

IV.

Über die fragliche Fähigkeit gewisser Hefestämme, Neubildungen im Tierkörper hervorzurufen.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Breslau und dem
Pathologischen Institut des Neuen städtischen Krankenhauses
in Charlottenburg-Westend.)

Von

Professor Dr. F. Henke und Dr. F. Miodowski.

(Hierzu Taf. V.)

Es ist schon von dem einen von uns kurz über die Versuche berichtet worden,¹⁾ die wir mit gewissen pathogenen Hefen an Tieren gemacht haben, um die überraschenden Mitteilungen von Sanfelice und Leopold über deren geschwulst-erregende Bedeutung aus eigener Anschauung zu studieren. Wir geben in dem Folgenden die ausführlichen Daten über diese Versuche und besonders auch das Resultat der weiteren Untersuchung eines auffallenden Befundes in der Niere einer Ratte, die bei der früheren Mitteilung noch nicht abgeschlossen war.

Unser Interesse konzentrierte sich wesentlich darauf, uns ein eigenes Urteil zu bilden über die geschwulstartigen Bildungen, die bei Tieren nach der Einverleibung pathogener Hefen gemäß den Angaben der Autoren auftreten sollten. Auf die seltene, auch beim Menschen nach neueren interessanten Mitteilungen gelegentlich zu beobachtende Infektion mit pathogenen Hefen, die sich vorwiegend in der Haut lokalisiert, und die als Saccharomykosis hominis oder Blastomykose bezeichnet wird, hatten wir keine Veranlassung näher einzugehen. Unsere Kenntnisse darüber sind in mehreren speziellen und monographischen Darstellungen unter Verwertung der darüber bestehenden Literatur hinreichend gewürdigt worden. Es seien in dieser Beziehung nur die Arbeiten von Busse²⁾, Sanfelice³⁾,

¹⁾ F. Henke, Pathogene Hefen und Tumorbildung, Verhandlungen der Deutsch. Patholog. Gesellsch. VII. Tagung in Berlin 1904.

²⁾ Die Hefen als Krankheitserreger. Berlin 1897.

³⁾ Über die pathogene Wirkung der Blastomyceten, Abhandl. I—V, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 1896—98.

Fig. 1.



Fig. 2.



Buschke¹⁾, Sternberg²⁾, Gilchrist³⁾ u. a. erwähnt; die detaillierte Besprechung der Literatur in diesen eingehenden Bearbeitungen des Gegenstandes überhebt uns auch der Verpflichtung, noch einmal darauf zurückzukommen.

Es kam uns, wie gesagt, lediglich darauf an, der viel bedeutungsvolleren Perspektive nachzugehen, welche die Angaben von Leopold und Sanfelice über die Beziehung der von ihnen gefundenen pathogenen Blastomyceten für die Ätiologie der bösartigen Geschwülste eröffneten. Die Abbildung der Ratte mit multiplen Tumorknoten nach Hefeinjektionen, die aus einem menschlichen Karzinom gewonnen waren, in der Mitteilung eines so angesehenen Forschers, wie Leopold⁴⁾, hatte nicht verfehlt, unter den Anhängern der parasitären Ätiologie der bösartigen Geschwülste einen gewissen Eindruck hervorzurufen.

Diesem folgend haben wir in dem Institut unseres hochverehrten Lehrers, dem diese Blätter gewidmet sind, des Herrn Geh.-Rat Professor Dr. E. Ponfick, einige Tierversuche mit den Hefestämmen angestellt, welche nach den Mitteilungen ihrer Entdecker unter Umständen imstande sein sollten, echte Geschwülste hervorzurufen. Wir legten dabei besonderen Wert darauf, die Tiere, wenn sie auch keine akuten Krankheitsscheinungen gezeigt hatten, möglichst lange weiter zu beobachten, um der Möglichkeit einer sehr chronischen Entwicklung der Affektion Rechnung zu tragen. In dieser Beziehung glauben wir zu den Mitteilungen anderer Untersucher eine willkommene Ergänzung zu liefern — wir haben die Beobachtung an einzelnen Tieren bis auf die Zeitspanne von $1\frac{1}{2}$ Jahren fortgesetzt. Die Wichtigkeit des Gegenstandes würde auch eine Untersuchung von recht verschiedener Seite rechtfertigen, da die Meinungen, wie wir ersehen, sich noch recht unvermittelt gegenüberstehen, bezüglich der Frage der Bedeutung

¹⁾ Die Blastomykose. Bibl. Med. Abt. D.II. Stuttgart 1902.

²⁾ Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen. Zieglers Beiträge. Bd. XXXII.

³⁾ cit. bei Buschke.

