Westerdyk in Baaren bezogen. Entspricht wohl dem, was Chodat[1]) als Chlorella viscosa bezeichnet.

1) R. Chodat, Monographies algues en culture pure. Bern 1913, p. 105.

Stamm 1, 3 und 4 sind züchterisch und gestaltlich merkbar verschieden, wie folgende Aufstellung ausweist:

	Wachstum auf		
	Löfflerserum	Bierwürzeagar	Formbefund
Stamm 1 Chlorella Frankfurt	saftiger Belag, grasgrün	körniges, spärliches Wachstum	kleinzellig, Vierteilung
Stamm 3 Chorella Genf	körn. Kolon., trocken, dunkelgrün	spärliches, feinkörniges Wachstum	dgl.
Stamm 4 Chlorella Baaren	saftiger Belag, grasgrün	üppiger, gelbgrüner Belag	großzellig, Achtteilung

Bei der Behandlung von weißen Paramäcien mit Stamm 1, 2 und 3 konnten grüne Paramäcien erzielt werden. Nicht so mit Stamm 4, Chlorella Baaren. Dieser liefert keine grünen Paramäcien. Eine ganze Anzahl Röhrchen mit weißen Paramäcien wurden reichlich mit Chlorella Baaren versetzt und monatelang am Licht gehalten. Die Paramäcien blieben weiß.

Am leichtesten gelang die Einführung der Chlorellen mit Stamm 2: das ist die Chlorella Frankfurt nach Passage durch Paramaecium. Auch da ist zu sagen, daß diese Chlorellen, nachdem sie einige Wochen und Monate im Röhrchen ohne Paramäcien gezogen waren, gegenüber dem Ausgangsstamm von Chlorella Frankfurt keinen großen Unterschied mehr aufwiesen.

Die Einführung von Chlorella Genf gelang erst nach 4 Wochen dauernder Zuchtgemeinschaft. Dann aber wurden die Paramäcien stark beladen und erschienen grasgrün.

Alle diese so erhaltenen grünen Paramäcien wachsen bei Fütterung mit Saccharomyces exiguus am Lichte grün weiter. Im Dunkeln blassen sie ab. Das 6. Folgeröhrchen, aus der Dunkelzucht ans Licht gebracht, ergrünte in wenigen Tagen. Ich zweifle nicht, daß, um völliges Weißwerden zu erreichen, auch etwa 18 Uebertragungen nötig sind.

Paramaecium bursaria läßt sich also im Zuchtversuch mit verschiedenen Stämmen von Chlorella vulgaris beladen, so daß eine fortzüchtbare Dauerverbindung entsteht. Aber es gibt auch Chlorellastämme, die nicht aufgenommen werden.

Es ergibt sich nun die Aufgabe, zu prüfen, ob auch andere einzellige Algen von Paramaecium bursaria aufgenommen und dauernd behalten werden.

Ich untersuchte in diesem Sinne eine Scenedesmusart, ein Rhaphidium, bezogen aus Dr. Krals bakteriologischem Museum in Wien, und einen Stamm von Stichococcus bacillaris, bezogen von Frl. Dr. Westerdyk, Institut für Pilzkulturen in Baaren (Holland).

Paramaecium bursaria + Scenedesmus obliquus.

Beschickt man ein Zuchtröhrchen von weißen Paramaecium bursaria mit einer Oese Scenedesmus ab Löfflerserum, so ändert sich makroskopisch nichts an den Paramäcien. Sie bleiben weiß, auch nach wochenlanger Belichtung. Erst nach 4—6 Wochen zeigt sich ein grünlicher Schimmer bei einigen Paramäcien. Bei mikroskopischer Untersuchung aber findet sich, daß die Ciliaten mit Scenedesmus ausgiebig beladen sind. Und das nicht nur die ersten Röhrchen. Auch die mit Saccharomyces gefütterten Folgeröhrchen bringen Paramäcien, die immer noch 4—6 Scenedesmusalgen im Plasma führen (vgl. Tafel I, Fig. 2).

Also auch bei Scenedesmus kommt es zu einer Daueransiedelung im Paramaecium bursaria; aber nur in geringem Grade: nach 4 bis 6 Folgeröhrchen sind sie verschwunden.

Paramaecium bursaria + Rhaphidium gab keine Dauerbesiedelung.

Paramaecium bursaria + Stichococcus bacillaris.

Diese Alge wächst als grünes Stäbchen auf Knopagar. Auch zu Fäden verbundene Stäbchen kommen vor. Löflerserum wird mit grünem Belag überzogen; ebenso Bierwürzeagar. Hier nur Stäbchen, keine Fäden. Wird eine Zucht von weißen Paramaecium bursaria mit Stichococcus bacillaris beschickt und am Lichte gehalten, so nehmen die Paramäcien bald einen leicht grünlichen Schimmer an. Unter dem Mikroskop sieht man, daß sie mit Stichococcus beladen sind; und zwar nicht nur mit einzelnen Stäbchen, sondern von langen Fadenketten. Sowohl an lebenden wie an zerdrückten Paramäcien sind die Fäden deutlich zu erkennen. Die Paramäcienform, die anfangs unverändert ist, ändert sich bald. Die im Paramäcienleib wuchernden Stichococcusfäden dehnen und pressen die Hautdecke des Ciliaten. Es entstehen Zerrformen. Buckel und Buchten treten auf, in denen Fadenschlingen von Stichococcus gelagert sind. Vornehmlich leidet die Vermehrungsteilung der beladenen Paramäcien. Indem Schlingen und Fäden von Stichococcus von einem Ende der Zelle zum andern laufen, kann die Teilungsfurche die Zellmitte nicht durchschneiden. Es kommen verzogene Langformen zustande, die aus 2, 3 und 4 angesetzten, aber nicht durchgeführten Zellteilungen bestehen. Schon mit unbewaffnetem Auge sieht man diese Ungeheuer im Röhrchen herumschwimmen und an den Glaswandungen sitzen. Sie treten etwa 3 Wochen nach der Beschickung auf. Auch kommt es vielfach vor, daß die andrängenden Stichococcusfäden die Paramäcienhaut durchstechen und als pendelnde Fäden in die umgebende Flüssigkeit herausragen. Viele einzelne und zu Langformen vereinte Paramäcien schleppen solche Fäden nach. Daneben finden sich im gleichen Röhrchen schwach beladene und sogar freie Gutformen.

Die langen Zerrformen sind offenbar nicht mehr teilungsfähig. Sie zerfallen und hinterlassen einen Knäuel oder Büschel von Stichococcusfäden. Wo heute an der Röhrchenwand ein stark beladenes Paramäcienmonstrum saß, findet man am andern Tage einen solchen Büschel.

Die beladenen Gutformen sind teilungsfähig, und sie reinigen sich am Lichte bei Hefefütterung im 2.—6. Folgeröhrchen. Im Dunkeln erfolgt die Reinigung noch rascher.

Stichococcus bacillaris haftet also im Paramaecium bursaria viel weniger wie Chlorella vulgaris. Aber da er in Fäden wächst, wirkt er zerstörend.

Verhalten der grünen und weißen Paramäcien.

Das Verhalten der chlorellagrünen Paramäcien am Licht ist verschieden, je nachdem sie gefüttert werden oder nicht. Man hat die Frage aufgeworfen, ob denn die mit Chlorella beladenen Paramäcien überhaupt noch Nahrung aufnehmen. Da ist kein Zweifel möglich. Die grünen Paramäcien nehmen Nahrung auf, ganz wie die weißen. Sie verdauen sie und vermehren sich unter dem Reize der Nahrungsaufnahme. Ich finde keinen Unterschied in der Vermehrungszahl der gefütterten weißen und grünen Paramäcien. Bei Belichtung wie im Dunkeln ist sie bei beiden Arten bei 25° etwa $2^1/_2$ in 24 Stunden. Aus einem Paramaecium werden in 48 Stunden 5; einerlei, ob grün oder weiß, ob hell oder dunkel gehalten. Die Fütterung mit Chlorella gibt dieselbe Vermehrung, wie die Fütterung mit Saccharomyces. Es ist also offenbar, daß auch Chlorellen verdaut werden können. Nur was unverdaut im Paramäcienplasma zur Ansiedelung kommt, macht die dauernd grüne Farbe. Die Chlorellen in den Nahrungsvakuolen verschwinden nach 6 Stunden.

Bei Fütterung verhalten sich also grüne und weiße Paramäcien ganz gleich; sowohl am Licht wie im Dunkeln. Setzt man aber die Fütterung aus, so gehen weiße Paramäcien nach 3—4 Wochen ein. Im Dunkeln vielleicht ein wenig später wie am Licht. Auch die grünen Paramäcien gehen im Dunkeln in derselben Frist ein. Man findet da am Boden immer noch Hefezellen oder Chlorellazellen als Ueberreste der früheren Fütterung. Dieselben sind verklebt und ausgelaugt; offenbar zur Ernährung ungeeignet. Die ungefütterten grünen Paramäcien gehen am Licht nicht ein. Sie werden dunkler in der Grünfärbung. Sie sind größer, völliger als die weißen Paramäcien. Und sie bestehen ohne Fütterung. Ja, sie vermehren sich, wenn auch sehr langsam. Werden etwa 5 Paramäcien mit 5 ccm $^1/_{20}$—$^1/_1$ Knoplösung in ein Röhrchen eingesetzt und gut belichtet (Nordlicht, keine Sonnenbestrahlung), so dauert es 4—6 Wochen, bis ihre Zahl auf 25 gestiegen ist. Die Vermehrung ist also höchstens $^1/_{20}$ von dem, was man erlebt, wenn mit Hefe oder einem sonstigen Futtermittel gefüttert wird.

Röhrchen, die nicht ganz sauber gespült sind, geben eine merklich reichlichere Vermehrung. Denn alle diese Zuchten in Knoplösung halten auch nach vielen Uebertragungen immer noch Bakterien. Man kann nicht umhin, einen Teil der Vermehrung auf Rechnung von verzehrten

Bakterien zu setzen. Da aber die weißen Paramäcien am Bodensatz und im schwebenden Wasser ihrer Röhrchen auch Bakterien finden, damit aber nicht bestehen können, muß doch wohl von den Algen im Paramäcienleib unter dem Lichtreiz eine Nahrungsübertragung auf die Paramäcien stattfinden. Restlos könnte das nur eine bakterienfreie Zucht von grünen Paramäcien erweisen. Eine solche ist aber, wie gesagt, auch nach vielen Folgeröhrchen nicht zu erreichen. Die Hoffnung, die Jollos[1]) an die Berichte von Pringsheim[2]) anknüpft, sind nach meinen Prüfungen nicht verwirklichbar.

Die mit Chlorellen beladene Paramäcienzelle kann also bei Belichtung ohne andere Nahrungszufuhr bestehen, wo die weiße Paramäcienzelle dem Hungertode verfällt. Im Dunkel erleidet die grüne Paramäcienzelle dasselbe Schicksal.

Hier sei kurz darauf hingewiesen, daß die Erscheinungen des Hungerverfalles nichts mit der von Wallengreen[3]) beschriebenen vakuolären Entartung zu tun haben. Paramaecium bursaria, grün und weiß, werden bei Nahrungsmangel schmal, klein, träge, und verfallen, wenn ein gewisser Abzehrungsgrad erreicht ist, sturzartig der Auflösung durch Zerfließen. Die Verkleinerung des Zellkörpers ist bei ihnen lange nicht so ausgesprochen, wie bei hungernden Colpidien. Diese gehen bis auf $^1/_2$, ja $^1/_3$ der Vollgröße herab. Paramaecium bursaria hält eine solche Körperverminderung nicht aus. Colpidium campylum, das so viel von seinem eigenen Körper zehren kann, hält sich ohne Fütterung 50—60 Tage; also viel länger wie Paramaecium bursaria. Nach meinen Beobachtungen zeigen alle Ciliaten, die keine Cysten bilden, bei Nahrungsmangel dieselben Abzehrungserscheinungen: sie werden schmal, dünn, durchsichtig, klein, träge und zerfallen. Was Wallengreen als Hungerparamaecium abbildet: die vakuoläre Entartung des Plasmas, führe ich auf Vergiftung durch Bakterienwirkung, wahrscheinlich langsame Alkalibildung, zurück. Ich habe darüber kürzlich berichtet[4]). Es wäre zu wünschen, daß das Bild von dem vakuolisierten Hungerparamaecium Wallengreens, das in alle Lehrbücher übergegangen ist, künftig gestrichen wird.

Ueberwucherung der grünen Paramäcien.

