

Experimentelle Studien über die künstliche Abschwächung der Milzbrandbazillen und Milzbrandinfektion durch Fütterung.¹⁾

Von

Dr. R. Koch.²⁾

Die nachstehend geschilderten Versuche bilden die Fortsetzung und den vorläufigen Abschluß der Untersuchungen, welche über die Schutzimpfung gegen den Milzbrand mit künstlich abgeschwächtem Milzbrandmaterial im Laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamtes in den letzten Jahren angestellt worden sind. Zur schnelleren Orientierung ist es notwendig, kurz die Resultate wiederzugeben, zu welchen die bereits im I. Bande der Mitteilungen veröffentlichten Versuche³⁾ geführt hatten.

Toussaint und nach ihm Pasteur hatten verschiedene Methoden zur Abschwächung des Milzbrandvirus angegeben. Nach Toussaint wurde die Abschwächung in der Weise ausgeführt, daß das Blut eines am Milzbrand verendeten Tieres 10 Minuten hindurch auf 55° C erwärmt wurde oder aber daß dasselbe einen Zusatz erhielt von einer bestimmten Menge von Karbolsäure. Zahlreiche Versuche, welche im Gesundheitsamt mit dem nach dieser Methode zubereiteten Impfmateriale an Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen angestellt waren, hatten ergeben, daß bei den genannten Tieren eine Immunität nicht erzielt werden konnte. Die Versuche hatten sich, wie ausdrücklich hervorgehoben wurde, auf diese drei Tierspezies beschränken müssen, da zu jener Zeit größere Tiere, insbesondere Hammel, nicht zu Gebote standen.

Das Pasteursche Verfahren der Milzbrandabschwächung, Kultivieren der Milzbrandbazillen in neutraler Hühnerbouillon zwischen 42° und 43° C, war einer experimentellen Nachprüfung noch nicht unterzogen worden. Die ersten Mitteilungen Pasteurs, welche durch Versuchsprotokolle nicht illustriert waren, konnten nur mit einer gewissen Reserve aufgenommen werden aus mehreren triftigen Gründen. Die Basis aller Milzbrandimmunitätsversuche bildet der von Pasteur ganz allgemein ausgesprochene Satz: ein einmaliges Überstehen des Milzbrandes schützt gegen jede fernere Infektion. Nun aber ergaben zahlreiche Beobachtungen am Menschen, daß dasselbe Individuum im Verlauf einer verhältnismäßig kurzen Zeit wiederholt an Milzbrandkarbunkeln schwer erkranken kann; an Pferden hatte Oemler die Beobachtung gemacht, daß selbst nach wiederholt überstandenen Impfungen mit unzweifelhaft virulentem Milzbrandmaterial manche Tiere nach einer neuen Impfung doch schließlich noch an Milzbrand zugrunde gingen; zahlreiche im Gesundheitsamt angestellte Versuche an Ratten endlich hatten gezeigt, daß nicht einmal diese an und für sich so wenig für den Milzbrand empfängliche Tierspezies durch wiederholte Impfung mit virulentem Milzbrandmaterial Immunität sich

¹⁾ Aus Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, 1884, Bd. II, Berlin.

²⁾ Zusammen mit Dr. Gaffky und Dr. Loeffler.

³⁾ Vgl. diese Werke p. 174 ff.

erwirbt. Da mithin bei dem Menschen, bei dem Pferd und bei der Ratte nicht einmal die glücklich überstandene Einimpfung virulenten Materiales Immunität zurückließ, um wieviel weniger konnte man erwarten, daß Impfungen mit abgeschwächtem Milzbrandmaterial diese Wirkung im Gefolge haben sollten.

Auch die von P a s t e u r als Faktum hingestellte Beobachtung, daß Milzbrandbazillen in neutraler Hühnerbouillon zwischen 42—43° C Sporen nicht bilden, schien nicht durchaus unanfechtbar, da in verschiedenen Versuchen diesseits eine exquisite Sporenbildung der Milzbrandbazillen bei 42—43° C konstatiert war. Es schien daher geboten, vorerst eine ausführliche Mitteilung weiterer Versuche abzuwarten. Nachdem dann P a s t e u r durch einen exakten Versuch in der ferme Rossignol bei Pouilly le Fort den Nachweis geführt hatte, daß durch Impfung mit den nach seiner Methode abgeschwächten Milzbrandkulturen Hammel immun werden gegen die Einimpfung virulenten Milzbrandes, wurden Versuche über die Abschwächung des Milzbrandes bei 42 bis 43° C und über die Schutzwirkung der nach der P a s t e u r schen Methode abgeschwächten Milzbrandkulturen in größerem Maßstabe auch diesseits in Aussicht genommen. Ganz besonders erschien es notwendig, die Versuche an Schafen anzustellen, da diese Tiere ein wesentlich anderes Verhalten dem Milzbrand gegenüber zu zeigen schienen, als der Mensch und diejenigen Tierarten, mit welchen bisher experimentiert worden war.

Für derartige Versuche mit größeren Tieren bedurfte es besonderer Neueinrichtungen. In den Räumen des Gesundheitsamtes selbst konnten die Versuche nur zum Teil ausgeführt werden. Für die Unterbringung größerer Tiere sind die geeigneten Lokalitäten im Amte nicht vorhanden, auch fehlen die Einrichtungen, um größere infektiöse Tierkadaver schnell und sicher zu beseitigen. Am besten geeignet für diese Versuche erschien das Terrain der fiskalischen Abdeckerei, da dasselbe vor der Stadt isoliert gelegen ist und außerdem alle Vorrichtungen bietet zur Vernichtung infektiöser Tierkadaver. Das Königliche Polizeipräsidium gab bereitwilligst seine Zustimmung zur Errichtung eines Stallgebäudes auf dem fiskalischen Grundstücke. Das Gebäude besteht aus zwei Räumen, einem kleineren, mit großem Fenster versehenen Vorraume für die Sektion der verendeten Tiere und dem eigentlichen Stalle, welcher Raum genug bietet zur Einstellung von etwa 50 Schafen. Der Boden des Gebäudes ist zementiert: er fällt leicht ab nach einer zementierten Zisterne zu, in welche Blut und Urin hineinfließen, um alsdann darin gründlich desinfiziert zu werden. Die Kadaver können sofort nach der Sektion in einem hermetisch geschlossenen Kessel mit überhitztem Wasserdampf zerkocht und somit unschädlich gemacht werden.

Die Abschwächung der Milzbrandbazillen in den Kulturen, welche bei 42—43° C gehalten werden, geht nach den Angaben P a s t e u r s so vor sich, daß von Tag zu Tag die Virulenz der Kulturen abnimmt, bis nach ca. 9 Tagen die entnommenen Proben sich gänzlich unwirksam zeigen. In diesen verschiedenen Stadien der Virulenz läßt sich der Milzbrand weiter kultivieren, so daß man also Kulturen von verschiedener Giftigkeit sich bereiten kann. Zwei von diesen in verschiedenem Grade abgeschwächten Kulturen dienten für die Impfung der Hammel. P a s t e u r nennt die eine premier, die andere deuxième vaccin. Als wir nun diese Angaben nachprüfen wollten, stellte es sich heraus, daß über verschiedene Details in der Versuchsanordnung, welche wichtig genug sind, um die Versuchsergebnisse nach irgendeiner Richtung zu beeinflussen, nähere Angaben in der Mitteilung P a s t e u r s fehlten, so z. B. über die Apparate und über die Gefäße, in welchen die Abschwächung vorgenommen wurde, und über die Menge der in jedem einzelnen Versuche verwandten Kulturflüssigkeit. Von besonderer Wichtigkeit war es namentlich, einen Brütapparat zu beschaffen, welcher mit Sicherheit wochenlang auf

einer bestimmten Temperatur gehalten werden konnte. Die Firma Wiesenegg in Paris, 64 rue Gay Lussac, beschäftigt sich vorzugsweise mit der Herstellung von Wärmeregulatoren. Unter den zahlreichen in dem Katalog der Firma beschriebenen Brütapparaten wählten wir, als am besten geeignet für unseren Zweck, den Apparat von d'Arsonval, dessen Regulationsvorrichtung nur Schwankungen um wenige Zehntelgrade gestattet. Als Züchtungsgefäße nahmen wir Erlenneyer'sche Kölbchen, und zwar wurde jedes Kölbchen mit 20 ccm einer mit kohlsaurem Natron neutralisierten Hühnerbouillon beschickt.

Als Ausgangsmaterial für alle Versuche diente getrocknetes, 5 Jahre altes, sporenhaltiges Milzbrandblut von außerordentlicher Virulenz. Mit einer minimalen Menge desselben wurde eine Maus geimpft: aus der Milz der meist innerhalb der ersten 24 Stunden an Milzbrand verendeten Maus wurde eine geringe Menge Substanz mit einem geglühten Platindraht unter allen Kautelen entnommen und in die mit neutraler Hühnerbouillon beschickten Kölbchen übertragen. Unmittelbar nach der Aussaat wurden die letzteren dann in den Brütapparat gebracht.

In dieser Weise wurde eine Anzahl von Versuchen angestellt. Sehr bald stellte sich jedoch heraus, daß die 9 Tage und länger zwischen 42° und 43° C gehaltenen Kulturen Mäuse ebenso sicher töteten wie das Material, von welchem wir ausgegangen waren. Es drängte sich uns daher die Frage auf: Woran können wir erkennen, daß der Milzbrand bis zu einem bestimmten Grade abgeschwächt ist? Vergebens suchten wir in den Publikationen Pasteurs nach diesen für das ganze Abschwächungsverfahren allerwichtigsten Angaben. Pasteur hatte nirgends mitgeteilt, welche Kennzeichen für ihn bei der Bestimmung der Virulenz maßgebend gewesen waren. Nach den Angaben, welche er über die Rückkehr des abgeschwächten Virus zu seiner ursprünglichen hohen Virulenz gemacht hat, konnte man vermuten, daß ihm vielleicht Meerschweinchen von verschiedenem Alter als Maßstab gedient hatten. Indessen war dies nur Vermutung. Die einzige positive Angabe, welche wir fanden, war die, daß der Milzbrand nach mehreren Wochen, in einem Falle erst nach 6 Wochen, so abgeschwächt wird, daß er ganz junge Mäuse nicht mehr tötet, während er seine Wachstumsenergie behalten hat. Wir beschlossen daher, zunächst diese prinzipiell besonders wichtige Angabe über die gänzliche Abschwächung nachzuprüfen.

Da die Abschwächung nach ca. 3 Wochen vollendet sein sollte, so wurde erst kurz vor diesem Termine, nach 18 Tagen, mit der Entnahme der Proben begonnen. Beschickt waren 4 Gläschen. Aus allen 4 Gläschen wurden alle 2 Tage je 2 Mäuse geimpft, außerdem Kulturen in Fleischwasserpepton-Gelatine auf Objektträgern angesetzt, um einerseits die entnommenen Proben auf ihre Reinheit zu prüfen und um andererseits zugleich Reinkulturen von jedem Tage zu gewinnen.

Nachstehende Tabelle gibt eine Übersicht über diesen Versuch.

Tag der Probe-Entnahme	Glas I		Glas II		Glas III		Glas IV	
	Impfung von 2 Mäusen	Kultur	Impfung von 2 Mäusen	Kultur	Impfung von 2 Mäusen	Kultur	Impfung von 2 Mäusen	Kultur
18. Tag	Maus I } Maus II } gesund	rein	Maus I } Maus II } gesund	verunreinigt	Maus I + an Milzbrand Maus II gesund	rein	Maus I + an Milzbrand Maus II gesund	rein
20. Tag	Maus I } Maus II } gesund	rein	—	—	Maus I } ++ an Maus II } Milzbrand	rein	Maus I + an Milzbrand Maus II gesund	rein

Tag der Probe-Entnahme	Glas I		Glas II		Glas III		Glas IV	
	Impfung von 2 Mäusen	Kultur	Impfung von 2 Mäusen	Kultur	Impfung von 2 Mäusen	Kultur	Impfung von 2 Mäusen	Kultur
22. Tag	Maus I } Maus II } gesund	verunreinigt	—	—	Maus I } Maus II } gesund	rein	Maus I } Maus II } †† an Milzbrand	rein
24. Tag	—	—	—	—	Maus I } Maus II } gesund	rein	Maus I } Maus II } gesund	rein
29. Tag	—	—	—	—	Maus I } Maus II } gesund	verunreinigt	Maus I } Maus II } gesund	rein
30. Tag	—	—	—	—	—	—	Maus I } Maus II } gesund	verunreinigt

Das Resultat des Versuches ist nach verschiedenen Richtungen hin wichtig. Drei von den besäten 4 Gläschen enthielten am 18. Tage Reinkulturen von Milzbrandbazillen, wie die Kontrollaussaat auf der Nährgelatine ergab. Aus allen drei Gläschen wuchs die Aussaat auch dann noch, als nach der Impfung Mäuse nicht mehr starben. Die fundamentale Tatsache, daß ein virulenter Milzbrand durch ein Wachstum zwischen 42° und 43° C physiologisch unwirksam wird, ohne jedoch seine Wachstumsfähigkeit einzubüßen, war somit durch unseren Versuch bestätigt. Auffallend war es, daß die Zeit des Eintrittes der Abschwächung in den verschiedenen Gläschen außerordentlich ungleich war. Da die Gläschen unter genau denselben Versuchsbedingungen sich befunden hatten, so hätte man erwarten sollen, daß die Virulenz in allen Gläschen zu gleicher Zeit verschwunden sein würde. Ein Blick auf die Tabelle lehrt jedoch, daß in Glas I die Abschwächung schon am 18. Tage vollendet war, in Glas III am 22. Tage, in Glas IV erst am 29. Tage. Die Ursache dieser auffälligen Verschiedenheiten blieb uns vorderhand noch verborgen, wir werden später sehen, wie sich dieselben in einfacher Weise erklären lassen.

Bewahren nun diese bei Zimmertemperatur fortgesetzten Reinkulturen des gänzlich abgeschwächten Milzbrandes ihre physiologische Unwirksamkeit?

Zur Entscheidung dieser Frage dienten folgende Versuche:

Mit der ersten Kultur der am 29. Tage aus Glas IV entnommenen Milzbrandprobe wurden 2 Mäuse geimpft. Die eine Maus starb nach 5 Tagen an unzweifelhaftem Milzbrand, die andere blieb gesund.

Hiernach hatte es den Anschein, als ob die Virulenz wieder zunehme bei der Weiterkultivierung.

Mit der IV. Generation wurden alsdann geimpft:

- 2 weiße Mäuse,
- 2 Hausmäuse,
- 1 altes,
- 1 mittelgroßes,
- 1 wenige Tage zuvor geborenes Meerschweinchen.

Alle Tiere blieben gesund.

Von der V. Kulturgeneration erhielten:

- 4 Meerschweinchen je ca. $\frac{1}{3}$,
- 4 Mäuse je ca. 2 Teilstriche

des Inhaltes einer Pravazschen Spritze subkutan injiziert. Die Tiere blieben gesund.

Von der VI. Generation wurde ein 6 Stunden altes Meerschweinchen geimpft. Das Tier erkrankte nicht.

Von der VII. Generation wurden drei 8 Stunden alte Meerschweinchen geimpft, ohne jeden Erfolg.

Die Kultur dieses gänzlich abgeschwächten Milzbrandes ist seit jener Zeit fast 2 Jahre hindurch fortgesetzt worden; von Zeit zu Zeit wurden Mäuse und Meerschweinchen mit derselben geimpft, eine Rückkehr zur Virulenz hat nicht stattgefunden. Die physiologische Unwirksamkeit hat sich mithin von Generation zu Generation weiter vererbt. Die Form der Bazillen hat sich in keiner Weise verändert. Sie sind ebenso unbeweglich wie die virulenten Bazillen. Ihre Enden erscheinen scharf abgeschnitten. Sie bilden lange Fäden und in diesen ovale glänzende Sporen, ganz wie die virulenten Bazillen.

War nun dieser ganz abgeschwächte Milzbrand als Impfmateriale zur Immunisierung zu verwerten? Waren zunächst die Mäuse und Meerschweinchen, welche die Impfung resp. Injektionen mit diesem Milzbrand überstanden hatten, immun geworden? Am ehesten konnte man das erwarten von den Tieren, welche Injektionen erhalten hatten. Es wurde deshalb den 4 Mäusen und 4 Meerschweinchen, welchen Kulturen der V. Generation injiziert waren, 15 Tage später je ein Fädchen mit wirksamen Milzbrandsporen unter die Haut gebracht. Alle Tiere starben innerhalb der nächsten 3 Tage an echtem Milzbrand; eine Immunität war somit nicht erzielt.

Da der ganz abgeschwächte Milzbrand für Immunisierungszwecke nicht geeignet erschien, griffen wir auf den 24 tägigen Milzbrand zurück, welcher noch 2 Mäuse getötet hatte.

Zunächst handelte es sich auch bei diesem Milzbrand wieder darum, das Verhalten der Virulenz der bei Zimmertemperatur fortgesetzten Kulturen festzustellen.

Mit der VII. Generation in Fleischwasserpepton-Gelatine wurden geimpft:

- 2 Meerschweinchen,
- 2 Mäuse.

Die beiden Mäuse starben am 5. resp. 6. Tage an Milzbrand. Die Meerschweinchen blieben völlig gesund. Vielleicht war nun aber der Milzbrand im Körper der Mäuse wieder virulent geworden.

Um darüber Gewißheit zu erlangen, wurde

- 2 ausgewachsenen Meerschweinchen je $\frac{1}{3}$,
- 2 Mäusen je $\frac{1}{4}$

der Milz von der am 5. Tage gestorbenen Maus unter die Haut gebracht. Die Meerschweinchen blieben gesund, die Mäuse starben am 3. resp. 6. Tage an Milzbrand. Möglicherweise waren aber noch ganz junge Meerschweinchen für den Mäusemilzbrand, wie wir die bis zu diesem Grade abgeschwächten Bazillen nennen wollen, empfänglich. Lungenstückchen der zuletzt verendeten Maus wurden:

- 3 einen Tag alten Meerschweinchen,
- 1 alten Meerschweinchen,
- 2 Mäusen

unter die Haut gebracht. Die jungen Meerschweinchen starben innerhalb der nächsten 4 Tage, jedoch nicht an Milzbrand, denn es ließen sich in ihren Organen Milzbrandbazillen nicht auffinden, auch blieben zwei mit Partikelchen ihrer Milzen geimpfte Mäuse gesund. Die Mäuse starben an Milzbrand, das ältere Meerschweinchen blieb gesund. Die Lunge der einen Maus wurde auf 2 Meerschweinchen und eine Maus verimpft. Die Maus starb am 3. Tage, das Meerschweinchen blieb völlig munter. Die Organe dieser Maus wurden mit Wasser verrieben zu einem dünnen Brei. Von diesem erhielten

- 2 Meerschweinchen je 2 Pravazsche Spritzen,
- 2 Mäuse 2 resp. 4 Teilstriche

subkutan injiziert — gewiß ganz enorme Dosen. Die Mäuse starben am 2. resp. 3. Tage, die Meerschweinchen blieben gesund. Das Resultat blieb immer das gleiche: die Mäuse starben, die Meerschweinchen nicht. Auffallend war das Verhalten der Mäusemilzbrandbazillen im Körper der Maus. Während bei dem virulenten Milzbrande die Kapillaren fast ausnahmslos von kurzen Stäbchen erfüllt gefunden werden, fanden sich bei dem Mäusemilzbrande die Kapillargebiete, namentlich der Lungen, von langen Fäden erfüllt, deren Kontinuität sich häufig aus den Kapillaren bis in größere mikroskopische Gefäße hinein verfolgen ließ.

Von großem Interesse war es nunmehr, festzustellen, ob Meerschweinchen durch den Mäusemilzbrand immun gemacht werden gegen virulenten Milzbrand. Auch diese Frage mußte mit nein beantwortet werden, da alle mit diesem Milzbrand geimpften Meerschweinchen ausnahmslos der Infektion mit virulentem Milzbrand erlagen, ebenso als wenn gar keine Impfung an ihnen vorgenommen gewesen wäre.