⁴⁾ Untersuchungen zur Ätiologie des Karzinoms und über die pathogenen Blastomyceten. Archiv für Gynäkologie. Bd. 61, Heft 1, 1900.

der pathogenen Hefen für die Ätiologie des Sarkoms und Karzinoms. Während Sanfelice, Leopold (Kongreß für Gynäkologie in Gießen 1903) und Wlaeff, noch jetzt, so weit wir sehen, an ihrem Standpunkt einer ätiologischen Beziehung der Hefen zu den malignen Tumoren festhalten, haben sich dem die größere Zahl der Nachuntersucher (z. B. Petersen und Exner, Weinberg, sowie besonders Sternberg u. a.) nicht anschließen können.

Wir beschränkten uns darauf, zunächst nur die Wirkung der Leopoldschen und Sanfeliceschen Hefen in ihrer tierpathogenen Wirksamkeit zu studieren und hatten die Absicht, gegebenenfalls in umfassender Weise nichtulcerierte Karzinome und Sarkome auf pathogene Hefen zu untersuchen.

Die erste Versuchsreihe machten wir mit einem Hefestamm, der von Herrn Professor Dr. Leopold in Dresden aus einem Karzinom des Ovariums gewonnen worden war. Wir möchten auch an dieser Stelle nicht versäumen, ihm unseren verbindlichsten Dank für die Überlassung der Kultur auszusprechen.

I. Versuche mit der Leopoldschen Hefe.

Die im Holztubus angekommene Originalkultur trägt die Aufschrift: Fall Preusche. Ovarialkarzinom. 12. Abimpfung. Die Hefen bedecken in einem dicken weißen Rasen die schräge Gelatinefläche und senden längs eines kurzen Stiches einen Ausläufer in die Tiefe.

Von der O.K. (Originalkultur) wird einerseits ein Deckglasausstrich mit Methylenblau gefärbt, andererseits eine Untersuchung im hängenden Tropfen gemacht.

Die Kultur wird als Reinkultur von Blastomyceten, und in Form und Größe übereinstimmend gefunden mit denen der Abbildung in der Leopoldschen Arbeit (Arch. f. Gyn. Bd. 61).

Abstich von O.K. auf saure Gelatine, alkal. Gelatine, alcal. Agar. Gutes Wachstum in weißen Rasen. Bestes Wachstum auf saurer Gelatine, worauf die weiteren Abimpfungen sich beschränken.

Die O.K. wird in Wasser aufgeschwemmt und damit werden zwölf weiße Ratten (1. Gruppe) teils subcutan, teils intraperitoneal, teils in den Hoden geimpft (jedes Tier 1 ccm Aufschwemmung).

5. XI. werden 5 gescheckte Ratten (2. Gruppe) mit 3. Abimpfung von O.K. geimpft (jedes Tier 1 ccm Aufschwemmung).

5. XI. eine ganze Gelatinekultur in Aufschwemmung einem weiblichen Hunde in die rechte Mamma eingebracht.

29. I. die Rasen von 5 Gelatinekulturen in Wasser aufgeschwemmt, je 5 ccm der Aufschwemmung je einem Kaninchen in die Jugalaris injiziert.

11. XII. wird eine von den Ratten der 1. Gruppe getötet. Sektion unter allen aseptischen Kautelen. — Im Abdomen keine freie Flüssigkeit, glattes, spiegelndes Peritonaeum. Die Organe der Bauch- und Brusthöhle ohne pathologischen Befund. Der linke Hoden zeigt eine das Organ in ganzer Breite durchsetzende (entsprechend dem Einstich der Pravaznadel) graugelbe (nekrotische!) Zone. Es wird von der Hodenschnittfläche, von der Peritonealhöhle, von der Lungenschnittfläche, vom Herzblut auf saure Gelatine abgeimpft. Ausstriche aus den Organen zeigen keine Hefen, die Röhrchen bleiben alle steril.

Am 31. I. 02 resp. 7. II. 02 werden die beiden Kaninchen getötet (nach 2 resp. 9tägiger Beobachtung); anatomisch und bakterioskopisch negativ (Lunge, Herz, Milz). — Da die bisherigen Injektionen absolut keine Reaktion veranlaßt haben, außer kaum mehr als 24 Stunden anhaltenden leichten Infiltrationen an den Injektionsstellen, wird noch einmal mit besonders reichlichem Material geimpft am 21. II. 02, und zwar auf 8 Ratten der 1. Gruppe (intraperitoneal, intrapleural, subcutan).

Die Ratten weder in ihrem allgemeinem Körperzustand alteriert, noch sonstige Reaktion.

