[Aus dem hygienischen Institut der K. Universität zu Cagliari.]

Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten.

VI. A b h a n d l u n g.

Ein Beitrag zur Aetiologie der bösartigen Geschwülste.

Von

Prof. Francesco Sanfelice.

(Hierzu Taf. VI u. VII.)

I.

In meiner letzten Arbeit¹ über die pathogene Wirkung der Blastomyceten, welche bereits vor zwei Jahren erschien, führte ich darüber Klage, dass wohl zahlreiche Untersuchungen über die Blastomyceten, sowohl vom morphologischen als experimentellen Standpunkte aus, vorhanden seien; jedoch eine ernsthafte und gewissenhafte Arbeit über die Bedeutung, welche diese Parasiten für die Genese der bösartigen Geschwülste haben, durchaus mangle. Ich fügte hinzu, dass die spärlichen Untersuchungen, die in Bezug auf diesen Gegenstand von einigen Autoren angestellt worden waren, mehr dahin neigten, die Wichtigkeit der Saccharomyceten für die Erzeugung bösartiger Neoplasmen in Frage zu stellen als sie festzustellen. Ich stand daher ganz allein, wenn ich auf Grund von Resultaten, welche ich mit der Impfung des *Saccharomyces neoformans* bei Thieren, die überhaupt bösartige Geschwülste zu bekommen im Stande sind, erhalten hatte, die Behauptung aufstellte, dass dieser Parasit, wenn er in reiner Cultur eingimpft wird, bei Hunden im Stande ist, in den Organen epitheliale Geschwülste hervorzubringen, welche sowohl ihrem Verlaufe als ihrer Structur nach vollkommen identisch sind mit den bösartigen,

¹ Sanfelice, Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. V. Abhandlung. *Diese Zeitschrift*. 1898. Bd. XXIX.

epithelialen Geschwülsten, welche wir bei dem Menschen beobachten. Ferner behauptete ich, dass dieser Parasit, wenn er in die Venen bei denselben Thieren eingepft wird, Geschwülste bindegewebiger Natur veranlasst.

Alle diese Resultate hatte ich erhalten mit dem *Saccharomyces neoformans*, als dem einzigen Blastomyceten, der sich unter den vielen, welche ich aus dem umgebenden Medium isolirte, als pathogen erwiesen hatte. Weitere Versuche, pathogene Saccharomyceten aus den bösartigen Geschwülsten des Menschen zu isoliren, habe ich nicht gemacht, weil es mir einerseits an einer grösseren Zahl von Geschwülsten mangelte, wie man sie ja zu derlei Untersuchungen nöthig hat, und weil ich mich andererseits davon überzeugt hatte, dass die Isolation des Parasiten aus Geschwülsten älteren Datums keine leichte Sache ist. Nur aus bösartigen Geschwülsten mit rapidem oder acutem Verlaufe, wie Plimmer es nennt, und bei reichlichem Befunde an Parasiten hielt ich die Cultur des Parasiten für leicht und sicher, aber derartige Fälle sind nicht häufig und es war daher schwierig, dass solche auch nur in sehr kleiner Anzahl zu meiner Disposition gelangten. Diese Gründe waren es vornehmlich, welche mich zwangen, anstatt des directen den indirecten Weg weiter zu verfolgen, um so mehr, als ich durch meine ersten Impfversuche mit den reinen Culturen des *Saccharomyces neoformans* die Ueberzeugung gewonnen hatte, dass derselbe eine hohe pathogene Bedeutung hat. Und das, was ich von Anfang an angenommen hatte, wurde reichlich bestätigt durch die Impfungen, welche ich mit diesem Saccharomyceten bei den Hunden angestellt hatte.

Heutzutage stehe ich mit meiner Behauptung, dass die Blastomyceten für die Genese der bösartigen Geschwülste von Bedeutung sind, nicht mehr allein. Andere vertrauenswürdige und in der Wissenschaft durch hervorragende Arbeiten bekannte Forscher haben das bestätigt, was ich in meinen früheren Arbeiten behauptet hatte, indem sie durch reine Culturen von Blastomyceten, welche von bösartigen Geschwülsten des Menschen herstammten, epitheliale und bindegewebige Neubildungen bei den Versuchsthieren erzeugten.

Es sind besonders die Arbeiten von Plimmer und Leopold, welche ich hier vor allen anderen eingehend besprechen möchte, weil beide Arbeiten von Forschern herrühren, welche in Bezug auf den vorliegenden Gegenstand äusserst competent sind. Plimmer hat schon vor mehreren Jahren zusammen mit Ruffer sich mit den Parasiten befasst, welche in einigen bösartigen Geschwülsten vorkommen und für Coccidien gehalten wurden. Leopold hat schon seit Jahren der parasitären Natur der Geschwülste seine Aufmerksamkeit zugewendet und seinen Assistenten,

Dr. Rosenthal, dazu veranlasst, Untersuchungen über die Structur des Krebsgewebes und die zelligen, dort vorkommenden Einschlüsse anzustellen. Diese ihre Arbeiten haben die genannten Forscher veröffentlicht nach einem Studium von mehreren Jahren, nach Benutzung einer ausserordentlich grossen Anzahl von menschlichen Geschwülsten und nach Anstellung zahlreicher Versuche mit Thieren. Es lässt sich auch nur mit Hülfe einer grossen Anzahl von Geschwülsten und vieler Thierversuche zu einem Schlusse bezüglich der schwierigen Frage nach der Aetiologie der bösartigen Geschwülste gelangen. Es machen sich daher lächerlich und rufen zu gleicher Zeit Mitleid hervor alle jene jungen Leute, welche noch ganz neu in wissenschaftlichen Untersuchungen, auf eine ganz geringfügige Zahl von Geschwülsten hin und auf Grund nur ganz weniger Thierversuche, sich haben schlecht berathen lassen, die Resultate ihrer Untersuchungen zu publiciren, mögen sie nun für oder gegen die auf der pathogenen Wirkung der Blastomyceten gegründete parasitäre Theorie von den bösartigen Geschwülsten des Menschen sprechen. Alle derlei Arbeiten richten sich selbst und beweisen nichts anderes, als dass diejenigen, welche die Veröffentlichung derselben gestattet haben, wenig ernst zu nehmen sind.

Die Arbeit von Plimmer¹ ist im April 1899 erschienen. Er nimmt sehr eingehend auf alle meine Untersuchungen betreffs der vorliegenden Frage Bezug und vertheidigt mich gegen die Kritik einiger Forscher und vornehmlich von Baumgarten, welcher die Resultate meiner Arbeiten gar nicht berücksichtigt und nichts weniger als die Behauptung aufstellt, dass es überhaupt keine pathogenen Blastomyceten giebt. Plimmer schreibt: „I do not see any reason to doubt any of Sanfelice's statements; and I think that his work is of the greatest importance, and that at any rate, he deserves great credit for removing the study of the aetiology of cancer from the histological to the experimental region of work.“

Plimmer hat 1278 Fälle von Krebs untersucht und in 1130 Fällen davon Parasiten gefunden. Die freien oder endocellulären Parasiten wurden in den activen und nicht in den degenerirten Zellen gefunden. Die Analyse der vom Verfasser untersuchten Fälle genügt, um eine beständige Beziehung dieser Körper zum Krebs nachzuweisen. Die Parasiten wurden nicht in allen Fällen in gleicher Anzahl gefunden. In manchen Fällen waren sie zahlreich, und besonders in denjenigen mit rapidem Verlaufe, welche der Verfasser mit Recht „acute“ nennt, wurden sie in ungeheurerer Zahl angetroffen. Solche Fälle sind aber selten, nur neun derartige kamen unter der genannten Zahl vor. In ihnen waren selten Zellen zu finden, welche nicht einen oder mehrere Parasiten enthielten.

¹ Plimmer, On the aetiology on histology of cancer with special reference to recent work on the subject. *The Practitioner*. 1899.

Wenn der Leser sich die grosse Zahl der von Plimmer untersuchten Fälle vergegenwärtigt, so wird er sich selbst ausmalen können, welchen Eindruck die Arbeiten jener unerfahrenen Jünglinge machen, welche nach einer Untersuchung von 10 oder auch 20 Fällen von Krebs mit grosser Leichtfertigkeit den Schluss ziehen, dass es überhaupt keine Krebsparasiten giebt, und dass die angetroffenen und als Parasiten gedeuteten Gebilde nichts anderes sind als Producte einer hyalinen, colloiden oder schleimigen Degeneration.

Nach Plimmer hängt das Auftreten der Geschwülste mit rapidem Verlaufe ab von einer verringerten Widerstandsfähigkeit des Organismus oder von der Erhöhung der Virulenz des Mikroorganismus, oder auch von beiden Bedingungen zusammen.

Trotz Anwendung derselben Fixirungs- und Färbemittel, welche bei dem Krebse benutzt wurden, auf andere pathologische Gewebe, als Gummigeschwulst, Tuberkeln u. s. w., gelang es dem Verfasser nicht, dort Gebilde anzutreffen, welche sich mit den beim Krebs gefundenen Parasiten hätten vergleichen lassen.

„The presence of these bodies“ schliesst der Verfasser, „therefore, constantly in cancer, and their constant absence in other diseased conditions of the cell, is a very point in the question before us.“

Auch Plimmer hat, wie ich, vergeblich versucht, durch Einimpfung von Stückchen menschlichen Krebses in verschiedene Körpertheile bei Thieren den Krebs hervorzubringen.

In einem Falle von Krebs mit rapidem Verlaufe, in welchem die mikroskopische Untersuchung sehr zahlreiche Parasiten erkennen liess, glückte es Plimmer, den Blastomyceten in reiner Cultur zu erhalten. Der Nährboden, mit Hülfe dessen der Mikroorganismus isolirt wurde, bestand aus einem Infus des Krebses, welcher ebenso hergestellt wurde, wie Fleischinfus, und dem nach der Neutralisation 2 procent. Glycose und 1 procent. Weinstein säure zugesetzt wurde. In diese Culturflüssigkeit wurden noch Stücke der Geschwulst hineingethan und, um ein anaërobisches Medium zu haben, die Luft durch Wasserstoff ersetzt. Bei dieser Methode wurde die Virulenz des Mikroorganismus auf lange Zeit beständig erhalten.

Die Cultur dieses Blastomyceten hatte Plimmer die Güte mir zuzusenden, und ich konnte feststellen, dass es sich darin um einen typischen Blastomyceten handelte, welcher, wie weiter unten eingehender erörtert werden soll, sich in Bezug auf seine culturellen und morphologischen Eigenschaften in keiner Weise von dem *Saccharomyces neoformans* unterscheidet. Nachdem ich dies festgestellt habe, kann ich mir nicht erklären, warum Plimmer im Anfange seiner Arbeit bei der Feststellung der Natur des isolirten Parasiten so reservirt ist. Er scheint sich diese

Reserve auferlegt zu haben aus einer nach meiner Ansicht falsch angebrachten Rücksicht gegen Metschnikoff, welcher dadurch, dass er die Parasiten des Krebses Coccidien taufte, alle meine ernstesten und gewissenhaften Vorgänger in die Irre geführt hat.

Plimmer's Blastomycet entwickelt sich in den Nährflüssigkeiten, ohne ein Häutchen an der Oberfläche zu bilden, in der Gelatine, ohne sie zu verflüssigen. Auf der Oberfläche von Kartoffeln bildet er einen Belag von brauner Farbe. Auf der Oberfläche von Glycerinagar entwickelt er sich ebenfalls.

