

XIV.

Experimentelle Untersuchungen über Saccharomycosis.

Von Privatdocent Dr. Otto Busse,

I. Assistenten am Pathologischen Institut der Universität Greifswald.

„Ueber Saccharomycosis hominis¹⁾“ ist eine Arbeit betitelt, in welcher ich ausführlich über eine bisher nicht bekannte tödtlich verlaufende Infectionskrankheit und deren Erreger, einen Vertreter der Gattung *Saccharomyces* berichtet habe. Die pathogenen Hefen fanden sich in gleichgrosser Menge in den verschiedenen Erkrankungsheerden als Einschlüsse der Zellen, vielfach der Riesenzellen, oder aber sie lagen häufig in Colonien zusammen zwischen den Gewebselementen. Ich gab am Schlusse der Arbeit der Hoffnung Ausdruck, dass, nachdem einmal die Aufmerksamkeit auf diese Gebilde gelenkt worden sei, alsbald weitere ähnliche Fälle bekannt werden würden. Nur zum Theil hat sich meine Erwartung bisher erfüllt, beim Menschen ist bis jetzt noch kein zweiter Fall dieser Art veröffentlicht worden. Dagegen gelang es Claudio Fermi und E. Aruch²⁾ aus dem hygieinischen Institut in Rom pathogene Hefen bei einer wohl bekannten aber in ihrer Aetiologie dunklen Erkrankung der Pferde aufzufinden. Bei den Pferden kommt zuweilen, eine zuerst von Rivolta³⁾ 1873 beschriebene Erkrankung vor, die zu einer erheblichen entzündlichen Verdickung der Lymphgefässe und Lymphdrüsen mit schliesslicher eitriger Schmelzung führt. In dem Eiter sowohl, wie auch in dem entzündeten Gewebe trifft man sehr zahlreiche, hellglänzende, doppelt contourirte Körper etwa von der Grösse von Endothelkernen, welche entweder innerhalb oder ausserhalb der Zellen gelegen sind. Schon Rivolta hatte die Vermuthung, dass diese Zelleinschlüsse die

¹⁾ Dieses Archiv. Bd. 140. 1895. Vergl. auch Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. Bd. 16. 1894.

²⁾ Centralbl. für Bakteriologie und Parasitenkunde. Bd. 17. 1895.

³⁾ Parasiti vegetali. 1873 p. 246 e 525. Giornale di Anat. e Fisiol. degli Animali. 1880.

Erreger der Krankheit seien, zumal da es ihm und Anderen gelang durch Ueberimpfen von krankem Gewebe auf gesunde Thiere bei diesen das typische Krankheitsbild mit den charakteristischen Zelleinschlüssen hervorzurufen. Man hatte es offenbar mit vermehrungsfähigen Organismen zu thun, es gelang aber nicht, sie ausserhalb des Thierkörpers zu cultiviren, man hatte die fraglichen Gebilde von vornherein für Protozoen gehalten und daher die Krankheit auch Lymphangitis epizootica benannt. Claudio Fermi verwandte nun, nachdem die Züchtungsversuche auf anderen Medien fehlgeschlagen waren, meinem Vorschlage entsprechend saure Nährböden und isolirte aus dem erkrankten Gewebe eine weisse Hefeart, welche auf Thiere übertragen die Lymphangitis epizootica mit allen charakteristischen Symptomen herbeiführte. Uebereinstimmend mit meiner Angabe berichtet Fermi, dass die eigentlichen doppelt contourirten Hefezellen sich im Gewebe mit einer breiten homogenen Kapsel umgeben, welche in den Culturen niemals angetroffen wird¹⁾.

Auf einem anderen Wege gelangte Sanfelice²⁾ in Cagliari zu einem positiven Resultate. Er isolirte sich nach Kenntniss meiner Untersuchungsergebnisse aus den verschiedensten Fruchtsäften die Hefen und nahm auf's Geradewohl mit den so gewonnenen Organismen Impfungen bei Thieren vor. Er berichtet, dass es ihm gelungen sei mit einer gelblichen Hefe bei Meer-schweinchen geschwulstartige Wucherungen an der Injectionsstelle und geschwulstartige Vergrösserungen der regionären Lymphdrüsen hervorzurufen. In den Neubildungen fand er dann, allerdings in spärlicher Zahl, die Hefen innerhalb der Zellen liegend vor und konnte sie auch durch die Cultur daraus wieder gewinnen. Bei Einspritzungen in die Brustdrüse einer Hündin erhielt er einen adenomähnlichen Knoten mit Metastasen in der Niere.