Le Dantec berichtet, man könne am Lichte mit einem einzigen grünen Paramaecium bursaria ein ganzes Glas von weißen Paramäcien infizieren. Ich kann das bestätigen. Nur dauert es viele Wochen lang. Warum auch nicht? Kann man doch mit den Nachkommen eines grünen

1) Experimentelle Protistenstudien. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 43, 1921, S. 7 Anm.
2) Biolog. Centralbl., Bd. 35, 1915, S. 375.
3) Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. 1, 1902, S. 67.
4) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 86, 1921, S. 494.

Paramaecium ein ganzes Glas füllen. Ich vermute, daß nicht viel anderes vorgeht, wenn man einem Glas mit 500 weißen Paramäcien ein grünes beisetzt. Wenn die Nahrung knapp wird, überwiegen die grünen in der Vermehrung; die weißen sterben aus. Nach 20—40 Tagen ist alles grün. Es handelt sich also zunächst um eine Ueberwucherung. Nur nebenbei findet auch ein Uebergang von Chlorellen aus den grünen Paramäcien in die weißen statt. Es treten aus den Paramäcien immer Chlorellen aus. Man kann das unter dem Mikroskop leicht beobachten. besonders unter dem Druck des Deckglases. Es gehen aber auch grüne Paramäcien zugrunde; sei es daß sie durch den Druck der wachsenden Chlorellen gesprengt werden, sei es daß sie am Flüssigkeitsrande aufs Trockne geraten, oder sonstwie umkommen. Man findet in alten Röhrchen am Flüssigkeitsrande immer einen Saum von Chlorellen mit stellenweisen Häufungen; offenbar aus verunglückten Paramäcien stammend. Desgleichen sammeln sich Chlorellen am Boden an und färben den Bodensatz grünlich. Jede Zucht grüner Paramäcien hält somit auch freie Chlorellen und bietet den weißen Insassen Gelegenheit, sich damit zu beladen. Tatsächlich aber findet man in den grün und weiß gemischten Röhrchen wenig Zwischenformen. Nicht so sehr die Infektion als vielmehr die Ueberwucherung bringt die grünen Paramäcien zum Ueberwiegen.

Die Dauerparamäcien.

Wenn grüne Paramäcien am Lichte eine langsame Vermehrung zeigen, im Dunkeln hingegen abzehren und verfallen, so ist klar, daß es eine mittlere Beleuchtung geben muß, bei der das Zuchtglas dauernd dieselbe Zahl von Insassen beibehält. Ein Zustand, in dem die Vermehrung stillsteht, aber auch dem Verfall vorgebeugt ist, so daß das Paramaecium nur noch Bewegungszelle, nicht mehr Wachstums- und Vermehrungszelle ist. Auch die Chlorellen haben keine Gelegenheit weiter zu wachsen. Was sie an Stärke und Aminostoffen bilden, geht an die Paramäcien über und wird zur Unterhaltung der Wimperbewegung verbraucht. Sorgt man dafür, daß die Wasserverdunstung ausgeschlossen ist, so sollte ein solches Zuchtglas unabsehbare Zeit bei gleicher Zellzahl besetzt bleiben.

Ich habe weder diese mittlere Beleuchtung ausgeprobt, noch habe ich die Grünparamäcien in den Gläsern nachgezählt. Trotzdem kann ich sagen, daß die grünen Paramäcien am Licht monatelang in anscheinend gleicher Zahl umherschwimmen. Jedenfalls bilden sie keine festen Giftstoffe, die sich im Zuchtglas anhäufen. Auch schädliche Gase sondern sie nicht ab, denn zugeschmolzene Röhrchen halten sich gleichfalls monatelang.

Ich sehe keinen Grund, warum sie nicht jahrelang halten sollen.

Man hat von einer potenziellen Unsterblichkeit der Fortpflanzungszellen der großen Tiere und Pflanzen gesprochen, und hat den Einzellern Aehnliches nachgesagt. Hier haben wir einen experimentellen Ansatz, der ebenfalls eine endlose Fortsetzung der Cilienbewegung errechnen läßt. Man könnte das eine potenzielle Unermüdlichkeit nennen: Wortfassungen, auf die wohl kein großer Wert zu legen ist. Immerhin scheint mir die experimentelle Beherrschung einer sonst flüchtigen und hinfälligen Zellzustandes beachtenswert.

Die Paramäcienzelle, welche keine Cysten, keine Dauerform bildet, macht sonst nicht Halt in ihrem Wachstumsumlauf. Auf die Teilung folgt das Wachstum und dem folgt alsbald die neue Teilung. Wir haben kein Mittel, diesen Umlauf im Bereich der Kern- und Zellteilung stillzustellen oder gar rückläufig zu machen. Diese Vorgänge vollziehen sich, mit Verworn zu reden, nach dem „Alles oder Nichtsgesetz“. Sie sind irgendwie hoch vorbereitet und verlaufen, einmal ausgelöst, in unaufhaltsamer Geläufigkeit, wie eine abstürzende Lawine, oder wie ein abbrennendes Feuerwerk. Anders die Vorgänge zwischen zwei Zellteilungen. Hier kann durch abgestufte Nahrungszufuhr das Wachstum angetrieben, aufgehalten, ja sogar durch Unterernährung rückgängig gemacht werden. Die einzelligen Paramäcien können wie ein großes Versuchstier auf Stoffwechselgleichgewicht eingestellt werden, so daß sie nicht wachsen, nicht abzehren und nur ihre Cilienbewegung ausführen, sonst aber stillestehen. Sache feinerer Messung müßte es sein, die energetische Gleichung der zugeführten Lichtstrahlen und der geleisteten Bewegungsarbeit festzustellen.

Einen anderen Weg, um Dauerparamäcien zu erzielen, hat Crampton[1]) eingeschlagen. Er schließt Paramaecium caudatum in eine enge Glasröhre ein. Die Einzelzelle dauert bis 3 Wochen aus. Er berechnet die hohe Zahl von Nachkommen, die ein gut gefüttertes Paramaecium in der gleichen Zeit hervorbringen könnte.

Andere Ciliaten mit Einzellalgen behandelt.

Es lag nahe zu sehen, wie sich andere Ciliaten verhalten, wenn ihnen Chlorellen und sonstige Einzellalgen zugeführt werden. Ich prüfte Paramaecium caudatum, Tillina magna, Colpoda cucullus, Colpoda Steini, Stylonichia pustulata. Alle diese nehmen Chlorella auf. Paramaecium caudatum allerdings nur spärlich, kleinste Körner. Die Chlorellen liegen in den Nahrungsvakuolen und werden verdaut, was an bräunlicher Verfärbung und scholligem Zerfall der Grünkörper kenntlich ist. Die Ciliaten sehen bei dieser Haltung grünlich aus. Aber die Grünfärbung und der Chlorellengehalt verliert sich alsbald, wenn Saccharomyces gefüttert wird. Im Folgeröhrchen finden sich

1) Arch. f. Protistenkunde, Bd. 27, 1912, S. 9.

dann nur weiße Ciliaten. Eine Ansiedelung, ein Fortwachsen im Körper des Wirtes findet nicht statt. Auch mit den anderen Einzellalgen wie Scenedesmus, Rhaphidium, Stichococcus wurde nicht mehr erreicht.

Schlußbemerkungen.

Paramaecium bursaria + Chlorella vulgaris bilden einen Zellverband, der künstlich geschlossen und gelöst werden kann. Man nennt die hier vorliegende Zellverbindung gewöhnlich eine Symbiose und unterscheidet sie von der Infektion. Bei der Infektion dringt ein Zellstamm in den Bezirk eines anderen Zellstammes ein, führt zu gegenseitiger Störung und Zersetzung und er endet mit der Ausstoßung oder Vernichtung des einen Zellstammes, während der andere obsiegt und überwuchert. Die Zellverbindung bei der Infektion ist keine dauernde, zur Ruhe kommende Verbindung, sondern ein Kampf, der zur Trennung und Reinigung der Zellstämme; oder zur Reinigung des einen und zur Vernichtung des anderen Stammes führt. Im Gegensatz zu dieser vorübergehenden und unruhigen Vermischung zweier Zellstämme zeigt die Symbiose einen engen räumlichen Zusammenschluß von Zellen verschiedener Stammabkunft, der, einmal vollzogen, lange, gewissermaßen unabsehbar lange fortbesteht. Statt der vorübergehenden Unruhe, die wir bei der Infektion sehen, zeigt das Symbioseverhältnis Ruhe und Stetigkeit. Statt Kampf und schließlicher Trennung besteht dauernder Zusammenschluß und etwas wie gegenseitige Anziehung.

Es gibt Symbiosen, die, soweit unser derzeitiges Wissen reicht, stets ungetrennt verlaufen. Keiner von den vereinten Zellstämmen ist rein und sauber, geschieden von dem anderen bekannt. So besonders die Symbiosen von Insekten mit ihren im Fettkörper wachsenden Bakterien und Hefen. Deren Reinigung und gesonderte Zucht ist bisher nicht gelungen. Alle Stücke einer Insektenart sind gleichmäßig befallen. Die Eier übertragen die Symbionteninsassen auf die Nachkommenschaft.

Im Gegensatz zu diesen unzerlegten Symbiosen zeigt uns die Zellverbindung Paramaecium bursaria + Chlorella vulgaris eine Verbindung, die künstlich gelöst und zusammengegeben werden kann. Sie kann geschlossen und rückgängig gemacht werden. Der Verbindungsvorgang ist umkehrbar, wie eine chemische Verbindung, die getrennt und geschlossen werden kann. Wie zwei Rechenposten können die Zellen hin und her geschoben werden.

Das ermöglicht einen zahlenmäßigen Ausdruck der Verbindungsinnigkeit.

Buchner sagt, die Verbindung der Chlorellen mit Paramaecium bursaria sei eine innige. Das Maß der Festigkeit und Innigkeit ist die aufgewendete Mühe, welche es kostet, die Verbindung zu trennen. 17 Uebertragungen im Dunkeln müssen gemacht werden, bis die Verbindung gelöst ist. Bei Scenedesmus + Paramaecium bursaria genügen

3—4 Uebertragungen am Licht. Letztere Verbindung ist locker; erstere ist fest. Die meisten, vielleicht alle Tierformen, Einzeller wie Vielzellige, die Grünalgen als Symbionten führen, kommen auch hie und da in der weißen Form ohne Algeneinschluß vor. Offenbar findet auch in der Natur ein Austausch und Umschlag von einer Form zur anderen statt. Unser Fall von Paramaecieum bietet Gelegenheit zu verfolgen, wie dieser Austausch und Umschlag vor sich geht.

Welche Umstände die Ansiedelung der fremden Algenzellen in den Leibeshälften von Tieren ermöglichen, ist auch bei Paramaecium bursaria nicht recht zu sagen. Buchner schreibt[1]): „Hier liegen eine Anzahl interessanter Probleme vor, zu deren Lösung es aber eines viel intensiveren Studiums der Algensymbiose bedarf, als bisher getrieben wurde."

Offenbar besteht bei den besiedelbaren Paramäcien eine Ver dauungsschwäche, welche andere Ciliaten nicht haben. Aufgenommene Algen und Bakterien werden sonst in Ballen zusammengehalten und durch ausgeschiedene Säfte verdaut. Bei Paramaecium bursaria entgehen die Algen der zusammenfassenden Vakuole, sie dringen ins Plasma ein und wachsen hier auf Kosten der vorhandenen Säfte. Meine Versuche zeigen, daß nicht nur Chlorella vulgaris, sondern auch andere Algen im Paramäciensaft züchtbar sind. Und Chlorella Baaren, welche nicht im Paramäcienleibe wuchert, gibt vielleicht einen Hinweis, daß es die Ausdehnungsmöglichkeit ist, die jenen das Fortkommen gewährt, dieser aber verleidet. Chlorella vulgaris Genf und die Frankfurter Chlorella teilen sich 4-fach in der Zellhaut. Chlorella Baaren aber bildet einen Ballen von 8 Zellen in der Haut der Mutterzelle. Man kann vermuten, daß im Paramäcienleib dieser Ballen zu stark gedrückt wird und darum nicht zum Vermehrungswachstum kommt.

Ich zweifle nicht, daß Paramaecium bursaria auch mit Bakterien, Hefen und Spirillen besiedelbar sein mag. Nur ist der Nachweis bei ungefärbten Eindringlingen schwer zu erbringen.