Unter dem Mikroskope betrachtet, erscheint der Parasit rund und pflanzt sich beständig durch Knospung fort, genau in derselben Weise, wie innerhalb des Organismus.

Die Resultate der Experimente von Plimmer zerfallen in drei Gruppen, nämlich: 1. in die negativen Resultate, 2. in diejenigen, bei denen der Tod der Thiere ohne pathologische Veränderungen der Organe selbst eintrat, 3. in die Fälle, bei denen die Thiere starben mit Neubildungen endothelialen Ursprunges.

Was Verfasser über die Meerschweinchen berichtet, welche mit einer reinen Cultur des Saccharomyceten in den Unterleib geimpft wurden, stimmt vollkommen überein mit den Erscheinungen, welche der *Saccharomyces neoformans* bei Meerschweinchen nach Einimpfung in den Unterleib hervorruft.

Plimmer hat auch eine Reihe von Einimpfungen in das Corneal-epithel von Kaninchen vorgenommen und beschreibt die Resultate davon in folgender Weise: „in these (Kaninchen) after from three to five days, considerable proliferation of the corneal epithelium was found, together with the organismus in the cells. This proliferation showed itself not only on the surface, but also in the fibrous layers of the corneal tissue: masses of enlarged epithelial cells extendend into, and separated, the fibrous layers, spreading for some distance below and at the sides of the point of inoculation. A control experiment, made with only a sterile lancet, showed no such proliferation, and the wound was nearly healed in five days. These animals have been killed at five days at the latest, so that the final effect is unknown; but, even after these few days, there is a very considerable and remarkable epithelial proliferation, together with the presence of the organismus in the cells.“

Von Interesse sind folgende Schlüsse von Plimmer:

1. „That in cancers there are certain intracellular bodies which are neither parts of the cell structure, nor any known degenerative change, and which are only found in cancer; and that they are only found at

the periphery of the growing parts of a cancer, and not in the degenerated parts and that these bodies have distinctive microchemical reactions.“

2. „That there are certain cancers, which occur rarely, in which these bodies are present in enormous numbers.“

3. „That by the use of appropriate means these bodies can be isolated and cultivated outside the body.“

4. „That these cultures, when introduced into certain animals, can cause death, with the production of tumors, so far of endothelial origin (with the one exception of the cornea, the epithelium of which, when inoculated with these organisms, proliferates considerably, both on the surface and deeply in various directions between the fibrous layers of the cornea); and that pure cultures can be made from this tumours which, if inoculated into suitable animals, will produce again similar growths.“

Wie wichtig diese Schlussfolgerungen sind, wird Niemandem entgehen. Derselbe Blastomycet, welcher beim Menschen einer bösartigen Geschwulst epithelialer Natur die Entstehung gegeben hat, rief nach der Einimpfung bei Meerschweinchen endotheliale Neubildungen hervor. Dieselbe Erscheinung hatte ich bei dem *Saccharomyces neoformans* beobachtet, welcher bei Hunden entweder epitheliale oder bindegewebige Neubildungen hervorbringen kann. Sicherlich kann man, wie ich bereits in meinen früheren Arbeiten ausgesprochen habe, nicht erwarten, bei Meerschweinchen, welche für die Infection mit Blastomyceten sehr empfängliche Thiere sind, mit einem aus menschlichen Krebsen oder Sarkomen isolirten Blastomyceten ebenfalls einen Krebs oder ein Sarkom hervorzubringen. Man bekommt bei den Meerschweinchen eine diffuse Infection mit knotigen Neubildungen in den verschiedenen Organen, Neubildungen, welche sehr reich an Parasiten sind und nur eine spärliche Reaction von Seiten der Zellelemente aufweisen. Es ist dies die Infection des Meerschweinchens, welche dieses erleidet, wenn es mit pathogenen von bösartigen Geschwülsten des Menschen isolirten Blastomyceten geimpft wird, und wir müssen sie als äquivalent mit der Krebs- oder Sarcomainfection, wie sie beim Menschen beobachtet wird, ansehen, genau in derselben Weise, wie wir die Sputum-Septicämie des Kaninchens als Aequivalent der Pneumonie des Menschen betrachten. Die Erzeugung eines pathologischen Processes, ähnlich, wie wir ihn beim Menschen beobachten, ist eben nur möglich bei Thieren, welche überhaupt dazu im Stande sind, bösartige Geschwülste zu bekommen, die nach Structur und Verlauf denen des Menschen ähnlich sind.

Aus diesem Grunde werde ich niemals aufhören, alle diejenigen Forscher, welche pathogene Blastomyceten aus bösartigen Geschwülsten des Menschen isoliren, darauf hinzuweisen, dass sie zahlreiche Impfungen

bei Hunden vornehmen und dabei auch direct in das Cornealepithel einimpfen, wie ich es in der letzten Zeit, nach dem Vorbilde von Plimmer, in ausgedehntem Maasse gethan habe, und womit ich, wie wir bald sehen werden, ausgezeichnete Resultate erzielte.

Nicht minder wichtig als die Arbeit von Plimmer ist diejenige von Leopold.¹

Als Untersuchungsmaterial dienten ihm mehrere Hundert Krebse, besonders vom Uterus, aus den Ovarien, den Tuben, von der Vagina, den äusseren Genitalorganen, den Brüsten, vom Peritoneum, vom Omentum und anderen Organen. Ausgeschlossen waren vereiterte Carcinome. Nachdem die Geschwulst mit allen Vorsichtsmaassregeln der Antisepsis entnommen war, wurde sie unter dem Mikroskope in sterilisirten Flüssigkeiten und unter Anwendung lediglich sterilisirter Instrumente untersucht, und zwar bei einer Temperatur, welche sich durch einen vom Verfasser besonders construirten Apparate genau regeln liess. Das Untersuchungsmaterial wurde niemals von der Oberfläche, sondern stets aus tieferen Schichten oder aus der Mitte junger Knötchen entnommen.

Besonderes Gewicht wurde auf die mikroskopische Untersuchung (und dies ist ganz neu und wirklich geistreich an der Arbeit) sehr kleiner Stückchen jungen Krebsgewebes im hängenden Tropfen bei einer Temperatur von 37° C. gelegt, um zu sehen, welche Veränderungen jene als Parasiten angesprochenen Gebilde nach Wochen und Monaten zeigten. Es konnten auf diese Weise kleine Gewebstückchen 200 Tage lang in dem Gesichtsfelde des Mikroskopes, auf eine passende Temperatur erwärmt, beobachtet werden, ohne dass eine Spur der gewöhnlichen Mikroorganismen der Fäulniss darin gefunden wurde. Zur Cultur wurden jene Stückchen benutzt, welche sich im hängenden Tropfen von Nährflüssigkeiten als frei von gewöhnlichen Bacillen und Kokken erwiesen hatten. Als Nährmittel dienten sterilisirte Bouillon, sterilisirtes Blutserum, Lösungen von Traubenzucker, neutrale und saure Gelatine u. s. w.

Leopold beschränkte sich aber nicht auf die mikroskopische Untersuchung, sondern nahm auch Impfungen mit Krebsgewebe bei Versuchsthiere, wie Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen vor.

Leopold spricht, wie ich es auch in meinen früheren Arbeiten gethan habe, sich gleichfalls scharf gegen alle jene Forscher aus, welche sich gegen die parasitäre Theorie der Geschwülste erhoben haben, ohne andere als mikroskopische Untersuchungen angestellt zu haben. Es lassen sich nach ihm überhaupt keine Schlüsse ziehen, ohne dass man zahlreiche

¹ Leopold, Untersuchungen zur Aetiologie des Carcinoms und über die pathogenen Blastomyceten. *Archiv für Gynäkologie*. Bd. LXI.

Experimente mit dem frischen Gewebe und mit reinen aus ihm erhaltenen Culturen anstellt.

Bei eingehender Beobachtung frischer Präparate unter dem Mikroskope hat Verf. gesehen, dass sich die als Parasiten angesehenen Gebilde vermehrten, wodurch also jeder Verdacht, dass es sich um degenerirende Zellenelemente handle, beseitigt wird. Diese neue und wichtige Beobachtung wird wohl sehr dazu beitragen, dass sich die Zahl der Skeptiker vermindert.

Von 20 Carcinomen, mit denen Leopold Culturversuche machte, gelang es ihm in vier Fällen, reine Culturen von Blastomyceten zu erhalten. Es waren dies folgende:

1. Carcinom des Eierstockes. Die parasitären Gebilde wurden in dem Gesichtsfelde des Mikroskopes angebracht und zeigten nach einiger Zeit Vermehrung durch Knospung. Von diesem Tropfen wurden drei Tuben mit neutraler Gelatine durch Streichen geimpft, und es wurde damit ein weisser, aus Fäden und runden, doppelt umgrenzten, vollkommen den Blastomyceten ähnlichen Elementen gebildeter Belag erhalten. Der isolirte Blastomycet verflüssigte die Gelatine nicht.

2. Carcinom beider Eierstöcke. Unter Anwendung derselben Technik, wie im ersten Falle, wurde an der Oberfläche der Gelatine die Entwicklung eines Blastomyceten in Form eines weissen Belages erhalten.

3. Carcinomatöse Knötchen in der rechten Brust und carcinomatöse Infiltration der Achseldrüsen. Bei Anwendung der gleichen Technik bildete sich ein weisser Belag an der Oberfläche der Gelatine. Der Belag bestand aus einem Blastomyceten.

4. Carcinom der Portio vaginalis uteri. Auch hier ergab sich eine reine Cultur eines Blastomyceten.

Mit der Einimpfung von carcinomatösem Gewebe bei Thieren hat Leopold bei vier Versuchen zwei positive Resultate erhalten. Im ersten Falle fand er in der Bauchhöhle der Ratte eine Geschwulst sarcomatöser Natur (Sarcoma medullare) vor, während die Geschwulst, von der aus die Einimpfung stattfand, krebsartiger Natur war. In der gefundenen Geschwulst waren viel Blastomyceten zu sehen. Im zweiten Falle impfte er einem Kaninchen kleine Theile eines Uteruskrebses ein. Es entstand eine Geschwulst in dem oberen Theile der Bauchhöhle und blieb dort einige Monate lang stationär. Im vierten Jahre nach der Operation fing das Thier an abzumagern, während die Geschwulst an Grösse zunahm. Nach 4 Jahren und 5 Monaten starb das Thier. Die Geschwulst enthielt Detritus in einer dicken Kapsel. Von dem eingepflanzten Stück des Krebsgewebes war nicht die Spur vorhanden. Die Leber war bestreut mit graulichen Knötchen, und auch die Lungen zeigten Knötchen epithelialer

Natur von verschiedener Grösse. In diesen Knötchen wurden Blastomyceten beobachtet.

Reine Culturen des vom zweiten Falle (Ovarialcarcinom) isolirten Blastomyceten wurden Ratten eingepflegt, und Leopold erhielt damit Geschwülste von einer Structur, wie sie bei den Sarkomen mit Riesenzellen sich findet. Nach dem Verfasser handelt es sich hier nicht um ein Granulationsgewebe oder eine Geschwulst, welche lediglich von Blastomyceten gebildet wird, sondern um wahre bindegewebige Geschwülste, um multiple sarkomatöse Knötchen der Bauchhöhle, entstanden in Folge von Impfung mit einem in reiner Cultur aus einem menschlichen Krebse erhaltenen Blastomyceten.