Eine dritte Reihe von Versuchen veröffentlicht Dr. Lydia Rabinowitsch³⁾ aus dem Institut für Infektionskrankheiten in

¹⁾ Während des Druckes ist im 4. Hft., XIX. Bd. d. Centralbl. f. Bakt. u. Paras. von Tokishige eine ähnliche Erkrankung der Pferde in Japan beschrieben, als deren Erreger ebenfalls pathogene Blastomyceten erkannt worden sind.

²⁾ Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde. Bd. 17. S. 113 und 625. 1895.

³⁾ Untersuchungen über pathogene Hefearten. Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. 21. S. 11. 1895.

Berlin. Sie ist in ähnlicher Weise, wie Sanfelice, vorgegangen, indem sie sich möglichst viele Hefearten verschaffte und Thieren injicirte. Nach ihrer Mittheilung sind von den geprüften 50 Hefen 7 Arten pathogen, und zwar 4 für Mäuse, 3 für Mäuse und Kaninchen. Die Thiere starben vom 1.—19. Tag nach der Injection. Die Hefen wurden im Blute gefunden, Entzündungen oder Gewebsveränderungen aber nur selten beobachtet, ebenso wenig Unterschiede der Formen der Hefen im Thierkörper und auf dem Nährboden. Hierdurch unterscheidet sich der Befund von Rabinowitsch sowohl von meinem wie auch dem von Fermi und Sanfelice. Denn auch Sanfelice beschreibt, dass sich die Hefen, in den Thierkörper gebracht, mit einer homogenen Kapsel umgeben.

Leider versucht Rabinowitsch ihren interessanten Untersuchungsergebnissen eine ganz besondere Wichtigkeit dadurch beizulegen, dass sie die früheren Beobachtungen als unerwiesen verdächtigt und durch allerlei Ausstellungen in ihrem Werthe herabzusetzen versucht. „Die Thierversuche, auf welchen Busse und Sanfelice ihre Schlussfolgerungen aufbauen, sind, wie uns bedünkt, nicht völlig einwandfrei.“ Demgegenüber muss ich betonen, dass an keiner Stelle meiner oben erwähnten Arbeiten die Pathogenität der Hefen aus den Thierversuchen gefolgert wird, sondern dass vielmehr das Verhalten der betreffenden Organismen im Gewebe selbst hierfür bestimmend gewesen ist. Drei Bedingungen müssen erfüllt sein, damit ein Parasit, der in erkranktem Gewebe angetroffen wird, für den Erreger der Krankheit ausgegeben werden darf. Es muss zu dem Zwecke dargethan werden:

- 1) dass der Parasit constant in den fraglichen Erkrankungsheerden angetroffen wird;
- 2) dass ausser ihm kein anderer pathogener Organismus in dem Gewebe vorhanden ist;
- 3) dass er in so grosser Zahl darinnen lebt, dass die Gewebsveränderungen als durch ihn herbeigeführt angesehen werden können.

Alle drei Bedingungen sind in dem vorliegenden Krankheitsfalle erfüllt.

1. In allen Erkrankungsheerden, die zeitlich und räumlich

weit von einander getrennt waren, also in den Abscessen an Tibia, Ulna, Rippe, den Ulcerationen in Haut und Cornea, den Heerden in Lunge, Pleura, Niere und Milz fanden sich die Parasiten constant vor, so dass hiermit der ersten Bedingung entsprochen ist.

2. In der Arbeit ist ausdrücklich hervorgehoben worden, dass überall da, wo das Untersuchungsmaterial ohne Verunreinigung von aussen zur Verwendung gelangte, die betreffende Hefeart einzig und allein ohne irgend welche fremde Beimengungen auf den zahlreichen, sehr verschiedenartigen Nährböden wuchs und sich somit zur Evidenz herausstellte, dass sie der einzige pathogene Organismus in den Erkrankungsheerden ist.

3. Bezüglich des letzten Punktes verweise ich kurzer Hand auf die Angaben und Abbildungen meiner früheren Aufsätze. Die Zelleinschlüsse finden sich in so grosser Zahl, dass jeder mann ohne Weiteres zugeben wird, dass sie zur Erklärung der Gewebsveränderungen vollkommen ausreichend sind.