Die mitgeteilten Vorkommnisse zeigen, wie nahe Parasitismus, Symbyose und Infektion nebeneinander liegen. Werden die grünen Paramäcien gefüttert, so wachsen die eingelagerten Chlorellen offenbar als Schmarotzer auf Kosten der Paramäciensäfte. Am Lichte, ohne sonstige Fütterung kehrt sich das Verhältnis um: jetzt zehren und wachsen die Paramäcien auf Kosten der durch Lichtverwertung aufgebauten Nährstoffe der Chlorellen. In der Mitte liegt das ideale Symbiosenverhältnis, wo eines vom anderen zehrt.

Die Lang- und Zerrformen von Paramäcium, welche durch Stichococcus bewirkt werden, sind kranke, infizierte Formen. Die mäßig befallene Gutform kann man eine Symbiose nennen.

---

1) S. 101 a. a. O.

Dank ihrer Grünfärbung sind eingedrungene Algen leicht erkennbar Es gibt aber zweifellos bei Ein- und Mehrzellern mitwuchernde Zellinsassen, die derzeit weder beschreibend noch züchtend erfaßt werden können. Die Zerrformen von Paramaecium bursaria + Stichococcus erinnern sehr an die verwachsenen und verkrüppelten Paramaecium caudatum, welche von R. Stocking[1]) beschrieben wurden. Sie zeichnet

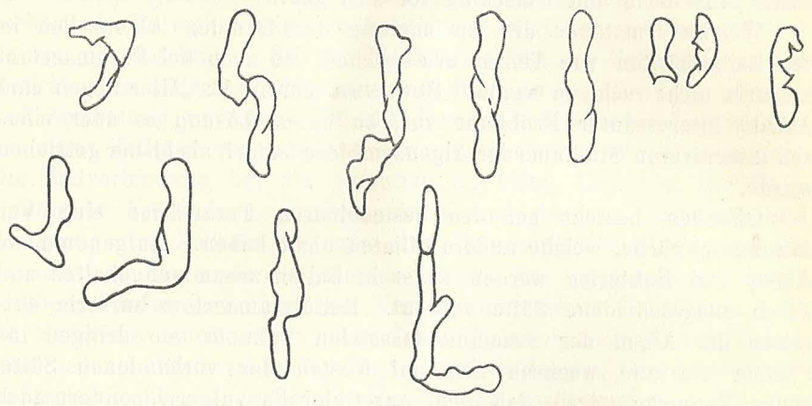


Fig. 1.

(S. 405) beistehende Formen (s. Fig. 1). Die schwer verunstalteten Formen führten zum Absterben. Leichter verunstaltete Paramäcien gaben mäßig verzerrte Abkömmlinge, daneben auch Gutformen, von denen normal gestaltete und regelmäßig weiter züchtbare Paramäcien erhalten wurden (S. 415, Tafel). Diese Form liefert schließlich regelrecht züchtbare Gutformen (s. Fig. 2). Die Zerrform pflanzte sich erblich fort. Eine Untersuchung auf fadenförmig wachsende, farblose Insassen wurde nicht gemacht. Ich vermute, daß sie die abnorme Form erklärt hätte.

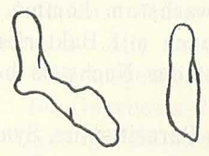


Fig. 2.

Manches, was als fremdartig und vererbbar bei Zellen auftritt, kann von mitwachsenden Zellinsassen verursacht sein. Buchner warnt vor Ausartungen des Symbiosegedankens. Er berichtet über Portiers[2]) Auslassungen und lehnt dessen schlecht geprüften Aufstellungen ab.

Andererseits möge man die große Anregung nicht mißachten, die aus der Erkenntnis entspringt, daß es Zellgebilde gibt, die sich dauernd fortzüchten lassen, die sich aber doch als zerlegbar und als zusammengesetzte Zellverbindung erwiesen haben.

1) Ruth Stocking, Variation and inheritance in abnormities occuring after conjugation in Paramaecium caudatum. Journ. of experiment. Zoology, Vol. 19, 1915, p. 387.

2) Portier, P., Les Symbiotes. Paris (Mosse) 1918.

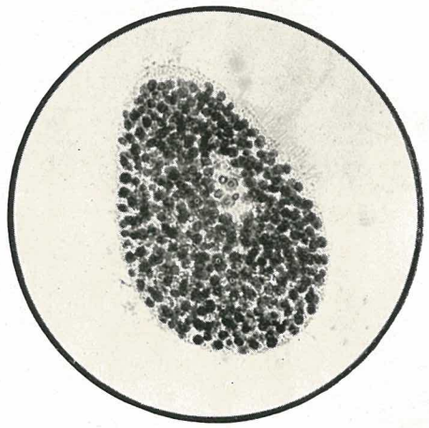


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

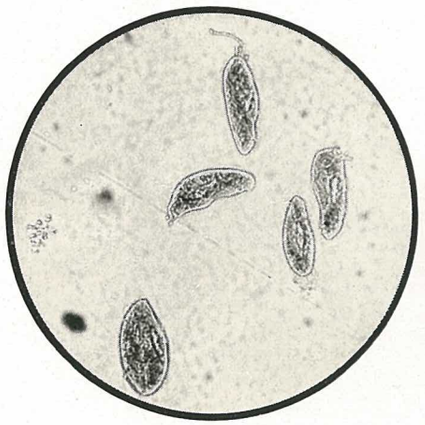


Fig. 4.

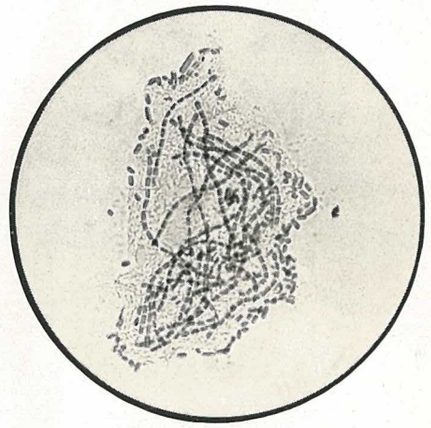


Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Hiernach ist es erlaubt, jede Zelle als einen Verband kleiner, zellähnlicher Einzelstellen zu betrachten; ein Verband, den zu lösen und umzusetzen die Arbeit der experimentellen Biologie ist.

Fräulein Dr. WESTERDYK, Leiterin des Institutes für Pilzkulturen in Baaren (Holland), und Herrn Prof. Dr. CHODAT in Genf sage ich besten Dank für die freundlichst überlassenen Algenzuchten.

Erklärung der Abbildungen [1]).

Tafel I.

Fig. 1. Paramaecium bursaria mit Chlorella vulgaris am Licht gehalten.
Fig. 2. Paramaecium bursaria + Scenedesmus obliquus.
Fig. 3. Paramaecium bursaria + Chlorella vulgaris 8 Tage im Dunkeln gehalten.

Tafel II.

Fig. 4. Paramaecium bursaria + Stichococcus bacillaris. Gutform, stellenweise von der Alge durchwachsen. Vergr. 80.
Fig. 5. Paramaecium bursaria + Stichococcus bacillaris zerdrückt. Man sieht die Algenfäden. Vergr. 500.
Fig. 6. Paramaecium bursaria + Stichococcus bacillaris. Algenfäden im Paramäcienleib; hinten die Leibeswand durchdringend. Vergr. 500.
Fig. 7. Verzerrte Form von Paramaecium bursaria + Stichococcus. Einschnürung in der Mitte: unausgeführte Teilung. Vergr. 600.
Fig. 8. Verzerrte Mißform von Paramaecium bursaria + Stichococcus Vergr. 500.

1) Nach photographischen Aufnahmen von Herrn MAAS, wissenschaftlicher Photograph des Georg Speyer-Haus.

Studien über den Einfluß der Technik und anderer äußerer Faktoren auf die Titerhöhe hämolytischer Ambozeptoren

Von

H. Dold und **G. Klinkhart**

Mit 4 Kurven im Text

Aus der Experimentell-biologischen Abteilung (Prof. Dr. H. Dold)
des Staatsinstituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. W. Kolle).

Bei der zu Beginn dieses Jahres eingeführten staatlichen Prüfung der für die Wassermannsche Reaktion gebrauchten hämolytischen Ambozeptoren wurde gelegentlich die Beobachtung gemacht, daß die an verschiedenen Untersuchungsstellen gewonnenen Titerwerte bei dem gleichen hämolytischen Ambozeptor beträchtlich auseinandergingen. Mit einer gewissen Verschiedenheit der Ergebnisse muß ja wohl immer gerechnet werden, in Anbetracht des Umstandes, daß zwei wichtige Faktoren, Komplement und Blutkörperchenaufschwemmung, naturgemäß an verschiedenen Untersuchungsstellen und an verschiedenen Tagen variieren. Die komplettierende Fähigkeit des Komplements ist bekanntlich eine von Tier zu Tier und auch sonst außerordentlich schwankende Größe. Auch die vorgeschriebene 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung ist nicht als ein überall gleicher Faktor zu betrachten. Während heutzutage wohl an den meisten Untersuchungsstellen die 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung so hergestellt wird, daß von den 3mal gewaschenen und auszentrifugierten Blutkörperchen 5 Volumenteile mit 95 Volumenteilen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt werden, wird an manchen Untersuchungsstellen nach dem Zentrifugieren bei den Hammelblutkörperchen der Serumdefekt durch physiologische Kochsalzlösung ergänzt, mit anderen Worten, es wird erst das ursprüngliche Blutvolumen wiederhergestellt und davon ausgehend die 5-proz. Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht. Es ist klar, daß im ersteren Falle eine konzentriertere Blutkörperchenaufschwemmung resultieren wird, als in letzterem Falle. Dazu kommt, daß die Konzentration der Blutkörperchenaufschwemmung auch noch von der Dauer und Stärke des Zentrifugierens abhängig ist; denn je länger und stärker zentrifugiert wird, um so kompakter und dichter wird die ausgeschleuderte Blutkörperchenmasse sein. Schließlich kommt auch noch die primäre Labilität der Blutkörperchen in Betracht, die von Tier zu Tier und von Fall zu Fall etwas verschieden sein wird.

Immerhin dürften die durch solcherlei Faktoren bedingten, kaum vermeidlichen Schwankungen der Titerhöhe innerhalb gewisser mäßiger

Grenzen liegen. Die eingangs erwähnten Unterschiede in den an verschiedenen Untersuchungsstellen gewonnenen Ergebnissen gingen jedoch weit über dieses gewöhnliche Maß hinaus. Wir sahen uns darum veranlaßt, nach weiteren Gründen zur Erklärung solcher Differenzen zu suchen. Dabei hatten wir in erster Linie die verschiedenen äußeren Einflüsse, denen die Reagentien ausgesetzt sind, sowie die etwaigen Einflüsse der von Ort zu Ort wechselnden Technik im Auge.

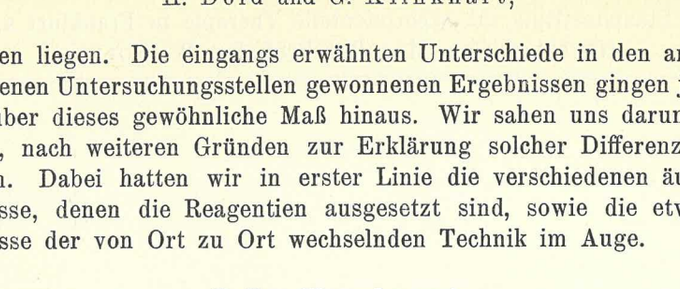
I. Das Komplement.

Alter des Komplements.

Wir stellen uns zunächst die Frage, welchen Einfluß das Alter des Komplements, d. h. die nach der Gewinnung bis zum Augenblick des Gebrauchs verstrichene Zeit auf die Titerhöhe beim gleichen Amboceptor auszuüben vermöchte. Selbstverständlich stammte das Komplement immer von gesunden normalen Tieren von mittlerem Körpergewicht (250 bis ca. 400 g). Es wurde das gleiche Mischserum ganz frisch (d. h. $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde nach der Entblutung) bzw. 1, 2, 3, 4, 6, 24 und 48 Stunden später auf seine komplettierende Fähigkeit untersucht.

Im folgenden geben wir einige Beispiele solcher Versuche wieder.