Am Ende seiner Arbeit drückt sich Leopold folgendermaassen aus:

„Sonach ist bis jetzt folgende Versuchskette gebildet worden:

1. Im frischen Ovarialcarcinom der Frau Die (3. XII. 1898) fanden sich Blastomyceten.

2. Aus diesem frischen Carcinomgewebe liessen sich die Blastomyceten in Reincultur gewinnen.

3. Diese Reincultur, in den Hoden einer Ratte injicirt, bewirkte bei der letzteren eine grosse Zahl von Peritonealknoten, welche zum Tode der Ratte führten und im frischen wie im gehärteten Gewebe eine Unmenge von Blastomyceten aufwiesen.

4. Aus diesen frischen Knoten liessen sich die Blastomyceten wiederum in Reincultur züchten.

Sollte es gelingen, mit der Uebertragung dieser letzteren Reincultur auf Ratten bei diesen auch wiederum Neubildungen zu erzielen, welche so geartet sind, dass sie den Tod der Trägerinnen herbeiführen, dann ist der Ring geschlossen und ein Zweifel darüber wohl nicht mehr zulässig, dass Blastomyceten im Stande sind, maligne Neubildungen hervorzurufen.“

So haben also die beiden Arbeiten von Plimmer und Leopold, beides competente und vertrauenswürdige Forscher, meine Untersuchungen über die Bedeutung der Blastomyceten für die Entstehung der bösartigen Geschwülste bestätigt und ergänzt.

Für den Fall, dass man über eine grosse Anzahl von Geschwülsten verfügt, eine *conditio sine qua non* für das Gelingen der Arbeit, so wissen wir, welche Technik wir anwenden müssen, um die Parasiten zu isoliren.

Wir wollen hoffen, dass mit der Zunahme von positiven Untersuchungen über diesen Gegenstand endlich einmal der systematische Skepticismus, welcher mehr auf vorgefassten Meinungen und Vorurtheilen einer Schule, als auf wirklichen Thatsachen beruht, aufhört.

Es scheint mir hier am Platze, darauf hinzuweisen, was neuerdings Czerny¹, der berühmte Kliniker Heidelbergs, ausgesprochen hat. Er sagt: „Obgleich es ja schwer sein mag, vom klinischen Standpunkte aus neue Beweise für die parasitäre Theorie beizubringen, halte ich es doch für wünschenswerth, die Gründe zusammenzufassen, welche mich veranlassen, an dieser Theorie vorläufig festzuhalten, wenn auch alle bisher beschriebenen Parasiten unter dem kritischen Blicke der Skeptiker sich als „degenerirte Kerne, degenerirte Kerntheilungsfiguren . . . , Schleim, Colloid, Hyalin oder in Zellen aufgenommene Leukocyten und deren Zerfallsproducte herausstellen sollten. Zunächst hat die parasitäre Theorie eine grosse Zahl bedeutender Forscher zu immer neuen Untersuchungen angeregt, und wenn auch die Resultate der allerstrengsten Kritik nicht Stand halten, so lassen sich dieselben doch auch nicht mit einem, wenn auch durch lange Studien begründeten Federstrich beseitigen, wie es Ziegler versucht hat.“

Eine weitere Bestätigung bringt die Arbeit von Bra², welcher aus einer grossen Zahl von Neoplasmen, Ovarialcarcinomen, Zungenepitheliomen, Brustcarcinomen, Sarkomen des Kiefers u. s. w. einen Blastomyceten isolirt hat, welchen er richtiger Weise in die Familie der Ascomyceten einreihet.

Die Methoden, welche befolgt wurden, um Culturen zu erhalten, waren die Zerstückelung des Krebsgewebes und der Aderlass. Als Nährboden verwendete Bra Bouillon vom Euter einer Kuh, bisweilen mit Zusatz von 1 Procent Glycose. Von dem Krebsgewebe waren die Culturen leichter zu erhalten als aus dem Blute.

Der Parasit erscheint in der Gestalt von Kugeln oder cylindrischen Zellen. Die Culturen des Parasiten, besonders auf festen Nährböden, nehmen mit dem Verlaufe der Zeit eine rosige Farbe an. Innerhalb der Gewebe ist der Parasit ebenfalls rundlich oder hat die Gestalt mehr oder weniger regelmässig cylindrischer Zellen.

Bra bestätigt das, was ich in meinen früheren Arbeiten ausgesprochen habe, nämlich, dass die Parasiten innerhalb der Gewebe ähnlich sind jenen Gebilden, welche als Coccidien oder Fuchsinkörperchen beschrieben wurden.

Wurden reine Culturen des Parasiten Kaninchen in die Venen eingeimpft, so führten sie den Tod derselben am 4. oder 5. Tage herbei, und bei der Section zeigten die Thiere das Herz mit kleinen mykotischen Knötchen bestreut, die Nieren congestionirt und bedeckt mit kleinen

¹ Czerny, Warum dürfen wir die parasitäre Theorie für die bösartigen Geschwülste nicht aufgeben? *Beiträge zur klin. Chirurgie.* Bd. XXV.

² Bra, Le champignon parasite du cancer. *La Presse Médical.* Février 1899.

braunen Flecken, die Leber gekörnt. Wurde die Cultur in das Unterhautbindegewebe oder in die Milchdrüsen eingepft, so entstand eine faserig-sarkomatöse Geschwulst. Es kam auch bisweilen vor, dass das Thier an Marasmus starb, ohne pathologische Veränderungen aufzuweisen.

Wurde die Cultur Hunden in die Milchdrüsen eingepft, so entstand eine Schwellung, welche sich auflösen, aber auch im Laufe von 6 Monaten die Grösse einer Nuss erreichen konnte. Diese Geschwulst konnte die Structur eines Fibrosarkoms oder diejenige eines typischen Carcinoms haben. Diejenigen Hunde, welche ohne localen Erfolg geimpft wurden, konnten nach Verlauf einiger Monate Geschwülste an den Eingeweiden, mit Vorliebe am Darne, zeigen.

Bra kam zu folgenden Schlüssen:

1. En injectant à des animaux les cultures d'un champignon provenant de carcinomes humains et cultivé par nous à l'état de pureté, nous avons créé des tumeurs ayant indifféremment la structure typique du fibrosarcome et du carcinome.

2. Lesensemencements de ces tumeurs expérimentales donnent régulièrement, comme ceux des tumeurs humaines, des cultures du parasite.

Auch Casagrandi¹ hat neuerdings aus einem kleinzelligen Sarkome beim Menschen einen Blastomyceten isolirt, welchem er den Namen *Saccharomyces infiltrans* beilegte. Einimpfungen reiner Culturen bei Thieren führte zur Bildung von Knötchen mit Infiltrationen oder mit eiterähnlichem Inhalte. Der Verfasser verspricht eine ausführliche Abhandlung über die pathogenen Eigenschaften dieses Mikroorganismus.

Zuletzt möchte ich noch auf Sawtchenko², einen sehr kompetenten Beobachter, hinweisen, welcher in den vergangenen Jahren die als Coccidien angesehenen Parasitenformen eingehend studirt hat und auch neuerdings wieder auf denselben Gegenstand zurückgekommen ist. Er hat die Parasiten untersucht, welche in den Endotheliomen vorkommen, und hat sich überzeugt, dass die als Coccidien beschriebenen Formen vielmehr zu den Blastomyceten gehören. Verfasser schliesst seine Arbeit folgendermaassen: „Cette hypothèse que les parasites des tumeurs se rapportent aux levures, énoncée par Sanfelice et confirmée par nos recherches morphologiques actuelles, peut être très féconde dans ses suites, et on peut être sûr que les recherches pour obtenir des cultures des blastomycètes spécifiques, surtout dans les endothéliomes, donneront, tôt ou tard, un résultat positif.“

¹ Casagrandi, Ricerche sull' azione patogena dei blastomiceti. *Annali d'Igiene Sperimentale*. 1899. Vol. IX.

² Sawtchenko, Les sporozoaires des tumeurs malignes et les blastomycètes pathogènes. *Archives Russes des Sciences Biologiques*. 1898.

Von denjenigen Arbeiten, welche sich gegen die Bedeutung der Blastomyceten für die Entstehung der bösartigen Geschwülste beim Menschen auflehnen, führe ich nur einige an, weil sie sich im Allgemeinen ähnlich sind. Wir haben da solche, welche sich nur auf mikroskopische Untersuchungen stützen und andere, die auch über Experimente verfügen. In den ersten fährt man immer weiter fort zu behaupten, dass die als Blastomyceten beschriebenen Gebilde nichts weiter sind, als zellige Degenerationsproducte. In den Arbeiten der zweiten Kategorie wird auf sehr wenig Experimente hin, die in wenigen Monaten angestellt wurden, die Behauptung aufgestellt, dass die Blastomyceten nicht im Stande sind, bösartige Geschwülste hervorzurufen. Eine Arbeit, welche in Anbetracht der Ernsthaftigkeit der Untersuchungen, wegen der grossen Zahl der untersuchten Geschwülste, mit den oben besprochenen Arbeiten von Plimmer und Leopold einen Vergleich aushalten könnte, ist bisher noch nicht erschienen.

Eine von den gegnerischen, nur auf mikroskopische Untersuchungen gegründete Arbeit ist diejenige von Sternberg.¹ Zu Grunde lag derselben ein Adenocarcinom des Ovariums mit Metastasen in der Leber, den Nieren, den Lymphdrüsen und Knochen. Besonders in der Metastase der Leber befanden sich zahlreiche Zelleinschlüsse. Ferner traf Sternberg zahlreiche Zelleinschlüsse bei einem Brustkrebs und einem primären Carcinom der Leber. Nach ihm sind alle diese als Parasiten beschriebenen Einschlüsse entweder Producte einer hyalinen, colloidnen und schleimigen Degeneration oder auch Reste von Leukocyten oder rothen Blutkörperchen (!). Verfasser hat auch einige Präparate des Dr. Grassberger untersucht, welcher einem Meerschweinchen von mir an Kral gesendete pathogene Blastomyceten eingepft hatte. Nachdem er das Aussehen der Blastomyceten in den Schnitten durch die Geschwulst des Unterhautbindegewebes, welche durch die Einimpfung einer reinen Cultur des Parasiten entstanden war, beschrieben hat, sagt er: „Es ist nicht zu leugnen, dass einzelne dieser Gebilde an verschiedene der früher in den Tumoren beschriebenen Zelleinschlüsse erinnern und vielleicht auch thatsächlich mit diesen verwechselt werden können.“

Sonderbar ist es, wenn Verfasser aus dem Resultate mit dem einzigen mit einem Blastomyceten, welcher nicht der *Saccharomyces neoformans* war, geimpften Meerschweinchen schliesst: „Wir möchten auch darauf noch hinweisen, dass die Sanfelice'schen Blastomyceten im Thierkörper keinen Tumor im engeren Sinne des Wortes hervorriefen, sondern

¹ Sternberg, Ueber die Zelleinschlüsse in Carcinomen und ihre Deutung als Blastomyceten. Ziegler's *Beiträge*. Bd. XXV.

nur die Veranlassung zur Entstehung eines entzündlichen, central zerfallenden Granulationsgewebes gaben, das auch nicht im Entferntesten an ein Carcinom oder Sarkom erinnert und nie und nimmer mit demselben in Parallele gestellt werden kann.“

Wie ich mich schon in meinen früheren Arbeiten ausgesprochen habe, haben derartige Arbeiten von einer rein histologischen Richtung gar keinen Werth. Der Verfasser hat nicht ein einziges Experiment gemacht und spricht sich mit grosser Prätension gegen die Wichtigkeit der Blastomyceten für die Entstehung der bösartigen Geschwülste aus. Nun aber kann man, wenn man nicht den Weg des Experimentes einschlägt, nichts sehen, und daher auch keine Schlüsse ziehen. Es wäre besser gewesen, wenn Sternberg, anstatt seine Zeit mit unnützen und keinen Schluss erlaubenden Untersuchungen zu verlieren, gelernt hätte, eine lange Reihe von Experimenten mit vielen menschlichen Geschwülsten und mit vielen Thierimpfungen anzustellen.