Aus diesem Verhalten geht die Aetiologie der Hefen für die Erkrankung und somit auch ihre Pathogenität so klar hervor, dass dieselbe auch dann nicht angezweifelt werden könnte, wenn alle Thierversuche negativ ausgefallen wären. Diese hatten nur den Zweck das Wesen und die Eigenschaften des neuen Entzündungserregers zu studiren und unsere Kenntnisse nach dieser Richtung hin zu erweitern. Ich erinnere in dieser Hinsicht nur an das Verhalten der *Actinomyces*. Viele Jahre hat es gedauert bis es gelang, mit den Reinculturen des Pilzes, Eiterungen oder Gewebsentzündungen hervorzurufen, trotzdem man doch in diesem Falle die für den Pilz empfänglichen Thierarten kannte und zur Untersuchung verwenden konnte. In derartigen Fällen, in denen aus dem Verhalten der Parasiten auch ihre Aetiologie für die Krankheit unzweifelhaft hervorgeht, ist es nicht erlaubt, aus dem negativen Ausfall etwaiger Thierversuche, die vorher erwiesene Pathogenität schlechtweg zu leugnen, sondern es erwächst daraus für uns nur die Aufgabe, weiter zu untersuchen und zu arbeiten, um durch andere Versuchsanordnungen und Infectionsmethoden eventuell zu positiven Resultaten zu gelangen.

In unserem Falle sind aber thatsächlich die Thierversuche keineswegs so ausgefallen, dass sie etwa direct gegen die Patho-

genität sprächen. Die von Rabinowitsch gemachten Ausstellungen treffen in keinem Punkte zu und stehen in directem Widerspruch zu den mitgetheilten Thatsachen. Die betreffenden Zweifel werden in folgenden Sätzen zusammengefasst.

„Die von ihnen vorgenommenen Impfungen führten nicht den Tod der Thiere herbei, sondern erzeugten nur Eiterungen an der Infectionsstelle. Bei diesen fanden sich nur vereinzelte Hefezellen, gleichzeitig aber Streptokokken, die ebenso gut für die Krankheitserreger gehalten werden konnten.“

Drei Dinge hat Rabinowitsch also an meinen Versuchen auszusetzen: 1) dass es nicht gelungen sei, durch die Impfungen Thiere zu tödten, 2) dass die Hefen nur in geringer Zahl in den Krankheitsheerden anzutreffen, 3) dass sie in den Erkrankungsheerden stets mit Streptokokken vergesellschaftet seien.

Alle drei Einwände entsprechen nicht den Thatsachen.

1. Nicht ganz eine Seite vor dem citirten Satz berichtet Rabinowitsch über die von mir gefundene Hefe: „Den Tod führte sie (die Hefe) nur bei weissen Mäusen herbei.“ Wie hiermit die wenige Zeilen später aufgestellte Behauptung, dass sie nicht den Tod der geimpften Thiere herbeigeführt habe, in Einklang zu bringen ist, ist mir nicht ersichtlich.

2. Bezüglich des zweiten Punktes darf ich vielleicht kurz einige Sätze aus meinen früheren Arbeiten citiren. In der ersten Veröffentlichung heisst es auf S. 17: „Bei den täglich vorgenommenen Untersuchungen (des Eiters eines inficirten Hundes) wurden die fraglichen Organismen stets in grosser Menge gefunden und zwar wurden sie um so zahlreicher, je tiefer man mit der Platin-öhse in die Wunde einging.“ S. 18: „Der Inhalt dieser Höhlen (bei einem anderen inficirten Hunde) bestand fast aus Reinculturen dieser Parasiten, dicht gedrängt lagen sie in grossen Massen neben einander.“ In der zweiten Abhandlung heisst es auf S. 42: „Die Wunden schlossen sich oberflächlich, bis sie nach wenigen Tagen von der Tiefe her wieder aufbrachen, um wenige Tropfen von angestautem Eiter zu entleeren, in dem sich die Hefen in grosser Zahl voranden.“ Die Arbeit schliesst mit dem Satze: „Bei weissen Mäusen führen sie den Tod herbei und sind dann in grosser Menge im Blute zu finden.“ Wie stimmt hier-

mit die Behauptung zusammen, dass die Hefen nur vereinzelt an der Infectionsstelle zu finden sind.

3. Bezüglich der Beimengung der Streptokokken sei ebenfalls auf die Originalarbeiten verwiesen. Es wird darin ausdrücklich ausgeführt, dass das zunächst verwandte Impfungsmaterial nicht rein gewesen sei und dementsprechend auch keine reinen Resultate geliefert hätte, dass aber nach Herstellung von Reinculturen die Thierversuche wiederholt worden seien und dieselben pathologischen Veränderungen zur Folge gehabt hätten. Von einer Beimengung von Streptokokken findet sich in diesen ganzen Theilen der Arbeiten nichts.

