(Aus dem Laboratorium der Königl. Frauenklinik in Dresden.)

Untersuchungen zur Aetiologie des Carcinoms und über die pathogenen Blastomyceten.

II. Theil.

Die Gewinnung von Reinculturen von Blastomyceten aus bösartigen
Neubildungen des Menschen.

Von

Prof. Dr. G. Leopold.

(Hierzu Tafel IV - V und 1 Textfigur.)

Im Jahre 1900 hatte ich in diesem Archiv (Bd. 61, Heft 1) meine Untersuchungen zur Aetiologie des Carcinoms und über die pathogenen Blastomyceten mitgetheilt. Was sich seitdem hier angereicht hat, soll von nun an in einzelnen Aufsätzen veröffentlicht werden. Von vielen Seiten ist, namentlich in den letzten 10 Jahren, über das Carcinom gearbeitet worden und die Forschungen, theils aus dem Ehrlich'schen Institut, theils von Sanfelice haben uns über Verhältnisse aufgeklärt, an die früher wohl Niemand gedacht hätte.

Ich bin dem seiner Zeit von mir beschrittenen Wege, mich mit ganz frischem Carcinomgewebe zu beschäftigen, zunächst treu geblieben, da mich die Monate lange Beobachtung von frischem Gewebe im hängenden Tropfen (unter dem Microscope mit constanter Wärme von 37,5° C.) gelehrt hatte, dass lebende Organismen mit Sprossung und Eigenbewegung darin nachgewiesen werden können.

Die fernere Beobachtung hat mir Recht gegeben, und so kann ich heute im Gegensatz zu damals, wo ich nur 4 Culturen gewonnen hatte, über 33 neue Stämme von Culturen ein und desselben Organismus berichten¹⁾, die sich aus dem frischen

1) In letzter Zeit sind noch zwei neue hinzugekommen. — Zur Abkürzung im Text bedeuten Rc. = Reinculturen, Bl. = Blastomyceten, HTr. = Hängender Tropfen.

Vorpostengewebe von verschiedenen Carcinomen des Menschen haben züchten lassen.

Da meine Untersuchungen von 1900 jetzt 10 Jahre zurückliegen, so ist es für den Leser nothwendig, auf die schon damals geübte Methodik noch einmal zurückzukommen.

Auf der Naturforscherversammlung 1896 in Frankfurt a. M. konnte ich zum ersten Male berichten über wiederholt im frischen Carcinomgewebe beobachtete Zellen mit Sprossung und Abschnürungsvorgängen, welche nur den Blastomyceten zugezählt werden konnten. In der Festsitzung der gynäkologischen Gesellschaft in Dresden 1898 machte ich Mittheilung über frisches Carcinomgewebe, welches im hängenden Tropfen und in sterilen Medien bis über 200 Tage hintereinander im erwärmten Mikroskop beobachtet worden war und die deutlichsten Sprossvorgänge von glänzenden, glashellen Kugeln erkennen liess, welche ebenfalls wiederum an die von den Blastomyceten her bekannten gleichen Vorgänge erinnern mussten. Und in der Sitzung der Natur- und Heilkunde in Dresden Januar 1900 konnte ich über Culturen von Blastomyceten, gewonnen aus menschlichen Carcinomen, sowie über experimentell in Thieren erzeugte Geschwülste, welche durch Einpflanzung von menschlichem Carcinomgewebe bzw. von Blastomycetenculturen entstanden waren, Bericht erstatten und Präparate derselben demonstrieren, welche über die Blastomycetennatur einen Zweifel nicht aufkommen lassen konnten.

Die Grundsätze, welche bei den Untersuchungen consequent befolgt wurden, waren folgende:

„Ulcerirende Carcinome wurden ausgeschlossen und höchstens insoweit verwendet, als nach möglichst weiter Abtragung der Zerfallsfläche am exstirpirten Organ sich centralwärts frisch aussehende Vorposten noch vorfanden. Diese letzteren wurden an jedem entfernten Carcinom aufzufinden gesucht. Gelang dies nicht, wie z. B. an einem Collumcarcinom mit tiefem Krater, oder an einem flachen Brustkrebs oder an einem ganz zerfallenden Oberkiefercarcinom, so wurde das Präparat für die Zwecke der Untersuchung ganz lebensfrischen Gewebes und der Vorposten sofort bei Seite gelegt und höchstens für die mikroskopische Untersuchung aufbewahrt.

Diese Vorsicht ist unbedingt geboten. Man braucht nur von der Oberfläche, ja selbst von den nächst tieferen Schichten ulcerirender Carcinome von den verschiedensten Stellen Gewebe frisch zu untersuchen, in Glycerin oder im hängenden Tropfen, und

man wird eine Unsumme aller möglichen Kokken und Bakterien vorfinden.

Je tiefer man aber vordringt, um so sauberer sind die Vorposten des Carcinoms. Vortrefflich sieht man sie in vielen Fällen von Portiocarcinom als weissliche Stränge, wie frisch gekochter Reis aussehend, sich im intermusculären Gewebe der Collumwand bis zum inneren Mutermunde, ja darüber hinaus erstrecken; besonders schön in frischen Fällen von Corpuscarcinom, wo sie wie verzweigte Wurzeln die Musculatur durchsetzen und bis an die Serosa manchmal heranreichen. Am reinlichsten begegnet man dem Carcinom in den erkrankten Ovarien junger Mädchen (9—14 Jahren), ferner vom Netz und vom Peritoneum, wo man frische Knoten von allen Grössen gewinnen kann. Vorzüglich eigneten sich zur Untersuchung auch die nicht ulcerirten, harten, knotenartigen Mammacarcinome mit den Achseldrüsen, in denen man bei der Probeuntersuchung des frischen Gewebes auch nicht einen Coccus oder Fäulnissbakterien vorfand.

Besondere Aufmerksamkeit verlangt die Art der Aufbewahrung eines operativ entfernten Carcinomstückes oder -Organes, bis man selbst die mikroskopische oder bakteriologische Untersuchung mit ihm vornehmen kann. Hier ist Grundsatz: sofortige Unterbringung in sterilisirte Umhüllungen; Untersuchung in sterilisirten Flüssigkeiten; Verwendung sterilisirter Instrumente und Utensilien; saubere Hände und Umgebung und ein genau zu temperirendes Mikroskop.

Von den Carcinomen der Ovarien, des Netzes oder Bauchfells u. s. w. wurden noch während der Operation einzelne oder mehrere frische Knoten oder Vorposten sofort in sterilisirte dicke Gazetücher gewickelt und in sterilisirte Gläser gelegt, worauf dann möglichst bald nach der Operation die Untersuchung vorgenommen wird. Dass hierbei jedwede Möglichkeit der Berührung mit Eiter oder Fäulnisserregern auszuschliessen gesucht wurde, versteht sich wohl von selbst. Unsere Untersuchungen fanden stets in einem besonderen, nur diesem Zwecke dienenden Zimmer statt, in welchem weder Operationsübungen, noch Sectionen zur Ausführung kamen, noch andere Personen verkehrten, als der Verfasser oder 1 oder 2 Mitarbeiter. Für häufige Reinhaltung dieses Zimmers wurde Sorge getragen. Grössere carcinomatöse Organe, wie Ovarien, Mamma, wurden mit mehreren sterilisirten Messern unter Kreuz- und Schrägschnitten so lange zerlegt, bis die jüngsten Vorposten gefunden

31. Schleg. Carc. ovar.
Re. Bl.

44. Emm. Carc. rag.
Re. Bl.

31. Schleg. Carc. ovar.
Re. Bl.

48. Bau. Carc. mamac.
Re. Bl.

37. Lieb. Sarc. Ut.
Re. Bl.

49. Hilb. Carc. Ut.
Re. Bl.

Reinculturen von Blastomyceten. Immersion.

waren. Es muss also ausdrücklich betont werden, dass das Krebsmaterial zur Untersuchung ganz frischen Gewebes niemals von der Oberfläche, sondern nur aus der Tiefe bez. aus der Mitte eines Knotens genommen wurde. — Die sterilisirten Flüssigkeiten wurden frisch bereitet, auch wiederholt geprüft; und sind irgend welche Culturen von ihnen nach Ueberimpfung nicht aufgegangen.

Grösstes Gewicht wurde bei unseren Untersuchungen schon von Anfang an darauf gelegt, die kleinsten Gewebstheilchen von Carcinomvorposten im hängenden Tropfen möglichst lange bei Körperwärme zu beobachten, einmal um zu sehen, ob sich in ihnen doch irgend welche Kokken und Bakterien vorfänden, zweitens um zu beobachten, was nach Wochen und Monaten sich von den Gewebselementen und den darin enthaltenen Parasiten irgendwie verändert: sprosst, wächst oder degenerirt. Zeigten sich im hängenden Tropfen bezw. zwischen den Gewebszellen nach kurzer Zeit doch Kokken oder Bakterien, so wurde dieses Präparat als unbrauchbar bei Seite gelegt; es war demnach die Stelle des Krebstumors, von welchem es entnommen, doch schon angefault. Solche Störungen durch Bakterien kamen aber, wenn man nur alle erwähnten Vorsichtsmassregeln genau beachtete, recht selten vor, sodass wir daran gewöhnt waren, Carcinomgewebe im hängenden Tropfen steriler Bouillon im erwärmten Mikroskope bis zu 200 Tagen und darüber hintereinander zu beobachten, ohne dass auch nur eine Spur von Fäulnissorganismen darin zu erkennen waren.

Das frische Carcinomgewebe wurde nicht nur in sterilen Nährflüssigkeiten (Bouillon, Traubenzuckerlösung, neutraler und angesäuerter Gelatine), sondern auch nach den Angaben von Busse, Sanfelice u. A. in macerirenden Flüssigkeiten untersucht, von denen sich die Natronlauge immer am brauchbarsten erwiesen hat.

Der Anlage von Culturen von dem Saft oder den Gewebselementen der Vorposten oder vollkommen frischen Carcinomknötchen z. B. der Ovarien, des Bauchfells, des Netzes, der Achseldrüsen wurde stets die Untersuchung im hängenden Tropfen und im erwärmten Mikroskop aus den angeführten Gründen vorausgeschickt. Von Kokken oder Bakterien irgendwie durchsetztes Gewebe galt für die Anlage von Culturen unbrauchbar.

„Es musste also hierbei jeder Einwurf von vornherein abgeschnitten sein, dass die etwa gewonnenen Culturen von der

49, Hilb. Carc. Ut.

51, Netusch. Carc. Ut.

56, Richt. Carc. Ut.

56, Richt. Carc. Ut.

60, Rattentumor.

61, Smir. Carc. ovar.

38, Stol. Carc. ovar.

Oberfläche der Geschwülste oder ihrer Schnittflächen oder aus der Luft stammten.“ „Darum muss noch einmal mit allem Nachdruck darauf hingewiesen werden, dass das Gewebe, welches für die Culturanlage zur Verwendung kam, immer aus der Mitte und den Vorposten von Knoten oder Drüsen genommen wurde und dass alle die Vorsichtsmaassregeln in Bezug auf Asepsis und Sterilisierung zur Richtung dienten, welche für solche Zwecke wissenschaftlich festgelegt sind.“

In den ersten Jahren führten meine Versuche, von frischem Carcinomgewebe des Menschen Culturen zu gewinnen, zu keinem Erfolg, während Kahane, Busse, Roncali, Corselli und Frisco, Curtis, Gilchrist und Stokes über positive Erfolge berichten konnten.

Plimmer hatte bei 1278 Carcinomen 1130 mal Zelleinschlüsse gefunden, die er für parasitär hielt. Allerdings traten diese nur 9 mal in sehr erheblicher Anzahl auf und nur ein einziges Mal konnte er die Parasiten züchten, nämlich aus einem sehr schnell gewachsenen Carcinoma mammae, von dem leider nicht gesagt ist, ob es ulcerirt war. Ueber die Natur des Parasiten wollte er nicht endgültig urtheilen, doch hielt er sie am wahrscheinlichsten für Hefepilze.

Petersen und Exner hatten in 22 Fällen von nicht ulcerirten Carcinomen und Sarkomen trotz verschiedenster Methoden und Nährböden niemals eine Hefecultur gewinnen können, während es mir in den Jahren 1899 und 1900 gelungen war, bei der Untersuchung von einigen 20 Carcinomen aus dem Vorpostengewebe von 4 bösartigen Neubildungen des Menschen Reinculturen von Blastomyceten herzustellen.

Es waren dies 1. ein Ovarialcarcinom. In dem bei constanter Wärme im Leuner'schen erwärmten Mikroskop 307 Tage lang gehaltenen, mit Vaseline abgeschlossenen Dauerpräparat eines hängenden Tropfens hatten sich glashelle Kügelchen in vielfachen Sprossverbänden vermehrt. Hiervon wurden in neutraler Nährgelatine 3 Stichculturen angelegt, von welchen eine nach 7 Tagen angegangen war und Blastomyceten mit Mycelfäden aufwies. In der 4. Abimpfung war eine Reincultur von Blastomyceten nachweisbar.

Vom 2. Fall (doppelseitiges Ovarialcarcinom) konnte ebenfalls schon in der 4. Abimpfung eine gleiche Reincultur gewonnen werden.

Vom 3. Fall derber, nicht ulcerirter Carcinomknoten in der rechten Mamma und carcinomatöse Infiltration der Achseldrüsen)

in der 5. Abimpfung und vom 4. Falle (Carc. port. vag. uteri) bereits in der 3. Abimpfung eine Reincultur.

Auf Grund dieser Ergebnisse kam ich zu dem Schlusse, dass im frischen Carcinomgewebe Blastomyceten vorkommen, dass man sie auch züchten könne und sie in den mikroskopischen Schnitten wieder erkenne.

Was nun die Uebertragung dieser Culturen auf Thiere betraf, so war es damals nach seinen Angaben und Abbildungen nur Sanfelice gelungen, „nach Einführung von Blastomycetenculturen in den thierischen Organismus Geschwülste zu erzeugen, sowohl bindegewebiger wie epithelialer Natur, welche bösartig waren, Blastomyceten enthielten und zum Tode des Trägers führten.“

Sanfelice schlug selbst für die hier in Betracht kommenden Experimente 2 Wege vor, „einen directen, indem man Thiere, welche für derartige Geschwülste empfänglich sind, mit der Substanz von bösartigen Geschwülsten des Menschen impft, oder aus dem letzteren die Parasiten in einer Cultur isolirt und sie den nämlichen Thieren einimpft, oder einen indirecten Weg, indem man aus dem umgebenden Medium die Blastomyceten zu isoliren sucht und den Thieren einimpft.“

Sanfelice hat damals den indirecten Weg beschritten, da er mit dem anderen keine positiven Resultate erhielt, und hat Tumoren mit Drüsenmetastasen gewonnen, welche der höchsten Beachtung werth waren.