Eine andere, die parasitäre Theorie der Geschwülste bekämpfende Arbeit ist die erst kürzlich erschienene von Petersen und Exner.¹ Es scheint bald so, als ob der einzige Beweggrund, welcher die Verfasser zur Veröffentlichung ihrer Arbeiten angespornt hat, nur der gewesen ist, bei einer actuellen Frage sich citirt zu sehen, denn etwas Neues sucht man vergeblich bei ihnen. Es wäre besser gewesen, wenn sie sich hätten entschliessen können, erst noch eine Reihe von Jahren zu arbeiten, ehe sie ihre Untersuchungen publicirten.

Diese Autoren geben an, dass sie mit den *Saccharomyces neoformans*, den sie sich von Kral in Prag verschafften, gearbeitet haben. Nun, ich habe an Kral diesen *Saccharomyceten* überhaupt nicht geschickt, sondern einen für Meerschweinchen pathogenen *Blastomyceten*, welcher von dem *Saccharomyces neoformans* gänzlich verschieden ist. Sie werden wohl denselben *Blastomyceten* gehabt haben, von dem Sternberg in seiner oben citirten Arbeit spricht. Sie haben auch mit dem *Saccharomyces hominis* von Busse gearbeitet. Die Impfungen wurden an Meerschweinchen und weissen Mäusen vorgenommen. Sie haben meine Resultate, dass die intraperitoneale Infection bedeutendere pathologische Veränderungen hervorruft, als die subcutane, bestätigt. Ebenso bestätigen sie die Thatsache, dass bei den Meerschweinchen eine starke Anhäufung von *Blastomyceten* und eine spärliche Reaction von Seiten des Gewebes stattfindet.

¹ Petersen und Exner, Ueber Hefepilze und Geschwulstbildung. *Beiträge zur klin. Chirurgie*. Bd. XXV.

Die Verfasser befinden sich aber in einem sehr schweren Irrthum, wenn sie glauben, dass sie bei Meerschweinchen und weissen Mäusen Krebs hervorbringen könnten. Hätten sie die über diesen Gegenstand veröffentlichten Arbeiten gelesen, dann würden sie gewusst haben, dass bis zur Zeit bei Meerschweinchen und weissen Mäusen durch Einimpfung pathogener Blastomyceten weder Krebse noch Sarkome erzeugt worden sind.

Die Schlussfolgerungen ihrer Arbeit sind folgende:

„1. Die ausserordentlich vielgestaltigen, als „parasitär“ gedeuteten Zelleinschlüsse des Carcinoms lassen sich nur zum allerkleinsten Theile mit Formen aus der Entwicklungsreihe des *Saccharomyces* identificiren.

2. Die Reinzüchtung von Hefen aus echten malignen Tumoren ist bisher so selten gelungen, dass es sich bei den positiven Ergebnissen wohl um zufällige Verunreinigungen oder um rein saprophytische Formen gehandelt hat. Wir wollen hier nur kurz erwähnen, dass es auch uns in 22 Fällen von nicht ulcerirten Carcinomen und Sarkomen trotz verschiedenster Methoden und Nährböden nie gelungen ist, eine Hefecultur zu erzielen.

3. Diejenigen thierischen und menschlichen Erkrankungen, als deren Ursache Hefepilze mit voller Sicherheit oder mit hoher Wahrscheinlichkeit nachgewiesen wurden, haben entweder überhaupt nichts zu thun mit den malignen Tumoren (Hautgeschwüre, Endometritis, Rhinitis), oder sie haben mit diesen nur eine ganz oberflächliche Aehnlichkeit (z. B. Busse's *Saccharomycose*; Curti's *Myxom*). Dasselbe gilt von allen bisher experimentell durch Hefepilze producirten pathologischen Gebilden; dieselben gehören sämmtlich zur Gruppe der infectiösen Granulationsgeschwülste und nicht zu den echten Tumoren. Am ehesten besteht noch die Aussicht, dass einzelne Formen von malignen Symptomen als *Saccharomyces*-Infectionen sich erweisen.“

Ich überlasse es dem Leser zu beurtheilen, ob Petersen und Exner solche Schlüsse, wie eben angegeben, ziehen durften, nachdem sie pathogene Blastomyceten Meerschweinchen und weissen Mäusen, also Thieren, welche nicht im Stande sind, Carcinome und Sarkome zu bekommen, eingepft hatten, und nachdem sie lediglich von 22 Geschwülsten die Culturen verwendet hatten.

Auf die anderen, der parasitären Theorie der bösartigen Geschwülste gegnerischen Arbeiten halte ich es nicht für nöthig, näher einzugehen. Sie sind im Wesentlichen ebenso ausgeführt, wie die bereits referirten.

II.

Ich habe Gelegenheit gehabt, vier pathogene Blastomyceten vergleichend zu studiren, und ich halte es daher für angezeigt, ihre morphologischen und culturellen Eigenschaften zu beschreiben, um ihre Identität festzustellen. Es waren folgende: 1. der *Saccharomyces neoformans*, der einzige pathogene unter den vielen aus gährenden Fruchtsäften isolirten Blastomyceten, den ich gefunden habe; 2. der *Saccharomyces lithogenes*, isolirt von mir aus den Lymphdrüsen eines Ochsen, welcher an einem primären Carcinom der Leber gestorben war; 3. ein pathogener Blastomycet, isolirt aus einem Adeno-Carcinom eines Ovariums; 4. der von Plimmer aus einem Brustkrebs isolirte pathogene Blastomycet.

Es ist sicher von Interesse, vier pathogene Blastomyceten gänzlich verschiedenen Ursprunges mit einander zu vergleichen. Derartige Untersuchungen können allen denjenigen Forschern nützlich werden, welche diese pathogenen Mikroorganismen in den bösartigen Geschwülsten und in dem umgebenden Medium aufsuchen.

Alle diese vier pathogenen Blastomyceten haben die Eigenschaft, die Gelatine nicht zu verflüssigen und sich gleichmässig gut, sowohl in neutraler oder leicht alkalischer Gelatine, als auch in leicht mit Weinsäure angesäuerter zu entwickeln.

Auf Gelatineplatten unterscheiden sich die Colonieen an der Oberfläche etwas von den tiefer liegenden. Die ersteren sind rund, von der Grösse eines Stecknadelknopfes, von weisser Farbe und ein wenig über die Oberfläche des Nährbodens erhaben. Die tieferen Colonieen sind kleiner, kugelig oder scheibenförmig, gut umgrenzt, von gelblich-weisser Farbe. Auf Agarplatten haben die Colonieen dasselbe Aussehen.

Stichculturen in Gelatine entwickeln sich üppig an der Oberfläche und längs des Einstiches. An der Oberfläche bildet sich ein dicker, weisser, mehr oder minder ausgedehnter Belag, und längs des Einstiches entwickelt sich ein gelblich-weisser, aus einer Reihe kleiner, dicht benachbarter Colonieen zusammengesetzter Streifen.

Auf der Oberfläche von schief in den Röhren erstarrtem Agar entwickeln sich alle vier Blastomyceten als ein weisser, dichter, regelmässig umrandeter Belag.

Sehr charakteristisch ist die Cultur an der Oberfläche von Kartoffeln. Anfangs entsteht ein weissgefärbter, gut umrandeter, über die Oberfläche des Nährsubstrates erhabener Belag von trockenem Aussehen. In den folgenden Tagen (3, 4 oder 5 und mehr Tage nach der Vornahme der Impfung, je nach der Temperatur der Umgebung) wird die Farbe schmutzig-weiss, und diese Verfärbung nimmt immer mehr zu, bis sie kastanien-

braun wird, wie der Belag, welchen der *Vibrio* der Cholera und der *Rotz-bacillus* auf Kartoffeln bilden.

Wenn die Culturen in flüssigen Nährböden mit Zusatz von 1 Procent Glycose angesetzt werden, so tritt eine rapide Entwicklung ein, wobei mitunter an der Oberfläche der Flüssigkeit ein Häutchen gebildet und diese selbst leicht getrübt wird.

Macht man von diesen verschiedenen Nährsubstraten mit einfachem Wasser mikroskopische Präparate und betrachtet man diese bei starker Vergrößerung, so erscheinen die Parasiten rund oder schwach elliptisch. Einige haben ein homogenes Protoplasma, andere führen in diesem homogenen Protoplasma verschieden grosse, das Licht intensiv brechende Körnchen. An den jungen Elementen ist eine Membran nicht gut zu unterscheiden, während bei den erwachsenen Elementen eine doppelt begrenzte Membran sichtbar ist.

Bringt man etwas von der Nährflüssigkeit mit diesen Parasiten in einen Tropfen und verfolgt man die Vermehrung im Gesichtsfelde des Mikroskopes, so sieht man, dass diese durch Knospung stattfindet, ähnlich wie es innerhalb des Organismus der Fall ist. Es wölbt sich zunächst die Membran des betreffenden Elementes nach aussen, dann entsteht eine kleine Knospe, welche an Grösse zunimmt und sich endlich ablöst. Diese Ablösung erfolgt manchmal, wenn die Knospe noch ganz klein ist, während umgekehrt dieselbe auch erst dann stattfinden kann, wenn die Knospe die Grösse der Mutterzelle erreicht hat.

Soviel ich auch mit diesen pathogenen Blastomyceten Culturversuche in allerverschiedensten Nährsubstraten gemacht habe, so ist es mir dennoch niemals gelungen, eine Vermehrung durch endogene Sporen zu beobachten.

Stellt man von jungen Culturen Trockenpräparate her und färbt diese mit den gewöhnlichen alkoholisch-wässerigen Lösungen der Anilinfarben, so sieht man, dass der grösste Theil der Elemente sich intensiv und homogen färbt. Nur einige grössere Elemente lassen eine intensiv gefärbte, doppelt conturirte Membran und im Innern einen Unterschied zwischen einer intensiver und einer anderen weniger intensiv gefärbten Substanz erkennen.

Bei den Culturversuchen mit diesen pathogenen Blastomyceten habe ich niemals die Bildung von Hyphen beobachtet. Nur im Organismus der Meerschweinchen sieht man mitunter, wie von einer runden Parasitenform ein kurzer Faden entspringt. Solche Formen sind abgebildet auf der ersten Tafel meiner ersten Abhandlung¹ über die pathogene Wirkung der Blastomyceten.

¹ Sanfelice, Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. I. Abhandlung. Diese Zeitschrift. 1895. Bd. XXI.