Wenn nun auch Meerschweinchen nicht immun wurden, so konnten sich doch Hammel wesentlich anders verhalten. Vielleicht besaßen wir in dem ganz abgeschwächten Milzbrand den I. Vakzin, in dem Mäusemilzbrand den II. Vakzin. Ein Versuch sollte die Entscheidung bringen.

4 kräftige Hammel erhielten von der VI. Generation des ganz abgeschwächten Milzbrandes jeder 2 volle Spritzen auf den Innenflächen des rechten und linken Oberschenkels injiziert. Sie blieben durchaus munter. Genau 3 Wochen später erhielten sie von der X. Generation des Mäusemilzbrandes am linken Oberschenkel je eine Spritze, ein Tier Nr. VI noch eine zweite Spritze am rechten, außerdem 2 Meerschweinchen je $\frac{1}{3}$ Spritze, 2 Mäuse je 2 Teilstriche. Die Mäuse starben unter den charakteristischen Erscheinungen, das Wohlbefinden der Hammel und Meerschweinchen war, bis auf geringe Temperatursteigerungen bei den ersteren, nicht gestört. 14 Tage später wurde die Milz einer an echtem Milzbrand verendeten Maus mit Wasser verrieben. Von der filtrierten und stark verdünnten Flüssigkeit erhielt zur Probe der besonders reichlich geimpfte Hammel Nr. VI Injektionen am rechten und linken Oberschenkel zugleich mit den beiden geimpften und einem frischen Meerschweinchen. Am 2. Tage starben sämtliche Meerschweinchen sowie auch der Hammel an echtem Milzbrand, wie die Sektion ergab. Der Hammel war mithin ebensowenig immun gemacht, wie die Meerschweinchen. Von einer Impfung der anderen 3 Hammel nahmen wir deshalb Abstand. Immerhin war es ja möglich, daß unser Mäusemilzbrand dem I. Vakzin entsprach, während der II. Vakzin noch virulenter war. Um den passenden II. Vakzin zu finden, waren wir nun auf ein sehr kostspieliges Experimentieren an Hammeln mit Kulturen, welche an verschiedenen Tagen zu entnehmen und weiter zu kultivieren waren, angewiesen, da Angaben über die Kriterien des II. Vakzin von Pasteur nicht gemacht worden waren. Kurz vor Beginn dieser Versuche erschien in der Deutschen Medizinischen Wochenschrift der Bericht v. Roszahegyis über die Versuche, welche von Thuillier im Auftrage Pasteurs in Ungarn vor einer Kommission angestellt waren. In diesem Berichte fanden sich auch Angaben über die Vakzins. Nach Mitteilungen Thuilliers wird als I. Vakzin ein Milzbrand verwandt, welcher 24 Tage, als II. Vakzin ein solcher, welcher 12 Tage zwischen 42° und 43° C gehalten war. Daß diese Angabe für den Grad der Virulenz nicht absolut maßgebend sein konnte, erhellte schon aus unserem ersten Versuche, bei welchem in dem einen Glase nach 18 Tagen bereits vollständige Abschwächung eingetreten war, während in einem anderen nach 24 Tagen noch eine gewisse Virulenz bestand.

Immerhin aber sahen wir uns veranlaßt, uns einen 12 tägigen Milzbrand, sowie außerdem noch, um bei späteren Schutzimpfungen ganz sicher zu gehen, d. h. um unseren verhältnismäßig kleinen Hammelbestand so wenig wie möglich durch eventuelle Verluste

bei den Probeimpfungen zu reduzieren, einen 6 tägigen Milzbrand zu züchten, welcher als III. Vakzin noch eingeschaltet werden sollte zwischen der Impfung mit dem II. Vakzin und der Probeimpfung mit virulentem Material. Eine Maus wurde mit virulentem Milzbrand geimpft, aus der Milz wurde eine Reinkultur in Nährgelatine auf Objektträgern gewonnen und mit Teilchen dieser Reinkultur eine Anzahl Erlenmeyer'scher Kölbchen beschickt. Nach 6 Tagen wurde eine Probe entnommen und ausgesät auf Nährgelatine; desgleichen am 12. Tage, aber aus einem anderen Gläschen, da die Kultur im ersten Gläschen inzwischen verunreinigt war. Der am 6. Tage entnommene Milzbrand wuchs üppig gleich bei der Aussaat, der am 12. Tage entnommene wuchs in den Impfstrichen ziemlich kümmerlich, jedoch schon in der II. Generation ganz normal.

Von der III. Generation dieses 12tägigen Milzbrandes erhielten die 3 Hammel, welche bereits 5 Wochen früher eine Injektion des ganz abgeschwächten und des Mäusemilzbrandes überstanden hatten, je eine Spritze am rechten Oberschenkel injiziert, mit ihnen zugleich 30 Meerschweinchen, welche bereits die Impfung mit dem Mäusemilzbrand überstanden hatten, eine Injektion von 2 Teilstrichen unter die Haut. Die Hammel waren kaum merklich affiziert, sie hinkten ein wenig mit dem Beine, an welchem sie die Injektion erhalten hatten, auch die Meerschweinchen waren bis auf einzelne Individuen munter. Am 7. Tage starben 2 Meerschweinchen, am 8. Tage unerwarteterweise ein Hammel und ein Meerschweinchen und endlich am 10. Tage noch ein zweites Meerschweinchen, alle Tiere, wie die Sektion ergab, an unzweifelhaftem Milzbrand. Bei den Meerschweinchen waren die lokalen Erscheinungen auffallend stark entwickelt: ein blutig gelbliches, sulziges Oedem des subkutanen Gewebes breitete sich von der Impfstelle fast über die Hälfte des Körpers aus.

14 Tage später erhielten nun die beiden überlebenden Hammel je $\frac{1}{2}$ Spritze von der IV. Generation des 6 tägigen Milzbrandes in neutraler Hühnerbouillon injiziert — zugleich auch die 26 restierenden Meerschweinchen sowie 3 ungeimpfte 6 Tage alte Meerschweinchen eine Injektion von je 2 Teilstrichen derselben Kultur. Die Hammel blieben durchaus munter. Zwei von den 6 Tage alten Meerschweinchen starben am 3. resp. 5. Tage nach der Impfung an Milzbrand. Am 4., 5. und 10. Tage starben 3 von den geimpften Meerschweinchen an Milzbrand, wiederum mit vorwiegend lokalen Erscheinungen. Im Laufe der nächsten 14 Tage starben außerdem noch 4 Meerschweinchen an Inhalationstuberkulose und das dritte 6 Tage alte Meerschweinchen an einer Pneumonie.

Nach Ablauf von 14 Tagen wurde die Probeimpfung der beiden Hammel und der 19 Meerschweinchen vorgenommen mit geringen Partikelchen Lunge einer am echten Milzbrand verendeten Maus. Zur Kontrolle wurde ein nicht geimpfter Hammel mitgeimpft. Am 2. Tage starb der Kontrollhammel an echtem Milzbrand, aber auch einer der vorgeimpften Hammel, gleichfalls an typischem Milzbrand. Die Meerschweinchen fielen sämtlich innerhalb der ersten 3 Tage. Der zweite vorgeimpfte Hammel war augenscheinlich krank, erholte sich jedoch bald und war nach ca. 8 Tagen wieder völlig munter.

Das Resultat dieses Versuches war durchaus nicht ein günstiges zu nennen. Nach der Injektion des 12 tägigen Milzbrandes war ein Hammel an Milzbrand gefallen — die Virulenz des Impfmaterials konnte demnach nicht ganz gering gewesen sein; der 6 tägige Milzbrand dessen Virulenz aus dem Tode von 2 jungen nicht geimpften und von 3 alten mehrere Male vorgeimpften Meerschweinchen erhellte, war gut vertragen worden — und trotz alledem ging bei der Probeimpfung ein Hammel an Milzbrand zugrunde. Das Resultat stimmt durchaus nicht mit den verlustlosen Impfungen und Probeimpfungen P a s t e u r s.

Soviel ging jedoch aus diesem Versuche hervor: Meerschweinchen lassen sich auch nach dem P a s t e u r s c h e n Verfahren ebenso wenig immun machen gegen Milzbrand, wie nach dem T o u s s a i n t s c h e n Verfahren.

Sollten wir nun mit den uns jetzt zu Gebote stehenden Vakzins einen größeren Versuch wagen? Das Ergebnis der Vorversuche flößte uns nicht allzu großes Zutrauen ein. Vielleicht war es möglich, noch einen Milzbrand zu finden von etwas höherer Virulenz wie der von uns benutzte 6 tägige, welcher noch als Zwischenstufe vor der Probeimpfung mit dem virulenten Milzbrande eingeschaltet werden konnte. Der Versuch wurde so angeordnet, daß eine größere Anzahl von Gläschen mit Hühnerbouillon beschickt und mit Milzbrand besät wurden. Tag für Tag wurden Proben entnommen von der Kultur und mit diesen je eine Maus und 2 Meerschweinchen unter die Haut geimpft, außerdem Kulturen in Fleischwasserpepton-Gelatine auf Objektträgern angesetzt. Die Entnahme der Proben geschah mit einem zu einer Öse umgebogenen Platindraht und solange aus demselben Gläschen, bis die Kultur durch aus der Luft hineingelangte Keime verunreinigt war. Der Versuch wurde 24 Tage hindurch fortgesetzt. Der d'A r s o n v a l s c h e Apparat stand stets über 42°.

Nachfolgende Tabelle gibt eine Übersicht über den Verlauf des Versuches: Die Entnahme begann am dritten Tage:

Tag der Probe-Entnahme	Nummer des Glases	I m p f u n g		Kultur
		von 2 Meerschweinchen	von einer Maus	
3. Tag	Glas I	Meerschweinchen I } †† am 2. Tage Meerschweinchen II }	Maus † am 3. Tage	rein
4. Tag	Glas I	Meerschweinchen I } †† am 3. Tage Meerschweinchen II }	Maus † am 2. Tage	rein
5. Tag	Glas I	Meerschweinchen I † am 3. Tage Meerschweinchen II gesund	Maus † am 4. Tage	rein
6. Tag	Glas I	Meerschweinchen I † am 5. Tage Meerschweinchen II † am 6. Tage	Maus † am 5. Tage	rein
7. Tag	Glas I	Meerschweinchen I } gesund Meerschweinchen II }	Maus † am 2. Tage	rein
8. Tag	Glas I	Meerschweinchen I † am 4. Tage Meerschweinchen II gesund	Maus † am 3. Tage	verunreinigt
9. Tag	Glas II	Meerschweinchen I } †† am 2. Tage Meerschweinchen II }	Maus † am 3. Tage	rein
10. Tag	Glas II	Meerschweinchen I † am 2. Tage Meerschweinchen II † am 3. Tage	Maus † am 4. Tage	verunreinigt
11. Tag	Glas III	Meerschweinchen I } †† am 2. Tage Meerschweinchen II }	Maus † am 2. Tage	rein
12. Tag	Glas III	Meerschweinchen I † am 2. Tage Meerschweinchen II † am 3. Tage	Maus † am 2. Tage	rein
13. Tag	Glas III	Meerschweinchen I † am 2. Tage Meerschweinchen II † am 3. Tage	Maus † am 1. Tage	rein
14. Tag	Glas III	Meerschweinchen I } †† am 2. Tage Meerschweinchen II }	Maus † am 2. Tage	verunreinigt
15. Tag	Glas IV	Meerschweinchen I } gesund Meerschweinchen II }	Maus † am 3. Tage	nichts gewachsen
16. Tag	Glas IV	Meerschweinchen I † am 2. Tage Meerschweinchen II gesund	Maus † am 2. Tage	nichts gewachsen
17. Tag	Glas V	Meerschweinchen I } † am 2. Tage Meerschweinchen II }	Maus † am 3. Tage	vereinzelte Kolonien kräftig gewachsen

Tag der Probe-Entnahme	Nummer des Glases	I m p f u n g		Kultur
		von 2 Meerschweinchen	von einer Maus	
18. Tag	Glas V	Meerschweinchen I † am 2. Tage Meerschweinchen II † am 6. Tage	Maus gesund	rein
19. Tag	Glas V	Meerschweinchen I † am 3. Tage Meerschweinchen II gesund	Maus gesund	kümmerliches Wachstum
20. Tag	Glas V	Meerschweinchen I } gesund Meerschweinchen II } gesund	Maus gesund	vereinzelte Kolonien
21. Tag	Glas V	Meerschweinchen I † am 2. Tage, ob an Milzbrand? (bis auf die Haut aufgefressen) Meerschweinchen II gesund	Maus gesund	eine Kolonie
22. Tag	Glas V	Meerschweinchen I } gesund Meerschweinchen II } gesund	Maus † am 5. Tage	verunreinigt
23. Tag	Glas VI	Meerschweinchen I } gesund Meerschweinchen II } gesund	Maus † am 4. Tage	nichts gewachsen
24. Tag	Glas VII	Meerschweinchen I † am 3. Tage Meerschweinchen II gesund	Maus † am 6. Tage	nichts gewachsen

Bei der Betrachtung dieses Versuches fällt zunächst das außerordentlich ungleiche Verhalten des Milzbrandes in den einzelnen Gläschen auf, wiewohl sie doch alle unter gleichen Bedingungen gehalten waren. Es bestätigt dieser Versuch die schon bei unserem ersten Versuche gemachte Beobachtung, daß die Abschwächung in verschiedenen Gläschen außerordentlich ungleichmäßig vor sich geht. Während in Glas I bereits am 6. Tage eine gewisse Abschwächung sich dadurch bemerkbar machte, daß die Meerschweinchen erst am 5. resp. 6. Tage starben und am 7. Tage schon kein Meerschweinchen mehr getötet wurde, war in Glas III am 14. Tage die Virulenz noch eine derartige, daß man einen Unterschied zwischen diesem und einem virulenten Milzbrande nicht erkennen konnte, in Glas V war am 17. Tage die Virulenz des Mäusemilzbrandes noch nicht vernichtet. 3 Tage später, am 20. Tage, stirbt weder Meerschweinchen noch Maus, jedoch ist der Milzbrand nicht etwa tot — denn er wächst ja noch in den Kulturen. Auch jetzt konnten wir den Grund für die Ungleichmäßigkeit in der Abschwächung noch nicht enträtseln.

Auffallend ist es, daß mehrfach nach der Aussaat in Fleischwasserpepton-Gelatine der Milzbrand nicht mehr gewachsen ist, so am 15. und 16. Tage aus Glas IV, am 23. und 24. Tage aus Glas VI und VII, während doch noch unzweifelhaft lebensfähige Keime in der Kultur vorhanden waren, da die geimpften Mäuse resp. Meerschweinchen starben. Aus Glas V wuchsen, als die Abschwächung bemerkbar zu werden anfang, nur vereinzelte Kolonien, und zwar ist deren Wachstum kümmerlich genannt. Während die Milzbrandkolonien in der Gelatine normal so wachsen, daß sich lange kräftige Fäden entwickeln, welche am Rande der Kolonie umbiegen, sich vielfach verflechten und drehen, zeigte sich bei diesen Kolonien keine so kräftige Fadenentwicklung: Die Kolonie blieb im ganzen kleiner, die Fäden waren kurz, stark gewunden, „gekräuselt“; bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten die einzelnen Glieder gewisse Veränderungen der Form, sie waren an den Enden bisweilen kolbig aufgetrieben, die scharfen Konturen waren verwischt, so daß sie ein mehr wurstartiges Aussehen boten. Diese abnorme Entwicklung zeigte sich jedoch nur in der ersten Generation; sobald eine solche Kultur in eine neue Gelatine übergeimpft war, bot sie sogleich das typische Bild des Milzbrandwachstums in der Gelatine. Höchstwahrscheinlich ist daher dieses pathologische Wachstum veranlaßt durch den Einfluß der mitverimpften Zersetzungsprodukte, welche sich in der Hühnerbouillon durch das Wachsen der Milzbrandbazillen gebildet haben.

Ein störendes Moment markiert sich sehr deutlich in diesem Versuche. Trotz aller Kautelen ist es nicht möglich, aus einem und demselben Gläschen Tag für Tag Proben zu entnehmen, ohne daß nach kürzerer oder längerer Frist eine Verunreinigung durch Keime, welche aus der Luft bei der Probeentnahme hineinfallen, sich einstellt. Es ist dieses Verhalten um so störender, da ja die verschiedenen Gläschen in bezug auf die Abschwächung sich durchaus verschieden verhalten. Wir werden später sehen, wie diesem Übelstande abgeholfen werden kann.

Welche von diesen verschiedenen Milzbrandkulturen konnten wir nun als II. Vakzin ansprechen? Aus Glas I erschien uns der 6 tägige besonders geeignet. Derselbe hatte zwar noch 2 Meerschweinchen getötet, doch erst am 5. resp. 6. Tage, der 7 tägige aus Glas I entsprach ungefähr unserem Mäusemilzbrand, da er die beiden Meerschweinchen nicht mehr, wohl aber noch die Maus getötet hatte. Aus Glas V schien uns der 18- und 17 tägige eines Versuches wert für eine 2. resp. 3. Impfung.

Zur Orientierung dienten einige mit den fortgesetzten Kulturen des 6 tägigen, 18 tägigen und 17 tägigen Milzbrandes angestellte Versuche.

6 Meerschweinchen,
2 Mäuse

wurden mit einer Kultur des 6 tägigen geimpft. Nach 2 Tagen starben die Mäuse, nach 9 Tagen ein Meerschweinchen an Milzbrand, nach 15 Tagen ein zweites, aber nicht an Milzbrand, sondern an einer Pneumonie. Da dieser 6 tägige von 6 Meerschweinchen eines tötete, war er virulenter wie der früher von uns benutzte 12 tägige.

Von dem 18 tägigen erhielten:

10 Meerschweinchen,
5 Mäuse

eine Injektion, und zwar die Meerschweinchen die Dosis von 2 Teilstrichen, die Mäuse von ca. 1 Tropfen. 2 Mäuse starben nach 2 Tagen, 2 nach 4, 1 nach 7 Tagen an Milzbrand. Die Meerschweinchen blieben sämtlich gesund, 1 Meerschweinchen starb nach einigen Tagen jedoch an Tuberkulose. Die fortgesetzten Kulturen des 18 tägigen erwiesen sich somit, ebenso wie die des 6 tägigen, schwächer als das ursprünglich aus diesen Gläschen entnommene und zur Impfung verwandte Material.

Nach einer Impfung mit einer Kultur des 17 tägigen starben von 4 Meerschweinchen 3 nach 2 Tagen, das 4. überstand die Impfung. Hiernach konnte das 17 tägige etwa einen kräftigen II. Vakzin darstellen.

Der Hammel-Immunsierungsversuch gestaltete sich nun folgendermaßen: Es erhielten

14 Hammel jeder $\frac{3}{4}$ Spritzen einer Kultur unseres Mäusemilzbrandes an der Innenfläche des linken Oberschenkels injiziert, zur Kontrolle wurden 2 Mäuse geimpft. Die Mäuse starben an Milzbrand, die Hammel blieben durchaus gesund.

4 Wochen nach der 1. Injektion wurde denselben 14 Hammeln $\frac{1}{3}$ Spritze des alten 12 tägigen Milzbrandes an der Innenfläche des rechten Oberschenkels beigebracht, zugleich 41 Meerschweinchen, welche bereits Impfungen mit abgeschwächten Kulturen überstanden hatten, dieselbe Dosis am Bauch, 3 Mäusen je 1 Teilstrich am Rücken.

Die Mäuse starben, eine am 3., die beiden anderen am 4. Tage an Milzbrand. Die Hammel zeigten keine Störungen ihres Wohlbefindens, aber auch die Meerschweinchen blieben durchaus munter. Die Kultur, welche früher von 30 Meerschweinchen 4 getötet hatte, tötete jetzt von 41 Meerschweinchen kein einziges. Entweder war, entgegen unseren bisherigen Erfahrungen, diesen Meerschweinchen durch die früheren Impfungen

ein gewisser Schutz verliehen worden, oder aber die Virulenz hatte in der 3 Monate hindurch von Nährgelatine zu Nährgelatine fortgesetzten Kultur eine merkliche Einbuße erlitten. Ein Probeversuch ergab, daß die letztere Erklärung die richtige war, denn 10 frische, nicht vorgeimpfte Meerschweinchen vertrugen Injektionen dieses 12 tägigen Milzbrandes, ohne in ihrem Wohlbefinden gestört zu werden.