Ich habe von Anfang an den directen Weg eingeschlagen und bin ihm bisher treu geblieben, um so mehr, als aus den fortschreitenden Untersuchungen es immer besser und häufiger gelang, Reinculturen von Blastomyceten aus malignen Neubildungen des Menschen herzustellen.

In der früheren Arbeit (Dieses Archiv Bd. 61, H. 1) konnte ich auch von Uebertragungen frischen menschlichen Carcinomgewebes auf Thiere und andererseits von Uebertragung von Blastomyceten, welche aus Carcinomen des Menschen gezüchtet worden waren, auf Thiere berichten.

Welche Fortschritte nach diesen beiden Richtungen hin in den letzten Jahren von mir gewonnen wurden, soll der Veröffentlichung in einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben. In dieser hier soll nur über die weitere Gewinnung von Reinculturen Mittheilung erfolgen. Daher mögen alle Fälle von malignen Neu-

bildungen aus den letzten Jahren am Schlusse der Arbeit Aufzeichnung finden, in welchen Blastomyceten-Reinculturen gewonnen wurden und in welchen nicht, und es soll die Methodik eingehendere Besprechung finden.

Zuvor aber erscheint es nothwendig, die kritischen Arbeiten anderer zu erwähnen, welche sich mit den Ergebnissen meiner im Jahre 1900 veröffentlichten Untersuchungen beschäftigt haben.

1902 erschien in den Arbeiten auf dem Gebiete der pathologischen Anatomie und Bakteriologie von Baumgarten (Band III, Heft 3) eine Arbeit von Frl. Dr. A. Stecksén aus Stockholm: „Studien über Curtis' Blastomycet vom geschwulst-ätiologischem Gesichtspunkt aus“, welche im Laboratorium von Dr. Roux in Paris (Institut Pasteur) und in Stockholm ausgeführt und im Mai 1900 abgeschlossen worden waren. Zu dieser Arbeit bemerkt Professor von Baumgarten, dass in ihr ein ansehnliches Capital ernster, wissenschaftlicher Arbeit niedergelegt sei und die Zukunft müsse lehren, ob es Zinsen in der Richtung tragen werde, dass die Blastomyceten sich einen Platz als geschwulst-ätiologisches Agens in der Pathologie erobern würden.

Frl. Dr. Stecksén fasst ihre ausserordentlich sorgfältigen und umfangreichen mikroskopischen und experimentellen Untersuchungen, welche sie mit Curtis' Blastomycet angestellt hat, wörtlich in folgende Sätze zusammen: „Dass die Blastomycetentheorie wirklich im Stande ist, einem grossen Theil der Resultate der geschwulst-ätiologischen Studien Einheitlichkeit zu geben, daran hat ein gründliches Studium der Literatur im Verein mit directer Untersuchung besonders eines speciellen Blastomyceten, und dabei vielleicht in erster Linie der lebhafte Eindruck gerade der Verschiedenförmigkeit desselben, mich überzeugt. Nicht nur sind die Bl. ziemlich durchgängig verschieden in der Cultur und im Gewebe, auch in den Geweben verschiedener Thierarten sind die Variationen unendlich. Knospen-, Sporen-, Hyphenbildung, Degenerationen verschiedener Art bedingen so verschiedenartige Bilder, dass die Beobachtung derselben mit dem Mikroskop allein unmöglich hinreichend wäre, um einen Einblick in den Zusammenhang zwischen denselben zu geben. Was man experimentell bei Thieren durch Einführen lebender Bl. hervorgerufen hat und besonders der Nachweis, dass durch dieselben eine gewisse Gewebsneubildung zu Wege gebracht werden kann, hat eine Analogie zu der Annahme geliefert, dass

der Parasit der bösartigen Geschwulstbildungen es verursacht. Dazu kommt, dass die Experimente die Unwahrscheinlichkeit der Annahme gezeigt haben, dass aus Geschwülsten gezüchtete Bl. von Luftinfection herrühren könnten, und dass somit die bei Studien auf direktem Wege vorgeführten blastomycetischen Organismen aller Wahrscheinlichkeit nach wirkliche Parasiten sind. Zwar ist keiner der angeführten Gründe ein wirklicher Beweis für die Rolle der Bl. in der Aetiologie und Pathogenese der Geschwülste, aber das eine zum andern giebt eine Sammlung von nicht zu unterschätzenden Wahrscheinlichkeitsbeweisen.“

In einem Nachtrag zu ihrer Arbeit bemerkt Stecksén, dass seit ihrer im Mai 1900 abgeschlossenen Arbeit die Frage weiter im Fluss geblieben sei und mehrere einschlägige Arbeiten erschienen seien. „Schon im August 1900 habe Leopold seine umfassenden Untersuchungen zur Aetiologie des Carcinoms und über die pathogenen Bl. veröffentlicht.“ „Natürlich gereichte es mir“, fährt sie fort, „zur grössten Freude zu erfahren, dass Leopold von demselben Standpunkt ausgegangen war, sowie zu im Wesentlichen ähnlichen Auffassungen gekommen ist, zu denen ich durch meine Studien geführt worden war. Hinsichtlich der factischen Resultate seiner langjährigen, sorgfältigen Untersuchungen hat Leopold die Frage ein Stück weiter als Jemand vor ihm geführt. Er hat frisches Material im hängenden Tropfen im Mikroskop bei Körpertemperatur Monate und Jahre beobachtet und hat die Entwicklung der von ihm als typische Bl. beschriebenen Parasitenkörper genau verfolgen können.“ „Mit einer derartigen Cultur konnte er bei einer Ratte intraperitoneale Knötchen hervorrufen, die angeblich als Riesenzellensarkom zu bezeichnen waren. Bei directer Implantation von malignen Geschwülsten in Thiere konnte er mehrmals Affectionen zu Stande bringen, in denen Bl. nachzuweisen waren.“

Ferner führt Stecksén die Untersuchungen von Wlaëff an, nach welchen die Virulenz der Bl. durch Passagen auffallend zu verstärken sei.

Wlaëff hat nach intraperitonealer Einimpfung von Blastomyceten bei Thieren Geschwülste in der Bauchhöhle hervorgerufen.

Hierzu bemerkt v. Baumgarten in einer Anmerkung, dass die demonstirten Bilder die Structur eines Adenoms bis Adenocarcinoms aufwiesen. Doch sei er nicht im Stande gewesen, in diesen Präparaten Blastomyceten oder irgend etwas ihnen Aehnliches wahrzunehmen.

1902 erschien fernerhin eine Arbeit von Sternberg¹⁾: „Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen“ aus dem Institut Paltauf-Wien, welche sich auch mit meiner Arbeit beschäftigte. Um zunächst mit dem Anhang zu dieser Veröffentlichung zu beginnen, so möchte St. auch die Frage erörtern, die seit jüngster Zeit im Vordergrund der Discussion steht, ob nämlich die Hefen als Erreger der malignen Tumoren des Menschen anzusehen seien. Der Beweis für diese Behauptung wurde auf dreifachem Wege zu erbringen versucht: 1. durch den histologischen Nachweis, 2. durch das Thierexperiment und 3. durch bakteriologische Untersuchung der Geschwülste des Menschen.

In letzterer Beziehung war es Sternberg mit eigenen Versuchen, die sich allerdings nur auf wenige Fälle erstreckten und daher einen Schluss nicht zuliessen, niemals gelungen, Hefen aus nicht exulcerirten Geschwülsten zu züchten.

Sternberg erwähnt nun die 4 positiven Erfolge aus meinen culturellen Untersuchungen von einigen 20 Carcinomen. Bezüglich der von mir hierbei geübten Technik wolle er jedoch als Beispiel hervorheben, dass in Fall 1 (Ovarialcarcinom Pr.) „ein Gewebstückchen in einem hohlen Objectträger aufbewahrt und dieser (soll wohl heissen: dieses) nach 307 Tagen zur Anlegung von Culturen verwendet worden war.“ Hätte Sternberg exact citirt, so hätte er sagen müssen, dass das Gewebstückchen in einem sterilen Nährmedium lag und luftdicht im hohlen Objectträger, zur Beobachtung im erwärmten Mikroskop, aufbewahrt war und dass man im Gewebstückchen Blastomyceten mit Sprossen entstehen und sich vermehren sehen konnte. Wer da weiss (s. Busse), wie ausserordentlich lange sich Blastomyceten lebensfähig erhalten, dem fällt dann die Möglichkeit des Angehens einer Cultur nach 307 Tagen nicht auf.

Liegt nun in diesem Citat Sternberg's gewissermaassen das Urtheil der Minderwerthigkeit der betreffenden Cultur, so wäre es richtiger von ihm gewesen, wenn er von meinen 3 anderen positiven Culturen ausdrücklich hervorgehoben hätte, dass die zweite (Ovarialcarcinom Die.) vom frischen Gewebe auf Nährgelatine schon nach 11 Tagen anging, die dritte (Mammacarcinom Wagn.) vom frischen Vorpostengewebe bereits am 6. Tage und die vierte

1) Beiträge zur patholog. Anatomie u. zur allgem. Pathol. von Ziegler. 1902. Bd. XXXII. Fischer.

(Portiocarcinom Schrü.) vom frischen Vorpostengewebe in saurer Gelatine nach 17 Tagen angegangen war¹⁾.

Diese drei letzten positiven Erfolge waren es auch, die mich immer wieder dazu ermunterten, auf Mittel und Wege zu sinnen, ob und wie man aus jeder malignen Neubildung Blastomyceten in *Rc.* erzielen könne.

Das Verdienstliche in der Arbeit Sternberg's liegt nun darin, dass er mit 15 Stämmen theils von Oidien, theils von Blastomyceten sehr eingehende experimentelle Untersuchungen angestellt hat, um die verschiedenen, von Anderen gewonnenen Reinculturen auf ihre Pathogenität zu prüfen.

Bei Thierversuchen mit meiner Cultur II vom Ovarialcarcinom *Die.* erzielte er keine malignen Tumoren und glaubt er, dass die Hefe im Laufe der Zeit ihre Pathogenität verloren habe.

Ebenso wenig gelang es ihm mit einer Cultur von *Sanfelice*, in drüsigen Organen echte Tumoren zu erzeugen.

Und was die beiden damaligen bis zum Jahre 1902 bekannt gewordenen Versuche *Sanfelice's* betrifft, mit welchen *S.* bei 2 Hunden nach Hefeinjection echte Tumoren beobachtet haben will, Versuche, welche damals die einzigen verwerthbaren in der ganzen Literatur darstellten, so kann er in ihnen noch keinen Beweis erblicken, dass die Tumoren auch wirklich durch Hefeinjection experimentell erzeugt worden seien.

Mit der Kritik meiner Arbeit hat sich ferner *Nösske* beschäftigt in seinen aus dem pathologischen Institut der Universität Leipzig 1903 erschienenen Untersuchungen über die als Parasiten gedeuteten Zelleinschlüsse im Carcinom²⁾, und zwar in sehr abspreekender Weise. Sehen wir einmal zu, wie *Nösske* zu diesem Urtheil gekommen ist und worauf er dasselbe stützt.

Im Gegensatz zu *Stecksén* meint er, dass meine Arbeit einer eingehenderen Berücksichtigung kaum noch werth erscheine. Nachdem er meine 4 positiven Culturen von Blastomyceten, aus menschlichen Carcinomen gewonnen, erwähnt hat, sei es mir angeblich gelungen, aus einem typischen Carcinom einen Mikroorganismus zu cultiviren und mit diesem beim Versuchsthier ein Sarkom zu erzeugen.

1) Es handelte sich also nicht, wie Sternberg *S.* 21 schreibt, um drei Ovarialcarcinome und ein Uteruscarcinom, sondern um zwei Ovarial-, ein Mamma- und ein Uteruscarcinom.

2) Deutsche Zeitschr. f. Chir. Bd. 64.

„Das Widersinnige dieses Experimentes liegt auf der Hand“, sagt Nösske. „Bisher galt in der Bakteriologie das Postulat, dass der aus einem bestimmten Infectionsprocess reincultivierte Mikroorganismus, falls er der Erreger desselben sein sollte, auch wieder den gleichen Process hervorrufen müsse, in diesem Falle also ein Carcinom. Leopold aber begnügt sich damit, dass jener fragliche Parasit irgend eine andere Geschwulstbildung erzeugte, und es würde seine Argumentation verallgemeinert zu dem Axiom führen, dass ein Geschwulsterreger reincultiviert und einem anderen Organismus einverleibt, irgend eine andere beliebige Geschwulst hervorrufen könne. Zwischen Carcinom und Sarkom dürfte demnach ein ätiologischer Unterschied nicht bestehen. Die Thatsache, dass es Leopold nicht gelang, mit seinem vermeintlichen Carcinomparasiten im empfänglichen Thierkörper wiederum ein Carcinom zu erzeugen, erweckt berechtigten Zweifel an der specifischen Bedeutung seiner Befunde und besonders auch an der Angabe, dass jenes vermeintliche experimentell erzeugte Riesenzellensarkom auch wirklich ein echtes Sarkom gewesen sei“.

Nun, die Thatsachen der letzten Jahre sind über diese theoretischen Erwägungen machtvoll hinweggeschritten und was Nösske im Jahre 1903 noch als widersinnig bezeichnete, ist jetzt zur Wahrheit geworden. Wieder einmal der Beweis, dass ein Kritiker doch besser thut, exact nachzuprüfen, als alte Axiome der pathologischen Anatomie immer wieder vorzubringen. Die Untersuchungen Ehrlich's und seiner Schüler und die Forschungen Schmorl's haben uns inzwischen gelehrt, dass ein Carcinom recht wohl in ein Sarkom übergehen kann, dass also, entgegen Nösske's nunmehr veralteter Anschauung, zwischen Carcinom und Sarkom ein ätiologischer Unterschied thatsächlich nicht mehr zu bestehen braucht. Beide bösartige Neubildungen können — darüber ist wohl heutzutage kein Zweifel mehr — ein und denselben Agens — nennen wir es vorläufig noch x — ihre Entstehung verdanken.

Was hat nun Nösske in seiner kritischen Arbeit, die an Schärfe nichts zu wünschen übrig lässt, an thatsächlichem Material selbst vorgebracht? In der Hauptsache hat er sich einer Methode befleißigt, von der doch Jeder, der sich mit der Erforschung des Carcinoms beschäftigt, längst weiss, dass damit bisher so gut wie nichts erreicht worden ist: mit der Nachprüfung der Plimmer'schen Körperchen, mit der Härtung von Carcinomstückchen, Fär-

bung von Schnitten nach verschiedenen Methoden und der mikroskopischen Durchmusterung derselben; mit theoretischen Erörterungen über die Arbeiten von Feinberg, von v. Leyden, von Woronin u. A.