Werden diese pathogenen Blastomyceten Meerschweinchen in den Unterleib eingepflicht, so liefern sie den gleichen anatomisch-pathologischen Befund. Ursprünglich gab der *Saccharomyces lithogenes*, wenn er Meerschweinchen in den Unterleib eingepflicht wurde, nicht die gleichen Befunde wie der *Saccharomyces neoformans*; nachdem er aber wiederholt seinen Weg durch Meerschweinchen genommen hatte, lieferte er doch auch den ganz gleichen Befund als dieser. Bemerken muss ich noch, dass sowohl der *Saccharomyces neoformans*, als der aus dem Adenocarcinom des Eierstockes isolirte pathogene Blastomycet und der von Plimmer gefundene die Eigenschaft, wenn auch in geringerem Grade, besitzen in den Geweben der Meerschweinchen, besonders in den Nieren, unter Bildung kalkiger Massen zu degeneriren.

Der Tod tritt bei den in den Unterleib eingepflichten Kaninchen nach 20 bis 30 Tagen ein. Im Bauche constatirt man dann eine Peritonitis, die man mit Recht eine neoplastische nennen kann. Die ganze Oberfläche des Peritoneums ist von einer milchigen Flüssigkeit bedeckt und an der Oberfläche derselben, besonders am seitlichen Peritoneum, sieht man verschieden grosse Knötchen. Das grosse Epiploon zeigt in seiner ganzen Ausdehnung zahlreiche Knötchen. Die Lymphdrüsen des Mesenteriums sind stark vergrößert. Verschieden grosse Knötchen trifft man auch in der Milz, in der Leber, in den Lungen und im Gehirn.

Alle diese vier pathogenen Blastomyceten, mögen sie nun gefärbt oder im ungefärbten Zustande betrachtet werden, stellen sich in den Geweben in gleicher Weise dar.

Interessant ist ferner die Thatsache, dass diese vier von mir studirten pathogenen Blastomyceten Hunde tödten, wenn sie ihnen in die Venen eingepflicht werden (jedoch nicht immer, wie wir weiter unten sehen werden), mit einem anatomisch-pathologischen Befunde, welcher verschieden ist von dem, welchen wir bei den Meerschweinchen beobachten, welche in Folge einer Impfung in den Unterleib gestorben sind. Bei den Meerschweinchen haben wir eine starke Vermehrung der Parasiten und eine schwache Reaction von Seiten des Gewebes, so dass wir sagen können, die Geschwülste werden hier mehr durch die Anhäufung der Parasiten als durch Neubildung vom Gewebe veranlasst. Bei den Hunden hingegen ist die Vermehrung der Parasiten spärlich, reich dagegen die Wucherung Seitens der Elemente des Bindegewebes.

Die Hunde starben nach 1, 1½, 2 und mehr Monaten und zeigen pathologische Veränderungen neoplastischer Natur in den Nieren (am häufigsten), in der Milz, in der Leber, in den Lungen und im Gehirn. Mitunter gewahrt man auch locale Erscheinungen in den Augen. Dieser anatomisch-pathologische Befund ist vollkommen identisch mit demjenigen,

welcher in meiner 5. Abhandlung¹ über die Wirkung der pathogenen Blastomyceten vom *Saccharomyces neoformans* beschrieben wurde.

Die von mir isolirten pathogenen Blastomyceten haben sowohl in den jungen als auch in den alten Culturen stets dasselbe pathogene Vermögen bewahrt. Ich besitze Culturen auf Kartoffeln, welche bereits ein Alter von 2, 3 und 4 Jahren haben, und doch genügt es, die Oberfläche davon mit etwas sterilisirtem Wasser zu befeuchten und eine Uebertragung auf neue Substrate vorzunehmen, um stets zu sehen, dass sie gedeihen. Werden alte Culturen Meerschweinchen eingepflegt, so erweisen sie sich in ganz gleicher Weise pathogen als die jungen Culturen.

Ausserdem erweisen sich die Culturen der von mir isolirten Blastomyceten gleichmässig pathogen, gleichgültig, ob sie in der Luft oder bei Abwesenheit von Luft hergestellt wurden.

Im letzten Jahre habe ich nun auch mit dem mir gütigst von Plimmer übersendeten Blastomyceten Versuche angestellt, indem ich ihn bei Anwesenheit und Abwesenheit von Sauerstoff cultivirt habe, und ich konnte mich davon überzeugen, dass sowohl die einen als die anderen Culturen sich gleichmässig pathogen für die Versuchsthiere erwiesen.

Die Blastomyceten in den bei 37° ausgetrockneten Organen der in Folge von endovenöser Impfung gestorbenen Hunde widerstehen nicht so lange als die Culturen auf Kartoffeln. Wurden kleine Stückchen der Nieren von Hunden, welche in Folge von endovenöser Impfung mit pathogenen Blastomyceten gestorben waren, genommen, in sterilisirtem Wasser zerkleinert und dann in sterilisirten Glasröhren vor Licht geschützt 10 bis 11 Monate aufbewahrt, so führten die Emulsionen davon, wenn sie Hunden in die Vene injicirt wurden, nicht deren Tod herbei. Gelatineplatten, welche mit derselben Emulsion geimpft wurden, blieben stets steril. Man kann also sagen, dass nach Verlauf eines Jahres und vielleicht schon früher die pathogenen Blastomyceten in den Organen der in Folge endovenöser Impfung verendeten Thiere absterben. In den Culturen auf Kartoffeln dagegen halten sie, wie schon oben gesagt, vier und mehr Jahre aus.

III.

In diesem Capitel will ich über die Resultate berichten, welche ich bei einer Reihe von Impfungen mit pathogenen Blastomyceten in das Cornealepithel von Hunden erhalten habe. Ich stellte diese Versuche an,

¹ Sanfelice, Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. V. Abhandlung. *Diese Zeitschrift*. 1898. Bd. XXIX.

um die Wirkung zu verfolgen, welche diese Parasiten auf Epithelzellen im Stande waren auszuüben.

Die ersten Versuche dieser Art wurden von Plimmer gemacht, und ich habe oben mitgetheilt, was dieser in Bezug hierauf angiebt. Er hat wohl die Wucherung des Epithels beobachtet, aber keine eingehende Beschreibung davon gegeben, wie diese stattfindet, und über die Art und Weise, wie sich die Parasiten dabei verhalten. Ich nahm mir nun vor, eines Theils das Schicksal der Parasiten und anderen Theils die Epithelwucherung zu studiren.

Ich habe nun Versuche mit allen vier pathogenen Blastomyceten in meinem Besitze angestellt und kann mittheilen, dass sie alle dazu im Stande sind, wenn sie in das Cornealepithel eingepfht werden, eine derartige Wucherung der Epithelzellen herbeizuführen, dass man in der That von einer Neubildung reden kann. Controlversuche, welche mit mechanischen, physikalischen und chemischen Mitteln angestellt wurden, ergaben niemals eine derartige Neubildung. Ausserdem habe ich auch noch zahlreiche Impfungen mit reinen Culturen nicht pathogener, aus gährenden Fruchtsäften isolirten Blastomyceten angestellt, aber niemals irgend eine Wucherung der Epithelzellen beobachtet.

Aus diesem Grunde hat die Impfung der Cornea mit Blastomyceten eine grosse Bedeutung für die Entscheidung der Frage, ob es sich um einen pathogenen Blastomyceten handelt oder nicht, ähnlich wie es zuerst Guarnieri für die Lymphe der Kuhpocken nachgewiesen hat.

Die Impfung der Cornea bei den Hunden nahm ich in folgender Weise vor. Die Augenlider wurden mit einer kleinen sterilisirten Lanzette aus einander gezogen, und dann wurden zahlreiche Kratzungen auf der Cornea angebracht. Mit einer Platinnadel wurde hierauf ein wenig einer meist von Kartoffeln genommenen Cultur darauf gebracht. Natürlich machte ich nur Gebrauch von den Fällen, wo nicht in Folge der Impfung an der Cornea auf die gewöhnlichen pathogenen Staphylokokken zurückführbare Complicationen eintraten.

Nach 10, 20 Tagen, 1, 2 und 3 Monaten wurde den Hunden die Cornea abgetragen. Sobald der Augapfel herausgenommen war, wurde derselbe sorgfältig wiederholt mit Wasser gewaschen, um jede Spur von Blut oder auf der Cornea abgelagertem Schmutze zu entfernen. Dann wurde die ganze Cornea abgeschnitten und entweder in Sublimat-Essigsäure (kaltgesättigte Lösung von Sublimat mit 1 Procent Essigsäure), oder in absolutem Alkohol oder in Müller'scher Flüssigkeit conservirt. Zum Färben benutzte ich ohne Unterschied Jod-Hämatoxylin oder auch die Doppelfärbung.

Die Färbung mit Hämatoxylin in toto gab mir die besten Resultate. Die Parasiten können leicht erkannt werden, auch von einem wenig geübten Auge, weil sie eine ganz andere Färbung annehmen als die Elemente des Gewebes wegen ihrer metachromatischen Eigenschaft.

Eine Doppelfärbung erhält man, indem man zuerst mit Mayer'schem Paracarmin in toto und dann die Schnitte mit Gentianaviolett färbt, nach der in den früheren Arbeiten beschriebenen Methode.

Die Schnitte wurden theils senkrecht, theils tangential zur Oberfläche der Cornea ausgeführt.

Makroskopisch beobachtet man in den ersten Tagen nach der Vornahme der Impfung eine leichte Trübung der Cornea, welche in den folgenden Tagen stärker wird, so dass eine Verdickung von weisslicher Farbe wahrzunehmen ist. Diese Epithelverdickung ist nicht gleichmässig in ihrer ganzen Ausdehnung, sondern hier mehr, dort weniger ausgesprochen.

Einige Hunde, an deren Cornea ich die Impfung vorgenommen hatte, habe ich leben lassen. Die Epithelverdickung schwand jedoch nie, wenn sie auch immer begrenzt blieb und keine Störung des Allgemeinbefindens des Thieres verursachte.

Aus dem Studium der Schnitte konnte ich ersehen, dass in der ersten Zeit ein Theil der Parasiten in den Körper der Epithelzellen hineindringt, ein anderer Theil unter dasselbe eindringt und zum grössten Theile von den Leukocyten aufgenommen wird.

In einer späteren Zeit (nach 20 und mehr Tagen) tritt eine Verminderung der Zahl der Parasiten ein, und die Wucherung der Epithelzellen beginnt.

Höchst interessant ist das Studium der parasitären Gebilde im Innern der Epithelzellen. Man kann die Parasiten eintheilen in junge, mittlere und erwachsene oder alte, bereits in Degeneration begriffene. Alle haben die gemeinsame Eigenthümlichkeit, dass sie sich im Protoplasma der Zellen einen Hohlraum aushöhlen, so dass sie alle von einem hellen Hofe umgeben scheinen, der eben diesem Hohlraume entspricht.

Die jungen Formen (Taf. VII, Figg. 3 u. 9) (die Ausdrücke „junge“, „mittlere“ und „erwachsene“ Formen beziehen sich nur auf die Grösse und nicht auf das Alter der Parasiten) sind kleiner und entsprechen den typischen Fuchsinkörpern Russell's. Sie sind entweder homogen und intensiv gefärbt oder lassen einen intensiv gefärbten mittleren und einen weniger intensiv gefärbten peripherischen Theil erkennen.