14 Tage nach der 2. Injektion ließen wir nun eine 3. Injektion mit einer Kultur des neuen 6 tägigen Milzbrandes folgen; es erhielten die

- 14 Hammel je $\frac{1}{3}$ Spritze am linken Oberschenkel,
- 41 Meerschweinchen je 2 Teilstriche am Bauch,
- 3 Mäuse je 1 Teilstrich am Rücken.

Nach 2 Tagen starben 2 Mäuse und 1 Meerschweinchen, nach 3 Tagen die dritte Maus, nach 6 Tagen ein zweites, nach 15 Tagen ein drittes Meerschweinchen, alle an Milzbrand.

Die Meerschweinchen boten wie die in den früheren Versuchen an abgeschwächtem Milzbrand verstorbenen besonders stark ausgeprägte Veränderungen an der Impfstelle, sehr erhebliche, blutig-gelbliche, sulzige Ödeme des subkutanen Gewebes. Die Hammel erschienen in keiner Weise affiziert.

Nunmehr glaubten wir die Kultur des 17 tägigen Milzbrandes, welche von 4 Meerschweinchen 3 getötet hatte, versuchen zu dürfen.

4 Wochen nach der dritten Impfung wurden zur Probe mit der Kultur des 17 tägigen Milzbrandes geimpft:

- 5 Hammel,
- 6 Meerschweinchen.

Am dritten Tage starben 4 Meerschweinchen und 1 Hammel, am 4. Tage 2 Meerschweinchen und 3 Hammel, der 5. Hammel war krank, überstand jedoch die Impfung.

Dies Resultat hatten wir nicht erwartet. Der 18 tägige Milzbrand tötete keine Meerschweinchen mehr, der 17 tägige Meerschweinchen und Hammel. Vielleicht lag hier eine Rückkehr zur Virulenz vor, deren Ursachen wir nicht kannten, oder aber es war in dem Gläschen, aus welchem die Probe am 17. Tage entnommen war, eine Sporenbildung eingetreten, und in der Probe waren zufällig einige virulente Sporen enthalten gewesen, welche ausgesät, gewachsen und später weiterkultiviert waren.

Eine andere Beobachtung machte diese Annahme noch wahrscheinlicher. Am 24. Tage war aus Glas VII eine Probe entnommen und verimpft worden. Ein Meerschweinchen starb am 3. Tage nach der Impfung. Aus der Milz dieses Meerschweinchens war eine Kultur gewonnen und weitergeführt worden. Um die Virulenz dieses Milzbrandes festzustellen, wurden 2 von den dreimal geimpften Hammeln und 6 vorgeimpfte Meerschweinchen damit geimpft.

Sämtliche Meerschweinchen und auch die beiden Hammel starben. Auch in diesem Falle war eine andere Erklärung kaum möglich. Es mußte eine, wenn auch geringe Sporenbildung in dem Gläschen stattgefunden haben. Einige von diesen Sporen mußten in einer der Proben enthalten gewesen sein und nach der Impfung den Tod des Meerschweinchens herbeigeführt haben.

Daß bisweilen eine solche Sporenbildung vorkommen kann, war schon durch frühere Versuche sichergestellt. Es wurde auf diesen Punkt stets ein besonderes Augenmerk gerichtet. Beweisend für die Richtigkeit unserer Ansicht ist nun aber folgender Versuch:

4 Gläschen mit neutraler Hühnerbouillon waren mit virulentem Material besät und in den Apparat von d'Arsonval gebracht worden. Die Temperatur im Apparat war stets über 42°, jedoch nahe an 42° C. Nach 6 Tagen wurden Glas I und II mikroskopisch untersucht. Beide Gläser zeigten einen zum Teil flockigen Bodensatz, welcher sich durch Schütteln gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilen ließ. Beide Kulturen bestanden nur aus Milzbrandbazillen, in beiden Gläschen fanden sich in einer Anzahl von Stäbchen ovale, stark glänzende Körperchen, welche man unzweifelhaft für Sporen ansehen mußte. Aus Glas I wurde eine Probe ausgesät in Nährgelatine, die zweite Generation der Kultur tötete 4 Meerschweinchen in 2 Tagen.

Das Glas III wurde am 11. Tage untersucht: die Bazillen boten genau dasselbe Verhalten, 4 mit der III. Generation geimpfte Meerschweinchen erlagen prompt an Milzbrand.

Am 16. Tage wurden Proben aus Glas IV entnommen — in keinem Präparat fanden sich Sporen. Aus Glas I und IV wurden jetzt Proben ausgesät. Mit der III. resp. V. Generation des 16 tägigen Milzbrandes aus Glas IV wurden je 4 Meerschweinchen am Bauche geimpft. Alle blieben munter. Mit der IV. Generation des 16 tägigen Milzbrandes aus Glas I wurden 8 Meerschweinchen, welche schon 3 Injektionen mit abgeschwächten Kulturen erhalten hatten, geimpft. Innerhalb der nächsten 3 Tage waren alle 8 an echtem Milzbrand erlegen. Nach diesem Versuche konnten wir nicht umhin, die Virulenz des 17 tägigen und 24 tägigen Milzbrandes durch eine im Beginne des Versuches stattgehabte Sporenbildung zu erklären.

In Besitz eines geeigneten II. Vakzin waren wir auch durch den letzten Versuch nicht gelangt. Wir mußten deshalb noch einen neuen Versuch beginnen, um durch eine Prüfung der von Tag zu Tag entnommenen Proben an Hammeln die geeignete Abschwächung herauszufinden. Da sich Mäuse, Meerschweinchen und Hammel sehr different verhielten, so konnten vielleicht auch Kaninchen ein abweichendes Verhalten zeigen: vielleicht gelang es mit Hilfe dieser Tierspezies einen geeigneten Maßstab für den II. Vakzin zu finden. Zu diesem Zwecke mußten stets eine Anzahl Kaninchen und Meerschweinchen zu gleicher Zeit von derselben Kultur geimpft werden. Wie wir bereits früher gesehen haben, liegt bei der täglichen Entnahme von Proben aus demselben Glase die Gefahr der Verunreinigung der Kultur durch Keime aus der Luft sehr nahe. Wenn, wie wir annahmen, die Temperatur das hauptsächlich wirksame abschwächende Agens darstellte, so war zu erwarten, daß sich die Abschwächung vollziehen würde, gleichviel ob die Kultur in demselben Glase gehalten oder ob sie Tag für Tag in ein anderes Glas mit frischer Hühnerbouillon weitergeimpft wurde. Wenn man jedesmal in 2 Gläschen weiterimpfte, so war die Wahrscheinlichkeit, wenigstens in dem einen eine nicht verunreinigte Kultur zu erhalten, sehr groß. Auf diese Weise war zugleich ein sehr bequemes Mittel gegeben, um Sporen der Kulturen von jedem einzelnen Tage zu erhalten. Man hatte nur nötig, das Gläschen, aus welchem z. B. am 6. Tage weitergeimpft war, bei einer Temperatur von 37° C aufzustellen, um eine üppige Sporenbildung in der vorher 6 Tage bei 42—43° C gehaltenen Kultur zu erzielen.

Während in einer Reihe von Glas zu Glas weitergeimpft wurde, so daß aus jedem Gläschen nur eine einmalige Probeentnahme stattfand, wurden aus 3 während der ganzen Versuchsdauer im Apparat verbleibenden Gläschen (a, b, c der Tabelle) täglich Proben entnommen, in Kölbchen mit Hühnerbouillon ausgesät und zur Sporenbildung bei 37° C aufgestellt. Die Temperatur im d'Arsonvalschen Apparat wurde Tag für Tag genau notiert, da, wie wir später sehen werden, die absolute Höhe derselben von ganz wesentlichem Einfluß ist auf die Schnelligkeit der Abschwächung.

Der Verlauf der Untersuchung war folgender:

Zeitlicher Verlauf des Versuches	Temperatur des Apparates	Es wurde besät und bei 42—43° C aufgestellt	Es wurden bei 37° C zur Sporenbildung aufgestellt	Bemerkungen
Beginn	42,5	Glas I, Glas a, Glas b, Glas c mit Milz einer an virulentem Milzbrand verendeten Maus		Die Gläser I, II, III usw. blieben immer nur je 24 Stunden, die 3 Gläser a, b, c während der ganzen Versuchsdauer im Apparate bei 42-43° C
Ende des 1. Tages	42,4	Glas II aus Glas I	Glas I	
Ende des 2. Tages	42,5	Glas III aus Glas II	Glas II	
Ende des 3. Tages	42,6	Glas IV aus Glas III	Glas III	
Ende des 4. Tages	42,6	Glas V aus Glas IV	Glas IV	4 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 5. Tages	42,6	Glas VI aus Glas V	Glas V	5 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 6. Tages	42,6	Glas VII a aus Glas VI Glas VII b aus Glas VI	Glas VI	6 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 7. Tages	42,5	Glas VIII a aus Glas VII a Glas VIII b aus Glas VII b	Glas VII a Glas VII b	7 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 8. Tages	42,6	Glas IX a aus Glas VIII a Glas IX aa aus Glas VIII a	Glas VIII a Glas VIII b	8 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 9. Tages	42,5	Glas X a aus Glas IX a Glas X aa aus Glas IX aa	Glas IX a Glas IX aa	9 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 10. Tages	42,6	Glas XI a aus Glas X a Glas XI aa aus Glas X aa	Glas X a Glas X aa	10 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 11. Tages	42,5	Glas XII a aus Glas XI a Glas XII aa aus Glas XI aa	Glas XI a Glas XI aa	11 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 12. Tages	42,5	Glas XIII a aus Glas XII a Glas XIII aa aus Glas XII aa	Glas XII a Glas XII aa	12 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 13. Tages	42,6	Glas XIV a aus Glas XIII a Glas XIV aa aus Glas XIII aa	Glas XIII a Glas XIII aa	13 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 14. Tages	42,6	Glas XV a aus Glas XIV a Glas XV aa aus Glas XIV aa	Glas XIV a Glas XIV aa	14 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 15. Tages	42,6	Glas XVI a aus Glas XV a Glas XVI aa aus Glas XV aa	Glas XV a Glas XV aa	15 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 16. Tages	42,4	Glas XVII a aus Glas XVI a Glas XVII aa aus Glas XVI aa	Glas XVI a Glas XVI aa	16 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 17. Tages	42,4	Glas XVIII a aus Glas XVII a Glas XVIII aa aus Glas XVII aa	Glas XVII a Glas XVII aa	17 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 18. Tages	42,2	Glas XIX a aus Glas XVIII a Glas XIX aa aus Glas XVIII aa	Glas XVIII a Glas XVIII aa	18 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 19. Tages	42,3	Glas XX a aus Glas XIX a Glas XX aa aus Glas XIX aa	Glas XIX a Glas XIX aa	19 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 20. Tages	42,2	Glas XXI a aus Glas XX a Glas XXI aa aus Glas XX aa	Glas XX a Glas XX aa	20 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 21. Tages	42,2		Glas XXI a	21 tägiger Milzbrand a, b, c
Ende des 22. Tages	42,4			
Ende des 23. Tages	42,4			
Ende des 24. Tages	42,3		Glas XXI aa	Kräftiges Wachstum einzelner Flocken in allen Gläsern XVIII, XIX, XX, XXI. In den mit dem 17-, 18-, 19-, 20-, 21 tägigen Milzbrand besäten Gläsern gleichmäßige Trübung Bezeichnet als Glas XXIV

Mit dem 24. Tage wurde dieser Versuch abgeschlossen, da wir nach unseren früheren Versuchen annehmen konnten, die vollkommene Abschwächung erreicht zu haben. Im ganzen waren 93 Gläschen mit neutraler Hühnerbouillon geimpft worden. Nur einzelne wenige waren verunreinigt durch fremde Organismen, selbst zwei von den Gläschen a, b, c, waren rein geblieben, da die Entnahme der Proben in einem wenig besuchten, nahezu staubfreien Raum, im Brütraum selbst, vorgenommen wurde. In allen Gläschen hatten sich bei der Temperatur von ca. 37° C, in welcher jedes Gläschen etwa 5 Tage belassen wurde, reichliche Sporen entwickelt. Die verschiedenen Abschwächungsstufen des Milzbrandes waren somit fixiert und konnten wir nun in aller Muße die Prüfung der Virulenz vornehmen.

Zunächst kam es darauf an, zu konstatieren, ob die Abschwächung in den beiden Reihen, in den täglich fortgesetzten Kulturen sowie in den in denselben Gläschen belassenen Kulturen gleichmäßig vor sich gegangen war. Zur Orientierung dienten einige vergleichende Versuche.

Aus Glas VI und mit 6 tägigen Milzbrand a wurden je 2 Kaninchen und 2 Meerschweinchen geimpft, sämtliche Tiere starben an Milzbrand.

Aus Glas XII und mit 12 tägigen Milzbrand a wurde je ein Meerschweinchen und eine Maus geimpft. Die Mäuse starben — die Meerschweinchen nicht. Mithin bestand gleiche Virulenz in beiden Kulturen.

Aus Glas XX und mit 20 tägigen Milzbrand a werden je 2 Meerschweinchen und 2 Mäuse geimpft. Wiederum starben die Mäuse, die Meerschweinchen nicht.

Durch diese Vorversuche war demnach bewiesen, daß nach der von uns in Anwendung gezogenen, für die Reinkultur des abgeschwächten Milzbrandes erheblich sicheren Methode die Abschwächung in gleicher Weise erzielt werden konnte wie nach der von Pasteur befolgten Methode. Wir ließen nunmehr die aus den Gläsern a, b, c entstammenden Kulturen beiseite und unterzogen nur die von Glas zu Glas weitergezüchteten Kulturen einer eingehenden Prüfung in bezug auf ihr Verhalten gegen Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse.

Es wurden geimpft:

Nummer des Glases	Zahl der geimpften Tiere	Nicht gestorben	An Milzbrand gestorben	Tage nach der Impfung
aus Glas IV	3 Kaninchen		3	3, 3, 3
aus Glas V	3 Kaninchen		3	3, 3, 3
aus Glas VI	3 Kaninchen 2 Meerschweinchen		3 2	4, 5, 6 2, 2
aus Glas VII	3 Kaninchen 2 Meerschweinchen		3 2	3, 3, 4 3, 3
aus Glas VIII	3 Kaninchen 2 Meerschweinchen		3 2	3, 3, 3 2, 3
aus Glas IX	3 Kaninchen 2 Meerschweinchen	1 1	2 1	3, 3 3
aus Glas X	3 Kaninchen 2 Meerschweinchen	3 2	— —	
aus Glas XI	3 Kaninchen 2 Meerschweinchen	3 1	— 1	5

Nummer des Glases	Zahl der geimpften Tiere	Nicht gestorben	An Milzbrand gestorben	Tage nach der Impfung
aus Glas XII	2 Meerschweinchen 3 Mäuse	2	— 3	2, 2, 2
aus Glas XIII	2 Meerschweinchen 3 Mäuse	2	— 3	1, 2, 2
aus Glas XIV	2 Meerschweinchen 3 Mäuse	2	— 3	1, 2, 2
aus Glas XV	2 Meerschweinchen 3 Mäuse	2	— 3	2, 2, 2
aus Glas XVI	3 Mäuse		3	2, 4, 5
aus Glas XVII	3 Mäuse		3	2, 3, 4
aus Glas XVIII	3 Mäuse		3	2, 2, 2
aus Glas XIX	3 Mäuse		3	2, 2, 2
aus Glas XX	3 Mäuse		3	1, 2, 3
aus Glas XXIV	2 Mäuse		2	2, 2

Nach dieser Übersicht trat vom 8. zum 10. Tage ein ziemlich steiler Abfall der Virulenz ein; während die 8 tägige Kultur alle Kaninchen und Meerschweinchen tötete, wurde durch die 10 tägige kein Kaninchen und Meerschweinchen mehr tödlich infiziert. Die 9 tägige tötete von 3 Kaninchen 2 und von 2 Meerschweinchen 1. Diese Kultur schien demnach besonders gut als stärkerer Impfstoff verwertbar. Die Kulturen vom 10. bis 24. Tage repräsentieren den sogenannten Mäusemilzbrand, da alle mit den verschiedenen Kulturen geimpften Mäuse starben. Eine vollständige Abschwächung war mit dem 24. Tage noch nicht erreicht, vielleicht deswegen, weil in den letzten Tagen die Temperatur im Apparat um mehrere Zehntel niedriger war, wie im Beginn des Versuches.

Um nun eine verlässliche Immunisierung einer Anzahl Hammel zu erreichen und um womöglich auch eine Anzahl Kaninchen und Meerschweinchen immun zu machen, beschlossen wir uns nicht mit einer zweimaligen Schutzimpfung zu begnügen, sondern deren mehrere mit Kulturen von immer höherer Virulenz vorzunehmen.

Wir wählten deshalb Kulturen vom 15. Tage als I. Impfstoff, vom 11. Tage als II. Impfstoff, vom 9. Tage als III. Impfstoff, vom 5. Tage als IV. Impfstoff, um dann erst die Probeimpfung mit unserem außerordentlich virulenten alten Milzbrand folgen zu lassen.

Die Impfungen mit den Kulturen vom 9. bis 15. Tage hatten überstanden 12 Meerschweinchen und 7 Kaninchen. Dieselben wurden zu dem folgenden Versuche mit verwertet. Ein Meerschweinchen starb an einer anderen Krankheit. Die restierenden 11 Meerschweinchen und 7 Kaninchen wollen wir zur Unterscheidung von anderen in diesem Versuche geimpften Meerschweinchen resp. Kaninchen als Gruppe A bezeichnen.

Es erhielten eine Injektion von einer aus den Sporen bereiteten frischen Kultur des 15 tägigen:

- 7 Hammel je $\frac{1}{3}$ Spritze am linken Oberschenkel,
- 2 frische Meerschweinchen (Gruppe B) 2 Teilstriche,
- 2 frische Meerschweinchen (Gruppe C) eine subkutane Impfung.

Alle Tiere blieben munter.

10 Tage später erhielten eine Injektion des 11 tägigen Milzbrandes:

- 7 Hammel je $\frac{1}{2}$ Spritze am rechten Oberschenkel,
- 7 Kaninchen und 11 Meerschweinchen (Gruppe A) je $\frac{1}{3}$ Spritze,
- 2 Meerschweinchen (Gruppe B) je 2 Teilstriche subkutan am Bauch,
- 2 Meerschweinchen (Gruppe C) eine Impfung,
- 2 Mäuse eine Impfung.

Die beiden Mäuse starben nach 2 resp. 5 Tagen an Milzbrand, ein Meerschweinchen A nach 7 Tagen an Milzbrand mit ausgesprochenen lokalen Erscheinungen. Alle übrigen Tiere blieben gesund. 2 Hammel starben nach 8 resp. 12 Tagen an Pneumonien.

14 Tage später erhielten eine Injektion des 9 tägigen:

- 5 Hammel je $\frac{1}{3}$ Spritze am linken Oberschenkel,
- 7 Kaninchen A 2 Teilstriche,
- 10 Meerschweinchen A 2 „
- 2 „ B 2 „
- 2 „ C eine Impfung,
- 2 Mäuse eine Impfung.

Es starben: 2 Kaninchen A nach 2 resp. 3 Tagen,
 6 Meerschweinchen A, eins nach 2, drei nach 3, eins nach 5, eins nach 7 Tagen,
 2 Meerschweinchen B nach 4 resp. 7 Tagen,
 2 „ C nach 4 resp. 6 Tagen,
 2 Mäuse nach 2 Tagen.

Die Hammel waren etwas traurig, erholten sich jedoch schnell.

Ein Kaninchen A starb 2 Wochen nach der Impfung an Tuberkulose.

4 Wochen später erhielten von der Kultur des 5 tägigen Milzbrandes:

- 5 Hammel je 3 Teilstriche am rechten Oberschenkel,
- 4 Kaninchen A je einen Teilstrich,
- 4 Meerschweinchen A je einen Teilstrich,
- 1 frisches Meerschweinchen einen Teilstrich.