Und während er selbst besonders den färberischen Nachweis der Plimmer'schen Körperchen vorgenommen hat, fällt er doch ein sehr absprechendes Urtheil über die Bilder von Pianese und Sanfelice, welche ein Gemisch von Farbstoffen gebraucht hätten. „Sanfelice hat sich complicirter Farbgemische bedient, daher die eigenartigen Farbentöne seiner Präparate, daher auch die Trugschlüsse. In bunten Bildern wenig Klarheit —.“

Nösske hat es sich mit seiner Kritik wahrlich sehr leicht gemacht. Heutzutage ist es bei der Erforschung der bösartigen Neubildungen nichts mehr mit der blossen Durchsicht gefärbter Präparate; ebenso wenig mit der Durchsicht und kritiklosen Abfertigung mühsamer Untersuchungen Anderer nach hergebrachten, aber dringend der Reform bedürftigen Anschauungen der pathologischen Anatomie. Jetzt heisst es, nach neuen Wegen suchen. Erscheinen sie Jemandem aber falsch, dann möge er sie nachprüfen mit dem Aufwand derselben Mühe und Zeit, die der Autor verwendet hat, oder solche schlagende Gegenbeweise bringen, dass nichts gegen sie einzuwenden ist.

Hätte Nösske auch nur den zehnten Theil der von Sanfelice verwendeten Mühe und Sorgfalt aufgewendet, so hätte er der Wissenschaft mehr genützt als mit seinen Nachfärbungen.

Nach diesen Darlegungen erscheint mir die Kritik Nösske's einer weiteren Würdigung nicht werth, und können wir zu den Bemerkungen Busse's über meine Arbeit übergehen, die sich in dem Capitel: Sprosspilze in Kolle u. Wassermann¹⁾ verzeichnet finden. Sie sind streng sachlich und der grössten Beachtung werth.

Busse bedauert, dass er sowohl meine Deutungen als auch die Schlussfolgerungen über den nach Injection von Blastomycetenculturen bei einer Ratte erzielten Tumor, den ich als Sarkom ansah, nicht mitmachen kann und leider constatiren muss, dass auch durch diese ungeheuer mühevollen Arbeit die Geschwulstfrage noch nicht gelöst sei. „Allerdings ist ja entschieden von grosser

1) Handbuch der pathog. Mikroorganismen. Bd. I. Jena. 1903.

Wichtigkeit“, fährt Busse fort, „das Leopold wenigstens 2 mal Hefen aus, wenn ich recht verstehe, nicht exulcerirten Carcinomen gezüchtet hat“. Hier liegt ein Irrthum vor: es sind nicht aus 2, sondern aus 4 **nicht** ulcerirten Carcinomen und zwar aus deren absolut frischem bzw. Vorpostengewebe (2 Ovarialcarcinomen, 1 Mamma- und 1 Uteruscarcinom) Reinculturen von Blastomyceten gewonnen worden. „Von einer derselben stammt die mit Erfolg zur Thierinfection verwandte Hefe, sie ist von einem Fall von doppelseitigem Ovarialcarcinom gewonnen“.

Busse macht nun auf die bekannte Erfahrung aufmerksam, dass gerade die Ovarialcarcinome oft als primär erkrankt angesehen werden und sich bei der Section als Metastasen vom Magenkrebs herausstellen. Man möge es daher Busse nicht als Schmälerungssucht auslegen, wenn er Angesichts der Wichtigkeit des Falles mit der Möglichkeit einer solchen Complication rechne. Sei aber die Erkrankung in den hier vorliegenden Ovarien secundär im Anschluss an ein Magencarcinom entstanden, so hätten wir die Hefen in den Metastasen eines ulcerirten Carcinoms, wie solche von den verschiedenen Autoren, z. B. Marfucci und Sirleo gefunden worden sind.

So richtig dieser Einwand ist, so darf doch nicht vergessen werden, dass es auch zweifellos Fälle von primärem Ovarialcarcinom des Menschen mit Metastasen in anderen Organen giebt. Es braucht hier nur an den Fall von Lewin¹⁾ erinnert zu werden, in welchem bei einer 73jährigen Frau die klinische Diagnose auf maligne Abdominaltumoren mit Ascites gestellt wurde. Fünf Tage nach einer Probepunction befand sich an der Stichöffnung eine etwa pflaumengrosse, mit der Epidermis verwachsene Geschwulst, welche allmählich weiter wuchs und sich pathologisch-anatomisch als Carcinom erwies. Bei der Section der Kranken fand man an Stelle der Ovarien zwei etwa apfelgrosse, sehr bindegewebsreiche, etwas zerfallene Tumoren, die mikroskopisch als Carcinom mit zahlreichen Peritonealmetastasen anzusehen waren. Pylorus, Nieren, Leber und andere Organe normal.

Von grösstem Interesse war aber weitherhin, dass von diesen carcinomatösen Ovarien kleine Stücke auf Hunde intraabdominal

1) Ueber experimentell bei Hunden erzeugte verimpfbare Tumoren nach Uebertragung von menschlichem Krebsmaterial. Zeitschr. f. Krebsforschung. 4. Bd. 1906. S. 55.

übertragen werden konnten und dass sich dadurch bis in die fünfte Generation bei Hunden Tumoren erzielen liessen, welche nach allem klinischen und biologischen Verhalten Lewin geneigt war, für sarkomartige Bildungen zu halten.

Nach Alledem kann der Einwand Busse's keinesfalls für alle Fälle von Ovarialcarcinomen Geltung haben, aus denen Blastomyceten in Re. gewonnen und aus deren transplantierten Stücken bei Thieren Tumoren erzeugt wurden.

Einen noch schwereren Einwand aber erhebt Busse gegen meine Deutung bezüglich der auf dem Peritoneum der Ratte entstandenen Knötchen als Sarkome. Zugestanden müsse werden, sagt Busse, dass die Knötchen durch die Hefe hervorgerufen seien, dass diese Hefe also pathogen sei und dass ich (Leopold) somit aus einem menschlichen Carcinom eine für Ratten pathogene Hefe gezüchtet habe. Zu bestreiten sei aber vorderhand, dass diese Saccharomykoseherde wirklich echte Geschwülste seien.

Nun, ich gebe ohne Weiteres zu, dass meine Beschreibung jener kleinen Geschwülste viel zu kurz ausgefallen war und dass ich viel mehr und umfangreichere Abbildungen hätte dazu geben sollen. Ich wollte dies damals bald nachholen, aber die Fülle ganz neuen Stoffes zu neuen Arbeiten mahnte mich, zunächst gleiche und ähnliche Ergebnisse zusammenkommen zu lassen und in *nonum annum* aufzuhalten. In der nächsten Abhandlung hoffe ich diesem Mangel abhelfen zu können.

Was endlich die Tumoren betrifft, welche ich nach Ueberpflanzung von menschlichen Krebsstücken auf Thiere gewonnen habe, so vermögen nach Busse die bisher vorliegenden Untersuchungen noch keineswegs den Nachweis zu führen, dass die Carcinome durch Blastomyceten verursacht werden. Auf der anderen Seite müsse aber auch anerkannt werden, dass die bisherigen Beobachtungen keineswegs dagegen sprächen, im Gegentheil, dass sie ermunterten, die Versuche nach jeder Richtung hin fortzusetzen.

Inzwischen hat aber Lewin in der citirten Arbeit wohl einwandfrei nachgewiesen, dass man von einem menschlichen Ovarialcarcinom kleine Stücke recht wohl in die Bauchhöhle übertragen und als Geschwülstchen weiter wachsen lassen und von diesem aus wiederum 4 Generationen hindurch bei Hunden Tumoren zur Entwicklung bringen kann, welche wohl am ehesten als Sarkome anzusprechen sind.

Demnach stehen die Ergebnisse meiner Versuche nicht mehr vereinzelt da und es wird sich vor Allem darum handeln, nachzuweisen, ob der ersten erfolgreichen Uebertragung in Lewin's Falle und seinen weiteren Uebertragungen bis in die 4. Generation in dem gleichen Falle nicht auch ein bestimmtes, allen gemeinsames Virus zu Grunde liegt¹⁾, wie ich es bei meinen Versuchen, die einen positiven Erfolg hatten, annehmen zu können glaubte.

An diese Einwände Busse's gegen die Blästomyceten als Erreger der bösartigen Neubildungen reihen sich am besten hier die Bemerkungen Apolant's aus dem Jahre 1907 an, welche er im Ergänzungsband (2. Heft) zum Handbuch der pathogenen Mikroorganismen hierüber gemacht hat:

„Es unterliegt keinem Zweifel,“ sagt er, „dass die zahlreichen Bemühungen, den Blastomyceten die Rolle der wahren Krebserreger zuzuweisen, eine erheblich grössere Einheitlichkeit der Anschauungen erkennen lässt! Dazu kommt, dass sich diese Theorie insofern auf einem etwas festeren Fundament aufbaut, als durch die bahnbrechenden Studien Busse's die Fähigkeit der Hefen, tumorähnliche Gebilde zu erzeugen, bewiesen ist. Von einer Besprechung der Blastomycetentheorie glaube ich indessen absehen zu dürfen, da dieselbe von Busse selbst in dem ersten Bande dieses Handbuches (1903) in dem auch von uns vertretenen Sinne erschöpfend behandelt worden ist. Ich kann um so eher auf den Artikel des genannten Forschers verweisen, als in der seither verflossenen Zeit nichts erschienen ist, was die dort niedergelegten Anschauungen nach irgend einer Richtung hin zu modificiren im Stande wäre.“

Wenden wir uns nun zu den Arbeiten über die Blastomyceten aus der jüngsten Vergangenheit, so interessiren uns hier vor Allem die Forschungen Sanfelice's²⁾, die meines Erachtens von der allergrössten Bedeutung sind. Indem er unbekümmert um

1) Lewin (l. c. S. 72) spricht sich mit vollem Rechte hierüber so aus: „Demgemäss bleibt also nur die Annahme übrig, dass der Erreger aller dieser Veränderungen bei den Hunden durch die Uebertragung von menschlichem Krebsmaterial auf den ersten Hund und von dort auf alle weiteren Hunde übertragen worden ist.“

2) Sanfelice, Ueber die Wirkung der löslichen Producte der Blastomyceten in Bezug auf die Aetiologie der Geschwülste. Zeitschr. f. Krebsforsch. 1908. Bd. 6. S. 166. — Ueber Toxine und Antitoxine der Blastomyceten in Bezug auf die Aetiologie und Behandlung der bösartigen Geschwülste. Zeitschr. f. Krebsforsch. 1909. Bd. 7. H. 3.

die ablehnenden Kritiken seine Untersuchungen über die Blastomyceten fortgesetzt hat, kommt er auf Grund einer grossen Zahl von Versuchen zu folgenden Schlüssen:

1. Die Zellen des Organismus reagieren gegen die löslichen Producte der Blastomyceten, indem sie sich unter Wandlung von Form und Function (Anaplasie) vermehren und locale Bildung eines neoplastischen Gewebes veranlassen. Ausgelöste Bestandtheile des letzteren können auf dem Wege der Lymph- und Blutgänge sich in beliebiger Entfernung auf den Organen niederlassen und hier neues Gewebe aufbauen, identisch von Structur mit dem Gebilde, von dem sie ausgingen.

2. Dieses Factum bildet den Grundstein der Differentiation der malignen Tumoren von den Geschwülsten chronischer Entzündung. Somit müssen durch Sprosshefen hervorgerufene Veränderungen der Klasse der echten Neoplasien zugetheilt werden.

Von weit grösserem Interesse ist aber die jüngste Arbeit Sanfelice's, welche in der Gewinnung eines Serums zur Bekämpfung der bösartigen Neubildungen gipfelt.

Nachdem er den gegenwärtigen Stand der Krebsfrage erörtert und die Ergebnisse der jüngsten Transplantationsversuche verschiedener Forscher besprochen hat, fährt er folgendermaassen fort:

„Aus allen den über die pathogene Wirkung der Blastomyceten in Bezug auf die Krebsfrage, besonders von Plimmer, von Leopold und von mir und Anderen ausgeführten Untersuchungen geht hervor, dass

1. bei den menschlichen sowie thierischen, bösartigen Neubildungen pathogene, bisweilen für künstliche Cultur geeignete, bisweilen wegen der in fuchsinophilen oder Russel'schen Körperchen vorkommenden Umwandlung nicht geeignete Hefepilze nachweisbar sind.“

Man sieht also, dass Sanfelice an der ätiologischen Bedeutung der Blastomyceten für maligne Tumoren unerschütterlich festhält, und andererseits, dass bisher noch lange nicht der Nachweis geliefert ist, dass aus jeder malignen Neubildung Blastomyceten reingezüchtet werden können, eine Aufgabe, die zu erfüllen in der vorliegenden Arbeit versucht werden soll.

2. fährt Sanfelice fort: „Im Innern der Gewebe zeigen sich die Blastomyceten unter allen den vorher als protozoisch angesehenen Formen, welche man mit den gemeinen Zellinclu-

sionen und Entartungen des Zellenprotoplasmas nicht verwechseln darf.“

3. „Die allein inoculirten pathogenen Hefepilze können mit einem nicht häufigen, jedoch höheren als bei Hunden entwickelten bösartigen Geschwülsten beobachteten Prozentsatz echte bösartige Epithel- und Bindegewebstumoren bei Hunden hervorrufen. Zusammen mit ihren löslichen Producten inoculirt bewirken sie häufiger positive Erfolge. Weil ihre Toxine die Zeilelemente zur atypischen Vermehrung anregen, so begünstigen sie die Tumorbildung.“

Sanfelice bespricht nun weiter seine Untersuchungen über „Tumorproduction bei Hunden und Ratten durch gleichzeitige Einspritzung der Bl. und ihrer Toxine“; ferner seine „Transplantationsbefunde bei Ratten“, drittens „die antigene Wirkung der pathogenen Blastomyceten“ und endlich „die Serumtherapie der bösartigen Geschwülste.“ In diesem Capitel erfahren wir, dass maligne Geschwülste durch Einspritzung der Antitoxine der Bl. theils zur Verminderung, theils zum Verschwinden gebracht worden sind. Die betreffenden Präparate sind von Czerny, Baumgarten und mir durchgesehen worden, und es kann keinem Zweifel unterliegen, dass „mit den colossalen Veränderungen, welche, um Czerny's Worte zu brauchen, die Serumbehandlung in den Tumoren hervorgebracht hat“, ganz Ausserordentliches von Sanfelice geleistet worden ist.

Mit diesen Thatsachen ist Sanfelice der Forschung in der Aetiologie der malignen Geschwülste mächtig vorangeeilt, und es lässt sich hoffen, dass weitere Erfolge von seiner Seite zu erwarten sind. So viel steht fest, dass den Bl. eine hohe ätiologische Bedeutung nicht mehr abgesprochen werden kann.