Die mittleren Formen (Taf. VII, Figg. 2, 4, 5, 7, 10) sind entweder homogen und intensiv gefärbt, wobei sie dann bisweilen eine hyaline Membran aussen um den intensiv gefärbten Theil zeigen, oder weisen eine Differenzirung in der chromatischen Substanz auf, derart, dass diese

entweder auf die Peripherie beschränkt ist, oder in Gestalt eines chromatischen Kernes in der Mitte liegt.

Die erwachsenen Formen (Taf. VII, Fig. 8) besitzen wenig chromatische Substanz, ja manchmal sogar gar keine, so dass sie dann wie ein hyaliner Kreis erscheinen. In diesem Falle ist von dem Parasiten nichts weiter übrig als die Membran, und der protoplasmatische, das Chromatin enthaltende Inhalt ist absorbiert worden.

Oft kann man in ein und derselben Epithelialzelle mehrere Parasiten sehen (multiple Infection bei Soudakewitch).

In dem Gewebe unterhalb des Epithels findet man in Zellen liegende und freie Parasiten, welche dieselben Structureigenthümlichkeiten besitzen, wie sie eben beschrieben wurden.

In einigen Epithelzellen der Cornea beobachtet man Leukocyten, welche sich jedoch leicht von den Parasiten unterscheiden lassen.

1. Nehmen die Kerne oder die Kernwerthe der in die Epithelzellen eingedrungenen Leukocyten auf den mit Hämatoxylin gefärbten Schnitten eine violette Farbe an, wie die Kerne der Epithelzellen, während die Parasiten kastanienbraun gefärbt werden.

2. Ist der helle Hof, welcher die Infiltrationselemente umgiebt, viel kleiner als derjenige um die Parasiten.

3. Haben die Parasiten die chromatische Substanz ganz anders vertheilt, als es bei den Kernen der Leukocyten der Fall ist. An den Epithelialzellen der Cornea ist, von der durch die Parasiten bewirkte Ausbuchtung des Protoplasmas abgesehen, sonst weiter keine Veränderung zu bemerken.

Schon oben habe ich gesagt, dass in einem zweiten Zeitabschnitte, wann die Parasiten der Zahl nach abgenommen haben, die Wucherung des Epithels beginnt. Es tritt dann eine Störung in der Orientirung der Zellenelemente ein, in der Art, dass entweder Fortsätze gebildet werden, welche in das subepitheliale Gewebe eindringen und sich vergrössern, oder dass sich wahre Nester und Klumpen von Zellen bilden, wie man sie bei einigen Hautepitheliomen des Menschen wahrnimmt (Taf. VII, Fig. 1).

Es ist sehr leicht, sich von dieser epithelialen Neubildung zu überzeugen, sowohl an Schnitten senkrecht zur Oberfläche der Cornea, als an Tangentialschnitten, weil man die disorientirten zelligen Elemente leicht unterscheiden kann.

Bei dieser Wucherung des Epithels kann man viele atypische karyokinetische Figuren beobachten.

In Bezug auf das Verhältniss zwischen der Zahl der Parasiten und der Wucherung des Epithels bemerkt man hier genau dasselbe, was ich schon in früheren Arbeiten angegeben habe, nämlich dass mit der Zeit,

während welcher die Parasiten in dem Gewebe vorkommen, ihre Zahl abnimmt, so dass man schliesslich, wenn das Epithel stark gewuchert hat, nur noch eine spärliche Anzahl von ihnen antrifft. Diese Erscheinung bezüglich der Impfung der Cornea mit pathogenen Blastomyceten beobachtet man noch besser als bei den Meerschweinchen, bei Hunden und Katzen, welche in den Unterleib oder in die Venen geimpft wurden. Ueber die Natur der epithelialen Neubildungen, hervorgerufen durch Impfung der Cornea von Hunden mit pathogenen Blastomyceten, kann ich mich nach dieser ersten Reihe von Versuchen noch nicht aussprechen, hierzu ist noch eine grössere Zahl von Versuchen erforderlich.

In der ophthalmologischen Litteratur spricht man von einem Papillom und von einem Epitheliom der Cornea. Ein Fall von Papillom der Cornea des Menschen wurde beschrieben von Szohalski in der Sitzung der ophthalmologischen Gesellschaft zu Heidelberg am 4. September 1864. Ueber einen Fall von Epitheliom der Cornea des Menschen berichtet Stellwag von Carion, über ein anderes Steiner in der Nummer vom März 1896 des „Centralblattes für praktische Augenheilkunde“, über ein weiteres Anbinau, und endlich noch in neuerer Zeit Parisotti. Wenn man die Beschreibung dieser Epitheliome der Cornea, welche bei dem Menschen beobachtet wurden, durchliest, so findet man genau dasselbe, was ich oben über die Neubildung in dem Cornealepithel der Hunde gesagt habe.

IV.

Die endovenösen Impfungen der Hunde mit den vier pathogenen Blastomyceten ergaben dieselben Resultate. Einige Thiere starben nach 1, 1½, 2, 3 Monaten mit einem ähnlichen anatomisch-pathologischen Befunde, wie ich ihn in meiner fünften Abhandlung beschrieben habe. Andere wieder sterben in Folge ungeheurer Abmagerung, ähnlich wie ich oben angegeben habe, ohne anatomisch-pathologische Veränderungen aufzuweisen. Andere wieder magern einige Zeit nach Einimpfung der Cultur etwas ab, erholen sich aber wieder, ohne eine Störung zu zeigen. Diese letzten Hunde wurden nach mehreren Monaten getödtet, um zu sehen, ob sie etwa Geschwülste hätten, aber nur ein einziger von zehn zeigte eine Geschwulst in der Milz, von der weiter unten die Rede sein wird.

Diese verschiedenen Resultate, welche die endovenöse Einimpfung pathogener Blastomyceten bei Hunden ergiebt, sind leicht zu erklären.

Im ersten Falle, d. h. also wenn die Thiere nach der endovenösen Impfung in Folge bedeutender Cachexie und mit anatomisch-pathologischen Veränderungen sterben, sind die in den verschiedenen Organen localisirten

Parasiten theils am Leben geblieben und haben die histologischen Veränderungen hervorgerufen, zum Theil sind sie vom Organismus zerstört worden, welcher dadurch, dass er die Proteine von ihnen aufnahm, eine Intoxication erlitt, welche in der Cachexie zum Ausdruck kam.

Im zweiten Falle, d. h. also wenn die Hunde nach der endovenösen Impfung in Folge von bedeutender Abmagerung sterben, sind sämtliche Parasiten durch den Organismus zerstört worden, der nun durch die Aufnahme deren Proteine eine Intoxication erfuhr.

Im dritten Falle, d. h. wenn die Thiere die Infection und Intoxication überwinden, handelt es sich entweder um hervorragend refractäre Individuen, oder die Parasiten sind in zu geringer Zahl eingimpft worden. Hierauf werde ich zurückkommen bei Gelegenheit der Studien, welche ich jetzt begonnen habe über die Immunität und die Impfung gegen die pathogenen Blastomyceten, und die ich im nächsten Jahre vollenden werde.

Dass die pathogenen Blastomyceten Proteine enthalten, welche im Stande sind, den Tod der Thiere mit bedeutender Abmagerung herbeizuführen, kann man leicht nachweisen, wenn man die Culturen durch Wärme abschwächt und sie dann subcutan Hunden einimpft. In diesem Falle sterben die Thiere in Folge ausserordentlicher Abmagerung, ohne irgend welche anatomisch-pathologische Veränderungen aufzuweisen.

Die endovenöse Einimpfung der pathogenen Blastomyceten bei Hunden kann Veranlassung geben zu einer diffusen Infection mit vielfacher Localisation der Parasiten, ferner einer Infection mit geringer Localisation der Parasiten, endlich zu einer Infection mit einer einzigen Localisation.

Die Neubildungen, welche bei Hunden in Folge endovenöser Impfung mit den Parasiten auftreten, mögen sie nun vielfache oder einzige sein, sind immer bindegewebiger Natur. Bei den Hunden, welche an diffuser Infection sterben, bemerkt man anatomisch-pathologische Veränderungen an den Nieren in Gestalt gelblich-weisser Knötchen in der Corticalsubstanz, in der Leber, in der Milz auch unter der Form von erbsengrossen Knötchen, welche ein wenig über die Oberfläche hervorragen, in den Lungen als Knötchen von der Grösse eines Hanfkornes auf der ganzen Oberfläche, im Herzen als ganz ähnliche Knötchen wie bei der Lunge, im Gehirn als Knötchen von verschiedener Grösse, besonders in der Corticalsubstanz, im Kleinhirn in ähnlicher Gestalt, im Rückenmark, in der Retina als Neubildungen von verschiedener Ausdehnung.

Die Thiere, welche in Folge dieser diffusen Infection sterben, zeigen, ausser der sehr bedeutenden Abmagerung, ein Schwanken beim Gehen, fallen oft auf eine Seite und verlieren das Sehvermögen, alles Störungen, welche mit den pathologischen Veränderungen im Nervensystem in Beziehung stehen.

Setzt man von allen den Organen, welche die genannten pathologischen Erscheinungen aufweisen, Culturen an, so erhält man mit diesen beständig positive Resultate.

Alle Neubildungen werden von Bindegewebszellen mit deutlich unterscheidbarem Zellkörper gebildet. Die an einander gelagerten Zellen bilden verschiedene, durch Bindegewebsfasern von einander getrennte Gruppen. In der Leber scheinen die Zellen, welche die Neubildungen ausmachen, endothelialen Ursprunges zu sein.

Die diffusen Infectionen, welche bei den Hunden in Folge der endovenösen Impfung mit den pathogenen Blastomyceten auftreten, sind also charakterisirt durch bindegewebige Neubildungen, welche denen entsprechen, die Busse beim Menschen beobachtet hat.

Busse befand sich gegenüber einem neuen Falle von einer Krankheit, welche durch einen neuen Parasiten, einen Saccharomyceten, hervorgerufen worden war. Da er ihn nach den allgemeinen Kenntnissen der pathologischen Anatomie deuten musste, deutete er ihn als einen Fall von Pyämie. Man darf aber nicht vergessen, dass Chirurgen und mit ihnen Busse die primäre pathologische Veränderung an der Tibia der Frau als Sarkom diagnosticirt hatten. Die zweite Deutung von Busse steht also im Widerspruch mit der ersten. Ich, für meinen Theil, halte daran fest, dass es sich um ein primäres Sarkom der Tibia mit darauffolgender Verbreitung auf die Organe handelte; die Gründe, welche mich zu dieser Auffassung bewegen, habe ich in meiner früheren Arbeit aus einander gesetzt.

Wenn man endovenöse Impfungen bei den Hunden vornimmt, so erhält man vielfache Localisationen der Parasiten und daher auch vielfache Neubildungen, nimmt man aber die Impfung in Organen vor, so können ganz ähnliche Fälle eintreten, wie der Fall von Busse war, nämlich die Bildung einer bindegewebigen Geschwulst am primären Ort der Impfung und darauf folgende Diffusion in die Organe.

Der einzige Unterschied liegt in dem rapiden Verlaufe, wenn die Injection in die Venen stattfand, dem gegenüber der Verlauf bei Impfung von Organen weniger rapid ist.

Einige von den Hunden, welche in Folge von endovenöser Impfung mit den pathogenen Blastomyceten starben, zeigten bei der Section keine diffusen anatomisch-pathologischen Veränderungen in allen Organen, sondern nur in den Nieren und manchmal auch in der Milz. Diese Befunde sind wohl von den oben beschriebenen zu unterscheiden. Die histologischen Veränderungen dieser beiden Organe sind völlig gleich denjenigen, welche sich bei den an diffuser Infection gestorbenen Hunden finden.