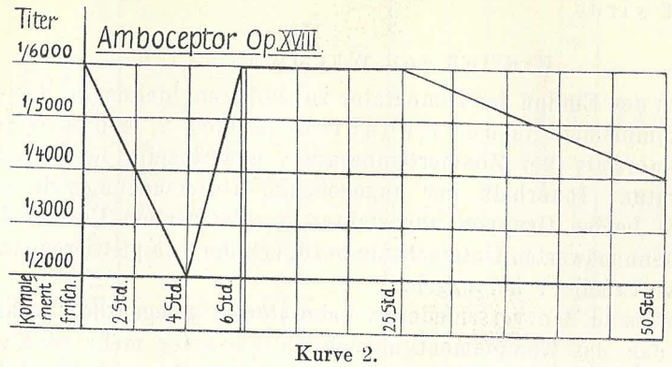
Wie aus den Kurven 1—4 ersichtlich, zeigte das in verschiedenen Zeitabschnitten nach der Gewinnung untersuchte Komplement keineswegs gleichmäßige Wirkungen, vielmehr kamen, besonders in den ersten 6 Stunden, beträchtliche Schwankungen zur Beobachtung. Am häufig-



Kurve 1. Komplementschwankung. Komplement vom 15. Dez. 1920.

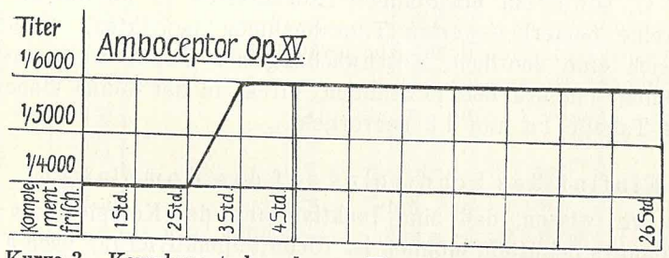
sten beobachteten wir, wie dies beispielsweise in den Kurven 1 und 2 zum Ausdruck kommt, daß die bei den ganz frischen Meerschweinchenseren meist in starkem Maße vorhandene Komplementwirkung innerhalb der nächsten 4 Stunden stark absank, um danach wieder zu ihrer früheren Höhe emporzusteigen. Von da ab zeigten die Seren innerhalb der nächsten 24—48 Stunden teils ein Gleichbleiben, teils ein allmähliches Absinken der Komplementwirkung. Jedoch beobachteten wir auch, allerdings seltener, daß die Meerschweinchenseren in ganz

frischem Zustande noch nicht das Maximum der Komplementwirkung besaßen, sondern daß der Titer sich innerhalb der nächsten 3 Stunden



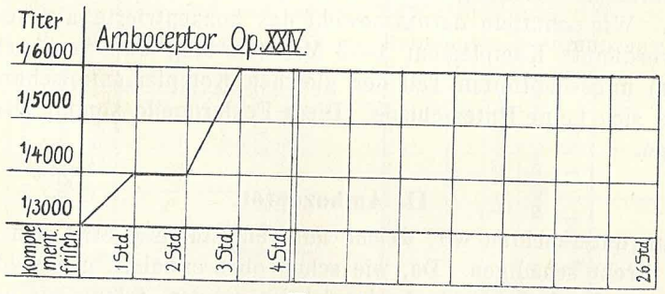
Kurve 2.

zum Maximum hob, um dann wieder für längere Zeit teils unverändert zu bleiben, teils langsam wieder abzusinken. Kurven 3 und 4 zeigen



Kurve 3. Komplementschwankung. Komplement vom 7. Juni 1921.

diese seltener zur Beobachtung kommende Erscheinung der allmählichen Entwicklung der Komplementwirkung zur vollen Höhe.



Kurve 4.

Aus unseren Beobachtungen geht jedenfalls deutlich hervor, daß die komplettierende Kraft des Meerschweinchenserums innerhalb der ersten 6 Stunden außerordentlich großen

Schwankungen unterliegt, gleichgültig, ob mit verschiedenen oder mit dem gleichen Ambozeptor gearbeitet wird.

Einfluß von Wärme und Licht.

Um den Einfluß der Temperatur zu studieren, hielten wir das gleiche Mischkomplement in unverdünntem Zustand 2, 4 bzw. 6 Stunden lang einerseits bei Zimmertemperatur, andererseits bei Eisschranktemperatur. Innerhalb der angegebenen Untersuchungszeit ergaben die mit beiden Gruppen angestellten vergleichenden Untersuchungen keine nennenswerten Unterschiede bezüglich der komplettierenden Kraft, wie aus Tabelle 1 hervorgeht.

Da es in den verschiedenen Laboratorien gelegentlich vorkommen kann, daß das Komplement unbeabsichtigterweise mehr oder weniger lang höheren Temperaturen eventuell auch dem Sonnenlicht direkt ausgesetzt wird, prüften wir auch den Einfluß dieser Faktoren. Es ergab sich, daß eine einstündige Erwärmung des unverdünnten Komplements auf 37° C, sowie ein einstündiges Stehenlassen in der Sonne (Mitte Juni) keine bemerkenswerten Titerabnahmen bewirkten. Wohl aber zeigte sich eine deutliche Abschwächung des Titers, wenn man das Komplement längere Zeit (4 Stunden) direkt in der Sonne stehen ließ, wie aus Tabelle 1a und 1b hervorgeht.

Einfluß des Schüttelns auf das Komplement.

Da wir wissen, daß eine Inaktivierung des Komplements durch stundenlanges Schütteln möglich ist (Schüttelinaktivierung nach Jacoby und Schütze), so lag der Gedanke nahe, daß vielleicht auch schon ganz geringfügiges Schütteln bzw. Umschwenken des unverdünnten Serums, wie es etwa durch spielerisches Hantieren geschehen könnte, eine merkliche Wirkung auf die komplettierende Funktion ausüben könnte. Wir schütteln darum sowohl das konzentrierte als auch das 1 : 10 verdünnte Komplement 1—3 Minuten lang und vergleichen es mit dem ungeschüttelten Teil der gleichen Komplementmischung. Es ergaben sich keine Unterschiede. Diese Fehlerquelle kommt also nicht in Frage.

II. Ambozeptor.

Nun untersuchten wir, welche äußeren Einflüsse etwa den Ambozeptor direkt schädigen. Da, wie schon oben erwähnt, gewisse Serumfunktionen durch Schütteln beeinträchtigt werden, faßten wir auch die Möglichkeit ins Auge, daß die Erschütterungen, welche der Ambozeptor beim Versand während der Eisenbahnfahrt erleidet, einen schädigenden Einfluß auf den Ambozeptor ausüben könnten. Um diese Frage experimentell zu beantworten, brachten wir von den gleichen Ambozeptoren

Tabelle 1a.

0,5 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung
0,5 ccm $^1/_{10}$ Meerschweinchenserum

Röhrchen	Absteigende Menge Ambozeptor Op. XXIV	Das unverdünnte Komplement 1 Stunde												Ambozeptor Titer
		im Eisschrank			im Zimmer			in der Sonne			im Brutschrank			
		abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			
		½ Std.	1 Std.	2 Std.	½ Std.	1 Std.	2 Std.	½ Std.	1 Std.	2 Std.	½ Std.	1 Std.	2 Std.	
1	1/1500 1,5 ccm													1/500
2	1,0 „													1/750
3	0,75 „													1/1000
4	0,5 „													1/1500
5	1/6000 1,5 „													1/2000
6	1,0 „													1/3000
7	0,75 „													1/4000
8	0,5 „													1/6000
9	0 „													

Tabelle 1b.

0,5 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung
0,5 ccm $^1/_{10}$ Meerschweinchenserum

Röhrchen	Absteigende Menge Ambozeptor Op. XXIV	Das unverdünnte Komplement 4 Stunden												Ambozeptor Titer
		im Eisschrank			im Zimmer			in der Sonne			im Brutschrank			
		abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			
		½ Std.	1 Std.	2 Std.	½ Std.	1 Std.	2 Std.	½ Std.	1 Std.	2 Std.	½ Std.	1 Std.	2 Std.	
1	1/1500 1,5 ccm													1/500
2	1,0 „													1/750
3	0,75 „													1/1000
4	0,5 „													1/1500
5	1/6000 1,5 „													1/2000
6	1,0 „													1/3000
7	0,75 „													1/4000
8	0,5 „													1/6000
9	0 „													

je einen bestimmten Teil in Fläschchen und schüttelten sie im Schüttelapparat eine halbe, 1 Stunde und 10 Stunden. Nach Ablauf dieser Zeit wurden Proben von den geschüttelten Ambozeptoren entnommen und jeweils der Titer dieser geschüttelten Ambozeptoren im Vergleich zu den ungeschüttelten Portionen der gleichen Ambozeptor-Operationsnummer festgestellt. Es zeigten sich keine nennenswerten Unterschiede, so daß wir auf eine Wiedergabe der Versuche verzichten können. Das Ergebnis dieser Untersuchungen würde also dahin deuten, daß die Erschütterungen, welche die unverdünnten Ambozeptoren während des Transports auszuhalten haben, die hämolytische Funktion kaum beeinträchtigt, was ja mit den Erfahrungen der Praxis im Einklang steht.

Einfluß der Glasart.

Demnächst war es unsere Aufgabe, den etwaigen Einfluß der Glassorte auf den Ambozeptor zu untersuchen. Bekanntlich werden bei den gewöhnlichen Glassorten, die nicht, wie das Jenaer Glas, besonders gearbeitet sind, im Laufe der Zeit Spuren von Alkali abgegeben, welche störend auf gewisse Serumfunktionen einwirken könnten. Wir verteilten Ambozeptoren der gleichen Operationsnummer einerseits in Röhrchen von Jenaer Glas und andererseits in Röhrchen von gewöhnlichem Glas. Die nach 5 bzw. 9 Wochen vorgenommenen vergleichenden Prüfungen ergaben jedoch keinen durchgehenden Unterschied zugunsten der einen oder der anderen Glassorte.

Einfluß der Sauberkeit der Gefäße.

Auch die Frage, ob etwa die Sauberkeit der Gefäße, in denen gearbeitet wird, auf die Titerhöhe einen Einfluß ausüben würde, haben wir uns gestellt und zu beantworten gesucht, indem wir, jeweils mit den gleichen Reagentien (gleicher Ambozeptor, gleiche Komplementmischung) arbeitend, die Titerprüfung einerseits mit ganz sauberen Gefäßen, andererseits mit absichtlich ungenügend gereinigten Utensilien vornahmen. Es ergab sich jedoch auch hier kein deutlicher Unterschied in den Versuchsergebnissen. Dazu möchten wir bemerken, daß es uns von wesentlicher Bedeutung zu sein scheint, welcher Art der den Gefäßen anhaftende Schmutz ist. Wir möchten vermuten, daß z. B. angetrocknetes Serum und dergleichen den Titer unter Umständen wesentlich beeinflussen könnte, obwohl wir diese Vermutung nicht durch besondere Versuche stützen können. Wenn wir darum bei unserer Versuchsanordnung auch keinen ungünstigen Einfluß ungenügend gereinigter Utensilien auf die Titerhöhe beobachten konnten, so möchten wir damit selbverständlich nicht etwa die Forderung nach sauber gereinigten Materialien abschwächen.

Einfluß der Reaktion (Azidität, Alkalität) der zur Verwendung kommenden physiologischen Kochsalzlösung.

Wir wissen, daß viele serologischen Phänomene durch geringfügige Aenderungen der Reaktion nach der alkalischen oder sauren Seite hin stark beeinflußt werden. Es lag darum nahe, auch den Einfluß der Reaktion der zur Verdünnung des Ambozeptors benutzten physiologischen Kochsalzlösung noch einmal besonders experimentell zu prüfen, zumal da geringfügige Unterschiede in der Reaktion der physiologischen Kochsalzlösung praktisch wohl gar nicht so selten vorkommen dürften. Wir gingen dabei in der Weise vor, daß wir uns physiologische Kochsalzlösungen herstellten, welche a) einen steigenden Gehalt von Alkali, nämlich $n/_{1000}$ NaOH; $n/_{750}$ NaOH; $n/_{500}$ NaOH; $n/_{250}$ NaOH; $n/_{100}$ NaOH und b) einen steigenden Gehalt von Säure, nämlich $n/_{1000}$ HCl; $n/_{750}$ HCl; $n/_{500}$ HCl; $n/_{250}$ HCl; $n/_{100}$ HCl aufwiesen. Mit diesen verschieden alkalischen bzw. verschieden sauren physiologischen Kochsalzlösungen wurden dann unter Verwendung des gleichen Ambozeptors und der gleichen Komplementmischung im Vergleich mit neutraler physiologischer Kochsalzlösung Titerprüfungen vorgenommen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2a und 2b wiedergegeben (p. 30).