Um so mehr darf die Frage in den Vordergrund gestellt werden, ob es nicht möglich sein sollte, die Blastomyceten wo möglich in jeder bösartigen, menschlichen, zum Tode führenden Neubildung, sei sie Carcinom oder Sarkom, mikroskopisch oder culturell nachzuweisen.

Die nachfolgenden Mittheilungen sollen sich zunächst mit dem culturellen Nachweis beschäftigen. Ob und in wie weit mir dieser gelungen ist, wird eine Durchsicht unsrer Untersuchungen und eine streng objective Darstellung aller Befunde ergeben.

Nach Abschluss der im Jahre 1900 von mir veröffentlichten Arbeit kamen bis zur Mitte des Jahre 1901 noch 23 maligne Neubildungen, wie ausdrücklich nochmals bemerkt sei, im nicht ulcerirten Zustande, bezw. nur das Vorpostengewebe von ihnen zur Untersuchung und zur Anlegung von Culturen. Das Gewebe wurde damals sogleich in eine Nährflüssigkeit gebracht und nur viermal vorher angereichert. Hierbei zeigte sich, dass in den angereicherten 4 Fällen sehr bald eine Bl.-Cultur anging, ebenso aber auch in einem nicht angereicherten Falle, wie dies bereits bei den allerersten 4 gewonnenen Reinculturen gelungen war (s. Dieses Archiv. Bd. 61. H. 1).

Nunmehr trat durch äussere Umstände und namentlich durch Experimente, die in der Carcinomfrage nach anderer Richtung hin unternommen wurden, eine längere Pause ein, nach welcher die Wiederaufnahme des culturellen Verfahrens sich nöthig machte.

Vom Jahre 1909 an wurden von den Vorposten von 14 malignen Geschwülsten Culturen zu gewinnen gesucht, 11 mal ohne, 3 mal mit vorheriger Anreicherung. Die Ausbeute waren 6 Reinculturen von Blastomyceten = 43 pCt., also schon erheblich mehr als in der ersten Gruppe, die es nur zu 21,7 pCt. gebracht hatte. Bemerkenswerth war aber bei diesen 6 Re., dass die Hälfte von ihnen mit Anreicherung, die Hälfte ohne dieselbe gelungen war. Und erst recht fiel auf, dass wie schon in der ersten Gruppe bei 7 Nichtanreicherungen gar nichts erzielt wurde, auch hier in 6 Fällen, wo auf die Anreicherung verzichtet wurde, das Ergebniss negativ war.

In Folge dessen wurde von nun an das zur Anlegung von Culturen verwendete, ganz frische Vorposten-Carcinomgewebe in den nächsten 23 Fällen, die von 33 exstirpirten malignen Neubildungen als brauchbar befunden worden waren, 21 mal derart vorbereitet, dass es in steriler 10 proc. Zuckerlösung im Gährungskölbchen erst angereichert wurde, und das erfreuliche Ergebniss war, dass aus allen angereicherten Geweben, also in 100,0 pCt., Reinculturen von Bl. nach und nach hervorwuchsen.

In den beiden nicht angereicherten Fällen war das eine Mal die Culturanlage negativ, das andre Mal aber, wie in den 21 Fällen, auch positiv.

Aus der folgenden Tabelle, welche das ganze Material in drei Gruppen getheilt hat, wird sich am besten eine Uebersicht gewinnen lassen.

Zur Gewinnung von Reinculturen von Blastomyceten.

	Zahl der Fälle	Re. gewonnen	Nur Bl. gefunden	Negativ	Anreicherung		Herkunft
					ohne	mit	
I. Gruppe 1891-1901	27	9	—	—	5	—	3 Ov. 1 Mamma 1 Ut.
	—	—	11	—	—	4	2 Ov. 2 Mammae
	(Unter Abrechnung der 4 ersten Fälle: 23 : 5 = 21,7 pCt.)				7	—	3 Ov. 2 Ut. 2 Perit.
					—	4	3 Ut. 1 Perit.
			—	7	7	—	5 Ov., 2 Ut.
II. Gruppe 1909	14	6 = 43 pCt.	—	—	3	—	1 Ov. 1 Ut. 1 Mamma
	—	—	2 (1 nur mikr.)	—	—	3 = 50 pCt.	2 Ut. (1 Sark.) 1 Ov.
				6	2	—	2 Mammae
					6	—	5 Ut., 1 Perit.
III. Gruppe 1909—10	23	22 = 95,6 pCt.	—	—	1	21 = 95,4 pCt.	9 Ut. 7 Mammae 4 Ov. 1 Vag. 1 Ratt.-Tum.
				1	1	—	1 Mamma
	64	37	13	14	32	32	25 Ut. 19 Ov. 14 Mammae 9 Perit. 1 Ratt.-T. 1 Vag.
		64			64 (9 mit Erfolg Re. alle posit. 9 nur mikr. Bl. 14 negativ)		64

Von 37 gewonnenen Reinculturen waren vorher angereichert 28 = 75,6 pCt.

vorher nicht „ 9 = 24,3 „
In 13 Fällen, wo nur Bl. gesehen wurden, waren „ 4 = 30,0 „
waren nicht „ 9 = 69,2 „

Alle 14 Fälle mit negativem Resultat waren vorher nicht angereichert worden.

64

Geht man die Tabelle genau durch, so sind 64 bösartige Neubildungen zur Verwendung gekommen.

In jeder Hälfte der Fälle war das Vorpostengewebe theils angereichert, theils nicht angereichert worden.

Nach Anreicherung wurden

28	mal	Rc. von Bl. gewonnen,
<u>4</u>	"	Bl. im HTr. mit Immersion deutlich gesehen,
32		

Ohne Anreicherung wurden

9	mal	Rc. von Bl. gewonnen,
9	"	Bl. im HTr. mit Immersion deutlich beobachtet,
<u>14</u>	"	wurden weder Rc. gewonnen, noch Bl. gesehen.
32		

Hieraus ergibt sich der Einfluss der Anreicherung von selbst. Doch darf nicht vergessen werden, dass auch ohne Anreicherung in einer bemerkenswerthen Zahl von Fällen (18) es glückte und zwar in der Hälfte derselben Reinculturen zu erzielen, in der anderen: Blastomyceten in grosser Menge in ihrer charakterischen Form mit Knospen, Innenkörnchen und Eigenbewegung im HTr. zu beobachten.

Das Untersuchungsmaterial setzte sich zusammen aus 23 Uteruscarcinomen, 2 Uterussarkomen, 19 Ovarialcarcinomen, 14 Mamma- und Achseldrüsen carcinomen, 4 Peritoneal, 1 Vaginalcarcinom und aus 1 Rattentumor, der nach Injection von pathogenen Bl. entstanden war.

Auch bei der Verwendung dieses Materials ist der Grundsatz streng befolgt worden, alle ulcerirten Tumoren auszuschliessen, oder nur die äussersten Vorposten von solchen zu verwenden. Das betreffende exstirpirte Organ wurde sofort in sterile Tücher eingewickelt, in einem sterilen Glase aufbewahrt und sobald wie möglich zur Untersuchung oder zur Anreicherung verwandt. Sterile Gläser wurden zu dem Zwecke von unserem Laboratorium dem Operationssaale des Dresdener Diakonissenhauses, dem ich sehr werthvolles Material verdanke, zur Verfügung gestellt. Das bei uns in der Frauenklinik gewonnene Material wurde in gleicher Weise behandelt und einstweilen im Brutschrank bei Körpertemperatur aufbewahrt. In den allermeisten Fällen geschah die Entnahme von frischem Gewebe ca. 2 Stunden nach der Operation, ab und zu auch noch während der Operation, unmittelbar nach Herausnahme des betreffenden Organes, namentlich wenn es sich

um ein primäres Ovarialcarcinom handelte. Von den Mammacarcinomen, für deren Ueberlassung ich meinem verehrten Collegen Herrn Geh. Medicinalrath Dr. Rupprecht auch hier herzlichst danken möchte, war nicht ein einziges aufgebrochen. Der innerste Knoten, bezw. die carcinomatöse Drüse wurde mit sterilen Messern kreuzweise aufgeschnitten und nun das am weitesten nach dem M. pectoralis zu vorgedrungene frische Gewebe theils zur Untersuchung im HTr., theils zur Impfung in angesäuerter Gelatine, theils zur Anreicherung verwendet. Am ergiebigsten war der Erfolg immer mit dem Gewebe, bezw. dem Gewebsbrei aus ganz frischen Alveolen bei den weichen Carcinomen. Vom Scirrhus lässt sich ja immer nur wenig trüber Saft abschaben, der aber auch zur Beobachtung genommen wurde.

Was die Ovarialcarcinome betrifft, so erschienen mir als bestes Untersuchungsmaterial immer die glattwandigen, mehr weniger soliden Carcinome mit alveolärem Bau, glatter, gleichmässiger Schnittfläche und ganz frischem, nicht verfettetem Gewebe. Wieviel zum Nachweis von Bl. und zur Anlage von Culturen gerade auf die Verwendung von ganz frischem, nicht verfetteten Gewebe ankommt, hat mich ausser verschiedenen anderen gerade der Fall G. (No. 64) gelehrt. In dem fast mannsköpfgrossen Ovarialtumor fanden sich auf den verschiedensten Schnittflächen fast alle peripheren Wucherungen schon im Beginne der Verfettung oder des breiigen Zerfalls, in welchen nach und nach das frische Gewebe einbezogen wurde. Natürlich galt es, nur möglichst sauberes frischrothes Gewebe noch aufzufinden und zu verwenden, was auch möglich war. Absichtlich wurde aber sowohl stark verfettetes Carcinomgewebe (A), als auch weniger verfettetes (B) und zum Vergleich ganz frisches (C) abgeschabt und sowohl für den HTr., wie zur Culturanlage entnommen, um zu sehen, welches von den 3 Gruppen für die vorliegenden Untersuchungen in Betracht kommt.

Die Untersuchung von A im HTr. war für Bl., wie für Culturgewinnung ganz ergebnisslos. Gewebe von B wurde in gezuckerter Bouillon angereichert, im HTr. mehrere Tage hintereinander untersucht und von der angereicherten Masse einige Tage später auch auf Nährgelatine geimpft. Auch hier war Befund und Culturgewinnung negativ. Ganz anders bei dem vollkommen noch frischem röthlichen Gewebe (C), das schon nach 2tägiger Anreicherung in gezuckerter Bouillon, vor allem aber nach 6 Tagen die klarsten Blastomyceten mit Sprossen im HTr. erkennen liess.

Weiterimpfungen von dieser Anreicherungsmasse ergaben schon nach weiteren 7 Tagen eine Rc. von Blastomyceten.

Die Uteruscarcinome (darunter 2 Sarkome) beanspruchten ganz besondere Sorgfalt sowohl bei der Auswahl der Fälle, als auch bei der Aufsuchung und Verwendung der Vorposten. Das beste Material bildeten die nach Freund-Wertheim, oder durch vaginale Totalexstirpation gewonnenen Uteri, bei denen man nach verschiedenen Kreuz- und Querschnitten die am meisten nach innen vorgedrungenen Ränder der Neubildung als wurzelartige Vorposten oder als grauweiße, gleichmässige, nicht zerfallene Knoten mit blossem Auge sehr gut sehen konnte. Nimmt man nur von diesen Innenrändern oder Ausläufern, so kann man sich im HTr., wie bei der Culturanlage überzeugen, einmal, dass man Kokken irgend welcher Art nicht beobachtet, andrerseits aber auch, dass weder eine Kokken-, noch eine Blastomycetencultur kaum angeht, falls das Gewebe nicht zur Anreicherung gebracht worden ist.

Dass die Peritonealcarcinome und das eine Vaginalcarcinom nach gleichen Gesichtspunkten behandelt wurden, bedarf kaum der Erwähnung.

Bemerkt sei aber betreffs der Uteruscarcinome ausdrücklich, dass bei ihrer Auswahl mit der grössten Strenge vorgegangen wurde. Carcinomkrater, die vor der Totalexstirpation ganz ausgelöffelt und ausgebrannt worden waren und von Carcinomgewebe kaum noch etwas für das blosse Auge erkennen liessen, wurden als unbrauchbar bei Seite gelegt; ebenso auch schon ganz zerfallene Carcinome, sei es von den Ovarien, der Scheide oder der Vulva. Von den Corpuscarcinomen kamen auch nur die wurzelartigen, im intermusculären Bindegewebe meistens erkennbaren Vorposten zur Verwendung, die sich bisweilen schon an die Serosa uteri heranerstrecken.

Nachdem nun in dem exstirpirten Organe durch verschiedene Kreuz- und Querschnitte das jüngste frische Carcinomgewebe blossgelegt worden war, wurde es fast in allen Fällen nach 3 verschiedenen Richtungen hin verwendet:

Regelmässig wurde zuerst eine davon abgeschabte Spur im HTr. sowohl in steriler Kochsalzlösung, als auch in Natronlauge untersucht. Namentlich in letzterer findet man mit Immersion und bei hinreichender Uebung die Blastomyceten als nickelglänzende, öfters mit Innenkörnchen versehene und in zitternder und schwirrender Bewegung befindliche runde Gebilde, öfters mit Sprossen in

Form von anhängenden Knöpfchen versehen, grösser als Kokken, mit denen sie gar nicht zu verwechseln sind, viel kleiner als rothe und weisse Blutkörperchen und durch ihren Glanz, ihren Inhalt, ihre Sprossung, ihr Verhalten zu Osmiumsäure wesentlich verschieden von Fettkügelchen.

Zweitens wurden von dem frischen Gewebe, namentlich wenn im HTr Blastomyceten gesehen worden waren, kleine Partikelchen auf angesäuerte Gelatine verimpft, wovon, wie wir bereits gesehen haben, auch in vereinzelten Fällen Rc. nach und nach erzielt werden konnten.

Da aber die Anreicherung viel mehr Aussichten auf Rc. darbot, wurde drittens seit ungefähr Anfang des Jahres 1909 abgeschabtes frisches Carcinomgewebe in ein steriles Gährungskölbchen gebracht, welches vorher im langen Schenkel ganz, im Kölbchen bis zur Mitte mit steriler 10 proc. Zuckerlösung gefüllt und mit sterilem Wattepfropf verschlossen worden war. Dieses so gefüllte Gährungskölbchen wurde bei Zimmertemperatur und in abgeschwächtem Lichte aufbewahrt. In einzelnen Fällen stiegen im langen Schenkel nach vielleicht 8—10 Tagen in Folge der eingetretenen Gährung Luftblasen von Kohlensäure empor.