Es starben: 3 Kaninchen A nach 2, 3, 4 Tagen,
 4 Meerschweinchen A, drei nach 3, eins nach 4 Tagen,
 das frische Meerschweinchen nach 2 Tagen.

Die Hammel blieben gesund, desgleichen ein Kaninchen A, ein Tier, welches bei der ersten Impfung mit dem 9 tägigen Milzbrand am Leben geblieben war.

13 Tage später erfolgte die Probeimpfung mit virulentem Milzbrand, und zwar mit Partikelchen der Lunge einer Maus, welche mit altem virulenten Material geimpft und innerhalb 24 Stunden verendet war.

Das letzte Kaninchen A starb nach 2 Tagen, von den 5 Hammeln starben 2 ebenfalls nach 2 Tagen, die übrigen 3 waren anscheinend krank, erholten sich jedoch bald. Nach 2 Tagen starb auch ein zur Kontrolle mitgeimpfter, nicht vorgeimpfter Hammel.

Das Resultat war auch in diesem Versuche ein wenig befriedigendes. Meerschweinchen und Kaninchen war es auch dieses Mal nicht gelungen immun zu machen. Von fünf viermal vorgeimpften Hammeln erlagen zwei der Probeimpfung, während in den P a s t e u r s c h e n Versuchen bei der Probeimpfung nur ganz ausnahmsweise ein Tier zugrunde ging. Diese Differenz ließ sich wohl kaum anders erklären, als durch eine geringere Virulenz des von P a s t e u r zur Probeimpfung benutzten Milzbrandes.

Da die P a s t e u r s c h e n Impfstoffe käuflich im Handel zu beschaffen waren, so war es interessant, zu konstatieren, wie sich Hammel, welche mit dem von P a s t e u r

bezogenen II. Vakzin geimpft waren, unserem virulenten Milzbrande gegenüber verhalten würden.

Es wurden deshalb eine Anzahl Gläschen I. Vakzin und II. Vakzin von *Boutroux*, dem Agenten *Pasteurs*, bezogen. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich einzelne Gläschen durch fremde Bakterien verunreinigt, einzelne enthielten vollkommen reine Milzbrandkulturen. Die verschiedenen Vakzins wurden zunächst geprüft auf ihr Verhalten gegenüber unseren Reagentien an Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen.

Der I. Vakzin auf Mäuse und Meerschweinchen verimpft, tötete nur Mäuse, entsprach also, wie zu erwarten, durchaus unserem Mäusemilzbrand. Eine der Kulturen, welche verunreinigt war mit anderen Bakterien, tötete von 6 Mäusen nur 3, indessen die aus der Milz einer der verendeten Mäuse fortgesetzten Kulturen töteten dann wieder alle Mäuse, jedoch keine Meerschweinchen. Der Versuch lehrt, auf wie einfache Weise man sich aus einer verunreinigten Kultur reines Impfmateriale bereiten kann: man hat nur nötig, eine Maus zu impfen und aus der Milz dieses Tieres die Kulturen dann fortzusetzen.

Der II. Vakzin wurde zunächst auf Mäuse und Meerschweinchen verimpft. Die geimpften Tiere starben ausnahmslos. Hierauf nahmen wir Kaninchen zur Prüfung: zum Vergleiche wurden stets auch einige Meerschweinchen mitgeimpft.

Von einer Probe wurden 2 Kaninchen und 2 Meerschweinchen an den Ohren geimpft, die Meerschweinchen starben nach 3 resp. 4 Tagen, die Kaninchen blieben gesund.

Auch 2 mit einer anderen Probe geimpfte Kaninchen erkrankten nicht. Mit einer dritten Probe wurden 3 Kaninchen und 3 Meerschweinchen an den Innenflächen der Ohren geimpft. Nach 2 Tagen starb ein Meerschweinchen, nach 3 Tagen die beiden übrigen, nach 4 Tagen ein Kaninchen mit starkem, von dem Ohr aus sich über den Hals verbreitendem Ödem. Die beiden anderen Kaninchen blieben bis auf leichte Rötung an den Impfstellen munter.

Gegen Injektionen erwiesen sich die Kaninchen empfindlicher. 6 Kaninchen und 2 Meerschweinchen erhielten je 2 Teilstriche eines II. Vakzin subkutan am Rücken injiziert. Innerhalb der nächsten 6 Tage starben beide Meerschweinchen und 3 Kaninchen. Das II. Vakzin *Pasteurs* entsprach demnach ungefähr dem 9 tägigen Milzbrand in unserem letzten Versuche. Immunität hatten auch die mit dem *Pasteur*'schen II. Vakzin geimpften Kaninchen nicht erlangt, denn sie erlagen bei der Probeimpfung mit virulentem Milzbrande.

Von dem direkt von *Boutroux* bezogenen II. Vakzin wurden nun 6 bereits 3 mal vorgeimpften Hammeln (s. p. 242) 2 Teilstriche am rechten Oberschenkel injiziert. Die Hammel vertrugen die Injektion sehr gut, während 4 gleichzeitig geimpfte Meerschweinchen innerhalb der nächsten 6 Tage zugrunde gingen.

3 Wochen später wurden die 6 Hammel zugleich mit einem Kontrollhammel mit frischem virulentem, einer Mäusemilz entnommenen Material am rechten Oberschenkel geimpft. Am 2. Tage starb der Kontrollhammel, am 3. Tage einer der geimpften Hammel. Ein zweiter war augenscheinlich krank, erholte sich jedoch, die übrigen vier blieben vollkommen munter.

In unserem letzten Versuche waren von 5 geimpften Hammeln 2 gestorben, in diesem Versuche starb von 6 Hammeln einer. Die Resultate stimmen so gut überein, daß man wohl trotz der kleinen Zahl der Versuchstiere sagen kann: auch durch die sorgfältigste Schutzimpfung läßt sich eine unbedingte Immunität gegen den Impfmilzbrand nicht bei allen Hammeln erzielen. Wenn *Pasteur* bei der Probeimpfung Verluste nicht mehr zu verzeichnen hat, so muß eben sein virulenter Milzbrand dem von uns verwandten an Virulenz nachstehen.

Eine Frage, welche für die ganze Abschwächungslehre von prinzipieller Bedeutung ist, bedarf noch der Besprechung: nämlich die Frage nach der die Abschwächung veranlassenden Ursache. Nach der Ansicht P a s t e u r s ist es der Sauerstoff der Luft, welcher die Abschwächung bewirkt, nach unserer Ansicht ist es jedoch die Temperatur, welche wir als das hauptsächlichste abschwächende Moment ansehen müssen. Der Grund, warum wir dieser Anschauung uns zuwenden, ist der: Durch geringe Differenzen in der Höhe der zur Abschwächung verwandten Temperatur läßt sich der zeitliche Verlauf des Abschwächungsvorganges verzögern oder beschleunigen. Es ist durchaus nicht gleichgültig, ob man bei $42,1^{\circ}$ oder bei $42,9^{\circ}$ abschwächt, obwohl beide Temperaturen noch zwischen 42° und 43° C liegen, wie P a s t e u r es vorschreibt. Anfangs hatten wir auf Differenzen von einigen Zehntelgraden kein Gewicht gelegt, wir begnügten uns zu konstatieren, daß das Thermometer im Brütraum des Apparates über 42° C stand. Erhebliche Differenzen in der Virulenz der an denselben Tagen in verschiedenen Versuchen entnommenen Proben veranlaßten uns, auf die Temperatur im Apparat ein besonderes Augenmerk zu richten.

In einem Versuche war der Apparat nahe an 43° C eingestellt. Am 3. Tage stand er vorübergehend sogar einmal auf $43,3^{\circ}$ C. Am 6. Tage wurden aus 2 Gläschen Proben entnommen und ausgesät, um eine Zwischenstufe zwischen 12 tägigem und virulentem Milzbrand zu erhalten. Aus jedem Gläschen wurde 1 Kaninchen und 1 Meerschweinchen geimpft. Alle Tiere blieben munter. Die ausgesäten Proben wuchsen kräftig und rein. Von den Kulturen wurden wiederum je 1 Kaninchen und ein Meerschweinchen geimpft. Auch diese Tiere wurden in keiner Weise affiziert. Die Virulenz war mithin schon am 6. Tage auffallend gering; daß sie schon ganz erloschen war, läßt sich nicht sagen, da verabsäumt wurde, Mäuse zu impfen.

In einem anderen Versuche zeigte das Thermometer im Apparat $42,8^{\circ}$ C. Am 4. Tage wurde aus einem Gläschen a eine Probe entnommen und auf 2 Kaninchen und 2 Meerschweinchen verimpft. Innerhalb der nächsten 3 Tage waren alle Tiere tot. Am 6. Tage wurden aus 2 Gläschen a und b je 2 Kaninchen und 2 Meerschweinchen geimpft. Alle Tiere blieben am Leben. Von der 2. Generation der Kultur des 6 tägigen Milzbrandes aus Glas a wurden der Sicherheit halber 1 Kaninchen, 1 Meerschweinchen, 1 Maus geimpft. Die Maus starb, Kaninchen und Meerschweinchen blieben gesund. Am 8. Tage wurden noch einmal aus Glas a 2 Kaninchen, 2 Meerschweinchen, 2 Mäuse geimpft; die Mäuse starben, die Meerschweinchen und Kaninchen nicht.

Bei der Temperatur von $42,8^{\circ}$ C war mithin die bis zum 4. Tage nahezu unverändert gebliebene Virulenz innerhalb 2 Tage bis zum 6. Tage zu der des Mäusemilzbrandes abgefallen.

Bei $42,6^{\circ}$ C war erst am 10. Tage, wie wir in dem ausführlich mitgeteilten Versuche gesehen haben, die Virulenz des Mäusemilzbrandes erreicht, also 4 Tage später, als bei $42,8^{\circ}$ C.

Wenn so geringe Temperaturschwankungen imstande sind, so erhebliche Differenzen hervorzurufen in dem Verlauf der Abschwächung, so erklärt sich auf eine sehr einfache Weise das verschiedene Verhalten der einzelnen Gläschen in demselben Versuche. Die Temperatur ist in dem d' A r s o n v a l s c h e n Apparate an allen Stellen des Brütraumes durchaus nicht dieselbe, wie Messungen mit Normalthermometern ergeben haben. Die Temperatur des Wassermantels selbst im Apparate ist in den oberen Schichten höher wie in den unteren Schichten. Die Differenzen betragen 1° C und darüber. Ja die Temperatur des Wasserbades übersteigt die des Brütraumes, je nach der Höhe der Temperatur, auf welcher der Apparat gehalten wird, um $1-2^{\circ}$ C. Die Temperatur im Brütraum wird nicht unmerklich ferner beeinflusst, wenn man eine größere Zahl von Gläschen in mehreren

Etagen übereinander aufstellt. Man kann deshalb nur dann mit Sicherheit von einer Abschwächung bei einer bestimmten Temperatur sprechen, wenn man die Gläschen in der Höhe der Luftschicht aufstellt; in welcher sich die Kugel des Normalthermometers befindet, oder aber wenn man genaue Maximal- und Minimalthermometer in gleicher Höhe mit den Gläschen befestigt.

Der merkbare Einfluß der geringen Temperaturschwankungen im Apparat ist der sicherste Beweis, daß nicht der Sauerstoff der Luft, sondern die Temperatur das hauptsächlichste abschwächende Agens ist. Außer der Temperatur ist jedoch noch den von den Milzbrandbazillen selbst gelieferten Stoffwechselprodukten ein Einfluß auf die Abschwächung beizumessen. Wie wir oben gesehen haben, ist das nicht selten beobachtete kümmerliche Wachstum der aus den abgeschwächten Kulturen entnommenen Proben in der Nährgelatine ein deutlicher Beweis dafür, wie außerordentlich die bei der Aussaat mit übertragenen Stoffwechselprodukte das Wachsen der Bazillen zu beeinträchtigen vermögen.

Eine fernere Stütze hat unsere Ansicht von dem abschwächenden Einfluß der Temperatur erhalten durch die umfangreichen Versuche, welche *Chauveau* über die Abschwächung des Milzbrandes bei Temperaturen über 43° C gemacht hat. Je höher man geht in der Temperatur, um so schneller vollzieht sich die Abschwächung. Während bei 42,5° C 3—4 Wochen bis zur völligen Abschwächung nötig sind, sind bei 43° C schon wenige Tage, bei 47° C wenige Stunden, bei 50 bis 53° C sogar nur Minuten dazu erforderlich. *Toussaints* Verfahren ist mithin im Grunde von dem *Pasteur* schen Verfahren prinzipiell nicht verschieden. Eine Differenz besteht allerdings. Die nach dem *Toussaint* schen Verfahren abgeschwächten Milzbrandbazillen erlangen in den Kulturen ihre ursprüngliche Virulenz wieder, die nach *Pasteur* abgeschwächten bewahren jedoch die nach und nach erlangte Virulenz auch in späteren Generationen, ja sogar in ihren Dauerformen, den Sporen. Je langsamer, also bei je niedrigerer Temperatur, die Abschwächung stattgefunden hat, um so sicherer scheinen die physiologischen Varietäten ihre Eigenschaften zu bewahren.

Über die Bedingungen, unter welchen eine abgeschwächte Varietät zur Virulenz zurückkehrt, sind die Akten noch nicht geschlossen. In seiner Mitteilung an die Akademie vom 8. März 1881 sagt *Pasteur* über diesen Punkt folgendes:

Den abgeschwächten Milzbrand kann man zur Virulenz zurückkehren sehen, wenn man ihn von einem neugeborenen Meerschweinchen, welches demselben noch erliegt, auf ein 1 tägiges, von diesem auf ein 2 tägiges, von diesem auf ein 3 tägiges usw. verimpfte, so daß er schließlich auch alte Tiere wieder tötete. Da zu einem derartigen Versuche eine Meerschweinchenzucht in großem Maßstabe gehört, damit stets Meerschweinchen von bestimmtem Tagesalter zur Hand sind, unsere Räumlichkeiten jedoch die Ansammlung eines so massenhaften Meerschweinchenmaterials nicht gestatteten, so versuchten wir durch eine lange Zeit fortgesetzte Reihe von Impfungen von Maus zu Maus eine Steigerung der Virulenz des Mäusemilzbrandes zu erzielen. Stets wurden von der zuerst gestorbenen Maus, und zwar mit Stückchen ihrer Lunge, 2 Meerschweinchen und 2 Mäuse infiziert und dabei stets darauf acht gegeben, möglichst junge Meerschweinchen in die Versuchsreihe hineinzuziehen, um, falls ein junges Tier sterben sollte, von diesem aus andere junge Tiere, wie sie gerade zur Hand waren, zu impfen. Zur leichteren Übersicht ist der Versuch in folgender Tabelle zusammengestellt.

7 Kulturgenerationen des 24 tägigen Milzbrandes		
2 Mäuse Maus I und II †† nach 5 resp. 6 Tagen	I. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 3 resp. 6 Tagen	II. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund

2 Mäuse Maus I und II †† nach 2 Tagen	III. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 3 Tagen	IV. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 3 Tagen	V. Generation im Tierkörper 2 alte, blieben gesund	2 eintägige Meerschweinchen Meerschweinchen I † nach 9 Tagen, II blieb gesund
		2 Mäuse, 2 Meerschw. (eins 3, eins 6 Wochen alt) Maus I und II †† nach 1 resp. 2 Tagen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 2 resp. 4 Tagen	VI. Generation im Tierkörper	2 alte, 2 eintägige Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 1 resp. 3 Tagen	VII. Generation im Tierkörper	2 eintägige Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 2 resp. 3 Tagen	VIII. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 3 Tagen	IX. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 2 Tagen	X. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 2 resp. 14 Tagen	XI. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 2 resp. 5 Tagen	XII. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 2 resp. 3 Tagen	XIII. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 2 resp. 3 Tagen	XIV. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse Maus I und II †† nach 3 resp. 4 Tagen Organe mit Wasser verrieben, davon	XV. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen blieben gesund
2 Mäuse je 2 Teilstriche Maus I † nach 4 Tagen, Maus II gesund Lunge mit Wasser verrieben, davon	XVI. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen je $\frac{1}{3}$ Spritze blieben gesund
2 Mäuse je $\frac{1}{4}$ Spritze Maus I und II †† nach 1 resp. 4 Tagen	XVII. Generation im Tierkörper	2 Meerschweinchen (2 T. alt) je $\frac{1}{3}$ Spritze Meerschweinchen I u. II blieben gesund III †, aber nicht an Milzbrand

Da nach sechswöchentlicher Kultur im Körper der Maus sich auch nicht die geringste Steigerung der Virulenz ergeben hatte, wurde der Versuch mit der XVII. Generation Maus abgebrochen.

Hin und wieder kommen jedoch Fälle von unzweifelhafter Rückkehr der Virulenz zur Beobachtung, wie z. B. in folgendem Versuche:

Aus einem zwischen 42° und 43° C gehaltenen Kölbchen wurden Tag für Tag Proben entnommen, stets 2 Kaninchen geimpft und Kulturen angesetzt.

Es starben nach der Impfung

- mit 1 tägigem Milzbrande: beide Kaninchen nach 4 resp. 5 Tagen,
- mit 2 tägigem Milzbrande: ein Kaninchen nach 4 Tagen,
- mit 3 tägigem Milzbrande: beide Kaninchen nach 2 resp. 3 Tagen,
- mit 4 tägigem Milzbrande: ein Kaninchen nach 5 Tagen,

- mit 5 tägigem Milzbrande: kein Kaninchen,
- mit 6 tägigem Milzbrande: ein Kaninchen nach 2 Tagen,
- mit 7 tägigem Milzbrande: kein Kaninchen,
- mit 8 tägigem Milzbrande: kein Kaninchen,
- mit 9 tägigem Milzbrande: kein Kaninchen.

Die Kulturen der einzelnen Proben wurden in einer Nährgelatine fortgezüchtet; nach 4 Monaten wurden mit dem 4-, 5- und 7 tägigen Milzbrande je 2 Kaninchen und 2 Meerschweinchen geimpft.

Es starben nach der Impfung

- mit 4 tägigem Milzbrande: ein Kaninchen, beide Meerschweinchen,
- mit 5 tägigem Milzbrande: ein Kaninchen, ein Meerschweinchen,
- mit 7 tägigem Milzbrande: beide Kaninchen, beide Meerschweinchen (innerhalb 4 Tagen).

Danach hatte der 4 tägige seine Virulenz behalten, der 5 tägige war etwas virulenter geworden, der 7 tägige hatte jedoch ganz erheblich an Virulenz zugenommen. Zu bemerken ist, daß es sich hier um Varietäten handelt, deren Abschwächung innerhalb relativ kurzer Zeiträume erfolgt war.

In dem Versuche, bei welchem die Abschwächung nicht in demselben Glase, sondern in einer fortlaufenden Reihe von Gläschen stattgefunden hatte, trat uns ein anderes Beispiel der Art entgegen: vom 10. Tage töteten die Kulturen nur Mäuse, keine Meerschweinchen mehr. Die Meerschweinchen wurden alle, nachdem sie die Impfung mit der Kultur überstanden hatten, mit der Milz der entsprechenden Mäuse nachgeimpft. Sämtliche Meerschweinchen blieben gesund, nur die beiden Meerschweinchen vom 14. Tage, welche die Impfung mit der Kultur ebenso wie die anderen überstanden hatten, starben nach der Impfung mit der Milz der von derselben Kultur gestorbenen Maus. Die Virulenz hatte in diesem einen Falle im Körper der Maus sich gesteigert.

Wie es Fälle gibt, in welchen abgeschwächte Kulturen eine höhere Virulenz wiedergewinnen, so gibt es auch Fälle, in welchen Kulturen mit verhältnismäßig hoher, nur ein wenig abgeschwächter Virulenz dieselbe in kurzer Zeit ohne erfindlichen Grund verlieren.