Nach Feststellung dieser thatsächlichen Verhältnisse würden also die von mir mitgetheilten Thierversuche, auch mit dem Maassstabe von Rabinowitsch gemessen, direct beweisend für die Pathogenität der Hefe sein. Ich habe nun in der Zwischenzeit eine ganze Reihe neuer Thierversuche vorgenommen, die neue höchst interessante Einzelheiten bezüglich des Verhaltens der Hefen geliefert haben.

Ich will heute nur über weitere Experimente mit weissen Mäusen berichten, da die mit anderen Thieren noch nicht zum Abschlusse gekommen sind. Ich habe die Infection wiederum in der Weise, wie früher vorgenommen, indem ich entweder Schwemmculturen unter die Haut oder in die Bauchhöhle injicirte, oder aber geringe Mengen der Cultur mit der Platinöhse direct in kleine Wunden einbrachte. Irgend welche besonderen Verschiedenheiten traten bei den verschiedenen Infectionsmodi nicht zu Tage. Dagegen fiel sofort ein grundlegendes, verschiedenes Verhalten der jetzt vorgenommenen Infectionen gegenüber den früher angestellten Versuchen auf. Die Infectionsdauer war jetzt ausserordentlich viel länger, wie früher. Bei den vor einem Jahre vorgenommenen Impfungen starben die Mäuse in der Zeit vom 4.—10. Tage nach der Infection. Jetzt trat der Tod erst sehr viel später, nachdem sich in den verschiedensten Organen umfangreiche Veränderungen ausgebildet hatten, ein. Besonders hervorgehoben sei, dass die Quantität der verimpften Hefen früher und jetzt etwa die gleiche war.

Die Mäuse befanden sich unmittelbar nach der Impfung und auch in den ersten Wochen durchaus wohl, sie boten keinerlei

Symptome einer Erkrankung dar. Die ersten Erscheinungen traten bei einer Maus am 14. Tage auf. Sie sass still in einer Ecke, frass nicht mehr und reagierte auf Klopfen und Schütteln des Käfigs äusserst wenig und langsam. Der Tod trat am 17. Tage nach Infection unter Krämpfen ein. Bei den übrigen geimpften Mäusen verlief die Erkrankung ähnlich, nur noch viel langsamer, bei einzelnen stellten sich in den letzten Lebenstagen erhebliche Athembeschwerden ein. Die Thiere zeigten oberflächliche, beschleunigte Athmung, theilweise mit Zuhülfenahme der gesammten Hülfsmusculatur. Alle inficirten Mäuse starben, die letzten am 33. Tage nach der Infection.

Bei der Section finden sich nun an der Impfstelle am Rücken grössere oder kleinere geschwulstartige Verdickungen, welche die Haut, das lose Bindegewebe unter der Haut und die Musculatur des Rückens, der Lenden und zum Theil der Schenkel infiltriren. Diese Masse ist sehr weich, sieht weiss und trocken aus und steht ungefähr auf der Mitte zwischen eingedicktem Eiter und käsigem Material. Aehnliche weisse, bis stecknadelkopfgrosse Herde finden sich übereinstimmend in den Nieren, den Lungen und dem Gehirne. In einem Falle, in dem die Hefenschwemm-cultur in die Bauchhöhle injicirt worden war, sind bei der Section die Bauchdecken auf weite Strecken von ähnlicher Masse durchsetzt und am Dickdarm sitzen gleichsam als riesenhaft vergrösserte Appendices epiploicae weiche, myxomartig aussehende Knötchen von Erbsengrösse.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Masse an der Infectionsstelle zeigen sich in frischen Zupfpräparaten zahllose Hefen, zwischen denen nur ganz vereinzelte Gewebszellen angetroffen werden. Die Hefen sind einzeln oder zu mehreren von dem homogenen, kapselartigen Hof umgeben. In gleicher Weise konnte schon bei der frischen Untersuchung der verschiedenen anderen Organe festgestellt werden, dass alle die Veränderungen durch die Hefen hervorgerufen waren und Aussaaten auf verschiedenen Nährböden zeigten, wenn die Section des Thieres nicht zu lange nach dem Eintritt des Exitus vorgenommen wurde, nur Culturen der injicirten Hefen. In anderen Fällen, wenn die Untersuchung erst nach Ablauf mehrerer Stunden ausgeführt wurde, gingen auch Colonien von dicken kurzen Stäb-

chen und Staphylokokken mit auf, die aber auf Mäuse überimpft keinerlei Erkrankung hervorriefen.