Zwei bis drei Tage nach erfolgter Anreicherung wurden nun aus dem Boden des bis dahin verschlossen gebliebenen Kölbchens mittelst steriler Platinöse von dem etwas dick gewordenen Gewebe Tröpfchen auf Deckgläschen gebracht und im hängenden Zustande theils in der eigenen Flüssigkeit, theils nach Zusatz von Natronlauge mittelst Immersion untersucht. Wiederholt wurden auch nach der Federstrichcultur-Methode von Lindner¹⁾ mehrere solche minimale, mittelst steriler Stahlzeichenfeder an einander gereihte Tröpfchen der Durchsicht unterzogen. Gerade letzteres Verfahren erlaubt am besten, in so winzigen Tröpfchen, die auf dem von Vaseline dicht umschlossenen Deckgläschen luftdicht lange beobachtet werden können, sehr wenig Gewebe mit etwa wachsenden Organismen genau zu durchmustern.

In einzelnen Fällen hatte sich die Anreicherung nach 2 bis 3 Tagen noch nicht oder nur in sehr geringem Grade vollzogen. (Bemerkt sei hierbei, dass in einem Falle das ganz derbe Vorpostengewebe mit Epithelperlen von einem Unterkiefercarcinom und

1) P. Lindner, Mikroskop. Betriebscontrole in den Gährungsgewerben. 5. Aufl. Berlin. Parey. 1909. S. 230. Die Tröpfchencultur (Federstrichcultur).

von der betreffenden Drüsenmetastase überhaupt weder zu einer Erweichung des Gewebes, noch zu einer Anreicherung zu bringen war.)

Es wurde nun noch einige Tage gewartet und ungefähr zwischen dem 7. und 10. Tage nach Beginn der Anreicherung die Entnahme von Gewebe aus der Tiefe des Gährungskölbchens und die Untersuchung mit HTr. wiederholt. Da in den letzten 21 Fällen eine deutliche Vermehrung der Blastomyceten, manchmal bereits eine Anhäufung wie bei einer Reincultur mit Immersion festzustellen war, so wurde nun aus dem stets verschlossen gebliebenen Gährungskölbchen angereichertes Gewebe auf Nährgelatine in 2—3 Röhrchen, später bei Weiterimpfungen in der Regel auf 5 Röhrchen übertragen. Sehr bald ging eine weisse speckig glänzende Cultur an, von der immer erst, bevor weiter geimpft wurde, eine Prüfung im HTr. sowohl mit steriler Kochsalzlösung als auch mit Natronlauge vorgenommen wurde. Nur in wenigen Fällen war die Cultur noch von Bakterien verunreinigt. Dann wurde auf Nährgelatine so lange weiter geimpft, bis die speckig glänzende Cultur nur Blastomyceten aufwies.

Zur Anreicherung wurde manchmal auch Peptonglykose und sterile Bouillon und zur Impfung sterile Peptonglykosegelatine verwandt. Doch bewährte sich am meisten sterile 10proc. Zuckerlösung bezw. angesäuerte Nährgelatine. Zur Gewinnung grösserer Mengen von einer gewonnenen Re war der Impfstrich auf schräg erstarrtem Agar in grossen Probirröhrchen am geeignetsten.

Endlich wurden Reinculturen nach der Empfehlung Sanfelice's¹⁾ auch auf vierkantige, am oberen Ende schräg geschnittene Kartoffelstückchen übertragen, welche vorher mit den sie enthaltenden kleinen Glasröhrchen sterilisirt worden waren. Nach erfolgter Impfung wurden die Röhrchen am oberen Ende zugeschmolzen und theils in Zimmertemperatur, theils im Brutschrank bei Körperwärme, jedenfalls immer im Dunkeln aufbewahrt. Am besten wuchsen die Culturen in Zimmertemperatur weiter.

Bevor wir uns nun zu den Reinculturen selbst wenden, ist der Controlversuche mit nichtcarcinomatösem Material zu gedenken, welche in ziemlicher Zahl und fast ausnahmslos mit negativem Erfolge angestellt wurden.

Es mögen folgende hervorgehoben sein:

1. H. Myoma uteri. 21. X. 09. Vom Myomgewebe war nach 7 Tagen in steriler Zuckerlösung im Gährungskölbchen nichts gewachsen. Vom Muskelgewebe waren nach 7 Tagen im HTr. nur Bakterien zu sehen.

1) Zeitschr. f. Krebsforschung. Bd. 6. 1908. S. 168ff.

2. N. 26. X. 09. Metritis chronica. Schwere Blutungen. Vaginale Totalexstirpation. Muskelgewebe entnommen und angereichert. Nach 7 Tagen Bl. nicht gefunden.

3. H. Kyst. ovar. glandul. 28. X. 09. Frisches Gewebe angereichert. Nach 8 Tagen negativ.

4. K. Myoma uteri. 30. X. 09. Myomgewebe entnommen und angereichert. Nach 6 Tagen nur Stäbchen und Kokken.

5. R. Myoma uteri. 20. XI. 09. Myomgewebe entnommen und angereichert. Nach 9 Tagen erfolglos. Trotzdem geimpft auf saure Gelatine. Negativ.

6. Eb. Myoma uteri. 23. XI. 09. Myomgewebe angereichert. Nach 6 Tagen im HTr. mit Natronlauge: Bewegliche Kugeln, schwirrend und zitternd. Ob Bl? Daher Weiterimpfung auf saure Gelatine, aber ohne Erfolg.

7. und 8. Das Gleiche bei zwei anderen Myomen.

9. H. 31. V. 10. Miliare Becken- und Bauchfelltuberculose. Gewebe aus den Knötchen angereichert. Negativ (Diagnose war auf Carc. gestellt gewesen).

10. Bachm. 28. V. 09. Tuberculose Netzdrüse. (Klinische Diagnose hatte Carcinom gelautet.) Gewebe angereichert. Negativ.

Die Blastomyceten der 28 Reinculturstämme, welche in den letzten beiden Jahren von mir gewonnen worden sind, stimmen nun nach Form und Verhalten ganz genau mit den Blastomyceten der 4 Reinculturstämme der Jahre 1899 und 1900 (Dietze, Preusche, Schröffner und Wagner) und auch mit den weiteren 5 im Jahre 1901 erzielten überein, sodass also kein principieller Unterschied zu bemerken ist.

Nach geeigneter Anreicherung bemerkt man schon bei Zeiss Obj. 5, Ocular 3, namentlich wenn Natronlauge zum HTr. verwendet wird, die kleinen runden hellglänzenden Kügelchen, die bei ruhiger Beobachtung und hinlänglicher Uebung sehr bald die Eigenbewegung erkennen lassen. Letztere besteht darin, dass sie sich am Orte theils zitternd, theils schwirrend hin und her bewegen. Bei so mittelstarker Vergrösserung kann man bisweilen schon Kügelchen mit Sprossen bzw. Knöpfchen versehen beobachten. Mit Immersion stellen sich nun diese hellglänzenden runden Kügelchen, welche man vielleicht mit frisch geputzten Nickelmünzen vergleichen kann, als theils runde, theils längsovale, 1—2—4 μ grosse Gebilde dar, mit feinsten Körnchen im Innern, oder mit einem, etwas an den Rand gestellten Körnchen oder mit einem grösseren runden, einem Auge ähnlichen Korn dar, dem in den beiden Zellpolen feinste Körnchen anliegen.

Sprossung bzw. Knospenbildung ist namentlich mit Immersion sehr gut zu verfolgen. Dass diese Knospen der Mutterzelle fest

anhaften, also nicht zufällig anliegende Gebilde sind, lässt sich besonders bei den manchmal recht lebhaften Schwirrbewegungen gut erkennen. Zur Illustration kann ich nur auf alle die Bilder verweisen, welche in diesem Archiv, Bd. 61, H. 1, Taf. IV, Figg. 54 bis 66 über die 4 ersten Reinculturen wiedergegeben worden sind.

Zweierlei aber ist es, was ich damals noch nicht beobachtet hatte: erstens, dass ab und zu eine Reincultur aus mehr länglichen Gebilden bestand, mit Innenkörnchen, Eigenbewegung und zu Hyphen auswachsend, und zweitens, dass sich eine, nur aus runden Gebilden bestehende Rc. in der 3. oder 4. Weiterimpfung nach wochenlangem Stehen verflüssigte.

Leider wurde diese Verflüssigung durch einen Irrthum meinerseits anfänglich für eine Verunreinigung angesehen und das betreffende Röhrchen beseitigt und im Protokollbuch gestrichen. Als sich aber die Verflüssigungen ab und zu wiederholten und solche Röhrchen mit verflüssigtem Material zwischen ganz sauberen Culturen

standen, sodass also an Fehler beim Impfen nicht zu denken war, so wurde der Inhalt jeder verflüssigten Cultur erst geprüft, bevor er beseitigt werden sollte. Nach dem gleich zu berichtenden Ergebniss war aber eine Beseitigung nicht angebracht, denn die verflüssigte Cultur und Gelatine stellte sich z. B. bei Stolze, Wolf und Beck. folgendermaassen dar: Die weisse speckige Cultur bildete oben nur noch einen feinen Belag (a). Unter ihr kam dann eine fast klare gelblich röthliche, 1—2 cm hohe Flüssigkeitsschicht (b) und unter ihr lag die in die Tiefe gesunkene, anfangs auf der Oberfläche der Gelatine befindliche Cultur, welche wie ein dicker graugelblicher Schlamm manchmal bis auf den Boden des Röhrchens reichte (c) (s. Textfigur). Von jeder dieser 3 Schichten wurde eine Spur im HTr. mit Natronlauge untersucht. In jeder, aber besonders in c, fanden sich die prachtvollsten rundlichen Bl. in Rc.,

mit allen charakteristischen Eigenschaften und in lebhafter Eigenbewegung. (Um dies gleich hierbei mit zu erwähnen, wurde von ihnen auf sterile Kartoffeln weitergeimpft. Die betreffenden Röhrchen wurden zugeschmolzen und 205 Tage lang im Brutschrank bei 37° zur Gewinnung von Toxinen gehalten, wonach die sehr gut gewachsenen und erhaltenen Culturen weiter verwendet wurden).

Hatte sich also die Verflüssigung als ein den Bl. eigenthümlicher Vorgang herausgestellt, so erschien es mir doch zweckmässig, mich hierüber sowohl wie über einzelne Formenverschiedenheiten der in Rc. gewonnenen Bl. an autoritativer Stelle zu unterrichten und Aufklärung zu erbitten. Herr Prof. Lindner, Vorsteher der Abtheilung für Reinculturen am Institut für Gährungsgewerbe in Berlin, hatte die grosse Güte, sich der Durchsicht von 6 beliebig mitgenommenen Rc. zu unterziehen und sie zu prüfen. Für seine ausserordentliche Mühe möchte ich ihm auch an dieser Stelle den aufrichtigsten Dank sagen.

Zunächst stellte Herr Prof. Lindner fest, dass jede der 6 Rc. aus echten Blastomyceten besteht. Was die Zellform betrifft, so kann sie nach ihm bei derselben Art kugelig, elliptisch, wurstförmig und fadenförmig sein, also sehr variiren.

„E. Ch. Hansen hat bei dem Studium des Verhaltens der Bodensatzformen verschiedener Hefen gefunden, dass einige von ihnen für gewöhnlich in ovalen Zellen wachsen, bei höheren Temperaturen jedoch meist langgestreckte Formen bilden, und umgekehrt, dass bei gewöhnlicher Temperatur langgestreckt wachsende Hefen bei höheren oval wurden.

Wenn auch bei jeder Hefe die Zellform variiren kann, so kommen doch gewisse Formen bei der einen Art häufig, bei der anderen Art weniger häufig oder nur ganz ausnahmsweise vor“¹⁾.

„Hansen hat aus zwei Zellen einer Rc. von S. Marxianus zwei Generationen züchten können, deren eine vorwiegend ovale, deren andere vorwiegend wurstförmige Zellen lieferte“²⁾.

Demnach hat die ab und zu verschiedene Form in unseren Rc. keine Bedeutung. Ebenso wenig die Verflüssigung, da nach Lindner (l. c. S. 263) „die Gelatine mit der Zeit durch die Hefe verflüssigt werden kann. Einzelne Hefen vermögen allerdings diese Veränderung (Peptonisirung) nicht zu bewirken; andere verflüssigen sehr zeitig, bereits nach einigen Tagen, die Gelatine.

1) Lindner, l. c. S. 399.

2) Eod. loco S. 260.

Bei wiederholten Culturen, die zeitlich weit auseinander liegen, findet man bei denselben Hefen nicht immer dasselbe Verhalten der Gelatine gegenüber, einmal kann die Verflüssigung zeitig, das andere Mal sehr spät oder gar nicht auftreten¹⁾.

Fasst man nun zum Schlusse alle Ergebnisse meiner jetzigen und früheren Untersuchungen zusammen, so lauten die Thatsachen, ohne damit für die Aetiologie der malignen menschlichen Neubildungen voreilige Schlüsse zu ziehen, folgendermaassen:

1. Bei der Untersuchung ganz frischen Gewebes bzw. Vorpostengewebes von menschlichen bösartigen, nicht ulcerirten Neubildungen sind in 50 von 64 Fällen = 78,1 pCt. Blastomyceten mit Sicherheit gefunden worden, und zwar konnten sie in 37 von 50 Fällen = 74 pCt. in Reincultur gezüchtet werden. Aus den letzten 22, vorher angereicherten Geweben liessen sich ausnahmslos, also in 100 pCt., Blastomyceten in Rc. darstellen.

2. Mit diesen Bl. wurden nach Injection bei drei Ratten intraabdominale Tumoren erzielt, welche zum Tode des Thieres führten. (Dieses Arch. Bd. 61, H. 1, und diese Arbeit S. 59 u. 60.)

2. Aus diesen Tumoren konnten Bl. wieder rein gezüchtet werden. (Eod. loco.)

Bei dieser Regelmässigkeit der Erscheinung können Bl. wohl fernerhin nicht mehr als blos zufällige Gebilde in den malignen Neubildungen des Menschen betrachtet werden.

Die folgende Zusammenstellung giebt am besten den Einblick in den Gang der Untersuchungen.

1. Die. Carc. ovarii utriusque.

Frishes Vorpostengewebe entnommen zur Impfung 8. XII. 98.

Nährgelatine. In der 4. Abimpfung Reincultur von Blastomyceten. 8. XI. 99. 5. Abimpfung 1. XII. 99. 6. Abimpfung 12. I; 31. I. und 8. II. 1900 (Reinculturen)²⁾.

Von der 3. Abimpfung am 2. X. 1899 eine Platinöse voll vom Nagelkopf der weissen Cultur aufgelöst in steriler Bouillon und davon je $\frac{3}{4}$ g bei 5 weissen Ratten in je 1 Hoden injicirt (Dieses Archiv. Bd. 61. H. 1).

1) Eod. loco S. 263. „Nach Beijerinck ist das wirksame Princip hierbei gewöhnlich das Trypsin, das von den Hefezellen namentlich vor dem Absterben in reichlicher Menge ausgeschieden wird.“

2) Rc. = Reincultur; Bl. = Blastomyceten.