Ein 7 tägiger Milzbrand hatte 3 Kaninchen und 2 Meerschweinchen getötet. Acht Wochen später wurde mit einer aus den Sporen des 7 tägigen Milzbrandes gewonnenen Reinkultur 7 Kaninchen, 6 Meerschweinchen und 3 Mäuse geimpft. Es starb weder ein Meerschweinchen noch ein Kaninchen, wohl aber starben noch die Mäuse. Die Virulenz hatte mithin bis zu der des Mäusmilzbrandes abgenommen. Die in ganz gleicher Weise nach 6 Wochen aus Sporen gewonnene Kultur des 9 tägigen Milzbrandes aus demselben Versuche tötete von 7 Kaninchen und 10 Meerschweinchen 2 Kaninchen und 6 Meerschweinchen, hatte in ihrer Virulenz mithin keine Einbuße erlitten.

Die Bedingungen, unter welchen eine sogenannte spontane Abschwächung einer Kultur resp. eine Rückkehr zur Virulenz eintritt, bedürfen noch eines genaueren Studiums.

Es erhellt jedoch aus diesen nicht erklärlichen und vorherzusehenden Schwankungen, daß die Prüfung der Kultur, welche man zu Impfzwecken verwenden will, stets unmittelbar vor den Impfungen vorgenommen werden muß, wenn man sich nicht unvermuteten Verlusten aussetzen will. Die von uns für die Beurteilung der Virulenz angegebenen Kriterien machen diese Prüfung zu einer sehr einfachen, wenig kostspieligen und zuverlässigen.

Das wissenschaftliche Faktum, daß Hammel durch Einimpfung von Kulturen abgeschwächten Milzbrandes immun gemacht werden können gegen den Impfmilzbrand, war durch unsere Versuche bestätigt worden. Freilich hatte sich bei denselben herausgestellt, daß nicht alle Hammel selbst nach mehrfachen Impfungen mit Kulturen von

gradatim aufsteigender Virulenz gegen den Impfmilzbrand immun wurden, wofern man nur einen sehr virulenten Milzbrand zur Probeimpfung verwandte. Wie verhalten sich nun aber die geimpften Tiere gegenüber der natürlichen Infektion? Diese Frage ist für die praktische Verwertbarkeit der Schutzimpfungen von der allergrößten Wichtigkeit. Sind die Hammel gar nicht oder nur mit großen Opfern gegen die natürliche Infektion immun zu machen, so verlieren die Milzbrand-Präventivimpfungen ihre praktische Bedeutung. Daß gewisse, nicht unerhebliche Unterschiede zwischen der Impfung und der natürlichen Infektion bestehen, darauf weist das Verhalten der Rinder den beiden Infektionsarten gegenüber besonders deutlich hin. Während Rinder, wie allgemein bekannt, sich für den Impfmilzbrand nur wenig empfänglich zeigen, erliegen sie der natürlichen Infektion oft in ganz erschreckender Weise. Pasteur hatte die Ansicht ausgesprochen, daß die natürliche Infektion der künstlichen, was die tödlichen Wirkungen anlangt, nachstehe. Ja er war sogar soweit gegangen, daß er die Behauptung aufstellte: es sei nicht nötig, die Schafe mit einem sehr kräftigen, große Verluste bedingenden Impfstoffe zu impfen, da ein schwächerer Vakzin schon genüge, um die Tiere gegen die weniger gefährliche natürliche Infektion zu schützen. Zur Entscheidung dieser Frage war es unbedingt nötig, den Modus der natürlichen Infektion näher zu studieren, um ihn womöglich experimentell reproduzieren zu können. Denn der von Pasteur betretene Weg, eine Anzahl immun gemachter Tiere auf Weideplätzen zu stationieren, auf welchen notorisch Milzbranderkrankungen häufig vorkommen, und so der natürlichen Infektion auszusetzen, ist in bezug auf die Zuverlässigkeit der Resultate ein so wenig exakter, von so vielen Zufälligkeiten bedrohter, daß er für die wissenschaftliche Entscheidung der wichtigen Frage wohl kaum betreten werden darf.

Auf welche Weise erfolgt nun die natürliche Infektion? Durch zahlreiche Beobachtungen ist es festgestellt, daß durch Stiche von Insekten, welche auf Milzbrandkadavern Nahrung zu sich genommen haben, Übertragungen der Krankheit stattfinden können. Diese Art der Infektion, welche einer Impfung gleichzusetzen wäre, tritt jedoch ganz in den Hintergrund gegen die Infektion vom Digestionstraktus aus. Pasteur hatte nach dieser Richtung hin Versuche angestellt. Er hatte Schafen Futter vorgesetzt, welches mit sporenhaltigen Milzbrandkulturen gemischt war. Nach der Aufnahme dieses Futters starben einige Tiere, die Zahl der Todesfälle steigerte sich jedoch ganz erheblich, wenn er stacheliges Material dem Futter beigab. Pasteur schloß daraus, daß auch der Futtermilzbrand eine Art Impfmilzbrand darstellte, daß die Infektion erfolgte von kleinen, durch das Futter erzeugten Verletzungen der ersten Wege. Viele Tatsachen sprachen jedoch dafür, daß in der Mehrzahl der Fälle nicht die Maulhöhle und der Rachen, sondern der Darm die Eingangspforte des Milzbrandvirus darstellte. (S. Mitteilungen Bd. I, Koch, Zur Ätiologie des Milzbrandes¹⁾). Es schien daher geboten, den Modus der Infektion vom Darm aus einem eingehenden experimentellen Studium zu unterziehen.

Bei diesem Versuche kam es nun vorerst darauf an, einen Fütterungsmodus zu wählen, bei welchem jede Verletzung im Maul und Rachen der Tiere ausgeschlossen war und bei welchem auch eine bestimmte Dosis des Milzbrandmaterials von den Tieren wirklich aufgenommen wurde. Ein sehr einfaches Verfahren erfüllte diese beiden Bedingungen: frische Kartoffeln wurden in längliche viereckige Stücke geschnitten. Von jedem Stücke wurde durch einen Schnitt eine dünne Schicht abgespalten und deckelartig in die Höhe geklappt. Darauf wurde das Innere des Stückes ausgehöhlt, mit Milzbrandbakterien gefüllt und mit dem Deckelscheibchen verschlossen. Ein Diener öffnete dem Hammel das Maul, indem er den Kopf senkrecht in die Höhe hielt. Das armierte Kartoffelstückchen wurde dann bis auf die hintere Partie der Zunge geschoben und nun

¹⁾ Diese Werke p. 174 u. ff.

von dem Tiere verschluckt. Eine Verletzung der Maulschleimhaut war bei diesem Verfahren unmöglich. Als Futter erhielten die Tiere weiches Heu und gequetschte Kartoffeln: Stachelfutter wurde sorgfältig vermieden.

Die Hammel, welche zu den Versuchen verwandt wurden, waren von halbedler Rasse, sie waren ausgewachsen, etwas mager, aber im übrigen anscheinend gesund. Als Fütterungsmaterial wurde derselbe Milzbrand verwandt wie in den Abschwächungsversuchen.

Da Milzbrandsporen sehr viel widerstandsfähiger sich verhalten den verschiedensten chemischen Agentien gegenüber als Milzbrandbazillen, so war es nicht unwahrscheinlich, daß auch dem sauren Magensaft gegenüber eine ungleiche Widerstandskraft der Bazillen und Sporen sich kundgeben würde. Es wurde deshalb zuerst mit der Fütterung von sporenfreiem Milzbrand b a z i l l e n material begonnen.

Die inneren Organe an Milzbrand gefallener Tiere enthalten niemals Bazillen mit Sporen, sondern stets ein ganz reines Bazillenmaterial.

2 Hammel erhielten daher je eine halbe Milz und eine halbe Lunge einer an virulentem Milzbrand verendeten Maus. I. F ü t t e r u n g.

Die Tiere zeigten in den folgenden Tagen kein Zeichen von Unbehagen oder Unwohlsein.

Sie erhielten deshalb je zwei halbe Milzen und ein Stück Lunge von zwei an virulentem Milzbrand gefallenem Meerschweinchen wenige Stunden nach dem Tode der letzteren. II. F ü t t e r u n g.

Auch nach dieser ganz enormen Dosis von Milzbrandbazillen zeigten die Tiere ein ungestörtes Wohlbefinden.

Da Milzbrandbazillen bei einer Temperatur von 18° C noch reichlich wachsen, aber erst sehr spät zur Sporenbildung gelangen, so wurden bei dieser Temperatur auf einer größeren Zahl von gekochten durchschnittenen Kartoffeln Milzbrandkulturen angelegt, um möglichst große Mengen von Bazillenmaterial zu gewinnen. Nach 2 Tagen standen die Kulturen im üppigsten Wachstum; eine sorgfältige mikroskopische Untersuchung ergab, daß Sporen noch nicht gebildet waren. Das Material wurde nun von den Kartoffeln abgenommen und davon den beiden Hammeln je eine haselnußgroße Portion beigebracht. III. F ü t t e r u n g.

Auch nach dieser Dosis blieben die Tiere munter. Immun von Hause waren sie gegen den Milzbrand nicht, denn beide sind später an typischem Milzbrand erlegen.

Der Versuch lehrte demnach, daß die Milzbrandbazillen im Magen des Hammels zugrunde gehen, daher nicht in stande sind, Darmmilzbrand zu erzeugen.

Nach dem negativen Ausfalle dieses Versuches waren wir sehr gespannt auf das Verhalten der Hammel gegen die Einführung großer Dosen von Milzbrand s p o r e n.

Das Material wurde in ganz gleicher Weise wie in dem ersten Versuche auf Kartoffeln kultiviert, jedoch bei einer Temperatur von ca. 35° C. Nach 2 Tagen waren die Kulturen auf allen Kartoffeln in reichlicher Sporenbildung begriffen. Die Kulturen wurden abgenommen und auf Glasplatten eingetrocknet. 8 Tage später wurde die trockene Masse mit wenig Wasser aufgeweicht und 2 Stunden darauf in ausgehöhlten Kartoffelstückchen an 5 kräftige Hammel verfüttert. Jeder Hammel erhielt eine etwa erbsengroße Portion.

Der Effekt dieser Fütterung war ein gewaltiger. In der zweiten Nacht nach der Fütterung starb der 1. Hammel, am zweiten Tage mittags der 2., um fünf Uhr der 3., um 7 Uhr der 4. und 5. Hammel. Alle an unzweifelhaftem Milzbrand. Bei der hohen Bedeutung dieses Versuches ist es notwendig, die Sektionsprotokolle in extenso mitzuteilen. Wir lassen dieselben am Schlusse der Arbeit folgen.

Die Protokolle sind nach verschiedenen Richtungen hin lehrreich: Zunächst zeigen sie, wie unumgänglich notwendig es ist, die Sektionen von milzbrandigen Kadavern womöglich unmittelbar post mortem vorzunehmen, da andernfalls die außerordentlich schnell eintretende Fäulnis das Sektionsergebnis nicht unerheblich beeinträchtigt. Obwohl bei Hammel 1 die Sektion höchstens 18 Stunden p. m. gemacht wurde, war doch die Fäulnis schon soweit vorgeschritten, daß der Darmbefund, auf welchen wir ganz besonderen Wert legten, für unsere Zwecke nicht mehr verwertbar war. Besonders beweisend sind die Sektionen von Hammel 2 und Hammel 3, da sie unmittelbar nach dem Tode vorgenommen werden konnten. Bemerkenswert sind zunächst die Befunde an den Lymphdrüsen. Bald sehen wir eine Inguinaldrüse geschwollen, bald Axillar-, bald Bugdrüsen, bald wiederum die Submaxillardrüsen geschwollen. Es erhellt daraus, daß es durchaus falsch wäre, aus der Anschwellung bestimmter Drüsengruppen Schlüsse ziehen zu wollen auf den Ort der Infektion. Die Erklärung für die ganz ungleichmäßigen Drüsenschwellungen ist unschwer zu finden. Stets findet man in dem Bezirk der geschwollenen Drüsen Blutaustretungen in und unter der Haut sowie in der Muskulatur. Alle diese Blutaustretungen stellen gewissermaßen frische Infektionen dar, auf welche die entsprechenden Drüsen mit starker Anschwellung reagieren.

Auffallend ist ferner der Befund an den Halsorganen. Fast in allen Fällen finden sich starke Blutaustretungen an der vorderen Seite des Halses. Fast in keinem Falle fehlt ein nicht unerhebliches Ödem des Kehlkopfeinganges sowie eine Anfüllung der Trachea mit feinblasigem, ziegelmehlfarbigem Schaum. Dieses Ödems des Kehlkopfeinganges ist in der Literatur bei der Sektion an Milzbrand verstorbenen Menschen mehrfach Erwähnung getan. Auf Grund desselben sah man sich vielfach veranlaßt, eine Infektion durch die Luftwege anzunehmen. In unseren Fällen ist an eine Infektion vom Boden der Mundhöhle resp. vom Kehlkopfeingange her durchaus nicht zu denken. Die Schleimhaut der Mundhöhle, der Zunge sowie des Rachens war in Fällen blaß und, wie stets mit größtmöglicher Sorgfalt konstatiert wurde, durchaus intakt. Außerdem war ja bei der Fütterung mit den Milzbrandbazillen eine Infektion von dieser Gegend aus nicht erfolgt. Der Befund muß daher wohl als ein zum pathologisch-anatomischen Bilde des Futtermilzbrandes gehöriger bezeichnet werden. An eine Infektion vom Kehlkopfeingang her zu denken, hatten wir um so weniger Veranlassung, als ein ganz eigentümlicher Befund im Darm auf diesen als die Eingangspforte für das Milzbrandvirus mit aller Bestimmtheit hinwies. Die 3 ersten Mägen waren stets intakt, ihr Inhalt reagierte sauer. Im 4. Magen dagegen zeigten sich schon deutliche Veränderungen. Einzelne Falten der Schleimhaut, besonders in der Nähe des Pylorus, waren geschwollen und gerötet, zum Teil von Ecchymosen durchsetzt, zum Teil erodiert. Die Reaktion des Mageninhalts war neutral oder schwach alkalisch. Die auffälligsten Veränderungen zeigten sich regelmäßig im Anfangsteil des Duodenum. Die Schleimhaut dieses Darmabschnittes war fleckweise geschwollen, intensiv gerötet und auch erodiert. Weiter nach abwärts fanden sich im Dünndarm zahlreiche derartig gerötete und geschwollene Stellen, besonders schön zeigten die Peyer'schen Haufen und Solitär-follikel diese Veränderungen: macht man Schnitte durch diese Schleimhautpartien und färbt man dieselben, so sieht man ein ganz auffallendes Bild. Das Epithel der Schleimhaut ist meist verlorengegangen. Die Darmoberfläche ist bedeckt mit dichten Massen von Milzbrandbazillen, welche sich in das Gewebe hinein fortsetzen und an verschiedenen Stellen in die Blutgefäße einbrechen. Dieser Befund bedarf kaum einer Erklärung. Sobald die Sporen die Sphäre des sauren Magensaftes passiert haben und in die alkalisch reagierenden Darmabschnitte gelangt sind, wachsen sie aus zu Bazillen. Die Bazillen vermehren sich massenhaft und dringen in das Gewebe und weiter in die Blutgefäße ein. Die Invasion der Bazillen beschränkt sich jedoch nicht auf die obersten

Darmabschnitte, sondern kann sogar noch im Dickdarm vor sich gehen, da sich die geröteten und geschwollenen Partien bis in diesen Darmteil hinein verfolgen ließen. Daß Sporen so tief hinabgelangen, ergibt sich aus den Untersuchungen des Kotes. Mit dem frischen Kot geimpfte Mäuse starben an typischem Milzbrand. Als nach einem Jahre mit getrockneten Kotpartikelchen Mäuse geimpft wurden, war der Erfolg der gleiche. Es mußten also Sporen in dem Kote vorhanden gewesen sein, da die Bazillen nur kurze Zeit im getrockneten Zustande lebensfähig sich erhalten. Ob die Sporen von den verfütterten Sporen herrührten oder ob sich dieselben im Darm der Tiere (in den frisch ausgekeimten Bazillen) wieder von neuem gebildet haben, läßt sich natürlich nicht entscheiden. Die Möglichkeit einer Sporenbildung im Darm kann man nicht von der Hand weisen, da die Temperatur für die Sporenbildung ja eine außerordentlich günstige ist und da die Bazillen im Darminhalt sich wie in einer Nährlösung befinden.

Den geschilderten Veränderungen in der Darmschleimhaut entsprechend fanden sich in allen Fällen die Mesenterialdrüsen stark geschwollen, in einzelnen Fällen bis zur Größe einer Kartoffel, die Drüsensubstanz war ödematös, von zahlreichen Blutaustretungen durchsetzt.

Derartige Veränderungen im Digestionstraktus finden sich bei Tieren, welche an Impfmilzbrand erlegen sind, nicht — sie charakterisieren daher die Erkrankungen sämtlicher Hammel als unzweifelhaften Darmmilzbrand.

Durch diesen Versuch ist der Beweis geliefert, daß Milzbrandsporen im Magen der Hammel nicht zugrunde gehen, im Darm auswachsen, durch die unverletzte Schleimhaut des Darmtraktes in die Gewebe eindringen und auf diese Weise eine schnelle tödliche Infektion herbeizuführen vermögen.

Es war daher im höchsten Maße wahrscheinlich, daß bei dem natürlichen Milzbrande die Infektion durch Aufnahme von Sporen mit dem Futter zustande kommt. Freilich wird ja bei der natürlichen Infektion die Dosis der aufgenommenen Sporen niemals eine so enorme sein wie in unserem Versuche: auch werden gewiß nicht immer so frische lebenskräftige Sporen in den Digestionstraktus gelangen. Wir mußten daher, um den Modus der natürlichen Infektion möglichst getreu nachzuahmen, mit der Dosis der Sporen immer mehr herabgehen und auch alte Sporen zum Versuche verwenden.

Zunächst erhielt nun ein Hammel eine stecknadelknopfgroße Portion frischer auf gekochten Kartoffeln gezüchteter Sporen, zur Kontrolle ein zweiter Hammel ein haselnußgroßes Quantum. Nach 2 Tagen starb der letztere, nach 4 Tagen auch der erste Hammel, beide an typischem Darmmilzbrand. Beide Dosen hatten gewirkt, die größere Dosis aber schneller wie die kleinere.

Es wurden dann 2 Hammel mit Filtrierpapierstückchen von etwa 1 cm im Quadrat, welche mit frischen Sporen befeuchtet waren, gefüttert, und zwar erhielt jedes Tier Tag für Tag ein solches Stückchen. Nach 5 Tagen starb der erste, nach 8 Tagen der zweite Hammel. Bei beiden Tieren wurde durch die Sektion Darmmilzbrand konstatiert.

Fortgesetzte Fütterung kleinerer Mengen frischer Sporen hatte demnach dieselbe Wirkung wie die einmalige Verabreichung einer großen Dosis.

Wir gingen nun über zur Fütterung alter Sporen, d. h. von Sporen, welche ein Jahr lang auf einer Glasplatte eingetrocknet aufbewahrt worden waren. Dieselben stammten von einem 54 Generationen hindurch auf Kartoffeln gezüchteten Milzbrande.

2 Hammel A erhielten je eine erbsengroße Portion, 2 andere B je eine stecknadelknopfgroße Portion der Sporen. Um die Wirksamkeit der alten Sporen zu prüfen, wurden 2 Mäuse damit geimpft. Dieselben erlagen innerhalb 24 Stunden an Milzbrand. 3 Tage

nach der Fütterung starb der eine Hammel A, am 7. Tage der andere Hammel A, beide, wie die Sektion ergab, an Darmmilzbrand. Die beiden anderen Hammel blieben gesund: die große Dosis der alten Sporen hatte prompt gewirkt, die kleinere nicht. Überraschend war dieses Resultat keineswegs. Einmal waren in dem eingetrockneten Material gewiß nicht mehr alle Sporen lebensfähig, dann aber ist es eine durch viele Beobachtungen gesicherte Tatsache, daß alte Sporen sehr viel später auskeimen als frische Sporen. Es ist daher nicht unmöglich, daß ein Teil der alten Sporen schon entleert wird, bevor die Auskeimung erfolgt ist. Je geringer aber die Zahl der zur Entwicklung gelangten Sporen, um so geringer die Sicherheit der Infektion.