Bevor ich nun an die ausführliche Beschreibung der mikroskopischen Befunde in den einzelnen Organen herangehe, muss ich noch kurz auf die verschiedenen Ergebnisse der jetzigen Versuche an weissen Mäusen und der vor einem Jahre ausgeführten Experimente zurückkommen. In beiden Fällen wurden weisse Mäuse und gleiche Dosen der Hefeculturen zur Impfung verwendet, den Grund für den Unterschied der Infektionsdauer etwa bei den Thieren oder in einer verschiedenen Dosirung des einverleibten Materials zu suchen, ist nicht angängig. Vielmehr scheint mir die Annahme am natürlichsten, dass die Hefen durch das fortwährende Umzüchten auf künstlichen Nährboden allmählich an Virulenz verloren haben, und dass wegen dieser geschwächten Virulenz der Tod der Mäuse erst eintritt, nachdem eine erhebliche Vermehrung der Hefen erfolgt ist und anatomische Veränderungen und Zerstörungen lebenswichtiger Organe von Seiten der gewucherten Pilze geleistet worden sind.

Die Impfungen der Mäuse wurden im November und December 1895 mit Culturen vorgenommen, die durch Abimpfen von 15 Monate alten, vollständig eingetrockneten Culturen gewonnen waren. Die Hefen sind also im Stande durch 15 Monate hindurch ihre Lebens- und Keimfähigkeit beizubehalten, und zwar trotz vollständiger Eintrocknung, ein Umstand, der bei der Abschätzung der Gefährlichkeit dieser Organismen sicherlich erheblich in's Gewicht fällt.

Mikroskopischer Befund.

Impfstelle: Die weisse Masse erweist sich bei der Untersuchung am gehärteten Präparate¹⁾ als ein Conglomerat von dicht an einander liegenden Hefen von sehr verschiedener Grösse. Gewebe ist in den betreffenden Heerden nur in ganz geringem Maasse wahrzunehmen, man sieht nur ein äusserst zartes Reticulum feinfasrigen, zellenreichen Bindegewebes, welches die einzelnen Haufen von Hefen umgiebt und zusammenhält, ähnlich wie im Carcinom das Stroma die Krebsnester umschliesst. Auffallend ist, dass in der

¹⁾ Die Fixirung der Objecte wurde in sehr verschiedener Weise, in Sublimat, Flemming'scher Lösung, absolutem Alkohol vorgenommen, die Färbung mit den gebräuchlichen Methoden, sowie mit der von mir früher in diesem Archiv angegebenen Doppelfärbung Hämatoxylin-Carbolfuchsin ausgeführt.

Nachbarschaft dieser Heerde so wenig entzündliche Wucherung in dem Gewebe erkennbar ist. Hier ist nur eine geringe Anhäufung kleiner Rundzellen zu bemerken. An der Grenze zur Musculatur sehen wir die Muskelfasern durch kleinere und grössere Haufen von Hefen aus einander gedrängt. Die dazwischen liegenden Muskelfasern finden sich in den verschiedenen Stadien der Fettmetamorphose. Bei einzelnen ist die Muskelsubstanz schon durch Hefen ersetzt. Auch hier sieht man nur verhältnissmässig wenig Zellenanhäufung.

Nieren: Die schon makroskopisch erkennbaren weissen Heerde erweisen sich auch hier wieder als grössere Anhäufungen von Hefezellen, welche in verschieden grossen Formen dicht zusammengedrängt in einem zarten Maschenwerk von Fasergewebe liegen. Eine entzündliche Wucherung von Seiten des Bindegewebes ist auch hier nur in sehr geringem Maasse ausgebildet. An der Grenze zum Nierengewebe findet man kleinere Hefen häufig innerhalb der Epithelien der gewundenen Harnkanälchen eingeschlossen. Neben diesen grossen, makroskopisch sichtbaren Knötchen sind kleinere Gruppen von Hefen in grosser Zahl in den Nieren vorhanden. So trifft man besonders innerhalb der Glomeruli solche Heerde an, welche diese ganz oder theilweise zerstört haben und nun den innerhalb der Bowman'schen Kapsel gelegenen Raum erfüllen. Zuweilen sieht man, dass auch das an den Glomerulus angrenzende Stück des Tubulus contortus ganz und gar mit Hefen angefüllt ist, die offenbar die Epithelien zerstört haben, wenigstens kann man von Epithelien in diesen Theilen nichts mehr entdecken, die Hefen liegen in dem von der nackten Membrana propria gebildeten Rohre. In anderen Fällen lässt sich nicht nachweisen, dass derartige mit Hefen erfüllte Schläuche mit einem erkrankten Glomerulus in directem Zusammenhange stehen, d. h. dass die Hefen von dem Glomerulus her in den Harnkanal hineingelangt sind. Doch scheint mir diese Art der Infection der Harnkanälchen die wahrscheinlichste, da die elastische Membrana propria der Harnkanälchen dem Andringen der Hefen zu widerstehen scheint. Sehr zierlich sind die Bilder, die man an der Grenze dieser Hefenschläuche zu dem mit normalem Epithel versehenen Abschnitte des Harnkanälchens antrifft. Hier liegen ein, zwei oder noch mehrere Hefen innerhalb der Epithelien, deren Protoplasma und Kernsubstanz in demselben Maasse an Menge abnimmt, wie die Hefen an Zahl und Grösse zunehmen, bis dann schliesslich auch der letzte Rest der Epithelien geschwunden ist und dann die erwähnten, von nackter Membrana propria umkleideten Hefeschläuche angetroffen werden.