Serie I.

2. X. 1899. Ratte 1. † 7. 6. 01 nach 613 Tagen.

Ratte 2. † 15. 4. 00 nach 195 Tagen.

Section: Multiple Knoten im Peritoneum, Diaphragma, Omentum, Intestinis. Riesenzellensarkome (Dieses Archiv. Bd. 61. H. 1). (Gezeichnet.)

Im Ausstrich vom Saft dieser Tumoren: Blastomyceten.

Vom Bauchfellknoten III weiter geimpft. 15. IV. 00 auf angesäuerter Gelatine (15 mal Uebertragung von Rc. bis 3. VII. 01).

Bis 6. VI. 00 war Rc. von Bl. gewachsen.

Mit dieser Cultur (aufgeschwemmt in steriler Bouillon) wurden 2. VI. 00 je $\frac{3}{4}$ g in je 1 Hoden von 5 weissen Ratten injicirt (Serie II).

Serie II.

Dietze. Ratte 1. † 17. V. 01 nach 349 Tagen. Section: Lunge mit Entzündungsherden durchbrechend in d. Bronchioli.

Ratte 2. † 17. X. 01 nach 319 Tagen. Stark abgemagert. In der Lunge Gewebsverdichtung.

Ratte 3. † 16. I. 02 nach 593 Tagen. Stark abgemagert. Linker Hoden atrophisch.

Ratte 4. Verloren gegangen.

Ratte 5. † 30. X. 01 am 515 Tag. Stark abgemagert. 15 cm langer Wurm in der Leber.

Ratte 3. † 14. VI. 01 nach 620 Tagen.

Ratte 4. † 4. V. 01 nach 579 Tagen.

Ratte 5. † 21. XI. 01 nach 780 Tagen.

Serie I. Ratte 4. † 4. V. 01 nach 579 Tagen.

Section: Leib aufgetrieben. Dünne Bauchdecken. Viel Ascites. Durch die Bauchdecken schimmern verschiedene grauweisse Tumoren durch. Leberoberfläche granulirt. Am Leberlappen hing eine kirschengrosse, freibewegliche Geschwulst. Zwerchfell in der Mitte verdickt durch einen Tumor. Von beiden Hoden gehen weisse Stränge zum Abdomen und vertheilen sich theils über, theils im Netz.

Netz stark verdickt durch röthliche bis grauweisse Knoten von Hirsekorn- bis Erbsengrösse. Ebsen solche Knoten auf dem Peritoneum pariet., Mediastinum, Herzbeutel.

Kirschgrosser Tumor mikroskopisch: Kleinzell. Sarkom.

(Zeichnung in der nächsten Arbeit.)

Im frischen Gewebe und im HTr. von der Ascitesflüssigkeit, welche bis 25. V. 01 in Peptonglykose angereichert worden war und keine Spur von Bakterien enthielt, fanden sich Blastomyceten, einzelne mit Auge bzw. Kern.

Von dem frischen Netztumorgewebe wurden sehr bald p. m. (4. V. 01) 3 Ratten (Serie III) einzelne Stücke in das Abdomen implantirt.

Serie III.

Ratte 1. † 14. V. 01 Nachm. $\frac{1}{2}$ 3 Uhr nach 10 Tagen.

Section 4 Uhr: Leib aufgetrieben. Bauchwunde ohne Eiterung. Im Abdomen an der Bauchwundennarbe mehrfach knotige Auflagerungen, wie weiche Carcinome oder Sarkomknoten ohne Zusammenhang mit den Därmen.

Links im Abdomen, das reichlich trüben Ascites enthält ein wallnussgrosser braunschwarzer Tumor. Auf dem Durchschnitt unregelmässig mit Eiter gefüllte Höhlen.

Anreicherung von Peptonglykose mit einzelnen Blastomyceten.

Mikroskopisch: Der Bauchfellknoten wie ein gefässr. Epithelcarcinom.

Tumor im Abdomen: Gefässreiches Epithelcarc.

Ratte 2. † 19. 5. 01 nach 15 Tagen.

Section: Leib aufgetrieben. Ascites. Weicher wallnussgrosser

Tumor in der Bauchnarbe. Verschiedene kleine Netztumoren.

Mikroskopisch: Gefässreiches Rundzellensarkom.

Ratte 3. † 19. V. 01 nach 15 Tagen.

Section: Leib aufgetrieben. Eitrig seröse Flüssigkeit im Abdomen. Wallnussgrosser Tumor in abdomine.

Mikroskopisch: Gewebe geordnet wie bei Epithelcarcinom.

Serie I. Ratte 1. († 7. VI. 01 nach 613 Tagen.)

Section: In der Bauchhöhle alle Organe normal. Nur sehr starke venöse Hyp. wie bei Erstickung. Lungen rothbraun melirt. Beide Pleurahöhlen erfüllt von trübem Exsudat.

Von diesem Exsudat geimpft auf Peptonglykose-Gelatine: Cultur wächst als weisser Nagel. HTr.: Rc. von Blastomyceten.

Wird 8 mal weiter geimpft bis 21. V. 02.

Serie I. Ratte 3. († 14. VI. 01 nach 620 Tagen.)

Section: Im Abdomen unterhalb mehrerer Dünndarmschlingen, nur lose mit ihnen verklebt lag ein kirschgrosser, beweglicher, grau-weißer Tumor. Ausserdem in beiden Pleurahöhlen Exsudat.

Gewebe des Tumors angereichert in Peptonglykosegelatine.

Am 22. VII. HTr.: Langstäbchen, Kokken und einzelne Blastomyceten.

Weitere Impfung auf Gelatine negativ.

Mikroskopische Untersuchung des Tumors: Epithelcarcinom.

Serie I. Ratte 5. († 21. XI. 01 nach 780 Tagen.)

Section: Bauchhöhle leer. Blutiger Urin. Brusthöhle ohne Exsudat. Pleura mit Brustwand verwachsen.

2. Preu. Carc. ovar. ut. 6. XII. 98.

(Dieses Archiv. Bd. 61. H. 1.)

Frisches Carcinomgewebe erst im eingeschlossenen HTr. untersucht, später geimpft auf saure Gelatine. 4. Abimpfung Rc. von Bl. (Davon 17 Weiterimpfungen bis 21. V. 02.)

Von der 5. Cultur wurde ein Theil in 5 g steriler Bouillon aufgelöst und 4 Ratten je 0,5 g Auflösung injicirt in je 1 Hoden. 11. X. 00.

Ratte 1. † 8. II. 02. Stark abgemagert. Beide Hoden weich. Sonst normal.

Ratte 2. Verloren gegangen.

Ratte 3. † 31. X. 00 in 20 Tagen.

Section. Lunge: Interstit. Entzündung, an einzelnen Stellen trübe Schwellung des Gewebes. An einzelnen Stellen Faltung des Epithels mit Schwellung und Quellung der Zellen. Leber: Am Rande Anhäufungen von Knötchen in der Tiefe des Gewebes. Sie bestehen theils aus weissen Blutkörperchen, theils aus Zellanordnungen wie bei einem Epithelcarcinom.

Ratte 4. † 16. II. 02. Angefressen. Oberhalb des rechten Hodens ein erbsengrosses schwarzes Hautulcus.

3. Wag. 29. IX. 1899. Derber Carcinomknoten in der rechten Mamma und carc. Infiltration der Achseldrüsen (s. dieses Arch. Bd. 61. H. 1).

Vom frischen Gewebe der Achseldrüsenknoten 7. Abimpfung 31. I. 1900. Rc. Bl. 18. Weiterimpfung bis 21. V. 02.

Rc. am 26. II. 00 in d. Abd. eines Meerschweinchens.

† 14. I. 01 nach 322 Tagen.

Section: Verdichtung des interstitiellen Lungengewebes. Mikrosk.: Bl. in den Blutgefässen der Lungen. Schwellung von Epithelfalten der Bronchialschleimhaut. Viele Zellen mit Körnchen gefüllt, theils ohne, theils mit Kern. Bei vielen die Körnchen eingestreut (wie in meiner Arbeit siehe dies. Arch. Bd. 61. H. 1. Taf. V, Fig. 16). Zellen mit eingewanderten Bl., die neben dem Kerne liegen.

4. Schröff. 16. I. 1900. Carc. p. vag. ut. (Dies. Arch. Bd. 61. H. 1.)

Das Vorpostengewebe geimpft in s. Gel. 3. Abimpfung 7. III. 00. Rc. Bl. 4.—18. Abimpfung bis 21. V. 02. Rc. Bl.

Von der 4. Abimpfung 2 Ratten den grössten Theil der Cultur ins Abdomen übertragen (13. 6. 00).

Ratte 1. † 14. 6. 01, nach 359 Tagen. Multiple Abscesse im Abd. im Zusammenhang mit der Bauchwand.

Ratte 2. † 11. 8. 01, nach 424 Tagen. Kein Tumor.

5. Hempel. 23. VII. 00. Carc. ov., omenti, perit., ventric.

1. Frisches Carcinomgewebe mitten aus einem Knoten. Gefärbt mit Carbofuchsin: Verschiedene Blastom., die grössten mit feinem Hofe.

2. Frisches Gewebe im HTr. (sterile Bouillon oder Natronlauge oder Salzs. oder Salpeters.): Blastom. mit doppelten Ringen.

3. Frisches Carcinomgewebe implant. in 2 Ratten s. spätere Arbeit.

6. Eck. 12. XII. 99. Ca. corp. ut.

1. Vorpostengewebe im HTr., sterile Bouillon. Im erwärmten Mikr. 70 Tage. Mattglänzende, sich beweg. Kugeln mit kleinen Sprossen.

2. Vorpostengewebe in s. Gelat. Am 7. III. 00 in der 2. Abimpfung: Blast.

3. Nach Wundmachen der Schwanzwurzel von 5 Ratten mit Crotonöl oftmal. Bestreichen der Wunde mit frisch. Carcinomgewebe und nachträgl. Inject. v. Bl. Rc. von Wagner. Negativ.

7. Krautw. 4. XI. 99. Carc. ut.

Frisch. Vorpostengewebe (nicht angereichert) in s. Gel. Negativ.

8. Helb. 7. XI. 99. Carc. ov.

Frisch. Vorpostengewebe (nicht angereichert) in s. Gel. Negativ.

9. Stölz. 18. I. 00. Carc. ov.

Frisch. Vorpostengewebe (nicht angereichert) in s. Gel. Negativ.

10. Hoy. 1. II. 00. Carc. perit.

Vorpostengewebe (nicht angereichert), s. Gelat. Einige Blast.

Im mikr. Präp. (Hämat.-Carbofuchsin): Gruppen von Bl. z. Theil in der Zelle neben dem Kern.

11. Seelh. 10. III. 00. Carc. ov. utr., omenti, perit.

1. 1 Stunde p. op. frisches Carcinomgewebe unters. im HTr. verschiedener Medien. Salzsäure: 2—6 μ grosse, wie Fettaugen aussehende Gebilde, mit dunklem Rande und hellem Hofe darum. In einem schwirrt deutlich ein feines glashelles Körnchen hin und her. Blast.

2. Von frischem Carcinomgewebe in Traubenzuckerlösung Gährung nachgewiesen. Nach Zusatz von Kalilauge und metall. Jod: Jodoformgeruch (s. dies. Arch. Bd. 61. H. 1).

3. Frisches Carcinomgewebe in s. Gelatine. 3. Impfung. Rc. Bl. Dann noch 15 Weiterimpfungen bis 21. V. 02.

4. Frisches Carcinomgewebe implant. 2 Ratten und 2 Meerschweinchen. Negativ.

12. Förster. 8. VIII. 98. Carc. port. vag. ut.

Frisches Vorpostengewebe angereichert in steriler Bouillon. Nach einigen Tagen: Zahllose wie Oeltropfen aussehende Kugeln in allen Grössen mit Eigenbewegung und Sprossung. Bl.

Weiterimpfung hiervon (3. IX. 98) in Agar, bezw. Cystenflüssigkeit, bezw. Malzgelatine. Negativ. Besser wäre s. Gelat. gewesen.

13. Lehm. 7. VI. 00. Carc. ov. et omenti.

1. Von frisch. Netzcarcinomsaft geimpft auf s. Gelat. (Ohne Anr.). Im Ausstrichpräp. die gewachsene Cultur und im HTr. (sterile Bouillon bezw. Natronlauge). Bl. mit Kernen.

2. Von frisch. Netzcarcinomsaft in steriler Bouillon (HTr.): Bl.

14. Stein. 28. IX. 00. Carc. ov. ut.

1. Frisches Carcinomgewebe sofort p. op. angereichert in steriler Bouillon. In der Wolke nach 11 Tagen Blast. Hierauf übertragen in s. Gelat. Rc. Bl., davon 14 Mal weiter geimpft bis 21. V. 02.

2. Frisches Carcinomgewebe sofort p. op. (ohne Anreicherung) in s. Gelat.: nach 11 Tagen kleiner weisser Knopf. 2. Uebertragung davon in s. Gelat.: fast Rc. Bl. Davon 11 Mal weiter übertragen bis 21. V. 02.

15. Schönh. 22. XI. 00. Carc. ov. utriusque.

1. Frisches Carcinomgewebe sofort p. op. (ohne Anreicherung) geimpft in s. Gelat. Gelber Knopf. In der 2. Uebertragung: kleinere und grössere Gebilde, theils mit Ring, theils mit Körnchen innen. (Bl.?). 6malige Uebertragung giebt keine Rc. Bl., sondern speckigen Knopf mit gelbem Rande: Kokken.

2. Frisches Lebercarcinomgewebe p. mort. (25. XII. 00), sterile Bouillon, HTr., im erwärmten Mikr. 54 Tage beobachtet (s. dies. Archiv. Bd. 61. H. 1).

Im Gewebe massenhafte hellere und dunklere Haufen von Körnchen, messingfarben, wie Oel- bezw. Wassertröpfchen aussehend. Bei Imm. und Oc. 8 besteht ein Körnchenhaufen aus kleineren und grösseren, runden, matt bis hellgelb glänzenden Kügelchen, die theils wie Fettaugen, theils wie Blast. aussehen. Darunter Gebilde mit doppelter heller Wand, theils rund, theils zusammengefallen. — In Natronlauge derselbe Befund.

16. Frenz. 29. XI. 00. Carc. ov. et perit.

Ohne Anreicherung, frisch. Gew. geimpft in s. Gelat. Negativ.

17. Tippm. 30. XI. 00. Carc. ov.

Ohne Anreicherung, frisch. Gew. geimpft in s. Gelat. Negativ.

18. Kühne. 1. III. 01. Carc. ut.

1. Frisches Gew. (ohne Anreicherung) geimpft in s. Gelat. Negativ.
2. Frisches Gew. angereichert in steriler Bouillon. Im HTr. Blast. in Abschnürung begriffen.