Wird eine größere Hammelherde auf ein Terrain getrieben, auf welchem erfahrungsgemäß Milzbrandkeime vorhanden sind, so erkrankten von den Tieren in den nächsten Tagen 1, 2, 3 oder 4 Proz. an Milzbrand. Wahrscheinlich jedoch hat eine viel größere Zahl von Tieren geringe Sporenmengen aufgenommen, ohne jedoch infiziert worden zu sein. Als Pasteur einer Anzahl von Schafen sporenhaltige Milzbrandkulturen mit dem Futter beibrachte, starben keineswegs alle, sondern nur einige wenige. Wenn wir also ein den natürlichen Verhältnissen konformes Bild erhalten wollten, so mußten wir einer größeren Zahl von Hammeln, und zwar jedem Tier eine minimale Dosis beibringen, um einen Verlust von etwa 4 Proz. zu haben, oder aber wir mußten eine geringere Zahl von Hammeln längere Zeit hindurch mit sehr geringen Sporenmengen füttern. Da uns eine größere Herde nicht zu Gebote stand, so wählten wir den zweiten Weg.

10 kräftige gesunde Hammel wurden 28 Tage hindurch Tag für Tag mit einem 1 cm langen sporenhaltigen Seidenfädchen gefüttert. Die Sporen waren auf Kartoffeln gezüchtet (22 Generationen), an Seidenfädchen angetrocknet und über ein Jahr lang auf einer Glasplatte trocken aufbewahrt worden.

Das Resultat gestaltete sich folgendermaßen: am 6. Tage der Fütterung starb der erste Hammel, zufälligerweise einer von den mehrere Monate früher mit großen Dosen von Bazillen resultatlos gefütterten. Am 7. Tage der zweite, am 12. Tage der dritte und am 20. Tage der vierte. 9 Tage nach dem Aussetzen der Fütterung starb ein Hammel an Blasenwürmern in Lunge und Leber und endlich nach weiteren 13 Tagen, also 22 Tage nach dem Aufhören der Fütterung, der zweite früher mit Bazillen gefütterte Hammel.

Eine genaue Durchsicht der Sektionsprotokolle ergibt, daß sämtliche Hammel, auch der 22 Tage nach Sistierung der Fütterung gestorbene, an unzweifelhaftem Darmmilzbrand verendet sind. Unsere Voraussetzungen hatten sich demnach voll und ganz bestätigt. Der Verlauf des Versuches gestaltete sich so wie eine Epidemie von natürlichem Milzbrand in einer größeren Herde.

Bemerkenswert ist es, daß ein Hammel noch gestorben ist 22 Tage nach der Fütterung. Daß das Tier infiziert sei durch Sporen, welche ihm eingegeben worden sind, kann man wohl kaum annehmen. Bei den Temperaturverhältnissen im Hammeldarm hätten während eines Zeitraumes von 22 Tagen die Sporen schon lange ausgekeimt sein und die ausgewachsenen Bazillen sich derart vermehrt haben müssen, daß eine Infektion wohl kaum ausgeblieben wäre. Es dürfte nach unserer Meinung wohl eine andere Erklärung eine größere Wahrscheinlichkeit für sich haben: in dem entleerten Kote sind Bazillensporen enthalten gewesen — daß dies vorkommt, beweist der oben zitierte Versuch. — Dieselben sind, nachdem der Kot von den Tieren zertreten, auf das am Boden liegende Heu gelangt und alsdann von dem Tiere wiederum aufgenommen worden. Jedenfalls müssen in diesem Falle außerordentlich geringe Sporenmengen zur Wirkung gekommen sein.

Das Fazit unserer Fütterungsversuche ist noch einmal kurz zusammengefaßt folgendes:

Der natürliche Milzbrand entsteht durch eine Infektion vom Darm aus durch kleine, mit dem Futter aufgenommene Sporenmengen. Je größer die Dosis der aufgenommenen Sporen, um so sicherer ist im einzelnen Falle die Wirkung. Große Dosen von Sporen infizieren nach Einführung per os vom Darm aus eben so sicher und schnell, wie Bazillen resp. Sporen nach Impfung in oder unter die Haut. Die Fütterung großer Dosen von Milzbrandsporen ist somit das geeignete Mittel, um Tiere, welche gegen den Impfmilzbrand immun gemacht sind, auf ihre Immunität dem natürlichen Milzbrand gegenüber zu prüfen.

Sporenfütterungsversuche an Rindern konnten wir nicht vornehmen, da die Beschaffung selbst einiger weniger Tiere die für die Milzbranduntersuchungen zur Verfügung stehenden Mittel überschritten haben würde. Wir konnten von diesen Versuchen um so eher Abstand nehmen, als wir Gelegenheit hatten, bei der Sektion mehrerer an natürlichem Milzbrand verendeter Kühe einen Befund zu konstatieren, welcher mit dem Befunde der nach Sporenfütterung verendeten Hammel sehr wohl übereinstimmte. Diese Milzbrandfälle ereigneten sich im Winter bei Stallfütterung mit weichem Heu. Andere Entstehungsursachen des Milzbrandes, z. B. durch Insektenstiche, waren ausgeschlossen: alles wies darauf hin, daß in dem Heu Milzbrandsporen enthalten waren, welche vom Darm aus eine Infektion herbeigeführt hatten. Wir lassen eines der Sektionsprotokolle zum Vergleiche hier folgen:

S e k t i o n e i n e r a n M i l z b r a n d g e f a l l e n e n K u h.

Kadaver noch warm. Blutig-schleimiger Ausfluß aus Nase und After. Leib stark aufgetrieben. Äußerlich am Halse keine Veränderung. Lymphdrüsen am Unterkiefer nicht vergrößert, ebensowenig die Drüsen in der Leistengegend wie auch die Bronchialdrüsen. Kehlkopfeingang stark ödematös, schmutzig blaurot gefärbt. Kehlkopf und Luftröhre enthalten blutig gefärbten Schaum. Die Gewebe zwischen Kehlkopf und Speiseröhre sulzig ödematös, von Blutergüssen durchsetzt. Sämtliche Venen am Halse stark gefüllt mit flüssigem Blut. Lungen zeigen mehrfach braunrote, derb anzufühlende Partien, welche teilweise etwas tiefer liegen als das umgebende Gewebe. Herz stark gefüllt mit flüssigem Blut. In dem serösen Überzuge des linken Vorhofes zahlreiche Blutextravasate. Unter dem Epithel der Magenabteilungen, welches am Futterinhalt haften bleibt, größere verwaschene, schmutzige rote Flecken, welche sich in die Muskulatur hinein erstrecken. Im Labmagen schimmert das stark gefüllte Venennetz durch. Das Duodenum ist unverändert. Am Dünndarm macht sich eine Anzahl von Schlingen durch dunkelbraunrote Färbung bemerklich. Dieselben enthalten einen blutigen Inhalt. Die Schleimhaut erscheint, nachdem sie abgespült ist, flockig dunkelrot gefärbt, an einzelnen Stellen sind die Peyerschen Plaques dunkelrot und stark geschwollen. Auf Schnitten sieht man an diesen Stellen dichte Bazillennmassen von der Oberfläche des Darmes sich in das Gewebe hinein fortsetzen. Am Dickdarm und Mastdarm keine Veränderungen. Mesenterialdrüsen nicht geschwollen. Im großen Netze zahlreiche kleine Ecchymosen.

Milz sehr groß, schwarz, zerrißt beim Herausnehmen. Ihre Substanz ist breiartig, enthält eine große Zahl von Milzbrandbazillen. Die Leber ist schlaff. Von der Schnittfläche fließt reichlich dunkelrotes Blut herab. Gallenblase stark ausgedehnt, Galle blutig gefärbt. Nieren blutreich, auf der Schnittfläche auffallend dunkelrot. In der Urinblase ungefähr 2 Liter blutig gefärbten Urins. Mit der Milzsubstanz wurden eine Anzahl von Meerschweinchen geimpft. Alle Tiere erlagen innerhalb der nächsten 2 Tage an unzweifelhaftem Milzbrand.

Bei der großen Bedeutung, welche die Infektion vom Darm aus beansprucht, war es von großem Interesse, zu sehen, wie sich Tiere mit einfachem Magen der Fütterung großer Sporenmengen gegenüber verhalten würden.

Hühner und Tauben konnten selbst durch ganz enorme Sporenmengen vom Darm aus nicht infiziert werden. Auch Ratten erwiesen sich gänzlich unempfindlich. Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse wurden vielfach ohne Erfolg gefüttert mit recht erheblichen Dosen, in einigen wenigen Fällen konnte jedoch eine Infektion konstatiert werden. Ob besondere Füllungszustände des Magens oder ein bestimmtes Stadium der Verdauung notwendig sind, um eine Infektion zu erzielen, zur Entscheidung dieser Frage würden ausgedehnte Versuche nötig sein; vorderhand möge der Nachweis genügen, daß wir einige positive Resultate erzielt haben.

Die Fütterung geschah immer in der Weise, daß die von der Kartoffel abgestrichene sporenhaltige Kultur mit einem stumpfen Hölzchen den Tieren hinter die Schneidezähne gebracht wurde. Nach kurzer Zeit begannen die Tiere dann zu fressen. Zwei junge Meerschweinchen wurden zweimal mit einer mäßigen Dosis vergeblich gefüttert. Bei der 3. Fütterung erhielt jedes Tier die Menge einer kleinen Bohne von Sporen, welche im Brutapparat nach Aussaat von frischer Mäusemilz auf Kartoffeln sich in reichlicher Menge gebildet hatten. Am 3. Morgen wurden beide Tiere tot gefunden. Die Sektion ergab folgenden Befund:

Meerschweinchen I. Inguinal-, Axillardrüsen nicht geschwollen, Submaxillardrüsen etwas größer wie in der Norm. In der Bauchhöhle eine ziemlich reichliche Menge blutig gefärbter, schnell gerinnender Flüssigkeit. Leber und Nieren braunrot, blutreich. Milz stark vergrößert. Durch die Wände des Duodenum scheinen braunrote Schleimhautpartien durch; die zum Duodenum gehörigen Lymphdrüsen stark vergrößert, auf dem Durchschnitt von Blutungen durchsetzt, sehr saftreich. Duodenuminhalt blutig gefärbt. In der Schleimhaut sind einzelne Partien stark geschwollen und blutig infiltriert. Mehrere Peyersche Haufen im Dünndarm sind gerötet und geschwollen. Die Mesenterialdrüsen fast alle stark vergrößert, saftreich. Blase mit Urin gefüllt. Im Herzbeutel etwas blutige Flüssigkeit. Im rechten Herzen flüssiges Blut. Lunge graurot, einzelne Lobuli braunrot, verdichtet. Maulhöhle blaß, intakt; Speiseröhre desgleichen. Kehlkopfeingang nicht geschwollen und gerötet, ebensowenig die Trachea.

Meerschweinchen II. Submaxillar- und Axillardrüsen stark vergrößert, Inguinaldrüsen nicht. Leber und Nieren stark bluthaltig. Milz stark vergrößert. Das ganze Duodenum stark gerötet, Schleimhaut desselben teilweise blutig infiltriert. Zugehörige Drüsen stark geschwollen. Im Herzen wenig flüssiges Blut. Lungen graurot, lobulär braunrot verdichtet. Maulhöhle und Speiseröhre intakt. Kehlkopfeingang nicht geschwollen. Trachealschleimhaut gerötet.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte es sich, daß die Darmschleimhaut beider Meerschweinchen an den stark geröteten Stellen von enormen Mengen von Milzbrandbazillen durchsetzt war, ein ähnliches Bild, wie bei den Hammeldarmschnitten.

In einem anderen Versuche erhielten:

- 2 junge Ratten,
- 2 Mäuse,
- 2 Kaninchen,
- 2 Meerschweinchen

je eine linsen- bis erbsengroße Portion Sporenmaterial, welches frisch aus der Aussaat einer Milz gewonnen war.

Die beiden Ratten und ein Meerschweinchen blieben munter, dagegen erlagen am 2. Tage Kaninchen I, am 3. Tage Kaninchen II, ein Meerschweinchen und die beiden Mäuse.

Das Meerschweinchen hatte sich offenbar an der Lippe infiziert: es fand sich an der linken Seite der Unterlippe eine stark entzündete kleine Wunde. Von dieser ausgehend starkes Ödem, welches sich über den ganzen Hals erstreckte. Submaxillardrüsen enorm geschwollen, Axillardrüsen nur wenig, Inguinaldrüsen nicht. Maulschleimhaut intakt. Kehlkopfeingang nicht geschwollen. Trachealschleimhaut gerötet, Trachea mit feinblasig ziegelrotem Schaum erfüllt. Milz groß. Dünndarmschleimhaut in ihrer ganzen Ausdehnung leicht gerötet, Peyer'sche Haufen geschwollen, ebenso die Mesenterialdrüsen.

Es fehlte in diesem Falle die Rötung und Schwellung der Duodenumschleimhaut, auch zeigten sich keine Stellen besonders auffallend verändert. Man kann daher den Fall wohl nur als Impfmilzbrand auffassen. Dagegen boten beide Kaninchen das ausgesprochene Bild des Darmmilzbrandes.

Kaninchen I. Blutiger Ausfluß aus der Nase. Axillar- und Submaxillardrüsen nicht vergrößert. Inguinaldrüsen stark geschwollen, Maulschleimhaut intakt, hintere Zungengegend und Kehlkopf blaurot. Speiseröhre blaß, Trachealschleimhaut stark gerötet mit rotem Schaum bedeckt. In der Bauchhöhle etwas blutig gefärbte Flüssigkeit. Milz braunrot, weich, stark vergrößert. In der Duodenumschleimhaut zahlreiche Blutaustretungen in der geschwollenen Schleimhaut. Einzelne Partien der Schleimhaut des oberen Teiles des Dünndarmes gerötet. Mesenterialdrüsen stark vergrößert.

Kaninchen II. Blutiger Ausfluß aus der Nase. Submaxillar-, Axillar- und Inguinaldrüsen nicht verändert. Bronchialdrüsen stark geschwollen. Maulschleimhaut intakt. Zungengrund bläulich. Trachealschleimhaut kirschrot, in der Trachea blutiger Schleim. Lungen ödematös, braunrot gefleckt. Milz stark vergrößert. Am Pylorus eine Blutaustragung in der Schleimhaut. Dünndarmschleimhaut stark gerötet. Peyer'sche Haufen und Mesenterialdrüsen geschwollen.

Die Sektion der ersten Maus ergab kein besonders prägnantes Bild des Darmmilzbrandes, dagegen konstatierten wir bei der zweiten einen ganz eigentümlichen Befund: in der Mitte des Dünndarms fand sich ein linsengroßer, bläulichschwarzer Knoten in der Schleimhaut, welcher das Lumen nahezu versperrte. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß wir einen richtigen Anthraxknoten vor uns hatten, wie solche beim Darmmilzbrand des Menschen und auch des Rindes häufiger beobachtet werden.

Die beiden Ratten und das zweite Meerschweinchen blieben völlig munter. Wie widerstandsfähig sich häufig Meerschweinchen gerade verhalten, erhellt aus folgendem Versuch:

2 Meerschweinchen wurden 14 Tage hintereinander täglich mit den auf je 6 Kartoffelhälften im Brutapparat reichlich gebildeten Sporen gefüttert. Die Tiere fraßen das von den Kartoffeln abgestrichene Material ohne Widerstreben. Sie blieben andauernd gesund, ja zeigten auch nicht einmal vorübergehend Störungen ihres Wohlbefindens. Daß sie nicht immun waren, ergab sich daraus, daß sie nach Ablauf von 14 Tagen mit einer minimalen Menge desselben Materiales subkutan geimpft an typischem Impfmilzbrand erlagen.

Wir kommen nun zu der Prüfung des Verhaltens der durch Schutzimpfung immun gemachten Hammel gegenüber der Fütterung mit frischem Sporenmaterial.

Es standen für diese Versuche zu unserer Verfügung 10 Hammel. Dieselben hatten indessen sämtlich schon die Probeimpfung mit unserem virulenten Milzbrand überstanden — ein Umstand, durch welchen gewiß die durch die Schutzimpfung erzielte Immunität noch ganz besonders befestigt war. Die 10 Hammel hatten also jedenfalls

das Maximum der durch Schutzimpfung erreichbaren Immunität erreicht. 5 von ihnen waren mit direkt von P a s t e u r bezogenem II. Vakzin geimpft worden, die 5 anderen mit unseren eigenen abgeschwächten Kulturen.

Es wurden nun zunächst die 5 mit P a s t e u r schem Impfstoff geimpften, sowie 2 von der zweiten Gruppe mit Sporenmaterial, welches frisch auf Kartoffeln bereitet war, gefüttert, und zwar erhielt jedes Tier eine erbsengroße Dosis pro Tag. Am 2. Tage starb der zur Kontrolle mitgefütterte, nicht geimpfte Kontrollhammel; am 3. Tage starben zwei von den mit P a s t e u r schem Impfstoffe geimpften — alle drei an unzweifelhaftem Darmmilzbrand. Die übrigen blieben, obwohl die Fütterung 9 Tage hindurch fortgesetzt wurde, gesund. Zwei von diesen immunen Tieren starben im Laufe der nächsten Monate an Pneumonien. Die überlebenden drei wurden zugleich mit den durch Impfung des 15-, 11-, 9- und 5tägigen Milzbrandes immun gemachten drei Hammeln der zweiten Gruppe und einem Kontrollhammel an zwei aufeinanderfolgenden Tagen mit je einer haselnußgroßen Portion frischer Sporen gefüttert. Der zur Kontrolle der Wirksamkeit des Sporenmaterials mitgefütterte Hammel starb am 3. Tage an Darmmilzbrand. Die immun gemachten 6 Hammel blieben am Leben, boten auch kein Zeichen von Kranksein.

Bei den Hammeln, welche die erste Fütterung überstanden hatten, wurde nach 9 Monaten ein Fortbestehen der erlangten Immunität gegen den Fütterungsmilzbrand konstatiert.

Aus diesen, wenn auch wenig zahlreichen, so doch einwandfreien Versuchen geht nun hervor, daß bei einer Anzahl von Tieren absolute Immunität erreicht werden kann: denn eine Anzahl von Hammeln war und blieb wirklich immun, auch bei wiederholter Fütterung großer Dosen frischer Sporen: ob aber die Immunität schon nach der Impfung mit dem II. Vakzin eine derartige ist, daß die Tiere der Sporenfütterung widerstehen, muß mit Recht bezweifelt werden, da von 5 mit P a s t e u r schem II. Impfstoff und später mit virulentem Milzbrand geimpften Hammeln zwei an typischem Darmmilzbrand erkrankt und gefallen sind.

Wenn diese Zahlen auch nur klein sind, so geht doch mit Sicherheit aus denselben hervor, daß die natürliche Infektion der Impfung an Bösartigkeit nicht nur nicht nachsteht, sondern daß sie vielmehr dieselbe nicht unerheblich übertrifft. Die Widerstandsfähigkeit der immunen Tiere gegen den Impfmilzbrand gestattet mithin durchaus noch keine bindenden Schlüsse auf die Widerstandsfähigkeit dieser Tiere gegenüber der natürlichen Infektion. Mit diesen experimentellen Ergebnissen stehen die unter natürlichen Verhältnissen in Kapuvar, Packisch und in Frankreich selbst an vielen Orten gemachten Beobachtungen durchaus in Einklang.

Da nun, wie wir gesehen haben, eine sichere Immunität gegen den Impfmilzbrand ohne erhebliche Verluste durch die Schutzimpfung nach dem P a s t e u r schen Verfahren sich nicht erreichen läßt und da außerdem diese mit Verlusten erkaufte Immunität dem natürlichen Milzbrand gegenüber nur unvollkommen standhält, so ist die bisher geübte Schutzimpfungsmethode für die Praxis nur als ein höchst zweifelhafter Gewinn zu bezeichnen, besonders wenn man erwägt, daß die der II. Schutzimpfung mit einem immerhin noch starken Virus erliegenden Tier Quellen neuer Infektionen und somit Ursache der Verbreitung der Krankheit zu werden sehr wohl geeignet sind.