Ein grösserer Heerd, der an der Grenze zwischen Rinden- und Marksubstanz gelegen ist, hat, wie an den in seiner Nachbarschaft vorhandenen grossen Blutungen zu erkennen, die zur Rinde führenden Gefässe zerstört oder verstopft und dadurch ganz ähnliche Veränderungen zur Folge gehabt, wie ein blander Embolus in diesem Bezirke. Der nach aussen von diesem Heerde gelegene kegelförmige Theil der Nierenrinde giebt keine Kernfärbung, ist also nekrotisch und bietet ganz das Aussehen, wie die embolischen Nekrosen in der Niere dar.

Appendices epiploicae: Ein ähnliches Bild, wie an der Impfstelle, erhält man bei der Untersuchung der geschwulstartig vergrösserten *Appendices epiploicae*. Die Fettgewebszellen sind durch grosse Colonien von Hefen aus einander gedrängt oder bis zu einem gewissen Grade substituirt. Auch hier ist nur so viel Fasergewebe erhalten, wie nöthig ist, um die Massen von Hefen in ihrer Lage zu fixiren. Die einzelnen Hefen zeigen bedeutende Verschiedenheit hinsichtlich der Grösse und des Aussehens. Die starke Vergrösserung der *Appendices epiploicae* ist also im Wesentlichen in Folge der Einlagerung zahlloser Hefen, nicht aber durch Wucherung und Neubildung der Gewebelemente erfolgt.

Leber: In der Leber sind makroskopisch, wie mikroskopisch keine anatomischen Veränderungen wahrzunehmen. Hier sind die Hefen nirgends zur Ansiedelung gekommen. Man sieht nur vereinzelte Exemplare in den Blutgefässen liegen, ähnlich, wie im Herzblut.

Das Herz wurde unaufgeschnitten in Alkohol gehärtet und mit dem in seinen Höhlen befindlichen Blute geschnitten. In dem Blutgerinnsel befinden sich hie und da vereinzelte Hefen, theils nackt, theils von der homogenen Kapsel umgeben. Im Herzmuskel selbst liegen kleine Gruppen von Hefen zwischen den Muskelfasern. In Schnitten, die die Musculatur längs getroffen haben, trifft man zuweilen eine doppelte Reihe schön ausgebildeter Hefen zwischen den Muskelfasern. Die Hefen liegen hier nicht ganz so dicht zusammengedrängt, wie in den Präparaten von der Impfstelle oder den *Appendices epiploicae*. Auch sind hier an keiner Stelle so grosse Mengen von Hefen in der Herzwandung angehäuft, dass man die Heerde schon makroskopisch hätte erkennen können. Die Hefen liegen stets nur in kleinen Gruppen zusammen.

Gehirn: Im Gehirn finden sich schon makroskopisch erkennbar die Heerde entweder auf dem Gehirn in der Pia oder aber in der Hirnsubstanz selbst. Ganz besonders schön und deutlich kann man die erkrankten Stellen zur Anschauung bringen, wenn man die in Alkohol entwässerten Gehirne durch Xylol aufhellt und in Scheiben schneidet. Die Heerde hellen sich nelmlich nicht in derselben vollkommenen Weise auf, wie die Hirnsubstanz und in Folge dessen sieht man sie dann bei auffallendem Lichte als kleinere oder grössere, milchig weisse oder bei durchscheinendem Lichte als dunklere Knötchen in der hellen durchscheinenden Hirnsubstanz liegen. Bei mikroskopischer Untersuchung erweisen sich diese Knötchen wiederum als ganz scharf abgegrenzte Haufen von kleinen Hefen, die hier und dort in der Hirnsubstanz verstreut liegen. Das Gewebe der Nachbarschaft zeigt keinerlei entzündliche Veränderung. In der Mitte der grösseren Heerde ist von Hirnsubstanz nichts mehr zu erkennen, in der Peripherie der Knoten sieht man, wie die Hefen in die Nachbarschaft vordringen und Ganglienzellen, Nervenfasern und Neuroglia in gleicher Weise zerstören. Die Heerde in der Hirnoberfläche sind keineswegs nur auf die Pia beschränkt, sondern man sieht, wie sie hier und da auf die Rindensubstanz übergreifen und dieselbe durch ihr Vordringen allmählich substituiren. Was bei der Untersuchung