Es zeigte sich deutlich der schädigende Einfluß geringer Mengen Alkali bzw. Säure auf die Hämolyse. Und zwar erwies sich der Einfluß geringer Säuremengen stärker als der entsprechender Alkalimengen. Zu der Tabelle ist zu bemerken, daß die bei stärkeren Säuremengen beobachtete Hämolyse nicht etwa die normale Ambozeptor-Komplement-Hämolyse, sondern eine direkte Säurehämolyse, kenntlich an der gelbgrünlichen Verfärbung, darstellt.

Einfluß der Verdünnungstechnik.

Es bedarf keiner weiteren Begründung, daß die Genauigkeit des Pipettierens bei der Herstellung der Ambozeptorverdünnungen einen großen Einfluß auf die Resultate ausübt, wobei nicht bloß die Genauigkeit des Arbeitenden, sondern auch die Richtigkeit und Genauigkeit des Werkzeuges (der Pipetten) zu beachten ist. Da diese Art serologischer Arbeiten in der Regel nicht mit Präzisionspipetten, sondern mit gewöhnlichen Pipetten verschiedener Fabrikationsherkunft ausgeführt werden, so ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß mitunter Pipetten gebraucht werden, welche nicht absolut richtig geeicht sind. Davon abgesehen, hat auch die Art, wie mit den Pipetten gearbeitet[1])

1) Wer beispielsweise zwecks Entnahme von 0,1 ccm konzentrierten Ambozeptor mit der Pipette tief in die Ambozeptorflüssigkeit eintaucht, und nach Abmessen der 0,1 ccm und Entleerung des Restes mit dieser Pipette etwa noch in die Verdünnung eintaucht, wird außen anhaftende Ambozeptorflüssigkeit übertragen und so fälschlicherweise einen höheren Titerwert bekommen.

Tabelle 2a.

0,5 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung
0,5 ccm $^1/_{10}$ Meerschweinchenserum

Röhrchen	Absteigende Mengen Ambozeptor Op. XXV	Die Ambozeptorverdünnungen wurden hergestellt mit 0,85-proz. NaCl															Ambozeptor Titer
		neutral			mit Säuregehalt												
					$n/_{100}$ HCl			$n/_{250}$ HCl			$n/_{500}$ HCl			$n/_{1000}$ HCl			
		abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			
		$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	
1	$^1/_{1500}$ 1,5 ccm	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++(+)	—	—	—	—	—	$^1/_{500}$
2	1,0 „	—	—	—	—	—	—	++	++	++	+++	—	—	—	—	—	$^1/_{750}$
3	0,75 „	—	—	—	—	—	—	++	++	++	+++(+)	±	—	±	—	—	$^1/_{1000}$
4	0,5 „	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++++	++	—	++	—	—	$^1/_{1500}$
5	$^1/_{6000}$ 1,5 „	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++++	++	—	++	—	—	$^1/_{2000}$
6	1,0 „	++	—	—	—	—	—	++	++	++	++++	+++	±	++(+)	±	—	$^1/_{3000}$
7	0,75 „	+++	±	—	—	—	—	++	++	++	++++	+++	+	+++	±	—	$^1/_{4000}$
8	0,5 „	+++	+	±	—	—	—	++	++	++	++++	+++(+)	++	+++	+	±	$^1/_{6000}$
9	0 „	++++	++++	++++	—	—	—	++	++	++	++++	+++(+)	+++	++++	++++	+++	

Tabelle 2b.

0,5 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung
0,5 ccm $^1/_{10}$ Meerschweinchenserum

Röhrchen	Absteigende Mengen Ambozeptor Op. XXV	Die Ambozeptorverdünnungen wurden hergestellt mit 0,85-proz. NaCl															Ambozeptor Titer
		neutral			mit Alkaligehalt												
					$n/_{100}$ NaOH			$n/_{250}$ NaOH			$n/_{500}$ NaOH			$n/_{1000}$ NaOH			
		abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			
		$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	
1	$^1/_{1500}$ 1,5 ccm	—	—	—	++++	++++	++++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{500}$
2	1,0 „	—	—	—	++++	++++	++++	++++	+++	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{750}$
3	0,75 „	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	+	—	—	—	—	—	—	$^1/_{1000}$
4	0,5 „	—	—	—	++++	++++	++++	+++	+++	÷	—	—	—	—	—	—	$^1/_{1500}$
5	$^1/_{6000}$ 1,5 „	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	+++	—	—	—	—	—	—	$^1/_{2000}$
6	1,0 „	++	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	—	—	++	—	—	$^1/_{3000}$
7	0,75 „	+++	±	—	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	±	—	+++	±	—	$^1/_{4000}$
8	0,5 „	+++	+	±	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++(+)	+	±	+++	+	±	$^1/_{6000}$
9	0 „	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	

Tabelle 3a.

0,5 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung
0,5 ccm $^1/_{10}$ Meerschweinchenserum

Röhrchen	Absteigende Mengen Ambozeptor	Sämtliche Ambozeptorverdünnungen wurden mit der gleichen Pipette hergestellt, mit welcher der konz. Ambozeptor gemessen wurde															Ambozeptor Titer
		Ambozeptor I			Ambozeptor II			Ambozeptor III			Ambozeptor IV			Ambozeptor V			
		abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			
		$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	
1	$^1/_{3000}$ 1,5 ccm	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{1000}$
2	1,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{1500}$
3	0,75 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{2000}$
4	0,5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{3000}$
5	$^1/_{12\,000}$ 1,5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{4000}$
6	1,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{6000}$
7	0,75 „	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{8000}$
8	0,5 „	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	$^1/_{12\,000}$
9	0 „	±	—	—	+++	+	±	±	—	—	++	—	—	++	+	±	
		++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	

Tabelle 3b.

0,5 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung
0,5 ccm $^1/_{10}$ Meerschweinchenserum

Röhrchen	Absteigende Mengen Ambozeptor	Zur Herstellung der Ambozeptorverdünnungen $^1/_{10}$—$^1/_{12\,000}$ wurde eine frische Pipette verwandt															Ampozeptor Titer
		Ambozeptor I			Ambozeptor II			Ambozeptor III			Ambozeptor IV			Ambozeptor V			
		abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			abgelesen nach			
		$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	
1	$^1/_{3000}$ 1,5 ccm	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{1000}$
2	1,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{1500}$
3	0,75 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{2000}$
4	0,5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{3000}$
5	$^1/_{12\,000}$ 1,5 „	—	—	—	+	—	—	+	—	—	±	—	—	—	—	—	$^1/_{4000}$
6	1,0 „	±	—	—	++	—	—	+	—	—	±	—	—	±	—	—	$^1/_{6000}$
7	0,75 „	+	—	—	+++	+(+)	±	++	—	—	++	±	—	+	—	—	$^1/_{8000}$
8	0,5 „	++	±	—	+++	++(+)	+	++	±	±	++(+)	+(+)	+	+	—	—	$^1/_{12\,000}$
9	0 „	++++	++++	++++	++++	+++	++	+++	++	+	++++	+++	++	++	+(+)	+	
					++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	

Tabelle 4.

0,5 ccm Hammelblutkörperchenaufschwemmung
0,5 ccm $^1/_{10}$ Meerschweinchenserum

Röhrchen	Absteigende Mengen Ambozeptor Op. XXV/II	Die Ambozeptorverdünnungen wurden hergestellt: a) vorsichtig — abgelesen nach ½ Std.	a) vorsichtig — 1 Std.	a) vorsichtig — 2 Std.	b) unter starkem Durchblasen, ausgehend von der bei a) verwendeten $^1/_{10}$-Verdünnung: 5mal durchgeblasen — abgelesen nach ½ Std.	5mal durchgeblasen — 1 Std.	5mal durchgeblasen — 2 Std.	20mal durchgeblasen — abgelesen nach ½ Std.	20mal durchgeblasen — 1 Std.	20mal durchgeblasen — 2 Std.	Ambozepto Titer
1	$^1/_{1500}$ 1,5 ccm	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{500}$
2	1,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{750}$
3	0,75 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{1000}$
4	0,5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^1/_{1500}$
5	$^1/_{6000}$ 1,5 „	—	—	—	±	—	—	±	—	—	$^1/_{2000}$
6	1,0 „	±	—	—	+++	±	—	+(+)	±	—	$^1/_{3000}$
7	0,75 „	++	+	—	+++	++	±	++++	+++	±	$^1/_{4000}$
8	0,5 „	++	+	±	++++	+++(+)	++	++++	+++(+)	+++	$^1/_{6000}$
9	0 „	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	

und wie die Verdünnung hergestellt wird, zweifellos einen beträchtlichen Einfluß auf das Resultat. Wenn man z. B. mit der gleichen Pipette, mit der man den konzentrierten Ambozeptor entnommen hat, nicht bloß die erste Verdünnung (1 : 10), sondern auch alle weiteren macht, so wird man höhere Werte bekommen, als wenn man nach Herstellung der ersten Verdünnung (1 : 10) für die weiteren Verdünnungen eine neue Pipette benutzt, da im ersteren Falle noch mehr oder weniger beträchtliche Spuren von relativ konzentriertem Ambozeptor — namentlich bei raschem Arbeiten — für die weiteren Verdünnungen mitgeschleppt werden. Als Beleg diene folgender Versuch (Tabelle 3a und b, p. 31), wo sich, namentlich was die Schnelligkeit der Hämolyse betrifft, ein deutlicher Unterschied zugunsten des Versuchs, der mit der ersten Pipette ganz durchgeführt wurde, zeigt.

Weiterhin konnten wir beobachten, daß unterschiedliche Resultate erzielt werden, je nachdem die Verdünnungen vorsichtig (ohne unnötiges Blasen, Schütteln und Schwenken), oder mit starkem Durchblasen, Schütteln und Schwenken ausgeführt werden. Es scheint, daß stärkeres Schütteln der Ambozeptorverdünnungen (besonders der Verdünnung 1 : 10 und 1 : 100) und vornehmlich längeres und stärkeres Mischen durch Blasen (Kohlensäurewirkung?) die hämolytische Funktion schädigen, wie beispielsweise aus der Tabelle 4 hervorgeht.

Zusammenfassung.

1) Frische Meerschweinchensera zeigen namentlich in den ersten Stunden nach der Gewinnung starke Schwankungen ihrer Komplementwirkung.

Am häufigsten wurde beobachtet, daß der im ganz frischen Zustand meist hohe Titer innerhalb der nächsten 4 Stunden beträchtlich absank (oft auf $^1/_3$ des ursprünlichen Wertes), um dann innerhalb der nächsten 2 Stunden wieder auf seine alte Höhe zu steigen. Seltener stieg der zunächst niedere Titer erst allmählich zur vollen Höhe an. In späteren Zeitabschnitten wurden ähnliche starke Schwankungen wie zu Anfang nicht mehr beobachtet.

2) Ein 1—4 Stunden langer Aufenthalt des unverdünnten Meerschweinchenserums bei 37° C bewirkte keine nennenswerte Abnahme des Titers. Eine stärkere, schädigende Wirkung der direkten Sonnenbestrahlung machte sich erst nach ungefähr 4 Stunden bemerkbar.

3) Schütteln des unverdünnten Ambozeptors im Schüttelapparat (bis zu 20 Stunden) hatte keinen deutlich schädigenden Einfluß auf den Ambozeptor, woraus geschlossen werden darf, daß auch die beim Versand auf der Bahn erfolgenden Erschütterungen auf den Ambozeptor kaum schädigend einwirken dürften.

4) Die Glasart (Jenaer Glas oder gewöhnliches Glas) des zur Aufbewahrung des Ambozeptors verwendeten Gefäßes übte innerhalb der Versuchszeit (9 Wochen) keinerlei Einflüsse auf den Ambozeptor aus.

5) Dagegen bewirkten Abweichungen von der neutralen Reaktion der zu den Verdünnungen benutzten physiologischen Kochsalzlösung beträchtliches Absinken des Ambozeptortiters, und zwar war der ungünstige Einfluß geringer Säuremengen noch stärker als der entsprechender Alkalimengen.

6) Schließlich ergab sich, daß auch die Verdünnungstechnik von beträchtlichem Einfluß auf die Titerwerte ist.

Wird z. B. die zur Entnahme des konzentrierten Ambozeptors benutzte Pipette auch für die Herstellung der weiteren Verdünnungen benutzt, so erhält man höhere Titerwerte, als wenn man nach Herstellung der ersten Verdünnungen (1 : 10 bzw. 1 : 100) frische Pipetten für die Herstellung der weiteren Verdünnungen gebraucht.

Es zeigte sich auch, daß starkes Schütteln und Blasen bei der Herstellung der Verdünnungen auf den Ambozeptor ungünstig einwirkt.