19. Winkl. 8. III. 91. Carc. ov. d.

1. Frisches Gew. (ohne Anreicherung) geimpft in s. Gelat. Negativ.
2. Frisches Gew. in steriler Bouillon. HTr.: metallisch glänzende, runde, 2—3 μ grosse Organismen in Eigenbewegung. Sprossung nicht beobachtet. Massenhafte Haufen von Körnchen. Kapsel darum stellenweise nicht gut sichtbar. Körner theilweis ausgetreten.
3. Frisches Gew. Natronlauge. HTr. Derselbe Befund. Bl.

20. Schäf. 15. I. 01. Carc. perit. et ventr.

Frisches Gew. (ohne Anreicherung) geimpft in s. Gelat. Staphyl. untermischt von Haufen von Bl.-Gruppen.

21. Schra. 8. II. 01. Carc. ut.

Frisches Gew. (ohne Anreicherung) geimpft in s. Gelat. Negativ.

22. Phil. 20. IV. 01. Carc. mamm.

1. Frisches Vorpostengewebe (ohne Anreicherung) geimpft in s. Gelat. Negativ.
2. Frisches Vorpostengewebe angereichert in Peptonglykose. Nach 10 Tagen Rc. Bl. Davon 12 malige Weiterimpfung auf Pg. Gelat. Bis 21. V. 02.

23. Heb. 7. V. 01. Carc. perit. univ.

Frisches Gew. angereichert in Peptonglykose. Nach 10 Tagen im HTr. viele Kokken und viele Hefezellen.

24. Köb. 10. V. 01. Carc. colli ut.

Frisches Vorpostengewebe angereichert in Peptonglykose. Nach 7 Tagen im HTr. keine Bakt., sehr viele Bl.

25. Weitz. 14. VI. 01. Carc. ov., om., perit.

Während der Operation wurden von den lebensfrischen Carcinomknoten an Ov. und Netz und von der ganz frischen Ascitesflüssigkeit unter den grössten Cautelen Impfungen vorgenommen.

1. Abstrich vom Netzcarcinomsaft im HTr. von Peptonglykose. Zwischen den Gewebszellen eine Menge runder, kleiner und grosser, mattglänzender Gebilde, ohne Kern und ohne Sprossung. Blast.
2. Ascitesflüssigkeit in Peptonglykose. Nach 7 Tagen fast Rc. von hellen, blassen Gebilden mit Kernen.

26. Kolb. 9. VIII. 01. Carc. mamm. et gland. ax.

1. Von frischem Vorpostengewebe des Carc. mamm. Gewebsbrei in Peptonglykose-Gelat. (ohne Anreicherung). Grauer Knopf. Uebertragung in neues Röhrchen Pg.G. Rc. Bl. Von da 10 Mal weiter geimpft auf s. Gelat. bis 21. V. 02. Ebenso auf Fucus crispus Rc. weiter geimpft und 3 Mal übertragen.

2. Gewebsbrei von carcin. Achseldrüsen sofort p. op. auf Pg. G. Negativ.

3. Anreicherung in Pg.

a) von frischem Ma. carc. Negativ.

b) von frischem Achseldrüsen carc. 17. IX. Nickelglänzende, längsovale Gebilde, zum Theil mit einem Hofe versehen. Bl.

27. Mut. 17. VI. 01. *Car. colli ut.*

Frisches abgeschabtes Vorpostencarcinomgewebe im HTr. von Pg. Ausser vielen Gewebszellen, die zum Theil in Verfettung sind, sieht man viele Glaskugeln verschiedenster Grösse (bedeutend grösser als Kokken oder Blutk.) mit innerem Kerne und hellem Saume, zum Theil in Eigenbewegung; einzelne mit Sprossen. Bl.

28. Wo. 28. VII. 09. *Ca. port. vag. ut.*

1. Vorpostengew. frisch in s. Gel.: bis 20. VIII. neg.
2. Vorpostengew. auf sterile Kartoffel-Röhrchen zugeschmolzen.
3. Vorpostengewebe in sterile Bouillon. Bis 20. VIII. keine Trübung.
4. Anreicherung in Zuckerlösung: Trübung 3. VIII. Nach 3mal. Uebertragung in s. Gel.: Rc. Bl. Bis 5. V. 10. Weiterimpfung.

29. Knecht. 10. VI. 09. *Ca. mammae.*

1. Vorpostengew. abgeschabt. HTr. Immers.: Eine Menge schwirrender runder glänzender Gebilde.
2. Vorpostengew. abgeschabt, frisch. Gefärbt mit Thionin. Immers.: Runde und längliche Gebilde wie in den Rc. Bl. von Schlegel. Nicht angereichert.

30. Wilh. 12. II. 09. *Ca. port. vag. ut.*

Von abgeschabtem Vorpostenca.-Gewebe (ohne Anreicherung) geimpft auf salzs. Gel.: Negativ.

31. Schleg. 15. V. 09. *Ca. ovar. et perit.*

1. Frisch. Vorpostengew. (ohne vorherige Anreicherung) auf s. Gel. (1½ St. post op.): Weisses Kopf.
 2. Uebertr. in s. Gel.: Rc. Bl.
 3. und 4. Uebertr. in s. Gel. Rc. Bl., z. Th. mit opacem Rand. Diese enthalten Kettenkokken, welche die Bl. durchwachsen.
- Vom 30. 6. 09 ab weisse speckige Rc. Bl. bis zum 7. X. 12. Uebertragung der Rc. auf s. Gel. Taf. IV, Photogr. 1 u. 2.

32. Preus. 14. I. 09. *Ca. port. vag. ut.*

Frisches Vorpostengew. (ohne vorherige Anreicherung) in s. Gel. 4. II. und 9. III. nur Staphylokokken. Negativ.

33. Ein. 16. III. 09. *Ca. colli ut.*

1. Frisches Vorpostengew. (ohne vorherige Anreicherung) in Peptonglykose-Gel. Negativ.
2. Frisches Vorpostengew. (ohne vorherige Anreicherung) aus der Drüse in Peptonglykose-Gel. Sarcine.

34. Wies. 9. VII. 09. *Ca. colli ut.*

1. Frisches Vorpostengew. HTr. von steriler Kochsalzl.: Bl.; von Natronlauge: Bl.
2. Frisches Vorpostengew. (ohne vorherige Anreicherung) in s. Gel.: Weisses Kopf mit gelbem Rand: Fast Rc. Bl. mit einzelnen Kokken.
3. Auf steriler Kartoffel (im zugeschmolzenen Röhrchen) Rc. Bl. Bis 2./7. 10. 13. positive Weiterimpfung auf s. Gel.

35. Wint. 30. V. 09. *Ca. perit.*

1. Frisches Vorpostengewebe auf s. Gel. (ohne vorherige Anreicherung). Negativ.

2. Frisches Vorpostengewebe im HTr. ster. Bouillon. Verschiedene Glaskugeln und runde mattglänzende Kugeln mit lebhafter Eigenbewegung.

36. Rausch. 8. VII. 09. Ca. mam. sin. et gl. ax.

1. Frisches Vorpostengewebe des Ca. mam. (ohne Anreicherung) in s. Gel.: 16. VII. Weisse Pünktchen gewachsen. Im HTr. Natronlauge schwärmende Kugeln. Bl.?

1. 20. VII. Ueberimpfung auf s. Gel. 27. VIII. Präparat mit Carbofuchsin. Rc. Bl. Werden bis 15. IX. überwuchert von Staphylokokken.

2. 20. VII. Ueberimpfung auf sterile Kartoffel-(Röhrchen zugeschnitten): Bis 15. IX. im Eisschrank wenig gewachsen. Präparat HTr. Natronlauge: Nur Staphylokokken.

37. Lieb. 26. V. 09. Sarc. ut.

1. Frisches Vorpostengewebe angereichert in Zuckerlösung: HTr. Rc. Bl.; und Ausstrichpräparat gefärbt mit Thionin: Rc. Bl.

3mal weiter geimpft auf s. Gel.

Am 23. VIII. 09 weisse speckige Culturen, bis 6. VII. 10. zum 12. Male weiter geimpft auf s. Gel. Taf. IV, Photogr. 3.

38. Stol. 15. IV. 09. Ca. ovarii.

Frisches Carcinomgewebe sofort p. oper. angereichert in Zuckerlösung und später davon übertragen in s. Gel.

Am 6. V. 09 von dieser Cultur Untersuchung im HTr.: Rc. Bl.

5mal weiter übertragen, theils auf s. Gel., theils auf sterile Kart. bis 27. VIII. 09. Weisse speckige Cultur.

Bis 2. VII. 10 12. Weiterimpfung auf s. Gel. Taf. V, Photogr. 13.

39. Schmi. 13. I. 09. Ca. port. et colli ut.

Vom Vorpostengewebe (ohne vorherige Anreicherung) geimpft auf s. Gel.: Nichts gewachsen.

40. Peik. 26. III. 09. Carc. port. vag. ut.

Vorpostengewebe (ohne vorherige Anreicherung) geimpft auf s. Gel.: Nichts gewachsen.

41. Klu. 1. II. 09. Ca. mam. et gland. ax.

Ganz frisches Vorpostengewebe (ohne vorherige Anreicherung) wenige Stunden p. oper. übertragen in 3 Röhrchen s. Gel.

Nach 3 bzw. 5 Tagen Cultur gewachsen: Im HTr. und nach Färbung mit Carbofuchsin viele Bl. Ebenso nach Anreicherung in Bouillon bis 15. II. 09 einzelne Bl.

Weiterimpfung von beiden: Negativ.

42. Schirm. 19. VIII. 09. Carc. colli uteri.

Frisches Vorpostengewebe 2 Stunden p. oper. angereichert im Gährungskölbchen mit Zuckerlösung und Nährstoff Heyden.

Am 21. VIII. HTr. Zahlreiche Bl. in Sprossung.

Davon am 23. VIII. geimpft auf 1 Röhrchen s. Gel., und davon am 27. VIII. auf 3 Röhrchen s. Gel.

Am 15. 9. 09. Schleimige gelbliche Oberfläche. Präparat im HTr. mit Natronlauge: Bl. mit Fäden.

Am 25. IX. Präparat im HTr.: Runde Bl. mit Auge und Hyphen.

Am 15. IX. Präparat im HTr.: Rc. von länglichen Stäbchen mit Augen.

43. Hofm. 18. VIII. 09. Ca. ovar.

Frisches Gewebe 2 Stunden p. oper. angereichert im Gährungskölbchen mit steriler Zuckerlösung.

Am 19. VIII. verschiedene Bl. in Sprossung. HTr. mit Natronlauge: Deutliche Bl. mit Augen.

Am 23. VIII. geimpft auf 1 Röhrchen s. Gel. Stammcultur.

Am 25. IX. 3. Weiterimpfung, noch etwas unrein durch Kokken.

Am 7. X. 5. Weiterimpfung. 15. X.: Präparat HTr. Natronlauge: Rc. Bl., in Eigenbewegung, länglich oval mit Augen.

Am 2. XII. 9. Weiterimpfung: Grauer Belag, der unten eine Art Schimmelrasen zeigt. Präparat HTr. in Kochsalzlösung: Rc. von länglichen Gebilden mit zum Theil grossen Augen, auch Dolden und langen Stäbchen.

Am 1. VII. 10 12. Weiterimpfung.

44. Emm. 25. IX. 09. Ca. vag.

Frisches Vorpostengewebe 1 Stunde p. oper. geimpft auf s. Gel.: Negativ.

Frisches Vorpostengewebe, angereichert im Gährungskölbchen in steriler 10proc. Zuckerlösung.

Nach 4 Tagen Präparat HTr. einzelne Bl. mit Sprossen, mit vielen Bakterien.

Davon 29. IX. 09 weiter geimpft auf s. Gel.

Am 11. X. 09 mattgraue Cultur: Präparat HTr. in Natronlauge: Fast Rc. Bl. Nach und nach Rc. Bl.

10. Uebertragung am 1. VII. 10. S. Taf. IV, Photogr. 4.

45. D. H. 2. 6. 09. Ca. mammae.

Frisches Vorpostengewebe in sterile angesäuerte Gelat. gebracht (ohne vorherige Anreicherung): Bis 22. VI. nichts gewachsen. Negativ.

46. Beck. 20. IX. 09. Recid. Ca. mam. (1. Operation 1. V. 08.)

Frisches Vorpostengewebe, angesehen im:

1. HTr. von Natronlauge: Massenhafte Kügelchen mit Knospe.

2. HTr. in Kochsalzlösung: Ebenso.

3. Abgestrichener frischer Carcinombrei von den am weitesten nach innen liegenden Theil des Carcinoms geimpft auf s. Gel. Am 16. X. weisse knopfartige Cultur.

4. Anreicherung von frischem Gewebe in steriler Candiszuckerlösung und Heyden'scher Nährlösung im Gährungskölbchen.

Nach 8 Tagen Präparat HTr.: Zahlreiche Bl. mit Knöpfchen, in Eigenbewegung.

Davon weitergeimpft am 4. X. 09 auf s. Gel.: Am 11. X. speckig graue Cultur, HTr.: Rc. Bl.

Bis 28. X. 10 14. Weiterimpfung.

2. Recidivoperation. 1. XI. 09.

Pflaumengrosse carcinomat. Lymphdrüse unter dem Pector. major. Mehrere Stückchen angereichert in steriler Zuckerlösung.

Präp. HTr. am 13. XI. und 20. XI. 09: Bewegliche runde Kugeln mit Augen.

Davon am 13. XI. geimpft auf s. Gelat.: Bis 20. XI. nichts gewachsen, Gelat. unverändert.

47. Schro. 22. IX. 09. Carc. port. vag. Exst. ut. tot. per vag.
Vom Carcinomrest am Orif. int. Vorpostengewebe angereichert im
Gähr.-Kölbchen.

Am 28. IX. HTr. Einige Bl. Weiter geimpft am 28. IX. auf
saure Gelat.

4. X. 09. Fast Rc. Bl.

11. X. 09. Speckig weisse Cultur. Bewegliche Kugeln mit
seiflich stehenden Augen. Rc. Bl.

10. Uebertragung am 2. VII. 10.

48. Bau. 29. IX. 09. Carc. mamm. d. et gland. ax.

1. Frisches Vorpostengewebe angereichert in steriler Zuckerlös.
Am 28. IX. Präp. HTr.: Häufchen zu 3—4 runden Kugeln, jedes
mit 1 Auge. Eigenbewegung.

2. Frisches Vorpostengewebe geimpft auf s. Gelat.: negativ.

3. Vom angereicherten Gewebe: 4. X. 09. Präp. HTr. ohne
Zusatz: Rc. Bl.

Daher weiter geimpft: Am 18. X. pelzig graue Cultur.

Präp. HTr. Natronl.: Bl. und Fäden, ebenso im Ausstrichpräp. mit
Thionin gefärbt. Am 26. X. ebenso.