In meiner zuletzt veröffentlichten Arbeit über die pathogene Wirkung der Blastomyceten habe ich mich in Bezug auf die durch endovenöse Impfung mit dem *Saccharomyces neoformans* erhaltenen Resultate folgendermaassen ausgedrückt: „Wären die in die Vene mit dem *Saccharomyces neoformans* geimpften Hunde nicht nach 1 oder 1½ Monat, sondern erst nach 8, 10 Monaten in Folge der Infection gestorben — und ich bin sicher, dass mir solche Fälle vorkommen werden —, so dürften wir ohne Zweifel auf Grund der bisher beobachteten Thatsachen annehmen, dass wir viel weiter ausgedehnte pathologische Veränderungen des Bindegewebes würden angetroffen haben, und dass wir die Parasiten nicht nur nicht cultiviren gekonnt, sondern mit aller Wahrscheinlichkeit nicht einmal in den Geweben angetroffen haben würden. In diesem Falle wäre ich nun sicher, dass jedweder pathologische Anatom die Diagnose auf einen neoplastischen Process bindegewebiger Natur gestellt haben würde.“

Das, was ich vorausgesehen habe, ist nun wirklich bei einem Hunde eingetroffen, welcher in die Halsvene mit einer reinen Cultur des *Saccharomyces neoformans* geimpft und nach 6½ Monaten getödtet wurde, weil er keine augenfälligen Abnormitäten zeigte, mit Ausnahme einer etwas bedeutenden Abmagerung gegen den vierten und fünften Monat nach der Impfung hin, von der er sich aber im sechsten Monat wieder etwas erholte. Sofort nach der Tödtung wurde die Section vorgenommen und keine andere pathologische Veränderung bei ihm gefunden, als eine Geschwulst in der Milz, wie sie auf Taf. VI, Fig. 4 abgebildet ist.

Die Geschwulst hatte, was die Grösse und Form anlangt, von der Bauchseite der Milz aus betrachtet, das Aussehen einer Kastanie. Von der Rückenseite der Milz aus betrachtet erschien sie in zwei Theile getheilt, von denen der eine kugelig und von der Grösse einer grossen Kirsche war, der andere aus zwei Knötchen, einem grösseren und einem kleineren, bestand, die durch einen ziemlich breiten Isthmus verbunden waren. Der von den beiden Knötchen gebildete Theil setzte sich direct in den anderen, an der ventralen Seite der Milz gelegenen Theil fort. Die Farbe der Geschwulst war die der Milz, nur an einigen Stellen war sie dunkelroth. Die Consistenz war weich. Aufgeschnitten zeigte sie sich aus einem kompakten Gewebe gebildet und liess keine Abgrenzung zwischen den dunkelrothen und theilweise auftretenden schwarzen Stellen erkennen. Gleich nach dem Aufschneiden wurden Culturen in verschiedenen festen und flüssigen Nährböden angesetzt, aber sämtliche Culturen blieben steril.

Nachdem die Geschwulst theils in Sublimat-Essigsäure, theils in absolutem Alkohol fixirt war, wurde sie mit Mayer'schem Paracarmin gefärbt. Die auf dem Objectträger aufgeklebten Schnitte wurden mit Gentianaviolett nachgefärbt, einige auch mit Jodhämatoxylin.

Die Geschwulst wurde gebildet von Zellen, deren Körper dicht neben einander liegen und einen grossen Kern besitzen. Wollte man diese Zellen zu den normalen Zellen der Milz in Beziehung bringen, so würden sie den grossen lymphoiden Zellen entsprechen, welche den Haupttheil der Milzpulpa ausmachen. Unregelmässige, aus einer mehr oder minder grossen Zahl solcher Zellen gebildete Gruppen werden durch verlängerte Bindegewebszellen von einander getrennt. Zwischen den Gruppen befinden sich mehr oder minder grosse, von rothen Blutkörperchen gefüllte Räume. Hier und da erblickt man zwischen den Elementen der Geschwulst mehr oder weniger grosse Mengen dunkelrothen Pigmentes. So viel Schnitte ich auch durch die verschiedenen Theile der Geschwulst gemacht habe, so konnte ich doch nirgends mehr die typische Structur der Milz darin finden. Es ist keine gute Abgrenzung mehr zwischen den Malpighi'schen Körpern und der Pulpa vorhanden.

In denjenigen Schnitten, in welchen grosse Anhäufungen rother Blutkörperchen zu sehen sind, bemerkte ich in Zerfall begriffene zellige Elemente mit vielen Resten nucleären Chromatins.

Der Rest der Milz, welcher nicht von der Geschwulst eingenommen wurde, hatte normales Aussehen.

Die anderen Organe zeigten nichts Pathologisches. Die Lymphdrüsen, der Darm, die Leber, die Nieren, die Lungen, das Herz und das Nervensystem wurden normal befunden.

Die Culturen, welche von den einzelnen Organen angesetzt wurden, blieben ebenso vollkommen steril wie die Culturen von der Geschwulst.

Interessant war nun die Untersuchung der Parasiten in dem Gewebe der Geschwulst.

Die Parasiten lagen theils frei, theils innerhalb der Zellen, waren aber nur dort anzutreffen, wo eben die zelligen Elemente lagen, aus denen die Geschwulst gebildet wurde. Die innerhalb der Zellen liegenden Parasiten sind rund, intensiv gefärbt und manchmal von einem hyalinen Hofe umgeben; sie sind vollkommen den Russell'schen Körperchen ähnlich. Mehr als drei habe ich niemals in einer einzigen Zelle gefunden. Die frei liegenden Parasiten haben dieselbe Structur wie die oben beschriebenen und sind zu 3, 4, 5 bis 8 zusammengruppirt. Unter diesen sieht man einige in Knospung begriffen. Auch diese freien Parasiten entsprechen den typischen Russell'schen Körperchen. Einige von ihnen zeigen ein violett gefärbtes Centrum und einen peripherischen Theil von glasigem Aussehen, was wohl den Anfang der kalkigen Degeneration anzeigt, denn wie ich schon für den *Saccharomyces lithogenes* nachgewiesen habe, beginnt die Ablagerung der Kalksalze in der Peripherie und schreitet von dort nach dem Centrum vorwärts.

Aus der Gestalt, in welcher die Parasiten in der Geschwulst erscheinen, erklärt sich das negative Resultat mit den Culturen. Denn ich habe schon in meiner letzten Arbeit nachgewiesen, dass die Blastomyceten, wenn sie in den Geweben in der Form von intensiv gefärbten Kugeln erscheinen, wie sie unter dem Namen von Russell'schen Körperchen bekannt sind, nicht mehr in den künstlichen Nährböden cultivirbar sind.

Welches ist nun die Natur der hier vorliegenden Geschwulst?

Es sind in der Milz beschrieben Fibrome, Angiome und Sarkome. Die primären Sarkome der Milz sind ziemlich selten, aber es existiren Beschreibungen davon in der Litteratur, von denen ich nur diejenige von Weichselbaum¹ namhaft machen will.

Die Structur der von mir an dem Hunde beobachteten Geschwulst entspricht dem, was die Autoren über das Sarkom der Milz mitgetheilt haben. Ich neige daher, wenn auch mit einem gewissen Vorbehalte, weil ja bekanntlich die Diagnose der Geschwülste der Milz sehr schwierig ist, zur Diagnose als Sarkom.

Wenn ich nun Alles das, was ich über die Einimpfung pathogener Blastomyceten in die Venen der Hunde gesagt habe, zusammenfasse, so kann ich auf Grund meiner experimentellen Untersuchungen behaupten, dass dieselben in allen Organen oder nur in einzelnen Organen (Niere, Milz), oder nur in einem einzigen Organe anatomisch-pathologische Veränderungen bindegewebiger Natur hervorrufen, und dass eben dieser anatomisch-pathologische Befund einer diffusen Sarkomatose entspricht, welche bisweilen beim Menschen beobachtet wird, oder auch der Production einer bindegewebigen Geschwulst in einigen Organen. Wenn die Thiere nach kurzer Zeit mit vielfacher Localisation sterben, so ist es leicht, die eingepfunden Parasiten aus allen den Organen zu erhalten, welche pathologische Veränderungen zeigen. Sterben jedoch die Thiere nach mehreren Monaten mit einer pathologischen Veränderung an nur einem einzigen Organe, so ist es nicht mehr möglich, davon Culturen der eingepfunden Parasiten zu erhalten.

Endlich kann man behaupten, dass die Einimpfungen der Blastomyceten in die Venen eine grössere Zahl positiver Resultate ergeben, als die Einimpfungen der Parasiten direct in die Organe. Man kann sicher sein, dass 70 Procent der in die Venen geimpften Hunde der Impfung erliegen. Es bildet also die endovenöse Impfung bei Hunden ein leichtes Mittel um die pathogenen Blastomyceten zu diagnosticiren.

¹ Weichselbaum, Primäres Sarkom der Milz. — Virchow's *Archiv*. Bd. LXXXVIII. S. 562.

V.

Die Impfung der einzelnen Organe (Brustdrüse, Hoden) der Hunde mit pathogenen Blastomyceten giebt weniger häufig positive Resultate als die endovenöse Impfung.

Von 30 Hunden, welche in die Brustdrüsen und Hoden mit reinen Culturen des *Saccharomyces neoformans* geimpft wurden, zeigten nur zwei Neubildungen.

Die erste Geschwulst wurde bei einer Hündin beobachtet, welche an der rechten hinteren Brustdrüse mit einer reinen Cultur des *Saccharomyces neoformans* geimpft worden war. Mehrere Tage nach der Impfung konnte man an der Impfstelle eine Erhärtung constatiren, und nach $2\frac{1}{2}$ Monaten war die Geschwulst so gross wie eine Kastanie. Ungefähr 5 Monate nach der Impfung wurde das Thier von meinem Collegen, Cesaris Demel, Professor der pathologischen Anatomie, in Augenschein genommen.

$7\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung starb das Thier in Folge einer bedeutenden Cachexie; unmittelbar darauf wurde die Section vorgenommen. Bei unversehrter Haut hatte die Geschwulst ein Aussehen, wie Taf. VI, Fig. 1 etwas verkleinert zeigt. Die Geschwulst lässt sich von der Basis abheben, während die Brustwarze und die Haut fest anliegt und sich nicht in Falten erheben lässt.

Nachdem die Haut in der Mittellinie aufgeschnitten und nach aussen umgeschlagen war, überzeugte man sich, dass die Geschwulst sich sehr in die Tiefe erstreckte, ohne jedoch mit dem Muskelgewebe vereinigt zu sein. Die aufgeschnittene Geschwulst ist auf Taf. VI, Fig. 2 zu sehen.

Die Lymphdrüsen in der Nachbarschaft der Geschwulst waren schwach vergrössert. In den Organen wurde keine pathologische Veränderung beobachtet. Die von der Geschwulst angesetzten Culturen blieben gänzlich steril. Auch die von den Organen angesetzten Culturen fielen ganz negativ aus.