Ob es gelingen wird, ein sicheres und für die Praxis brauchbares Verfahren der Schutzimpfung zu finden, muß die Zukunft lehren.

Sektionsberichte über die Hammel.

Hammel I—V, verendet nach Fütterung erbsengroßer Dosen von frischen S p o r e n.

Hammel I. Sektion höchstens 18 Stunden post mortem.

Aus der Nase fließt eine schaumige, blutige Flüssigkeit, in welcher mikroskopisch Milzbrandbazillen nachweisbar sind. Der Leib ist stark meteoristisch aufgetrieben. Am Kinn findet sich eine etwa groschengroße Blutaustretung unter der Haut, zu beiden Seiten des Brustkorbes mehrere bis zweimarkstückgroße Blutaustretungen im subkutanen Gewebe und in der Muskulatur. Die Hautvenen sind stark mit Blut gefüllt; im Blute derselben sind Milzbrandbazillen nachweisbar. Die Luftröhre ist in eine blutdurchtränkte Gewebsmasse eingebettet, in welcher die Schilddrüsen kaum noch erkennbar sind. Die submaxillaren Lymphdrüsen sind von etwa Erbsengröße, braunrot, derb, saftreich. Die Bugdrüsen sind beiderseits vergrößert. Die linke Inguinaldrüse ist etwa bohnen groß, auf dem Durchschnitt rotbraun, saftreich, das periadenitische Gewebe blutig infiltriert. Die Schleimhäute des Maules, des Rachens und der Speiseröhre sind blaß und völlig intakt. Die aryepiglottischen Falten sind leicht geschwollen, rötlich-bläulich gefärbt. Die Trachealschleimhaut ist braunrot. Die Oberfläche beider Lungen ist mit zahlreichen, etwa linsengroßen Ecchymosen übersät. Beide Unterlappen sind ödematös. Im Herzbeutel findet sich etwa ein Eßlöffel blutig gefärbter Flüssigkeit. Im Epikard sieht man mehrere kleine Ecchymosen. Das Herz ist schlaff, die Muskulatur ist blaßrot, weich, hat Fäulnisgeruch; im rechten Herzen findet sich etwas schaumiges Blut, das linke Herz ist leer. Die Organe der Bauchhöhle riechen intensiv faulig. In der Peritonealhöhle findet sich eine ziemlich reichliche Menge blutig-seröser Flüssigkeit. An einzelnen Dünndarmschlingen bemerkt man rötlich durchschimmernde Partien, welche geschwollenen und geröteten P e y e r s c h e n Haufen entsprechen. Der Pansen ist stark gefüllt mit grünem Futter, die übrigen Mägen leer. Über den Zustand der Schleimhäute der Mägen und des Darmes läßt sich ein sicheres Urteil nicht gewinnen, da die Fäulnis schon zu weit vorgeschritten ist. Die Mesenterialdrüsen sind haselnuß- bis walnuß groß, zum Teil in blutig imbibierte Gewebe eingebettet. Die Milz ist groß, blaurot, weich, fluktuierend. Die Nieren in blutig imbibierte Fettgewebe eingebettet, sind dunkelbraunrot, weich. Rinden- und Marksubstanz läßt sich an ihnen nicht mehr unterscheiden. Die Leber ist schlaff, faulig. Die Blase leer.

Hammel II. Sektion unmittelbar post mortem.

Der Kadaver ist warm. Aus der Nase entleert sich schaumiges hellrotes Blut, welches zahlreiche Milzbrandbazillen enthält. Der Leib ist leicht aufgetrieben. An der linken Seite des Halses findet sich eine markstückgroße Blutaustretung im subkutanen Gewebe, eine ebensolche ca. 6 cm lang und fingerbreit in der Gegend der rechten oberen Rippen. Die submaxillaren Lymphdrüsen sind erbsengroß, die Bugdrüsen links bohnen groß, sehr saftreich, rechts erbsengroß, eine der letzteren zeigt auf dem Durchschnitte kleine Ecchymosen. Inguinaldrüsen nicht vergrößert. Die Thyreoidea ist braunrot, hart, ihre Umgebung blutig infiltriert. Maul-, Rachen- und Speiseröhrenschleimhaut intakt. Der Kehlkopfeingang ist stark ödematös geschwollen. Die Schleimhaut desselben blaurot, von kleinen Ecchymosen durchsetzt. Die Luftröhre ist mit ziegelrotem kleblasigem Schaum erfüllt. Auf den Pleuren sind zahlreiche punktförmige bis linsengroße Ecchymosen zu bemerken. Der rechte untere Lungenlappen ist dunkelbraunrot, ödematös, blutreich, der Mittellappen zeigt einzelne lobuläre Partien, welche tiefer liegen und etwas dunkler gefärbt sind wie das benachbarte Gewebe. Oberlappen normal. Die linke Lunge zeigt ein analoges Verhalten. Die Bronchialdrüsen sind teilweise vergrößert, ihr periadenitisches Gewebe blutig durchtränkt. Im Herzbeutel wenig rötlich gefärbte Flüssigkeit,

im rechten Herzen etwas dünnflüssiges schaumiges Blut, im linken Herzen ein wenig rötlicher Schaum, in der Kranzfurche eine größere Blutaustretung. Das Herzfleisch ist derb, braunrot.

In der Bauchhöhle findet sich eine ziemlich reichliche Menge blutig gefärbter Flüssigkeit. Einzelne Stellen des Dünndarms schimmern rot durch die Darmwand hindurch, an mehreren Stellen finden sich Ecchymosen im serösen Überzug des Darmes. Pansen-, Netzmagen-, Psalterschleimhaut intakt. Im Labmagen finden sich hämorrhagische Erosionen. Die Reaktion ist in diesem Magen neutral, in den übrigen Mägen deutlich sauer. Die Schleimhaut des ganzen Duodenum ist stark gerötet und geschwollen. Die Peyer'schen Haufen, sowie zahlreiche solitäre Follikel sind auffallend gerötet, in den Peyer'schen Haufen einzelne Stellen inselartig erhaben über das Niveau des Haufens. Die Mesenterialdrüsen sind haselnuß- bis walnußgroß, meist in sugiliiertes Gewebe eingebettet. Sie erscheinen auf dem Durchschnitt dunkelbraunrot, ödematös.

Die Milz ist stark vergrößert, braunrot, weich; die mikroskopische Untersuchung der Substanz zeigt, daß dieselbe zahllose Milzbrandbazillen enthält. Nierenkapsel leicht abziehbar. Marksubstanz dunkelbraunrot, setzt sich gegen die ebenfalls sehr dunkle blutreiche Rindensubstanz noch deutlich ab. Die Leber ist derb, blutreich. Zeichnung der Acini deutlich.

Die Blase enthält einige Tropfen einer blutig gefärbten Flüssigkeit.

Hammel III. Sektion unmittelbar post mortem.

Blutiger Ausfluß aus Nase und Maul. Vor dem oberen Drittel der Luftröhre liegt ein handtellergroßes, blutig-sulziges Extravasat im subkutanen Gewebe. Submaxillardrüsen etwas vergrößert. Bug-, Axillar- und Inguinaldrüsen nicht vergrößert. Maul-, Rachen-, Speiseröhrenschleimhaut normal. Kehlkopfeingang ödematös. Schleimhaut daselbst bläulichrot. Trachealschleimhaut leicht gerötet. Lungen hellrot, mit einzelnen Ecchymosen bedeckt. Sie enthalten braunrote lobuläre Partien, welche tiefer liegen wie das umgebende Lungengewebe. Am Herzen nichts Besonderes. In den drei ersten Mägen keine Veränderungen, im vierten sind einige Falten ödematös und von kleinen Blutextravasaten durchsetzt. Schleimhaut im oberen Drittel des Duodenum fast gleichmäßig dunkelrot, geschwollen. Im Dünndarm zahlreiche, bis fingerlange, dunkelrot gefärbte, geschwollene Partien, welche vorzugsweise den Peyer'schen Haufen angehören. Die diesen Partien entsprechenden Mesenterialdrüsen sind stark geschwollen, einzelne bis zu Kartoffelgröße, auf dem Durchschnitt erscheinen sie von extravasiertem Blute rot gefärbt.

Milz sehr stark vergrößert, weich, fluktuierend, enthält zahllose Milzbrandbazillen. Nieren und Leber blutreich. Blase leer.

Hammel IV. Sektion ca. 15 Stunden post mortem.

Blutiger Ausfluß aus Nase und Maul. Mehrere kleine Blutaustretungen im Zellgewebe in der Umgebung der Trachea, eine größere dicht oberhalb des Brustbeins, an der linken Brustseite zwei mehr als handtellergroße Blutaustretungen im subkutanen Gewebe, eine ebensolche am Nacken, mehrere kleinere zerstreut unter der Haut des Rückens und Halses. Submaxillardrüsen bohngroß, blutreich, saftreich. Bugdrüsen beiderseits vergrößert, Achseldrüsen nur rechts mäßig vergrößert, Inguinaldrüsen beiderseits stark vergrößert, dunkelrot und saftreich. Schleimhaut der Maulhöhle blaß und intakt, oberer Teil der Speiseröhre bläulichrot, Schleimhaut intakt.

Kehlkopfeingang bläulich, stark ödematös. Lungen in den hinteren Partien wenig lufthaltig, dunkelrot gefärbt, blutreich. In dem lufthaltigen Gewebe finden sich mehrere bis taubeneigroße, dunkler gefärbte und eingesunkene lobuläre Partien. Auf den Pleuren

einige Ecchymosen. Im Herzbeutel etwas blutig gefärbtes Serum. Herzoberfläche mit vielen kleinen Ecchymosen bedeckt. Herzhöhlen fast leer.

In der Bauchhöhle blutig-wäßriger Erguß. Magen stark aufgebläht. Mageninhalt in den drei ersten Mägen sauer, im Labmagen und Duodenum deutlich alkalisch. Im Labmagen einige Schleimhautfalten von kleinen Blutungen durchsetzt. Duodenumschleimhaut gerötet, besonders am Übergange aus dem Labmagen. Im Dünndarm einzelne, besonders den Peyer'schen Haufen angehörende Schleimhautpartien stark gerötet und geschwollen. Mesenterialdrüsen vergrößert, dunkelrot, saftreich.

Milz stark vergrößert, breiartig. Nieren sehr blutreich. Leber schlaff. Blase leer. Im Blut der Vena jugularis zahlreiche Milzbrandbazillen.

Hammel V. Sektion ca. 15 Stunden post mortem.

Ausgedehnte Blutaustretungen unter der Haut, fast über den ganzen Rücken und über die rechte Brustseite sich erstreckend, dicht oberhalb des Brustbeins ist das Zellgewebe blutig durchtränkt. Kieferdrüsen vergrößert, dunkelrot. Bugdrüsen links stark vergrößert, rechts klein, aber dunkel gefärbt. Achseldrüsen nicht verändert. Inguinaldrüsen vergrößert, graurot. Schleimhaut des Maules blaß, unverletzt. Speiseröhre blaß.

Kehlkopfingang leicht ödematös, bläulichrot. In der Luftröhre ziegelroter Schaum, im unteren Drittel ist die Schleimhaut derselben streifig ecchymosiert.

Herz und Lungen wie in den übrigen Fällen.

In der Bauchhöhle blutig-wäßriger Erguß. Schleimhäute der drei ersten Mägen intakt, Reaktion ihres Inhaltes sauer, im Labmagen einzelne Falten geschwollen und ecchymosiert. Inhalt schwach alkalisch. Duodenumschleimhaut im oberen Drittel rot, leicht geschwollen. Das Jejunum ist fast in seiner ganzen Länge rot, hat einen dünnen blutigen Inhalt. Eine Dünndarmschlinge und das benachbarte Mesenterium erscheint blutig gefärbt. Einzelne Partien der Schleimhaut dieser Schlinge sind schwarzrot geschwollen. Auch in der Schleimhaut des übrigen Dünndarms und auch des Dickdarms finden sich blutig infiltrierte Stellen, welche auch außen durchscheinen. Mesenterialdrüsen mäßig stark vergrößert, nicht auffallend dunkel gefärbt.

Milz sehr groß, blauschwarz, weich, enthält zahllose Milzbrandbazillen. Nieren blutreich. Leber schlaff, von mäßig reichlichem Blutgehalt. In der Blase einige Tropfen blutiggefärbter Flüssigkeit.

Hammel VI (gefüttert mit einer erbsengroßen Portion alter Sporen). Sektion 18 Stunden post mortem.

Aus der Nase fließt blutige Flüssigkeit. Bauch aufgetrieben. An den haarlosen Stellen auf der Innenseite des Oberschenkels und in der Achselhöhle ist die Haut schwach grünlich gefärbt. An der Vorderseite des Halses und am linken Vorderbein ausgedehnte Blutergüsse unter der Haut, am Rücken 6 handtellergröße Sugillationen.

Das Zellgewebe an dem Eingange der Brusthöhle blutig-sulzig infiltrierte. Submaxillardrüsen bohnen groß, braunrot, derb. Achseldrüsen unverändert. Bugdrüsen etwas über erbsengroß, braunrot, derb, rechte Inguinaldrüse haselnuß groß, graurot, von sulzigem Ödem umgeben, welches sich nach dem Rücken zu erstreckt, linke Inguinaldrüse unverändert.

Maulschleimhaut blaß, am linken oberen Alveolarfortsatz ein kleiner, linsengroßer Substanzverlust in der Schleimhaut, welcher in eine kurze, fistelartige Vertiefung führt, mit blassem, etwas verdicktem Rand, in der Umgebung keine Rötung und Schwellung. Die mikroskopische Untersuchung ergibt, daß Milzbrandbazillen an dieser Stelle nicht eingedrungen sind, da sich dieselben nur im Innern der umgebenden Gefäße und zwar nur in mäßiger Zahl finden. Pharynx und Speiseröhre intakt. Kehlkopfingang bläulich gefärbt, leicht ödematös, Luftröhre mit rötlichem Schleim erfüllt. Lungen graurot, im allgemeinen gut lufthaltig, einzelne Stellen braunrot, tiefer liegend wie das normale Gewebe.

Im Herzen wenig Blut. Herzfleisch mürbe infolge von Fäulnis.

Magenschleimhaut nicht merklich verändert, Duodenumschleimhaut schieferig. Am Dünndarm scheinen einzelne Stellen rot durch, sie entsprechen stark geröteten und geschwollenen Peyer'schen Haufen. Eine Mesenterialdrüse taubeneigroß, schwarzbraun im Innern, eine zweite haselnußgroß, graurot.

Milz mäßig vergrößert, schwarz, weich zerfließlich.

Leber weich, faulig, Blutgefäße gasblasenhaltig.

Nieren dunkelblutrot, faulig weich, Blase gefüllt. Urin blutig gefärbt, enthält keine Milzbrandbazillen, keine Blutkörperchen. Im Blut einer Hautvene und im Lungenabstrich zahlreiche Milzbrandbazillen.

Hammel VII (gefüttert mit einer erbsengroßen Portion alter Sporen). Sektion kurze Zeit nach dem Tode.

Der Kadaver ist noch warm. Aus der Nase fließt blutige Flüssigkeit, aus dem Maule Futterbrei. Hautgefäße stark gefüllt, im Blute einer Halsvene zahlreiche Milzbrandbazillen. Der ganze Rücken ist von einer ausgedehnten subkutanen Blutaustretung eingenommen. In der Bauchmuskulatur rechts talergroße Blutaustretung. Beide Submaxillardrüsen sowie einzelne Drüsen am Halse stark vergrößert, braunrot. Axillardrüsen beiderseits pflaumengroß, links braunrot, rechts graurot. Bugdrüsen und Inguinaldrüsen normal. Maul, Pharynx und Speiseröhre intakt. Schleimhaut blaß. Kehlkopfeingang bläulichrot, in der Luftröhre mit Futterresten vermischter Schleim. Schleimhaut bläulichrot. Lungen nicht wesentlich verändert. Im rechten Herzen etwas flüssiges Blut und einige weiche Gerinnsel. Die 3 ersten Mägen intakt. Im Labmagen eine Anzahl flacher, dunkelrot gefärbter, etwa linsengroßer Substanzverluste, welche sich hauptsächlich auf der Höhe der Falten und in der Nähe des Pylorus finden. Schleimhaut des Duodenum stark gallig gefärbt, nach dem Pylorus zu schieferig. In der Schleimhaut des Dünndarms mehrere stecknadelknopf- bis linsengroße Ecchymosen, mehrere Peyer'sche Haufen blaurot, stark hervortretend. Pankreas mit dem Kopf in sugilliertes Fettgewebe eingebettet. Mesenterialdrüsen mäßig vergrößert, dunkelrot gefärbt.

Milz stark vergrößert, schwarz, breiig.

Nieren und Leber stark bluthaltig.

Blase leer.

Hammel VIII (gefüttert mit einer haselnußgroßen Portion frischer Sporen). Sektion ca. 12 Stunden post mortem.

Reichlicher blutiger Ausfluß aus der Nase, derselbe enthält Milzbrandbazillen. Der Kadaver noch etwas warm, zeigt keine Spur von Fäulnis. Mäßig große Blutaustretung dicht oberhalb des Brusteinganges, diffus ausgebreitete Blutaustretung auf der rechten Brustseite nach dem Rücken zu sich erstreckend.

Rechte und linke Kieferdrüse ein wenig vergrößert, aber blaß, rechte Bugdrüse etwas vergrößert, dunkel, saftreich, linke weniger verändert. Axillardrüsen beiderseits sehr stark vergrößert, saftreich. Inguinaldrüsen normal.

Schleimhaut der Maulhöhle und Zunge unverändert — ebenso die Speiseröhre. Kehlkopfeingang wenig ödematös. Im Kehlkopf und in der Luftröhre ziemlich viel schwach rötlich gefärbter Schaum.

Thyreoidea nicht verändert. Lungen hellrot, mit zahlreichen Ecchymosen bedeckt und einige größere dunkelgefärbte verdichtete Stellen enthaltend. Im rechten Herzen eine große Menge lockerer Blutgerinnsel, im linken ebenso beschaffene Blutgerinnsel in geringer Menge.

Schleimhaut des 4. Magens und des Duodenums gleichmäßig geschwollen und von zahlreichen kleinen oberflächlichen schwarzroten Sugillationen durchsetzt. Schleimhaut

der 3 ersten Mägen unverändert. Inhalt des 1. Magens stark sauer, des 2. und 3. schwach sauer, des 4. schwach alkalisch, des Duodenum alkalisch. Ileum durchweg dunkler gefärbt, stellenweise braunrot, nach außen durchscheinend. Inhalt des Ileum braunrötlicher Schleim, welcher viele Milzbrandbazillen enthält. Schleimhaut des Ileum fast durchweg verdickt, dunkel graurot gefärbt. Follikel und Peyer'sche Haufen stellenweise stark geschwollen, blutig gefärbt und oberflächlich ulzeriert. Auch im Dickdarm einzelne vergrößerte dunkelrot gefärbte Follikel. Im Inhalt desselben ziemlich viele Milzbrandbazillen, welche den Farbstoff nicht annehmen.

Mesenterialdrüsen in fortlaufenden Gruppen stark vergrößert, sehr saftreich, markig, am auffallendsten im Mesenterium des Ileum.

Milz vergrößert, schwärzlich, breiartig, enthält zahlreiche Milzbrandbazillen. Retroperitonealdrüsen geschwollen, dunkelgefärbt.

Nieren gleichmäßig dunkelrot, blutreich, Leber schlaff, blutreich.

In der Blase einige Tropfen blutig gefärbten Urins.

Hammel IX. (gefüttert mit einer stecknadelknopfgroßen Portion frischer Sporen). Sektion unmittelbar post mortem.

Kadaver warm und ganz frisch. Kein Ausfluß aus der Nase. Blut aus einer Hautvene am Halse enthält sehr zahlreiche Milzbrandbazillen. Am Nacken eine ziemlich große Blutaustretung unter der Haut.

Kieferdrüsen etwas vergrößert und saftreich, Bugdrüsen beiderseits klein und wenig saftreich. Achseldrüsen beiderseits stark vergrößert und saftreich, die linke von kleinen Blutungen durchsetzt. Inguinaldrüsen wenig vergrößert. Maulschleimhaut und Zunge blaß und unverändert, ebenso die Speiseröhre.