Am 17. XII. völlige Rc. Bl.

Bis 2. VII. 10 14. Uebertragung s. Taf. IV, Photogr. 5.

49. Hilb. 1. X. 09. Carc. colli ut. (Freund-Wertheim).

Nach verschiedenen Kreuzschnitten mit sterilem Messer vom innersten
Vorpostengewebe Material entnommen.

Anreicherung in Zuckerlösung: 5. X. 09. HTr. Immers.: Haufen
von Bl. (Frisches Gewebe in Gelatine: nichts gewachsen.)

Vom angereicherten Gewebe weitergeimpft 5. X. 09 auf s. Gelatine.

11. X. 09. Weisse speckige Cultur.

HTr. Kochsalzlösung: Rc. Bl.

9. Uebertragung s. Taf. IV, Photogr. 6.

Bis 1. VII. 10. 10. Uebertragung s. Taf. V, Photogr. 7.

50. Näht. 4. X. 09. Carc. ov. sin.

1. Vom frischen Carcinomgewebe Präp. HTr. Kochs. und Natronl.
Immers.: Runde bewegliche Kugeln mit Knöpfchen.

2. Frisches Gewebe angereichert in steriler Zuckerlösung.

11. X. 09. Präp. HTr.: Verschiedene kleinere und grössere runde
Körperchen in Bewegung zum Theil mit anhängenden Knöpfchen.

20. XI. 09. HTr. Natronl.: Ebenso.

Weiter geimpft auf saure Gelatine.

23. XI. 09. HTr. Natronl.: Fast **Rc. Bl.** Fast jede Zelle mit
Knöpfchen.

26. XI. 09. Bl. in zitternder Eigenbewegung mit grossen Augen
und Knöpfchen

Bis 2. VII. 10 9. Uebertragung.

51. Netusch. 7. X. 09. Carc. port. et colli ut. (Freund-Wertheim).

1. Frisches Vorpostengewebe unters. im HTr. von Osmiums: Immers.
Eine Menge kleiner rundlicher Gebilde, zusammengeballt, in schwirren-
der wie aufkochender Bewegung. Bl. (S. dieses Archiv. Bd. 61. H. 1.
Taf. III. Fig. 48 u. 49.)

2. Frisches Vorpostengewebe angereichert in 10 proc. steriler Zuckerlösung im Gährungskölbchen.

Am 11. X. einzelne runde Gebilde, wie Bl.

Davon weiter geimpft auf s. Gelat.

Am 18. X. weisse speckige Cultur. Fast **Rc. Bl.** s. Taf. V, Photogr. 8.

Am 14. XI. 09 4. Abimpfung auf Agar.

Am 17. XII. Längliche Bl. in Eigenbewegung mit vielen Innenkörnchen.

Am 12. I. 10. Präp. HTr. **Rc. Bl.** viele mit Knöpfchen.

Daher weiter geimpft auf sterile Kart. u. Gelat.

Am 28. I. 10. Cultur auf Agar. HTr. Natronl.: **Rc. Bl.**

Am 2. X. 10 10. Abimpfung.

52. Diak.-Haus. 13. X. 09. Carc. mamm. et gland. ax.

Frisches Vorpostengewebe angereichert in steriler Zuckerlösung.

Am 18. X. Mehrere Gruppen von runden Kugeln zum Theil mit Knöpfchen in Eigenbewegung. Immers.

Davon weiter geimpft auf saure Gelatine.

Am 21. X. Weisse speckige Cultur. Präp. HTr. Natronl.: Fast **Rc.** von runden und länglichen Gebilden, in lebhafter Eigenbewegung. Immers. Davon weiter geimpft.

Am 28. X. 09. Weisse speckige Cultur. Davon weiter geimpft

2. XI. 09 auf saure Gelatine. Am 11. XI. Präp. HTr. Natronl.: **Rc. Bl.**

Bis 7. VIII. 10 10. Ueberimpfung.

53. Diak.-Haus. 16. X. 09. Carc. gland. ax. bei Carc. mamm.

Frisches Carcinomgewebe aus den Drüsen angereichert in steriler Zuckerlösung in 4 Gährungskölbchen.

Am 26. X. HTr. vom Schlamm am Boden eines Kölbchens: Massenhafte längliche Kugeln mit Knöspchen. Daher weiter geimpft auf saure Gelatine.

Am 3. XI. Weisse speckige Cultur. Präp. HTr. Natronl.: **Rc.** von runden und ovalen Gebilden, in zitternder Eigenbewegung, zum Theil mit Pünktchen oder Körnchen innen. Keine Bakterien. Weiter geimpft.

11. XI. **Rc. Bl.** Am 17. XII. Präp. HTr. Natronl. **Rc. Bl.** Runde stark bewegliche Gebilde ohne Bakterien.

7. VIII. 10 11. Weiterimpfung.

54. Diak.-H. 31. XI. 09. Hautknoten. Recid. carc. mamm.

Frisches Vorpostengewebe untersucht:

1. Im HTr. Natronl. } Immers.: Feinste bewegliche Kugeln, wie Bl.

2. „ „ Kochsalzl. }

3. Angereichert in steriler Zuckerlösung.

Am 20. XI. Präp. HTr. Natronl.: Einzelne bewegliche Kugeln. Weiter geimpft.

Am 23. XI. Grauspeckige Cultur. Weiter geimpft.

Am 17. XII. Weissspeckige Cultur. Präp. HTr. Natronl. **Rc. Bl.** Runde Kugeln (mit Körnchen) in lebhafter zitternder Bewegung.

Am 7. VIII. 10 9. Ueberimpfung.

55. Feist. 9. XI. 09. Carc. mamm.

Frisches Carcinomgewebe angereichert in steriler Zuckerlösung.

Am 13. XI. Vom Schlamm im Gährungskölb. auf Gelat. geimpft.

Am 20. XI. Grauweiße speckige Cultur. Präp. HTr. Natronl. Fast Rc. von länglichen und rundlichen Gebilden mit Körnchen. Weiter geimpft.

Am 23. XI. Rc. Bl. (Bei allen 5 Gelatineröhrchen oben eine graue etwas flüssige Cultur von der in der Tiefe Schimmel wächst.)

Am 14. XI. geimpft auf Agar. Am 17. XI. Längliche Bl.

Am 14. I. 10. Präp. HTr. Natronl. Rc. Bl. Keine Bakterien. Längliche Zellen mit 1—4 Körnchen.

Von der 7. Abimpfung 28. I. 10: Längliche Bl. mit Pilzfäden.

Weiter geimpft bis 7. VIII. 10.

56. Richt. 16. XI. 09. Carc. colli ut.

Frisches Gewebe angereichert in Zuckerlösung. Bl. in Sprossung.

Geimpft auf saure Gelatine. Am 23. XI. Graue glänzende Cultur. Rc. Bl. in Eigenbewegung.

Weiter geimpft am 3. XII.: Graue speckige Cultur.

Am 17. XII.: Bl. in schwirrender lebhafter Eigenbewegung. Rc.

Am 7. VIII. 10 9. Weiterimpfung.

8. Abimpfung (Taf. V, Photogr. 9 u. 10).

57. Gra. (30. XI. 09.) Carc. port. vag. ut.

Frisches Vorpostengewebe, angereichert in steriler Zuckerlösung.

Am 8. XII. 09 HTr. von Zuckerlösung. Immersion: Bewegliche runde und längliche Gebilde.

Weitergeimpft auf s. Gel. 13. XII. Präparat HTr. in Kochsalzlösung: Bl. in lebhaften zuckenden Eigenbewegungen. Keine Bakterien.

Am 14. I. 10 Rc. Bl.

Am 7. VIII. 10 6. Weiterimpfung.

58. Diak.-Haus (30. XII. 09.) Carc. mam.

Tumor mit sterilen Messern kreuzweise aufgeschnitten. Frisches Vorpostengewebe abgeschabt und untersucht in HTr. mit Kochsalzlösung, mit Natronlauge, mit Kochsalzlösung und wässriger Fuchsinlösung und mit Kochsalzlösung und Zusatz von Malachitgrün. In allen 4 Präparaten eine Menge beweglicher Kugeln in schwirrender Bewegung (Immersion). Die in Fuchsinlösung waren geschrumpft, haben aber die Farbe angenommen, die in Malachitgrün nicht.

Am 8. XII. weitergeimpft auf 1 Röhrchen alkalischer Gel. Am 13. XII.: Mattgraue Cultur, fast Rc. Bl.

Am 8. XII. weitergeimpft auf 1 Röhrchen s. Gel. Am 13. XII.: Rc. Bl.

Am 2. III. 10 (in 2. Abimpfungscultur) weissspeckige Cultur. Bl. in Eigenbewegung, ohne Augen aber mit Knöpfchen.

Am 7. VIII. 10 7. Weiterimpfung.

59. Bütt. (9. XII. 09.) Carc. colli ut.

Vom Vorpostengewebe Brei mit sterilisiertem Messer abgeschabt und angereichert.

Am 13. XII. Präparat HTr. in Kochsalzlösung: Einzelne runde bewegliche Kugeln. Cultur,

Davon geimpft auf s. Gel. am 20. XII.: Gelbes Knöpfchen. Präparat HTr. Kochsalzl.: Rc. Bl.

Am 7. I. 10: Weiße glänzende Cultur. Davon weitergeimpft.

Am 12. I.: Weiße glänzende Cultur. Davon weitergeimpft.

Am 7. VIII. 7. Weiterimpfung.

60. Rattentumor. (14. XII. 09.) No. 16.

Stückchen davon wurden angereichert in sterilisierter Zuckerlösung.

Am 29. XII. Präparat HTr.: Mycelfäden mit Köpfchen und freibeweglichen Sporen.

Am 30. XII. aus der Tiefe der angereicherten Masse geimpft auf s. Gel.: Am 2. I. blassröthliche knopfartige Cultur angangen.

Am 3. I. bereits verschimmelt.

Von diesem Schimmel Präparat HTr. mit ster. Bouillon: Rc. Bl.

Am 8. I. 10 wird vom Inhalt des Gährungskölbchens (nach Abschiebung des oberflächlichen Schimmels) Präparat HTr. vom gelbröthlichen Wandbelag gemacht: Fast nur Bl. in Haufen.

Weiterimpfung am 18. I. und 21. I. 10: Rc. Bl.

9. Weiterimpfung bis 7. VIII. 10. S. Taf. V, Photogr. 11.

61. Smir. (2. II. 10.) Carc. ovar.

Frisches Vorpostengewebe angereichert.

Am 10. II. Präparat HTr.: Verbände von runden Bl. mit Pünktchen und länglichen Stäbchen, sämmtlich in Eigenbewegung.

Weiter geimpft auf s. Gel. Am 14. II.: Weisse speckige Cultur. Rc. Bl.

7. Uebertragung 7. VIII. 10. S. Taf. V, Photogr. 12.

62. Sachs. (11. II. 10.) Carc. ut.

Frisches Vorpostengewebe angereichert.

Am 28. II. HTr. in Zuckerlösung, Immersion. Viele Bakterien und viele Bl.

Davon geimpft auf s. Gel.: 7. III. weisse speckige Cultur. HTr. von Natronlauge: Rc. Bl. Runde Bl. in Eigenbewegung, fast alle mit Augen.

6. Weiterimpfung 7. VIII. 10.

63. Rön. (31. V. 10.) Carc. colli ut.

Collumknoten durchschnitten nach verschiedenen Richtungen. Dann vom Vorpostengewebe Brei abgestrichen, angereichert.

Am 13. 6. HTr.: Bl. in Häufchen und mit Sprossen.

Frisches Vorpostengewebe (31. V.) geimpft auf s. Gel. Bis 13. VI. nichts gewachsen.

Daher vom angereicherten Gewebe am 13. VI. geimpft auf s. Gel.

Am 20. VI.: Weisse speckige Cultur.

Präparat HTr. von Natronlauge, Immersion: Fast Rc. von eiförmigen, zitternden, spontan sich bewegendem, mit Körnchen und zum Theil mit Augen versehenen Bl.

4. Weiterimpfung am 7. VIII. 10.

64. Gutm. (7. VI. 10.) Carc. ovar.

Von 3 verschiedenen Stellen Material entnommen und angereichert.

A = stark verfettet. B = weniger verfettetes und erweichtes Carcinomgewebe. C = ganz frischer Carcinomknoten.

Von A und B nichts gewonnen.

Von C am 9. VI. 10 Präparat HTr. von Natronlauge: Bewegliche Kugeln und Bakterien.

Am 13. VI. 10 Präparat HTr. von Natronlauge: Bl. mit Sprossen.

Davon weitergeimpft auf s. Gel.

Am 20. VI.: Weisse speckige Cultur. Präparat HTr., Immersion.
Fast Rc. Bl.

3. Weiterimpfung am 7. VIII. 10.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel IV—V.

Auf Tafel IV Photogr. 1—6. Auf Tafel V Photogr. 7—13.

Alle Mikrophotogramme mit Immersion angefertigt.

Photogr. 1 u. 2. von Schleg. (No. 31). Rc. von Bl. aus Carc. ovarii.

Fig. 1 bei a: Bl. mit Knospe.

Fig. 2 bei a: " " "

Photogr. 3. von Lieb. (No. 37). Sarcoma uteri. Rc. von Bl.

a = Bl. mit Sprossen.

Photogr. 4. Emm. (No. 44). Rc. von Bl. aus Carc. vag.

a = Bl. mit Sprossen.

Photogr. 5. Bau. (No. 48). Rc. von Bl. aus Carc. mamm.

a = Bl. mit Innenkörnchen.

b = Bl. mit Sprossen.

Photogr. 6 u. 7. Hilb. (No. 49). Rc. von Bl. aus Carc. colli uteri.

No. 6. { a = Bl. mit abgelöster Sprosse.

b = Bl. mit Innenkörnchen.

No. 7. { a = Bl. mit abgelöster Sprosse.

b = Bl. mit Innenkörnchen.

Photogr. 8. Netusch. (No. 51). Rc. von Bl. aus Carc. colli ut.

a = Bl. in Sprossbildung.

Photogr. 9 u. 10. Richt. (No. 56). Rc. von Bl. aus Carc. colli ut.

No. 9. Bl. fast alle mit Innenkörnchen.

No. 10. a = Bl. mit Sprossbildung.

Photogr. 11. Rattentumor (No. 60). Rc. von Bl. aus demselben bis zur neunten Weiterimpfung.

a = Bl. mit Sprossen und Innenkörnchen.

Photogr. 12. Smir. (No. 61). Rc. von Bl. aus Carc. ovarii.

a = Bl. mit Sprossen und Innenkörnchen.

Photogr. 13. Stol. (No. 38). Rc. von Bl. von Carc. ovarii.

Bl. mit Sprossen und Augen.