Versuche mit schwefliger Säure zur Vernichtung überwinternder Stechmücken

Von

E. Bresslau (Frankfurt a. M.) und **Fr. Glaser** (Mannheim)

Aus der Zoolog. Abt. (Prof. Dr. Bresslau) des Georg Speyer-Hauses, Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. W. Kolle).

Die Weibchen der Hausschnaken *Culex pipiens* und *Theobaldia annulata*, sowie der Malariaschnake *Anopheles maculipennis* überwintern zum weitaus größten Teil in Kellern. Eine jede dieser überwinternden Stechmücken erzeugt mehrere Generationen mit Millionen von Nachkommen im folgenden Sommer. Aus einigen in schnakenlose Gegenden verschleppten Schnakenweibchen kann also schon in wenigen Jahren eine Plage für Menschen und Tiere entstehen. Daraus ergibt sich, daß bei der Bekämpfung der Stechmücken möglichste Sorgfalt auf die Vernichtung der überwinternden Weibchen zu verwenden ist.

Die bisherigen Methoden der Winterbekämpfung der Schnaken haben trotz der in den letzten 10 Jahren gemachten Fortschritte noch allerhand Mängel aufzuweisen, so daß der Wunsch nach einem sicherer und rationeller arbeitenden Verfahren nicht von der Hand zu weisen ist.

Das Zerdrücken der erstarrten Schnaken mit feuchten Tüchern ist so umständlich und zeitraubend, daß nur in den seltensten Fällen davon Gebrauch gemacht wird. Der Erfolg läßt sehr viel zu wünschen übrig, denn die Schnaken sitzen nicht nur an den Wänden und Decken, sondern sie suchen auch Zuflucht in Kartoffel-, Rüben-, Koks- und Kohlenhaufen, unterm Holz, in leeren Kisten und Bottichen, lauter Oertlichkeiten, wo man mit feuchten Tüchern nicht an sie heran kann.

Demgegenüber bedeutet das Abspritzen mit der bekannten Insektizidlösung (Chemische Fabrik Flörsheim, Dr. H. Nördlinger in Flörsheim a. M.) einen großen Fortschritt. Das Verfahren erfordert nur wenig Zeit, und man wird mit ihm den weitaus größten Teil der Schnaken vernichten können. Aber auch mit dieser Methode können die obengenannten Schlupfwinkel nicht völlig von überwinternden Schnacken gesäubert werden, ein restloser Erfolg ist also nicht zu erzielen. Erst recht natürlich nicht mit dem früher viel geübten Abflammen, das schon wegen seiner Feuergefährlichkeit zu verwerfen ist.

Das Ausräuchern der Keller mit Gemischen von Insektenpulver, Tabak, Salpeter usw., wie es früher oft und jetzt vereinzelt noch empfohlen wird, ist vollkommen wirkungslos. Die anfangs betäubten Schnaken fallen zu Boden, erholen sich aber zum größten Teil schon nach wenigen Stunden wieder. Auch die verschiedenen Dämpfe, die

mit großer Apparatur von gewissen Desinfektionsinstituten in den Ueberwinterungsräumen erzeugt werden, haben nur den Erfolg, daß man sein Geld, nicht aber die Schnaken los wird.

Die Vergasung mit Blausäure, wie sie Teichmann empfohlen hat, sichert an sich einen vollen Erfolg. Das Verfahren kann aber nur von geübtem und absolut zuverlässigem Personal angewendet werden, denn selbst die geringen, für die Schnaken wirksamen Blausäuregasmengen von 0,025 Volumprozent sind für den Menschen nicht unbedenklich. Vor allem aber stehen auch die Kosten einer allgemeinen Einführung entgegen[1]).

Das idealste Bekämpfungsmittel für überwinternde Schnaken, ein Gas, das leicht und wohlfeil zu erzeugen ist, das überall hindringt, mithin auch die bisher unerreichbaren Verstecke erfaßt, das keiner allzu peinlichen Abdichtung bedarf und Menschen nicht gefährdet, bleibt noch zu entdecken.

Die Frage war, ob etwa die schweflige Säure, die ja schon lange bei der Ungeziefervertilgung angewendet wird, sich hierzu eignen würde. Da bisher exakte Versuche über die SO_2-Menge, die zur Abtötung der überwinternden Schnaken ausreicht, nicht angestellt waren, haben wir es übernommen, die dafür notwendigen Unterlagen zu schaffen. Nach Abschluß der Laboratoriumsversuche wurden die gewonnenen Ergebnisse im großen auf ihre praktische Anwendbarkeit hin geprüft.

Das Tiermaterial stammte zum Teil aus Mannheim, die Hauptmasse lieferte jedoch die Umgebung Frankfurts, wo gerade bei Inangriffnahme der Versuche (September 1921) die letzte Generation von *Culex pipiens* und *Theobaldia annulata* am Schlüpfen war. Die Larven und Puppen wurden jeweils in bedeckte Standzylinder von 7 cm Durchmesser verteilt. Jeden Morgen wurden die geschlüpften Imagines in die Versuchsbehälter fliegen gelassen. Zu den ersten Versuchen wurden vollkommen dicht verschließbare Glasglocken von je 25 cdm = $^1/_{40}$ cbm, sowie ein Abzugsschrank von $1^1/_2$ cbm Luftraum benutzt. Die Versuche im großen wurden zunächst in einem Zimmer von 125 cbm und sodann während der folgenden Wintermonate in Kellern von 40—185 cbm in Frankfurt und in Mannheim vorgenommen. Nach den Versuchen wurden die vergasten Schnaken stets in mit Drahtgaze verschlossenen Aquarien längere Zeit belüftet, um die Wirkung der Vergasung festzustellen.

Schwefel läßt sich bekanntermaßen nicht ohne weiteres vergasen. Dem kann dadurch abgeholfen werden, daß man die Schalen, in denen der Schwefel verbrannt wird, durch eine untergestellte Flamme erwärmt.

1) Vgl. E. Teichmann, Bekämpfung der Stechmücken durch Blausäure. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 85, 1917. — Ferner E. Bresslau, Die Winterbekämpfung der Stechmücken. Zeitschr. f. angew. Entom., Bd. 4, 1917, S. 327—331.

Man kann auf diese Weise eine recht gute SO_2-Entwicklung erzielen. Der bekannte Hya-Apparat[1]) nach Prof v. Walther, den uns die Deutsche Gesellschaft für Schädlingsbekämpfung freundlichst zur Verfügung stellte, bewährte sich bei unseren Versuchen nicht recht, weil der Schwefel nicht immer restlos und vor allen Dingen nicht schnell genug verbrennt. Wir konstruierten daher auf Grund unserer Erfahrungen einen eigenen Apparat, der eine sehr rasche und vollkommene Vergasung des Schwefels ermöglicht.

Die Versuche.

Von den zahlreichen Versuchen sollen nur die für das Ergebnis ausschlaggebenden verzeichnet werden. Alle Versuche wurden der Kontrolle halber mehrmals an aufeinanderfolgenden Tagen wiederholt. Verschiedentlich wurden Kaninchen, Ratten oder Mäuse in die Versuchsräume gebracht, um gleichzeitig die Wirkung der angewandten SO_2-Konzentration auf Warmblüter zu ermitteln.

Es galt zunächst festzustellen, welche Mindestkonzentration SO_2 zur sicheren Abtötung der Schnaken notwendig ist. Hierüber orientiert die in Tabelle I und II auf S. 40 zusammengestellte Auswahl aus unseren Versuchen. Die Versuche der Tabelle I wurden in den bereits erwähnten Glasglocken von $^1/_{40}$ cbm Inhalt vorgenommen, in die wir vorher aus den Gefäßen mit schlüpfreifer Schnakenbrut jeweils etwa 100—150 Imagines überfliegen ließen. Nach Verschluß der Glocken wurden in Versuch 1—3 im ersten Behälter 0,3 g, im zweiten 0,2 g, im dritten 0,1 g Schwefel verbrannt, was 12 bzw. 8 bzw. 4 g Schwefel pro 1 cbm entspricht. Auf SO_2 umgerechnet ergibt dies für den ersten Behälter rund 0,84, für den zweiten 0,56, für den dritten 0,28 Volumprozent schweflige Säure, da die Vergasung von 14,3 g S (chemisch rein) in 1 cbm 1 Volumprozent SO_2 liefert. In allen 3 Behältern fielen die meisten Schnaken fast sofort nieder; doch dauerte es bei Versuch 3 40 Minuten, bis alle Tiere leblos am Boden lagen, während Versuch 1 schon in 13 Minuten, also bei 3facher Konzentration in $^1/_3$ der Zeit, dasselbe Ergebnis zeitigte. Auch nach 48stündiger Belüftung trat keine Erholung ein. Die Tiere waren in allen drei Versuchen sicher abgetötet worden.

Nach diesem Ergebnis war zu erwarten, daß bei weiterer Verlängerung der Einwirkungsdauer die Konzentration der SO_2 noch weiter herabgesetzt werden konnte. Dies erschien für die Praxis deshalb von großer Bedeutung, weil es angesichts der hohen Schwefelpreise darauf ankommen mußte, den Materialverbrauch möglichst einzuschränken, während die Einwirkungsdauer, sofern die Vergasung von

1) Vgl. Mayer, Dtsch. Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl., Bd. 45, 1913, S. 131.

Tabelle I.

Versuche in Glasglocken von 0,025 cbm Inhalt.

Versuchs-Nummer	Verbrannte Menge S in Gramm	S-Menge[1]) in Gramm pro 1 cbm	SO_2-Konzentration, Volumprozent[2])	Zeit bis zur Betäubung aller Schnaken	Gesamtdauer der Vergasung	Abtötungserfolg nach 48-stündiger Belüftung in Prozent
1	0,3	12	0,84	13′	20′	100
2	0,2	8	0,56	14′	22′	100
3	0,1	4	0,28	40′	40′	100
4	0,05	2	0,14	95′	95′	100
5	0,03	1,2	0,084	105′	105′	100
6	0,02	0,8	0,056	100′	15h	100
7	0,01	0,4	0,028	—	48h	50

Tabelle II.

Versuche in einem Digestorium von 1,5 cbm Inhalt.

1	6*)	4*)	0,28	350′	350′	100
2	12	8	0,56	25′	65′	100
3	4,5	3	0,21	150′	210′	100

*) Gasraum einige Male geöffnet. Da nach 2 Stunden noch viele Schnaken lebten, wurde eine nochmalige Vergasung mit 12 g S (= 8 g pro Kubikmeter) vorgenommen (s. Text).

den Interessenten des Nachts vorgenommen wurde, leicht auf mehrere Stunden auszudehnen war. Wie weit man in dieser Beziehung gehen kann, ergibt sich aus den Versuchen 4—7 der Tabelle I. Bei Verringerung der SO_2-Konzentration auf 0,14 Volumprozent (Versuch 4), also auf die Hälfte wie bei Versuch 1, war eine ungefähr 2—$2^1/_2$mal so lange Einwirkungsdauer nötig. Auch 0,084 und sogar 0,056 Volumprozent (Versuch 5, 6) lieferten bei genügend langer Exposition noch brauchbare Ergebnisse. Geht man dagegen auf 0,028 Volumprozent herunter, so mißlingt die Abtötung (Versuch 7). Für Versuchsräume von der Güte der Glasglocken kann man daher als schwächste, die Schnaken noch sicher abtötende SO_2-Konzentration 0,07 Volumprozent annehmen, d. h. es genügt die Verbrennung von 1 g Schwefel pro 1 cbm Luftraum.

1) Da 1 g S (Atomgewicht 32) beim Verbrennen 2 g SO_2 (Molekulargewicht 64) liefert, ergeben die Zahlen dieser Spalte bei Verdoppelung die Anzahl Gramme SO_2 pro 1 cbm, bzw. Milligramme SO_2 pro 1 l, unter der Voraussetzung, daß völlige Vergasung erfolgt. Praktisch kann man jedoch nur mit einer Ausbeute von etwa 75 Proz. der theoretisch zu erwartenden SO_2-Menge rechnen, vgl. W. Hornung, Die Grundlagen der Anwendung von Schwefeldioxyd bei der Ungezieferbekämpfung, Veröff. a. d. Gebiete d. Medizinalverwaltung, Bd. 11, 1920, Heft 2, S. 228.

2) Auch die Zahlen dieser Spalte (und ebenso in den folgenden Tabellen) sind lediglich aus der angewandten S-Menge unter der Annahme völliger Vergasung errechnet. Auf analytische Konzentrationsbestimmungen wurde verzichtet. Die Temperatur betrug 15—20° C.