dieser Hirnschnitte als am meisten charakteristisch in die Erscheinung tritt, das sind die Formen der Hefen. Wir sind sonst gewohnt, die einzelnen Zellen im Gewebe von einer mehr oder minder breiten Kapsel umgeben zu finden. Hier in diesen Heerden fehlt 1) diese Kapsel fast ganz oder ist bei einzelnen wenigen Organismen nur eben schwach angedeutet und 2) muss die gleichmässige Grösse aller dieser Hefen auffallen.

Sowohl die Hefen beim Menschen, wie auch an der Impfstelle der Maus, wie auch in den anderen Organen, z. B. in der Niere, zeigen beträchtliche Mannichfaltigkeit in der Grösse, stets trifft man in allen diesen Stellen ganz kleine neben grösseren und grossen Formen an. Nur hier im Gehirn der Maus besteht diese merkwürdige Uebereinstimmung in der Grösse, die etwa den mittelgrossen Formen in den anderen Heerden entspricht.

Lungen: Ganz und gar abweichend hiervon ist das Bild, das uns die Lungenschnitte bei der mikroskopischen Untersuchung darbieten. Zwar trifft man auch hier Gruppen von Hefezellen an, ähnlich wie in den anderen Organen. Daneben sehen wir aber die ganze Lunge überall diffus von vereinzelter Hefen durchsetzt. Es giebt kein Gesichtsfeld, das nicht zahlreiche Hefen enthielte. Sie liegen in den Alveolarsepten und dem peribronchialen und interlobulären Bindegewebe überall einzeln oder in Gruppen. Das Lungengewebe selbst ist zum grössten Theile atelektatisch. Hin und wieder sieht man eine Alveole mit desquamirten grossen Alveolarepithelien erfüllt, die vereinzelte Hefen in ihrem Innern beherbergen. Zellenanhäufungen und Wucherungen im Bindegewebe sind auch hier so gut wie gar nicht ausgebildet. Man hat den Eindruck, als ob schon bei Lebzeiten eine „Verhefung“ des Gewebes stattgefunden hätte, ähnlich wie sich eine Verschimmelung etwa in abgestorbenem Gewebe einstellen kann. Diesem Vordringen der Hefen gegenüber, sowie ihrer Wucherung verhält sich das Gewebe in allen Organen auffallend passiv. An keiner Stelle sehen wir eine kräftige Reaction von Seiten des Gewebes gegen den andringenden Feind geliefert, nirgends wird dem Fortschreiten, dem Ueberschwemmen, der Vermehrung der Hefen durch Ausbildung eines leistungsfähigen Granulationsgewebes ein Ziel gesetzt. Ausser dieser bemerkenswerthen Eigenthümlichkeit, die die Hefeerkkrankung bei den Mäusen in der Lunge ebenso, wie in den übrigen Organen auszeichnet, fällt bei der Lunge speciell, besonders nach der Untersuchung der Hirnschnitte, die ausserordentliche Verschiedenheit der einzelnen Formen der Hefen auf. Neben ganz kleinen und mittelgrossen Exemplaren, die wie auch sonst von einer Kapsel umgeben sind, finden sich in der Lunge ganz aussergewöhnlich grosse Hefezellen mit einer unverhältnissmässig breiten Kapsel. Diese Organismen erreichen schliesslich eine Grösse, die weit über das Maass etwa der desquamirten Alveolarepithelien hinausgeht. Wenn man mit diesen Schnitten die Bilder vergleicht, welche die Gehirnpräparate derselben Maus darbieten, so wird schwerlich ein Unbefangener auf den Gedanken kommen, dass diese an Grösse und Gestalt so verschiedenen Parasiten gleichartig seien. Und doch zeigt dann die Cultur, dass thatsächlich diese morphologisch so verschiedenen Elemente nur

verschiedene Erscheinungsformen ein und desselben schmarotzenden Lebewesens in verschiedenen Organen desselben Wirthes sind, und dass aus dem Gehirne gewonnene Culturen auf Mäuse überimpft, in den Lungen wieder die extrem grossen Formen liefern. Offenbar bieten die einzelnen Organe verschiedenartige Nährsubstrate für die Hefen dar.