Zur Fixirung und Färbung wurden die üblichen Methoden befolgt. Schnitte durch die Geschwulst zeigten eine Reihe von Schläuchen, ausgekleidet mit Cylinderepithel, welches bisweilen viele Falten bildete (Taf. VII, Fig. 2). Mit einem Worte, die Geschwulst zeigte die normale Structur der Milchdrüsen des Hundes. Das zwischen den einzelnen Schläuchen liegende Bindegewebe war an einigen Stellen stark mit Leukocyten infiltrirt. Auf einigen Schnitten sieht man in der Mitte der Schläuche einen Kern-Detritus, aus dessen Mitte einige Epithelzellen hervorragten, welche sich von der Wandung der Schläuche losgelöst haben. Es scheint mir ganz

überflüssig zu sein, über den Ursprung der Epithelzellen, welche die Geschwulst bilden, Worte zu machen. Sie können nur von dem Epithel der Milchdrüse herkommen, unterscheiden sich jedoch von diesem durch ihre Lage, Physiologie und Morphologie, weil sie mit einem Worte atypisch sind. Ausserdem bemerkt man in diesen neugebildeten Zellen eine Hyperchromatose der Zellkerne.

Die Geschwulst zeigte in ihrer ganzen Ausdehnung denselben Bau.

Die von mir zuerst beobachtete Thatsache, dass ein und derselbe Parasit sowohl epitheliale als bindegewebige Geschwülste hervorbringen kann, ist durch die Untersuchungen von Plimmer und Leopold bestätigt worden. Diese beiden Forscher haben aus epithelialen Geschwülsten in reiner Cultur Blastomyceten isolirt, welche, in Versuchsthiere eingepflanzt, bald epitheliale, bald bindegewebige Geschwülste hervorbrachten. Ich erklärte diese Thatsache in meiner letzten Arbeit über die pathogene Wirkung der Blastomyceten damit, dass ich sagte, dies hänge je von dem Sitze oder dem Zellenterritorium ab, in welches die Parasiten zufällig gelangten. Diese Erklärung hat bei den oben erwähnten Doctoren Petersen und Exner keinen Beifall gefunden. Hoffen wir, dass sie im Stande sein werden, eine befriedigendere Erklärung zu geben. Jedenfalls gereicht es mir zur Freude, diese Thatsache durch meine Untersuchungen bestätigt zu haben und andererseits auch von Seiten Plimmer's und Leopold's Bestätigung erfahren zu haben.

Sicher muss man für die Genese einer epithelialen oder bindegewebigen Geschwulst vor Allem grosses Gewicht auf diejenigen Zellenelemente legen, mitten unter welche der Parasit gerathen ist, an zweiter Stelle aber auf die chemischen Bedingungen des Gewebes selbst.

Auf den Schnitten durch die Organe der Hündin wurden keine pathologischen Veränderungen von Bedeutung gefunden, mit Ausnahme einer bedeutenden amyloiden Degeneration der Leber.

Wegen der Structur der Geschwulst, wegen der vollkommenen Aehnlichkeit mit der anderen epithelialen Geschwulst, welche ich an der Brustdrüse in meiner letzten Arbeit beschrieben habe, stellte ich im vorliegenden Falle die Diagnose auf Adeno-carcinom, eine Diagnose, welche von meinem Collegen Cesaris Demel, Professor der pathologischen Anatomie, bestätigt wurde.

Die freien und endocellulären Parasiten waren nicht sehr zahlreich und zeigten sich unter der Gestalt von Russell'schen Körperchen.

Eine andere Geschwulst kam bei einem Hunde zu meiner Beobachtung, welcher am 22. Januar in die Hoden mit einer reinen Cultur des *Saccharomyces neoformans* geimpft worden war. Wenn man nach

ungefähr einem Monat nach der Impfung die Haut des Penis berührte, so bemerkte man consistente Knötchen ohne irgend welche Adhärenz. An den Hoden war nichts Abnormes wahrzunehmen. Die Knötchen, welche ihren Sitz in der Schleimhaut des Penis hatten, wurden immer umfangreicher.

Am 15. Mai starb das Thier unter bedeutender Abmagerung. Die Section wurde sofort nach dem Tode vorgenommen. Schon einige Tage vorher fing der Hund an, aus der Präputialöffnung eine eitrige Flüssigkeit austreten zu lassen, welche, unter dem Mikroskop betrachtet, Eiterkörperchen, spärlich rothe Blutkörperchen und einige Epithelzellen der Präputialschleimhaut erkennen liess.

Bei der Section gewährte die Geschwulst ein Bild, wie es auf Taf. VI, Fig. 3 dargestellt ist. Wie aus dem in natürlicher Grösse wiedergegebenen Photogramm zu sehen ist, setzt sich die Geschwulst aus mehreren, verschieden grossen Knötchen zusammen, welche sowohl in das Unterhautbindegewebe, als auch in das Bindegewebe unter der Schleimhaut des Präputiums, mehr jedoch nach der letzteren Richtung hin, hineinragen. Die grösseren Knötchen waren an ihrer, nach dem Penis zu gerichteten Oberfläche erweitert. Die Hoden und die Prostata zeigten keine Veränderung. Die Lymphdrüsen in den Weichen waren etwas vergrössert. Bei den Nieren bemerkte man an der Oberfläche Knötchen, und zwar vier an der rechten und drei an der linken, welche ein wenig über die Oberfläche hervorragten, gelblich-weiße Farbe hatten, und, wie man beim Einschnneiden des Organes sehen konnte, ein gutes Stück in die Corticalsubstanz eindringen. Die Milz besass zwei Knötchen von der Grösse einer Erbse, welche ebenfalls über die convexe Oberfläche des Organes hervorragten. Die übrigen Organe zeigten nichts. Die Culturen, welche von der Geschwulst und von den Organen angesetzt wurden, gaben kein positives Resultat.

Die Geschwulst entstand in dem submucosen Bindegewebe des Präputiums, weil in dieses statt in das Parenchym der Hoden die Impfung vorgenommen war (Taf. VI, Fig. 3).

An den Schnitten durch die Geschwulst war zu erkennen, dass sie aus Zellen mesodermalen Ursprunges besteht, welche grosse Kerne besitzen und mit ihren gut begrenzten Zelleibern dicht neben einander liegen. Diese Zellen sind zu verschieden ausgedehnten und verschieden gestalteten Gruppen vereinigt, welche durch faserige Bindegewebszellen von einander getrennt sind. Die Kerne der Geschwulstzellen sind reich an chromatischen Körnchen und zeigen hier und dort atypische Kerntheilungsfiguren. Dort, wo die Eiterung eingetreten ist, ist das Epithel der Mucosa völlig zerstört,

dagegen ist in der Masse der Geschwulst keine Degeneration-irgend welcher Art zu erkennen. Das Epithel der Mucosa nimmt an der Neubildung keinen Antheil. Die freien und endocellulären Parasiten treten in der Gestalt typischer Russell'scher Körperchen auf. So viel Schnitte ich auch angefertigt habe, so konnte ich doch niemals Parasiten mit concentrischen Höfen oder doppelter Membran wahrnehmen. Die Neubildungen in der Niere werden von denselben Zellelementen gebildet wie die Hauptgeschwulst. Auch in dieser Neubildung sieht man Zellgruppen von verschiedener Ausdehnung und verschiedener Gestalt, getrennt durch faserige Bindegewebszellen. Das Nierenepithel erscheint ganz normal. Die Parasiten haben hier dieselbe Gestalt wie in der Hauptgeschwulst.

Die gleiche Structur zeigen die Neubildungen in der Milz.

Diese Geschwulst ist, was den Verlauf, die Structur und die in den Nieren beobachteten Veränderungen anlangt, ähnlich der ersten Geschwulst, welche ich bei einer Hündin beobachtete, die mit dem *Saccharomyces neoformans* in die Brustdrüsen geimpft worden war, und worüber ich in meiner dritten Abhandlung über die pathogene Wirkung der Blastomyceten berichtet habe.

Es handelt sich in dem einen wie im anderen Falle um bindegewebige Geschwülste, welche, wenn man sie tüchtigen, in der Diagnose von Geschwülsten geübten Histologen zeigte, denen die Erzeugungsweise derselben unbekannt wäre, ohne Zögern als Sarkome diagnosticirt werden würden.

Was nun die Art und Weise anlangt, wie die Neubildungen in den Organen zu Stande kommen, ob durch Verpflanzung von Zellelementen der primären Geschwulst oder durch Verpflanzung von Parasiten, darüber kann ich mich zur Zeit nicht aussprechen, da ich zur Entscheidung dieser Frage noch weitere zahlreiche Beobachtungen anstellen muss.

Am Schluss der Schilderung der neuen von mir erhaltenen experimentellen Resultate angelangt, kann ich nichts Anderes thun, als dieselbe Schlussfolgerung zu wiederholen, welche ich schon am Ende meiner letzten Arbeit gezogen habe, nämlich, dass die Blastomyceten, wenn sie in reiner Cultur den für bösartige Geschwülste empfänglichen Thieren eingeimpft werden, im Stande sind, epitheliale und bindegewebige Neubildungen hervorzurufen, welche, was den Verlauf und die Structur anlangt, ganz ähnlich den bösartigen Geschwülsten sind, welche man bei dem Menschen beobachtet.

Es ist nicht zu erwarten, dass die neue parasitäre Theorie der bösartigen Geschwülste eine Bestätigung erfährt von Forschern, welche alt

an Jahren und an Geist sind, wohl aber von jungen und alten Forschern, welche mit einer eifrigen Arbeit am Mikroskopirtisch eine gewissenhafte Arbeit mit Experimenten verbinden. Nur durch eifriges Prüfen und immer wieder Prüfen kann eine nutzbringende Arbeit entstehen. Ich bin indessen froh, dieser Arbeit ein Ende setzen zu können, mit der ausgesprochenen Genugthuung meiner selbst, da ich gesehen habe, dass in den beiden letzten Jahren zwei hervorragende Forscher, wie Plimmer und Leopold, meine Untersuchungen bestätigt haben.

Cagliari, den 5. October 1900.

Erklärung der Abbildungen. (Taf. VI u. VII.)

Tafel VI.

Fig. 1. Epitheliale Geschwulst an der Brustdrüse einer Hündin, hervorgebracht durch Impfung mit einer reinen Cultur des *Saccharomyces neoformans*. — Etwas kleiner als natürliche Grösse.

Fig. 2. Dieselbe Geschwulst in der Mitte aufgespalten.

Fig. 3. Bindegewebige Geschwulst des Präputium eines mit dem *Saccharomyces neoformans* geimpften Hundes. — Natürliche Grösse.

Fig. 4. Bindegewebige Geschwulst der Milz eines Hundes, hervorgerufen durch endovenöse Impfung mit einer reinen Cultur des *Saccharomyces neoformans*. — Natürliche Grösse.

Tafel VII.

Fig. 1. Wucherung des Cornealepithels eines mit dem *Saccharomyces neoformans* geimpften Hundes. Bildung von Zellenhaufen. Oc. 3, Obj. 6. Koristka.

Fig. 2. Geschwulst in der Brustdrüse einer Hündin, hervorgerufen durch Impfung mit dem *Saccharomyces neoformans*. — Oc. 3, Obj. 6. Koristka.

Fig. 3—10. Zellen des Cornealepithels eines Hundes, welcher direct in die Cornea mit dem *Saccharomyces neoformans* geimpft worden war. In den Zellkörpern sind verschiedene Parasitenformen zu sehen. — Oc. 3, Obj. $\frac{1}{12}$. Immersion. Koristka.

1

2

3

4