Die geringste Undichtigkeit oder Feuchtigkeit stellt aber bei dieser Minimalmenge den Erfolg sofort in Frage, wie sich bei den Digestoriumsversuchen (Tabelle II) zeigte.

Das Digestorium (Inhalt $1^1/_2$ cbm) hatte zwei Abzüge in der Rückwand und an der Vorderseite ein hoch- und niederziehbares Fenster mit verschließbaren Oeffnungen, die sorgfältig abgedichtet wurden. Vor jedem Versuch wurden eine Anzahl Gefäße mit schlüpfreifer Schnakenbrut hineingestellt, die wieder entfernt wurden, wenn etwa 1000—2000 Schnaken ausgeschlüpft waren. Versuch 1 (Tabelle II) wurde mit 4 g S pro 1 cbm = 0,28 Volumprozent SO_2 angesetzt. Nach 10 Minuten lagen viele Schnaken am Boden. Nun wurde durch eine der Fensteröffnungen ein Glas mit zwei weißen Mäusen eingestellt, wobei trotz raschen Vorgehens ziemlich viel Gas verloren ging. Nach 5 Minuten bekamen die Mäuse Erstickungsanfälle. In der 20. Minute flogen noch Schnaken umher, einige Dutzend saßen an den Wänden. Nach 25 Minuten wurde wieder geöffnet und ein Glas mit Schnakenbrut eingesetzt, was nochmals einen Gasverlust hervorrief. Nach und nach erholten sich viele von den am Boden liegenden Schnaken und begannen umherzufliegen, trotzdem noch reichlich schweflige Säure vorhanden war. Da sich nach 2 Stunden weitere Tiere erholt hatten, und aus dem Brutglase neue geschlüpft waren, wurde eine nochmalige Vergasung mit 8 g S (pro 1 cbm) vorgenommen. Nach 25 Minuten lagen fast alle Schnaken am Boden, und die Mäuse, die sich wieder erholt hatten, atmeten schwer. Nach 55 Minuten war eine Maus tot, aber es lebten immer noch einige Schnaken. Erst nach 5 Stunden 50 Minuten seit der ersten Vergasung war alles tot. Dieser Versuch lehrte, daß betäubte Tiere sich sofort wieder erholen, wenn das Gasgemisch schwächer wird und frische Luft hinzutreten kann. Ja, es scheint sogar, daß Tiere, die schon eine Vergasung mitgemacht haben, gegen eine neue, auch wenn sie stärker ist, widerstandsfähiger sind. Denn im Parallelversuch 2 mit 8 g S, bei dem jene Störungen, wie in Versuch 1 unterlassen wurden, war sowohl die Lebensdauer der Schnaken, wie die von 2 gleich von vornherein mit exponierten weißen Mäusen wesentlich kürzer. Nach 15 Minuten lagen die meisten Schnaken auf dem Rücken, ebenso auch eine Maus. Von der 25. Minute an zeigte sich kein Leben mehr. Die Schwefelmenge konnte sogar auf 3 g pro 1 cbm (Versuch 3, Tabelle II) herabgesetzt werden. Nach 2 Stunden 30 Minuten waren alle Schnaken betäubt. Als nach einer weiteren Stunde die Vergasung unterbrochen wurde, erwachte kein Tier zum Leben.

Nachdem die bisherigen Versuche in Räumen ausgeführt worden waren, die der Säure wenig Möglichkeit zum Entweichen boten, wurde noch eine Anzahl Versuche in einem getünchten Zimmer von 125 cbm Rauminhalt gemacht (siehe Tabelle III, Versuch 1—3). Im ganzen Raum saßen an Wänden und Decke zahlreiche aus den Brutgefäßen aus-

Tabelle III.

Versuche in größeren Räumen.

Vers.-Nr.	Versuchsraum	Inhalt Kubikmeter	Verbrannte Menge S in Gramm	S-Menge in Gramm pro 1 cbm	SO_2-Konzentration, Volumprozent	Dauer der Vergasung	Ergebnis der Vergasung
1	Zimmer	125	750	6	0,42	$1^{45\,h}$	alles tot
2	„	125	250	2	0,14	$15^{\,h}$	ca. 50 Schnaken leben
3	„	125	375	3	0,21	$6^{\,h}$	alles tot
4	Keller	185	555	3	0,21	$6^{\,h}$	meiste Schnaken leben
5	„	150	600	4	0,28	$5^{45\,h}$	alles lebend
6	„	40	320	8	0,56	$18^{30\,h}$	meiste Schnaken leben
7	„	130	1300	12	0,84	$16^{\,h}$	ca. 80 Proz. lebend
8	„	55	1100	20	1,4	$5^{45\,h}$	ca. 20 Schnaken leben
9	„	45	1125	25	1,7	$5^{45\,h}$	alles tot

geschlüpfte Schnaken. Zur genaueren Kontrolle wurden außerdem noch 3 Gazekäfige mit Schnaken an der Decke, in halber Höhe und am Boden angebracht. Ferner befand sich auf dem Fußboden ein Käfig mit einem Kaninchen und einem Meerschweinchen und ein Rattenglas mit einer Ratte. Nun wurden 750 g Schwefel, also 6 g pro Kubikmeter, zur Hälfte im Hya-Apparat, zur Hälfte in einer angewärmten, offenen Schale verbrannt. Dabei wurde beobachtet, daß Schwefeldämpfe durch den Rolladenkasten entwichen. Nach 1 Stunde 45 Minuten wurden Fenster und Türe geöffnet, alle Schnaken waren tot. Die Warmblüter hatten wenig gelitten und erholten sich in frischer Luft rasch vollständig. Bei Zimmerversuch 2 kamen 2 g Schwefel auf den Kubikmeter zur Anwendung, während die Vergasungsdauer auf 15 Stunden verlängert wurde. Nach dieser Zeit konnte der Raum ohne Maske betreten werden. An den Wänden und den Fenstern konnten noch ungefähr 50 flugfähige Schnaken gezählt werden, mithin waren 0,14 Volumprozent SO_2 für Räume, die nicht ganz vollkommen abdichtbar sind, zu wenig. Bei einem weiteren Versuch mit 3 g S pro 1 cbm waren nach sechsstündiger Vergasung alle Schnaken tot (Versuch 3, Tabelle III).

Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß, während zur restlosen Abtötung von Schnaken in vollkommen abdichtbaren und absolut trockenen Räumen die Vergasung von 1 g Schwefel pro Kubikmeter = 0,07 Volumprozent SO_2 genügt, in Räumen, wo auch nur geringe Mengen des Gases verloren gehen können, mindestens 3 g Schwefel = 0,21 Volumprozent SO_2 zur Anwendung kommen müssen. Immerhin würde das Verfahren auf letzterer Grundlage, selbst wenn die Schwefelmenge noch etwas hätte gesteigert werden müssen, für die Praxis durchaus rentabel gewesen sein.

Es fragte sich nun, ob die Versuche in der Praxis diese Erwartung auf Grund der Laboratoriumsversuche bestätigen würden. Leider ergab sich sofort, daß dies nicht der Fall war (Tabelle III, Versuch

4—9). Der erste Versuch (Versuch 4, Tabelle III) wurde in einem gewölbten, getünchten, 185 cbm großen Keller vorgenommen, der an der Stirnseite sehr feuchte Stellen aufwies, die über und über mit überwinternden Schnaken besetzt waren. Auch der mit Platten belegte Fußboden war feucht. Die Abdichtung der sehr breiten und schlechten Türe, sowie der 5 Fensterluken mittels Heu und Stroh erforderte viel Zeit. Um 10 Uhr vormittags wurden 555 g Schwefel, also 3 g pro Kubikmeter, je zur Hälfte im Hya-Apparat und in unserer Neukonstruktion verbrannt. Alsbald entstiegen weißliche Schwefeldämpfe aus den verstopften Luken, so daß Nachdichtungen vorgenommen werden mußten. Um 4 Uhr nachmittags wurde der Keller geöffnet und konnte ohne Maske betreten werden. Schwefelgeruch war kaum noch vorhanden. Nur ganz wenige Schnaken lagen betäubt am Boden und auf Obstgestellen. Die überwiegende Mehrzahl flog oder saß an den früheren Stellen. Als Ursache für den vollständigen Mißerfolg wurde zunächst ungenügende Abdichtung angenommen. Darum wurden bei den folgenden Versuchen die Keller auf das Peinlichste abgedichtet, und alle Oeffnungen und Ritzen sorgfältig mit Papier überklebt. Bei Kellerversuch 2 kamen 4 g Schwefel pro 1 cbm zur Anwendung. In dem sehr feuchten, getünchten Keller lagerten Kohlen, Kartoffeln, Obst, Wein und andere Nahrunsmittel. Ueberwinternde Schnaken waren in Menge vorhanden. Nach fünfstündiger Vergasungsdauer bot sich dasselbe Bild wie beim ersten Kellerversuch: kein Schwefelgeruch mehr, dafür so gut wie alle Schnaken lebend. Somit war klar, daß in feuchten, kalkgetünchten Räumen viel SO_2 absorbiert bzw. als Calciumsulfit gebunden wird und daher stärkere Konzentrationen angewandt werden müssen. Auch Versuche mit 4 und 8 g pro 1 cbm zeitigten noch kein besseres Ergebnis (Versuch 5, 6). Erst bei Anwendung von 12 g war ein geringer Erfolg sichtbar. Etwa 20 Proz. der Schnaken lagen nach einer Einwirkungsdauer von 16 Stunden am Boden, von den aufgelesenen Schnaken erholte sich keine wieder (Versuch 7). Auch bei dieser Konzentration war wenig Geruch festzustellen. Die Schwefelmenge wurde nun in den folgenden Versuchen in ebenfalls feuchten Kellern auf 20 und 25 g pro Kubikmeter erhöht. Auch hier konnten die Keller nach 6 Stunden jeweils ohne Atembeschwerden betreten werden. Bei 20 g lebten nur noch etwa 20 Schnaken, während bei 25 g alles vernichtet war (Versuch 8, 9).

Das Gesagte gilt auch für die von der Chemischen Fabrik Griesheim-Elektron in den Handel gebrachten, ursprünglich Solfatan, jetzt Diametan genannten Schwefelzylinder deren Verwendbarkeit in mehreren Kellerversuchen geprüft wurde[1]). 1 Zylinder wiegt etwas über

1) Die Diametanproben wurden uns von der Fabrik in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. Die Angaben über die leichte Verbrenn-

500 g und soll nach Vorschrift für einen Luftraum von 20 cbm genügen, was also ca. 25 g pro 1 cbm entspricht. In dieser Konzentration ist die Wirkung dieselbe wie bei 25 g reinen Schwefels. Beim Oeffnen der Keller war meist kaum noch Schwefelgeruch zu verspüren. Wurde die Solfatanmenge auf 15 und 10 g pro Kubikmeter verringert, so reichte sie ebenfalls nicht mehr zur Abtötung der Schnaken aus.

Bewertung der Versuchsergebnisse.

Die Versuche haben gezeigt, daß schweflige Säure im gut gedichteten, trockenen Raum schon in einer Konzentration von 0,07 Volumprozent alle Schnaken zu töten geeignet ist, daß aber in der Praxis in feuchten, mit Kalk getünchten Kellern, deren Abdichtung zudem auf Schwierigkeiten stößt, mindestens 1,7 Volumprozent notwendig sind, um das gleiche Resultat zu erzielen. Mithin gehen über 1,6 Volumprozent, d. h. etwa das 23fache der an sich notwendigen SO_2-Menge, verloren, indem das Gas von der Kellerfeuchtigkeit absorbiert [1]) oder von der Kalktünche gebunden wird oder endlich durch undichte Stellen entweicht. Auch der aus unseren Versuchen hervorgegangene Apparat, der eine überaus rasche, restlose Verbrennung des Schwefels ermöglicht, führte in der Praxis zu keinem besseren Ergebnis, weshalb wir hier auf seine Beschreibung verzichten. Das gleiche gilt für das Diametan.

Daraus ergibt sich aber, daß schweflige Säure praktisch für die Winterbekämpfung der Stechmücken nicht in Frage kommen kann, zunächst schon allein der Kosten wegen. In einem 500 cbm großen Kellerraum müßten, um die erforderliche SO_2-Konzentration von 1,7 Volumprozent herzustellen, $12^1/_2$ kg Schwefel verbrannt werden, was zurzeit einer Ausgabe von über 100 M. entsprechen würde, wobei die zur Verbrennung des Schwefels nötige Apparatur und der zur Abdichtung des Kellers nötige Arbeitsaufwand noch nicht mit in Rechnung gesetzt sind. Die Apparatur könnte zwar bei Verwendung von Diametan gespart werden, dafür ist aber der Preis dieses Präparates entsprechend höher als der des reinen Schwefels.