Epikrise. Durch Infectionen von weissen Mäusen mit den seit nunmehr 17 Monaten künstlich fortgezüchteten pathogenen Hefen wurde bei sämmtlichen Thieren der Tod herbeigeführt; und zwar starben die inficirten Mäuse in einem Zeitraum von 17—33 Tagen nach erfolgter Impfung. In Folge der Einverleibung der Hefen stellten sich sowohl an der Impfstelle wie auch in den inneren Organen umfangreiche anatomische Veränderungen ein, welche, wie durch die Cultur erwiesen, einzig und allein durch die *Saccharomyces* herbeigeführt worden sind.

Die Invasion von Hefen ruft in den Geweben hauptsächlich degenerative Veränderungen hervor, welche sich in der Fettmetamorphose der Musculatur, der Nekrose und dem Untergange des Gewebes zu erkennen geben. Daneben zeigen sich auch geringe entzündliche Prozesse in der Kernvermehrung und der theilweisen zelligen Hepatisation der Lunge. Durch die Einlagerung massenhafter Hefen können erhebliche geschwulstartige Vergrösserungen der befallenen Organtheile geschaffen werden, Vergrösserungen, welche Geschwülste vortäuschen können, jedoch nicht auf einer Wucherung der Gewebselemente, sondern, wie schon gesagt, auf einer Anhäufung grosser Mengen von Hefen in den Gewebsmaschen beruhen. Ein Vergleich der Präparate der verschiedenen Organe von ein und demselben Thierte zeigt eine erhebliche morphologische Verschiedenheit der Hefen in den einzelnen Organen, dagegen eine völlige Uebereinstimmung in der mangelhaften Ausbildung der reactiven Entzündung von Seiten des Gewebes.

Ein Vergleich dieser Versuche mit den früher ausgeführten ergibt, dass in dem Zeitraume eines Jahres eine bedeutende Abnahme der Virulenz stattgefunden hat, indem die jetzt geimpften Thiere nach viel längerer Incubationsdauer und erst nachdem sich erhebliche Veränderungen in den lebenswichtigen Organen ausgebildet hatten, der Infection erlagen.

Gerade das morphologische Verhalten der Hefen in dem Thierkörper, die grosse Mannichfaltigkeit der Formen verdient

noch ganz besonders hervorgehoben zu werden und verleiht diesen Versuchen eine gewisse principielle Bedeutung. Man erkennt hieraus so recht, wie wenig allein auf das Aussehen derartiger im Gewebe liegender Parasiten gegeben werden darf und wie irrig es werden kann, kleine morphologische Unterschiede als Maassstab für Gleichartigkeit oder Verschiedenheit von Mikroorganismen anzulegen. Wenn man bedenkt, wie verschiedene Formen schon bei ein und demselben Thiere zur Beobachtung kommen, wird man davon abstehen aus der Morphologie etwaiger auf Parasiten verdächtiger Zelleinlagerungen weitgehende Schlüsse auf das Wesen und die Natur dieser Gebilde zu ziehen. Ich möchte an dieser Stelle eindringlichst davor warnen, die hier und in den früheren Arbeiten mitgetheilten Befunde schlechtweg zu verallgemeinern. Man hat früher die Zelleinschlüsse, soweit man sie überhaupt für parasitär hielt, ohne Unterschied zu den Protozoen gerechnet. Neuerdings werden nun dieselben Einschlüsse in Carcinomen und Sarcomen in einer Reihe von Arbeiten (Roncali, Aievoli, Corselli u. A.) auf Grund ihres morphologischen Verhaltens ohne Weiteres für Hefen ausgegeben. Alle Arbeiten, die darauf hinauslaufen durch Färbungsmethoden oder aus dem Aussehen der Gebilde ihr Wesen zu ergründen, tragen nicht zur Förderung und Lösung der schwebenden Fragen bei. Die Möglichkeit, dass die Zelleinschlüsse Hefen sind, liegt nach den gemachten Erfahrungen auf der Hand und jeder Untersucher auf diesem Gebiete wird diese Möglichkeit einer ernsten Prüfung unterziehen müssen. Von der Aufstellung dieser Vermuthung bis zu dem Beweise derselben ist aber noch ein gewaltiger Schritt und der Beweis kann unmöglich aus der Morphologie durch Analogieschlüsse erbracht werden. Bei der grossen Mannichfaltigkeit der Formen kann vorerst in jedem einzigen Falle nur eine eingehende specielle Untersuchung, nur allein die Cultur entscheiden, ob die Zelleinschlüsse parasitär sind, und welcher Gruppe von Lebewesen sie zugehören.