Kehlkopfeingang leicht ödematös, viel zäher, schwach rötlicher Schleim im Kehlkopf und oberen Teile der Luftröhre. Lungen graurot marmoriert, stark ödematös.

Im Herzbeutel viel blutiges Serum. Im Herzen flüssiges Blut.

Reichlicher blutig-wäßriger Erguß in der Bauchhöhle. Einer Dünndarmschlinge von der Länge mehrerer Finger entsprechend ist das zu ihr gehörige Mesenterium von kleinen, längs der Gefäße liegenden Blutungen in großer Zahl durchsetzt. Ähnliche, zum Teil noch reichlicher von kleinen Blutungen durchsetzte Stellen finden sich in anderen Teilen des Mesenteriums.

Schleimhaut der 3 ersten Mägen intakt, Inhalt des 1. und 2. sauer, des 3. und 4. schwach sauer, des Duodenum alkalisch. Schleimhaut des 4. Magens und des Duodenums fleckig gerötet und geschwollen, am stärksten am Pylorus, in dessen Nähe einige kleine Ecchymosen in der Magenschleimhaut. Die Darmschleimhaut ist den Blutungen im Mesenterium entsprechend diffus gerötet und geschwollen. Darminhalt graugelb, dünn breiig. Dünndarmschleimhaut stellenweise rötlich gefleckt und oberflächlich ulzeriert. Peyer'sche Haufen meist graurot gefärbt und geschwollen.

Im Colon ascendens eine harte, verdickte, braunrote Stelle in der Schleimhaut von 1 cm Durchmesser, welcher der Darminhalt fest anhaftet. Eine im zugehörigen Mesenterium gelegene Drüse ist stark geschwollen und von kleinen Blutungen durchsetzt. In der Mastdarmschleimhaut zahlreiche kleine Ecchymosen.

Mesenterialdrüsen stark vergrößert, dunkelgrau, sehr saftreich.

Milz sehr stark vergrößert, schwarz, breiig.

Leber und Nieren blutreich.

Blase leer.

Hammel X (gefüttert an 4 aufeinanderfolgenden Tagen mit frischen Sporen auf Papierstückchen). Sektion kurze Zeit post mortem.

Kadaver noch warm, keine Spur von Fäulnis. Blutiger Ausfluß aus Nase und Maul.

Große Blutaustretungen unter der Haut des vorderen Teiles des Rückens, kleinere am Kreuz linkerseits.

Kiefer- und Bugdrüsen kaum vergrößert. Achseldrüsen beiderseits sehr groß, blut- und saftreich. Inguinaldrüse rechts klein, links stark vergrößert. Maulhöhle und Speiseröhre blaß, intakt.

Kehlkopfeingang blaurot, ein wenig ödematös. Im Kehlkopf und in der Luftröhre viel rötlicher Schaum. Schilddrüse groß und blutreich. Lungen marmoriert, im Herzen wenig flüssiges Blut.

In der Bauchhöhle blutig-wäßrige Flüssigkeit. Die 3 ersten Mägen intakt, am Pylorus ist die Schleimhaut ebenso wie im Zwölffingerdarm leicht geschwollen und stark gerötet. Reaktion in den 3 ersten Mägen stark sauer, im 4. schwach sauer, im Duodenum alkalisch. Im Dünndarm zahlreiche Peyer'sche Haufen stark geschwollen und gerötet, an einzelnen Stellen der Schleimhaut kleine Blutaustretungen. Mesenterialdrüsen in großer Zahl sehr stark geschwollen und saftreich.

Milz groß, breiig, enthält sehr zahlreiche Milzbrandbazillen.

Nieren und Leber dunkelrot. Blase leer.

Hammel XI (gefüttert an 6 aufeinanderfolgenden Tagen mit frischen Sporen auf Stückchen Fließpapier). Sektion 20 Stunden post mortem.

Kein blutiger Ausfluß aus Nase und Maul. Im Blut einer Halsvene zahlreiche Milzbrandbazillen. Große Blutaustretungen am Nacken nach dem Rücken zu. Kieferdrüsen klein, saftreich. Bugdrüsen ebenso. Axillardrüsen bedeutend vergrößert, schwarzrot, von sulzig-infiltriertem Bindegewebe umgeben. Inguinaldrüsen wenig vergrößert, graurot. Schleimhaut der Maulhöhle blaß, ohne Verletzungen, Speiseröhre unverändert.

Kehlkopfeingang blaurot, ziemlich stark ödematös. Im Kehlkopf und in der Luftröhre reichliche Menge rötlichen Schaumes. In beiden Lungenspitzen große glattwandige Höhlen von käsig-kalkiger Substanz erfüllt, das benachbarte Lungengewebe ist verdichtet, braunrot. Die übrigen Teile der Lungen sind marmoriert, stellenweise eingesunken. In beiden Herzhöhlen flüssiges Blut und lockere Gerinnsel.

In der Bauchhöhle ziemlich viel rötliche, wäßrige Flüssigkeit. Die 3 ersten Abteilungen des Magens sind nicht verändert. Die Falten des 4. Magens sind schmutziggelblich-braunrot, besonders in der Nähe des Pylorus. Die Schleimhaut im oberen Teil des Duodenums ist gleichmäßig gerötet. Einzelne Dünndarmschlingen erscheinen dunkelrot gefärbt, die Schleimhaut im Innern derselben ist geschwollen und gerötet. Mesenterialdrüsen mäßig vergrößert, markig auf dem Durchschnitt.

Milz sehr vergrößert, breiig, enthält eine Unzahl von Milzbrandbazillen.

Nieren und Leber dunkel gefärbt, blutreich. Blase leer.

Hammel XII (an 7 Tagen mit je einem sporenhaltigen Seidenfädchen gefüttert). Sektion 15 Stunden post mortem.

Blutiger Ausfluß aus der Nase. Im Blute einer Halsvene sehr viele Milzbrandbazillen. Große Blutaustretung im Nacken, sich nach dem Rücken hinziehend, eine kleinere Blutaustretung unter der Bauchhaut. Die Drüsen am Kieferwinkel ein wenig vergrößert und dunkel gefärbt. Die Bugdrüsen nicht verändert, die Axillardrüsen ein wenig größer wie gewöhnlich. Linke Inguinaldrüse vergrößert, blutig gefärbt. Die Maulhöhle ohne Verletzung, auch sonst unverändert. Speiseröhre desgleichen. Kehlkopfeingang etwas ödematös. In der Luftröhre ziemlich viel blutig gefärbter Schaum. Die Lungen sind mit einer Anzahl kleiner Echyosen bedeckt. Einzelne Partien der Lungen sind dunkler gefärbt, weniger lufthaltig. Im Herzen eine geringe Menge flüssigen Blutes.

In den verschiedenen Abteilungen des Magens nichts Bemerkenswertes. Zwölffingerdarmschleimhaut gleichmäßig gerötet. Einzelne Darmschlingen fleckweise dunkelrot

gefärbt, die P e y e r'schen Plaques diesen Stellen entsprechend geschwollen. Eine einzige Mesenterialdrüse geschwollen und blutig durchtränkt.

Die Milz sehr stark vergrößert, breiartig erweicht. Auf dem Deckglas ausgestrichen erweist sich die Milzsubstanz reich an Milzbrandbazillen.

Nieren und Leber wie in den übrigen Fällen. Die Blase enthält einige Tropfen einer blutig gefärbten Flüssigkeit.

Hammel XIV (an 7 Tagen mit je einem sporenhaltigen Seidenfädchen gefüttert). Sektion ca. 10 Stunden post mortem.

Reichlicher blutiger Ausfluß aus der Nase, in demselben zahlreiche Milzbrandbazillen. Leib stark aufgetrieben. Im Blut einer Halsvene enorm zahlreiche Milzbrandbazillen. Das subkutane Gewebe ist an der ganzen rechten Halsseite blutig-sulzig infiltrierte.

Submaxillardrüsen bohnen groß, saftreich. Rechts wie links eine mehr als bohnen-große dunkel gefärbte, aber wenig saftreiche Zervikaldrüse. Bugdrüsen beiderseits klein und blaß. Linke Achseldrüse fast hühnereigroß, rechts gut taubeneigroß, saft- und blut-reich. Inguinaldrüsen beiderseits blaß, kaum vergrößert.

Maulhöhle unverändert, ohne eine Spur von Verletzung. Speiseröhre blaß, intakt. Kehlkopfeingang stark ödematös geschwollen.

In der Luftröhre sehr viel rötlich gefärbter Schaum. Beide Lungen rötlichgrau ödematös. Im linken Herzen wenig, im rechten etwas mehr flüssiges Blut.

In der Schleimhaut des 4. Magens finden sich einige kleine Hämorrhagien. Reaktion in demselben deutlich alkalisch, im 3. Magen sauer. Duodenumschleimhaut geschwollen und gerötet. Im Dünndarm einige Stellen, an welchen die Schleimhaut gerötet ist, sonst nichts Besonderes. (Kadaver nicht mehr ganz frisch.) Pankreas in braunrötliches Fettgewebe eingelagert. Die Mesenterialdrüsen sind in fast ununterbrochener Kette geschwollen, blaß, aber saftreich.

Milz mäßig vergrößert, sehr weich.

Nieren sehr blutreich, Leber brüchig. In der Blase einige Tropfen blutig gefärbter Flüssigkeit.

Hammel XV (11 Tage hindurch täglich mit je einem sporenhaltigen Seidenfädchen gefüttert). Sektion ca. 15 Stunden post mortem.

Blutiger Ausfluß aus der Nase, in demselben Milzbrandbazillen. Im Blute einer Halsvene desgleichen. Am Rücken mehr nach links zu finden sich ausgedehnte Blut-austretungen im subkutanen Gewebe.

Submaxillardrüsen etwa erbsengroß. Bugdrüse rechts etwas vergrößert, braunrot. Achseldrüsen taubeneigroß, blutreich. Rechte Inguinaldrüse bohnen groß, blutreich, linke nicht verändert. An der Zunge ein alter Defekt in der Schleimhaut mit weißlichen vernarbten Rändern ohne Reaktion in der Umgebung.

Kehlkopfeingang stark ödematös geschwollen, blaurot. Trachealschleimhaut blaß, in der Trachea kein roter Schaum. Lungen derb, graurot, die rechte hypostatisch. Herz schlaff, enthält wenig flüssiges Blut. An den Mägen nichts Besonderes. Duodenum-schleimhaut stark gerötet, ebenso einzelne Partien im Dünndarm. Inhalt graurötlich. Die Mesenterialdrüsen stark geschwollen, saftreich.

Milz klein, schwarzbraun, weich. Nieren, Leber blutreich. Blase leer.

Hammel XVI. (an 19 Tagen täglich mit je einem sporenhaltigen Seidenfädchen gefüttert). Sektion 2½ Stunden post mortem.

Reichlicher blutiger Ausfluß aus der Nase. Im Blute einer Hautvene sehr viele Milzbrandbazillen. Große Blutaustretung zwischen den Schulterblättern. Kieferdrüsen etwas vergrößert, dunkelrot gefärbt. Axillardrüsen stark geschwollen, saftreich. Bug-

drüsen und Leistendrüsen klein. Maulhöhle und Speiseröhre intakt. Kehlkopfeingang blaurot, stark ödematös. Luftröhre mit blutigem Schaum vollständig erfüllt.

Lungen ödematös. Im Herzen etwas flüssiges Blut.

In der Bauchhöhle viel blutige Flüssigkeit. Eine Mesenterialdrüse mehr als walnußgroß, dunkelrot, in ödematöses Gewebe eingebettet. Die benachbarten Drüsen ebenfalls vergrößert. Die zugehörige Dünndarmpartie in einer Ausdehnung von ca. 20 cm rot gefärbt, enthält dünnflüssige, blutige Massen. An einer Stelle derselben ein stark geschwollener, teilweise exulzierter Peyer'scher Haufen. Duodenumschleimhaut gerötet, Magen nicht verändert.

Milz sehr groß, breiartig, weich, enthält sehr viele Milzbrandbazillen. Leber und Nieren blutreich. Blase leer.

Hammel XVII (an 28 Tagen täglich mit je einem sporenhaltigen Seidenfädchen gefüttert). Sektion ca. 7 Stunden post mortem.

Ziemlich abgemagertes Tier. Nirgends Drüsenschwellungen. Im Blute keine Milzbrandbazillen, ebensowenig in der kleinen derben Milz. Leber von einer großen Menge von Blasenwürmern durchsetzt. In der linken Niere ein Blasenwurm. Lungen stellenweise mit der Brustwand verwachsen, von überaus zahlreichen Blasenwürmern durchsetzt. Sonst nichts Abnormes.

Hammel XVIII (an 28 Tagen täglich mit je einem sporenhaltigen Seidenfädchen gefüttert). 22 Tage nach dem Aufhören der Fütterung gestorben. Sektion 26 Stunden post mortem.

Ziemlich stark aufgetriebener Kadaver. Fäulnisgeruch. Die ganze rechte Seite des Halses und Nackens bis zum Rücken hin von einer schwärzlichen sulzig-blutigen Masse eingenommen. In der linken Inguinalgegend eine handtellergröße Blutaustretung. Kieferdrüsen beiderseits kaum vergrößert, etwas dunkler gefärbt wie in der Norm. Bugdrüsen nicht vergrößert. Achseldrüsen links vergrößert, rechts nicht. Rechts eine vergrößerte Nackendrüse. Inguinaldrüsen nicht vergrößert. Kehlkopfeingang etwas ödematös, blutiger Schleim in der Luftröhre. Maul unverletzt, ebenso die Speiseröhre. Lungen nach hinten zu dunkel marmoriert, stellenweise atelektatisch. Im Herzen etwas flüssiges Blut. In der Pleurahöhle eine mäßige Menge blutig gefärbter Flüssigkeit, in der Bauchhöhle ziemlich viel blutig gefärbte Flüssigkeit. Im Darm einzelne nach außen braunrot durchschimmernde Stellen, an denen die Schleimhaut gerötet ist. Im oberen Teil des Duodenum ist die Schleimhaut geschwollen, braunrot.

Milz mäßig groß, zerfließlich, enthält ebenso wie eine Hautvene zahlreiche Milzbrandbazillen. Nieren und Leber wie gewöhnlich. In der Blase eine geringe Menge blutiger Flüssigkeit.

I. Immunisierungsversuch.

Hammel (VI) XIX (vorgeimpft s. S. 237, starb bei der Probeimpfung mit virulentem Milzbrand). Sektion 4 Stunden post mortem.

Leib etwas aufgetrieben. Aus der Nase fließt eine gelbliche schleimige Flüssigkeit. In einer Hautvene zahllose Milzbrandbazillen. Kieferdrüsen nicht verändert. Beide Bugdrüsen walnußgroß, ödematös, beide Axillardrüsen groschengroß, beide Inguinaldrüsen in blutig-sulziges Gewebe eingebettet, stark vergrößert.

Kehlkopfeingang ödematös. Trachea mit feinblasigem Schaum erfüllt. Lungen ödematös. In der linken Herzkammer etwas blutiger Schaum, rechts wenig flüssiges Blut. Bronchialdrüsen ödematös. Magen und Darm nicht verändert. Duodenumschleimhaut rotstreifig. Mesenterialdrüsen nicht vergrößert. Retroperitonealdrüsen taubeneigroß, blutig durchtränkt, ödematös, starkes Ödem in den breiten Mutterbändern, besonders im linken. Am Magen drei Lymphdrüsen groschengroß, ödematös. Milz groß, schwarzrot, weich. Leber und Nieren blutreich. In der Blase einige Tropfen blutiger Flüssigkeit.

Hammel XX (nicht vorgeimpft, als Kontrolltier mit virulentem Milzbrand am rechten Oberschenkel geimpft). Sektion ca. 12 Stunden post mortem.

Markstückgroße Blutaustretung an der rechten Halsseite. An der Impfstelle handflächengroßes blutig-sulziges Ödem, Inguinaldrüse rechts walnußgroß, blutig gefärbt, ödematös, links klein und blaß. Kieferdrüsen nicht verändert. Bugdrüsen ziemlich groß, blutig, saftreich. Achseldrüsen klein, blutig, ödematös. Kehlkopfeingang wenig ödematös.

Milz wenig vergrößert, ziemlich fest, enthält massenhaft Bazillen.

Hammel XXI (vorgeimpft, starb nach der Impfung mit virulentem Milzbrand am rechten Oberschenkel, s. S. 238, Absatz 3). Sektion wenige Stunden post mortem.

Reichlicher blutiger Ausfluß aus der Nase. Ausgedehnte Blutaustretungen am Halse und Nacken, sehr große Blutaustretung auf dem Rücken.

Kieferdrüsen dunkel, etwas geschwollen. Bugdrüsen klein, Nackendrüsen sehr groß. An der Impfstelle kaum bemerkbares Ödem, die benachbarte rechte Inguinaldrüse sehr groß, blutig, ödematös, die linke desgleichen. Kehlkopf wenig ödematös. Lungen fleckenweise dunkler gefärbt, ödematös. In der Bauchhöhle ziemlich reichlicher, blutiger Erguß, Darm und Mesenterialdrüsen unverändert.

Milz groß, schwarz, breiartig, enthält viele Bazillen.

In der Blase einige Tropfen blutiger Flüssigkeit.

Hammel XXII (mit Pasteur'schem II. Vakzin vorgeimpft; an 2 Tagen mit frischen Sporen gefüttert). Sektion 6 Stunden post mortem.

Aus der Nase fließt blutiger Schleim. Im Blute einer Halsvene Milzbrandbazillen. Keine Blutaustretungen oder Ödeme unter der Haut. Kieferdrüsen normal. Beide Bugdrüsen vergrößert, die rechte stärker wie die linke, auf dem Durchschnitt rotbraun; rechte Inguinaldrüse stark vergrößert.

Maulhöhle und Speiseröhre intakt. Kehlkopfeingang normal. Lungen etwas ödematös, linker Unterlappen in den peripheren Partien atelektatisch. Schleimhaut des 4. Magens schiefrig, von zahlreichen Ecchymosen durchsetzt. Im Duodenum und Dünndarm zahlreiche ecchymotische Partien in der Schleimhaut. Mesenterialdrüsen kaum geschwollen. Milz kaum vergrößert, Milzbrandbazillen in der auf dem Deckglas ausgestrichenen Substanz derselben mäßig reichlich. Leber und Nieren blutreich.

Hammel XXIII (mit Pasteur'schem II. Vakzin vorgeimpft, an 2 Tagen mit frischen Sporen gefüttert). Sektion 1½ Stunden post mortem.

Aus der Nase fließt schaumiger Schleim. Kieferdrüsen nicht geschwollen. Beide Bugdrüsen etwas vergrößert. Achseldrüsen stärker geschwollen, ebenso die linke Leistendrüse.

Maulhöhle und Speiseröhre intakt. Kehlkopfeingang normal, ebenso die Lungen.

Im Magen keine Veränderungen. Im Duodenum und Dünndarm zahlreiche hämorrhagische Partien in der Schleimhaut. Peyersche Haufen nicht geschwollen. Die Reihe der Mesenterialdrüsen mäßig geschwollen.

Milz braunrot, mäßig groß, derb. In der Substanz derselben ziemlich reichliche Milzbrandbazillen.

Hammel XXIV (nicht vorgeimpft, als Kontrolltier mit frischen Sporen gefüttert). Sektion ca. 10 Stunden post mortem.

Starker blutiger Ausfluß aus der Nase. Sehr ausgebreitete Blutaustretungen am Hals, Nacken, an den Vorderbeinen und am rechten Hinterbein. Lymphdrüsen am Kiefer und Bug sowie in der rechten Leiste stark vergrößert. Im Blute einer Halsvene sehr zahlreiche Milzbrandbazillen. Maulhöhle und Speiseröhre intakt. Kehlkopfeingang nicht ödematös. Lungen graurot, marmoriert. In einzelnen Darmschlingen ist die Schleimhaut gerötet. Mesenterialdrüsen leicht geschwollen. Milz vergrößert, schwarz, breiig.