---

barkeit des Diametans ohne jede besondere Apparatur konnten bei unseren Versuchen vollauf bestätigt werden. In dieser Beziehung unterscheidet sich das neue Präparat sehr vorteilhaft von reinem Schwefel, der für sich allein nur schlecht verbrennt.

1) Wasser nimmt bei den für ungeheizte feuchte Keller während des Winters in Frage kommenden Temperaturen (5—10° C) rund 15 Proz. seines Gewichts an SO_2 auf, d. h. pro 1 l Wasser der Kellerfeuchtigkeit werden je 150 g SO_2 (erhalten durch Verbrennen von 75 g S) absorbiert. Beträgt also beispielsweise in einem nassen Keller die Feuchtigkeitsmenge etwa 20 l, so wird diese allein imstande sein, die gesamte, durch Vergasung von $1^1/_2$ kg Schwefel zu erhaltende SO_2-Menge wirkungslos zu machen.

Hierzu kommen weiter die Schwierigkeiten der Abdichtung der Keller, namentlich in den Vororten der Städte und auf dem Lande. Häufig liegt der Zugang unter der wenig dichten Holztreppe, die zum Obergeschoß oder Speicher führt. In Balkenkellern wird das Gas vielfach durch den Fußboden in die Wohnung dringen. Die Kellerluken sind meist nur schwierig abzudichten, zumal wenn sie als tiefe Nischen in einer Höhe liegen, die nur mit einer Leiter erreicht werden kann. Man muß sie daher fast stets mit Papier von außen verkleben. In jedem Falle erfordert die Abdichtung die größte Sorgfalt und oft stundenlange Arbeit, wenn nicht der ganze Erfolg der Vergasung in Frage gestellt werden soll.

Trotz der anfangs so vorzüglichen Abtötungserfolge bei den Laboratoriumsexperimenten ist also das Endergebnis unserer Versuche für die Praxis leider durchaus ungünstig. Angesichts der Kostenfrage und der Schwierigkeit der Abdichtung muß die Bekämpfung der überwinternden Schnaken mit SO_2 als praktisch undurchführbar bezeichnet werden.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5000

Die angegebenen Preise sind die im August 1922 gültigen; für das Ausland erhöhen sie sich durch den vorgeschriebenen Valuta-Zuschlag. Die Preise für gebundene Bücher sind unverbindlich.

Arbeiten a. d. Staatsinstitut f. experimentelle Therapie und dem Georg-Speyer-Hause zu Frankfurt a. M.

Begründet von Paul Ehrlich.

Herausgegeben von

Dr. W. Kolle

Direktor des Staatsinstituts für experimentelle Therapie und des Georg Speyer-Hauses
o. Honorarprofessor an der Universität Frankfurt a. M.

1. Heft: **Aus der Abteilung für Krebsforschung.** Mit 6 Tafeln. (102 S. gr. 8°.) 1906 Mk 180.—

Inhalt: I. Die epithelialen Geschwülste der Maus. Von Dr. Hugo H. Apolant. Mit 4 Tafeln. — II. Ueber ein transplantables Chondrom der Maus. Von Prof. Dr. P. Ehrlich. Mit 1 Tafel. — III. Experimentelle Karzinomstudien an Mäusen. Von Prof. Dr. P. Ehrlich. Mit 1 Tafel.

2. Heft: **Aus der prüfungstechnischen Abteilung.** Mit 8 Figuren. (86 S. gr. 8°.) 1906 Mk 60.—

Inhalt: Die staatliche Prüfung der Heilsera. Von Stabsarzt Dr. R. Otto. Mit 8 Figuren.

3. Heft: **Aus der experimentell-biologischen Abteilung:** Dr. H. Sachs. Mit 4 Abbild. im Text und 1 lithogr. Tafel. (94 S. gr. 8°.) 1907. Mk 60.—

Inhalt: I. Ueber das Zusammenwirken mehrerer Ambozeptoren bei der Hämolyse und ihre Beziehungen zu den Komplementen. Von Dr. H. Sachs und Dr. J. Bauer. Mit 1 lithogr. Tafel. — II. Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente. Von Privatdozent Dr. Rudolf Hecker. Mit 4 Abbild. — III. Beitrag zur biologischen Eiweißdifferenzierung. Von W. Rickmann, Veterinärarzt in Deutsch-Südwestafrika. — IV. Ueber die Spezifität der biologischen Eiweißdifferenzierung. Von Assistenzarzt Dr. J. Bauer.. — V. Ueber die Differenzierung des Eiweißes in Gemischen verschiedener Eiweißarten. Von Dr. H. Sachs und Dr. J. Bauer.

4. Heft: **Bakteriologisch-hygienische Abteilung:** Prof. Dr. Max Neißer. Mit 14 Abbildungen. (88 S. gr. 8°.) 1908. Mk 50.—

Inhalt: Ueber Opsonine und Leukostimulantien. Von Prof. Dr. M. Neißer und Prof. Dr. Guerrini (aus Mailand). — Fütterung von Mäusen mittelst Magensonde. Von Dr. L. H. Marks (aus New Orleans). Mit 4 Abbild. — Fütterungsstudien von Mäusen mit einem Bacillus der Paratyphusgruppe. Von demselben. — Zur Technik der Widalschen Reaktion. Von demselben. Mit 2 Abbild. — Ein Abstich- und Zählapparat für Bakterienkolonien. Von Prof. Dr. M. Neißer. Mit 4 Abbildungen. — Ueber einen anfangs atyphischen Typhusstamm. Von T. Ernst. — Kasuistische Beiträge zum Vorkommen von Bazillen der Paratyphus-(Hog-Cholera)-Gruppe. Von Dr. Eckersdorff. — Weiteres zur Schardingerschen Reduktionsprobe. Von Dr. Siegfried Oppenheimer, Frankfurt a. M. — Ueber zwei Hausapparate zur Ozonierung von Wasser. Von Prof. Dr. M. Neißer. Mit 4 Abbild.

5. Heft: **Aus der prüfungstechnischen Abteilung.** (60 S. gr. 8°.) 1913. Mk 40.—

Inhalt: Ueber die Haltbarkeit des Diphtherie- und Tetanusserums. Von Dr. K. E. Boehncke. — Die Wertbemessung des Meningokokkenserums vom prüfungstechnischen Standpunkt. Von Dr. K. E. Boehncke. — Ueber den Parallelismus der Pneumokokkenantikörper in vitro und in vivo und ihre Haltbarkeit im Pneumokokkenserum. Von Dr. K. E. Boehncke und Dr. J. Mouriz, Riesgo.

6. Heft. (44 S. gr. 8°.) 1919. Mk 24.—

Inhalt: Einleitung. Von W. Kolle. — Untersuchungen über die thermostabilen Rezeptoren der x-Stämme, mit Beiträgen zur Kenntnis der Weil-Felixschen Reaktion. (Serodiagnostik des Fleckfiebers, III.) Von H. Sachs und

H. Schloßberger. — Die Ausflockung des Liquor cerebrospinalis durch cholesterinierte Extrakte. Von H. Sachs und W. Georgi. — Die Hämotoxine der Gasbrandbakterien. Von H. Schloßberger.

7. Heft. (47 S. gr. 8°.) 1919. Mk 36.—

Inhalt: Die Hämotoxine der Gasbrandbakterien. (2. Mitteilung.) Von H. Schloßberger. — Ueber die Wirkung chemischer Mittel auf Gasbrandbakterien in vitro und in vivo. Von H. Ritz u. H. Schloßberger. — Eine Ultrafiltrationsstudie mit Diphtherietoxin und -toxon. Von H. Bechhold. — Ueber Säureagglutination bei Erregern des Gasödems. Von W. Georgi. — Zur Kenntnis des Silbersalvarsannatriums. (1. Mitteilung.) Von A. Binz.

8. Heft. Mit 1 Abbild. im Text und 2 Tafeln. (62 S. gr. 8°.) 1919. Mk 96.—

Inhalt: Experimentelle Studien mit Diphtheriebakterien und Diphtherieantitoxin an Mäusen. (Mit 2 Tafeln.) Von W. Kolle und H. Schloßberger. — Untersuchungen über die Avidität der Diphtherieantitoxine und über die Polyvalenz der Diphtheriesera. Von W. Kolle, K. Joseph und H. Schloßberger. — Zur Kenntnis des Silbersalvarsannatriums. (2. Mitteilung.) Von A. Binz, H. Bauer und A. Hallstein. — Kolloidchemische Studien in der Salvarsanreihe. Zur Kenntnis des Silbersalvarsannatriums. (3. Mitteilung.) Von Hugo Bauer. Mit 1 Abbild. — Versuche über färberische Differenzierung von Bakterien. Von N. Bezssonof

9. Heft. Mit 3 farbigen Tafeln. (74 S. gr. 8°.) 1919. Mk 192.—

Inhalt: Zur Kenntnis des Silbersalvarsannatriums. (4. Mitteilung.) Von A. Binz, H. Bauer und A. Hallstein. — Ueber die Wirkung der Diphtheriebazillen bei perkutaner Infektion. Von R. Jaffé und H. Schloßberger. Mit 3 Tafeln. — Studien über das serologische Verhalten der „Hammelblutrezeptoren in den Organen". Von W. Georgi.

10. Heft. **Zur Theorie und Praxis des serologischen Luesnachweises mittels Ausflockung.** (74 S. gr. 8°.) 1920. Mk 36.—

Inhalt: Beiträge zur Serodiagnostik der Syphilis mittels Ausflockung durch cholesterinierte Extrakte. Von H. Sachs und W. Georgi. — Ueber die Bedeutung der Serumkonzentration beim Inaktivieren für den serologischen Luesnachweis. Von E. Stilling. — Ueber den Einfluß der Temperatur und anderer Faktoren auf die Serumausflockung bei Syphilis. Von P. Neukirch. — Ueber den Einfluß von Säure und Alkali auf die Reaktionsfähigkeit der Komponenten beim serologischen Luesnachweis mittels Ausflockung. Von E. Stilling.

11. Heft. Mit 1 Abbild. im Text und 2 Tafeln. (48 S. gr. 8°.) 1920. Mk 60.—

Inhalt: Pathologisch-anatomische Untersuchungen über das Diphtherieherz, mit besonderer Berücksichtigung der Ergebnisse des Tierexperiments. Von Rudolf Jaffé. Mit 2 Tafeln. — Ueber die Hämolyse durch Quecksilber und Quecksilberverbindungen. Von H. Bechhold. Mit 1 Abbild.

12. Heft. Mit 3 Abbild. auf 1 Tafel. (48 S. gr. 8°.) 1921. Mk 36.—

Inhalt: Ueber Rezidivstammbildung und Immunität bei experimenteller Rekurrenzinfektion der Mäuse. Von R. Kudicke und A. Feldt. — Ueber das Verhalten säurefester sogenannter saprophytischer Bakterien nach längerem Verweilen im Warmblüterorganismus. Von W. Kolle, H. Schloßberger und W. Pfannenstiel. Mit 1 Tafel. — Ueber die gleichartige chemische Natur der in verschiedenen Flockungsreaktionen auftretenden Flocken. Von Paul Niederhoff.

13. Heft. Mit 6 Abbild. im Text. (116 S. gr. 8°.) Mk 60.—

Inhalt: Die staatliche Prüfung der Heilsera und des Tuberkulins. Von R. Otto und H. Hetsch. Mit einer Einleitung von W. Kolle.

14. Heft. Mit 2 Abbildungen auf 1 Tafel. (77 S. gr. 8°.) 1921. Mk 54.—

Inhalt: Ueber die durch säurefeste Bakterien im Säugetierorganismus erzeugten histologischen Veränderungen. Von Rudolf Jaffé. Mit 1 Tafel. — Ueber die Beziehung der Lueskomplementbindungsreaktion zu den Luesflockungsreaktionen. Von H. Dold. — Vergleichende chemotherapeutische und serumtherapeutische Untersuchungen beim experimentellen Schweinerotlauf der weißen Maus. Von W. Kolle und F. Leupold, H. Schloßberger und K. Hundeshagen. — Zur Frage der Herkunft der bei den verschiedenen Flockungsreaktionen auftretenden Lipoidflocken. Von Paul Niederhoff.