	Beobach- tungsdauer	
11. XII. 01. 1 männl. weiße Ratte getötet	22 Tage	kein Befund
30. I. 02. 1 " " " " "	3½ Mon.	"
31. V. 02. 1 weibl. Ratte getötet " " "	7½ "	"
28. VII. 02. 2 weibl. Ratten getötet	9 "	
29. VIII. 02. 5 Ratten getötet	ca. 10 "	kein Befund, ausgenommen eine weiße männl. Ratte ¹⁾
11. III. 03. 3 Ratten getötet	ca. 1½ Jahr	kein Befund

Histologischer Befund: Der kleine Tumor in der Niere ist, wie Fig. 1 zeigt, scharf gegen die angrenzende Nierensubstanz (im Bilde unten)

1) Hoden an der Einstichstelle mit leicht verdickter Tunica albuginea; I. Niere: nahe dem oberen Pole ein erbsengroßer Knoten, rund, deutlich abgegrenzt, von graurotem, etwas bröckligem Gewebe; der Knoten quillt leicht hervor aus dem Nierengewebe. Nebenniere o. B. Von Hoden und Nebennieren abgeimpft mit negativem Resultat. Leider war aus Versehen vor der Abimpfung von Herrn Dr. Miodowski der Tumor in Formalin für kurze Zeit eingelegt worden. Die Abimpfung wurde dann nach Anlegung einer neuen Schnittfläche vorgenommen. Es wäre aber immerhin möglich, daß die Formalineinwirkung eine eventuelle Wiederkultur der Hefen erschwert hätte.

abgegrenzt. Von seiner schmalen bindegeweblichen Hülle ziehen feine Septen mit stäbchenförmigen Kernen in den Tumor hinein, der aus großen epithelähnlichen Zellen sich aufbaut, die zwischen den Septen in unregelmäßigen Haufen zu liegen kommen. Die Zellen zeigen zumeist gleichmäßig große ovale Kerne mit deutlichen Kernkörperchen, an einigen Stellen Karyokinesen; andere Kerne sind auffallend groß und hyperchromatisch, manche Zellen enthalten mehrere Kerne (Riesenzellen). An einer circumscripsten Stelle finden sich auch kleinere, mehr rundliche Zellhaufen, die wohl als entzündlicher Natur aufzufassen sind. Namentlich an den Randteilen dieses Tumors sieht man nur spärliche ovale Körper, die zunächst an das Aussehen von Hefezellen erinnern, nach ihrer Lagerung aber auch als weniger stark tingierte Kerne gedeutet werden können.

Für die letztere Auffassung wäre anzuführen, daß die fraglichen Körperchen sich nach Gram-Weigert nicht deutlich färben, was z. B. auch Buschke für besonders charakteristisch zum Nachweis der Hefen im Gewebe hält. Auch die Sichtbarmachung der fraglichen Gebilde mit Natronlauge nach dem Vorschlag von P. Grawitz gelang nicht. — So mußten wir wieder durchaus von der Annahme abkommen, daß die fraglichen Körperchen etwa in Degeneration befindliche Hefen wären, womit sie, wie uns auch die Kenner der Blastomyceten, Busse und Sternberg, bestätigten, unzweifelhaft eine große Ähnlichkeit hatten. Herr Kollege Busse, der auf unsere Bitte die Güte hatte, einige Schnitte einer näheren Untersuchung zu unterziehen, dachte auch daran, ob vielleicht Protozoen in Frage kämen. Wir glauben aber mit ihm, daß ein sicherer Anhalt dafür nicht zu gewinnen ist.

Übrigens gab auch die Carbolfuchsinsmethode Busses kein entscheidendes Resultat. — Jedenfalls möchten wir nach eingehender Untersuchung des interessanten Tumors dahin uns aussprechen, daß es sich um eine echte Geschwulst handelt, vielleicht um einen hypernephroiden Tumor. Die Neubildung ist doch zu scharf abgesetzt gegen das umgebende Nierengewebe und besteht aus so gleichmäßig großen Zellen, daß wir die anfangs, namentlich im Hinblick auf die Angaben von Sternberg über echte Hefetumoren in der Hundeniere, in Diskussion gestellte Annahme eines großzelligen Granuloms¹⁾ entzündlicher Natur ganz fallen gelassen haben. Anderseits ließ sich aber nach dem soeben Ausgeführten der sichere Nachweis von Hefen in der Neubildung nicht erweisen, so daß wir diesen vereinzelten interessanten Befund für einen zufälligen, für einen solchen halten, der in keinem Zusammenhang mit der vor ca. 10 Monaten vorgenommenen Impfung mit der Leopoldschenschen Hefe steht.

1) z. B. wurden in dem Tumor auch keine Plasmazellen gefunden, was gegen die fragliche entzündliche Natur des Tumors mit verwertet werden könnte. Herr Dr. G. Pernet ist zurzeit in meinem Institut mit Untersuchungen über die Verwendung dieses Kriteriums zur Unterscheidung von Sarkom und Granulationsgewebe beschäftigt und wird bald darüber berichten.
Henke.

Die an einer Stelle zu konstatiertenden kleineren Zellen mögen wohl einem sekundären entzündlichen Infiltrat entsprechen; aber solche finden wir ja auch in Begleitung aller möglicher gutartiger und bösartiger Geschwülste.

Der am 5. XI. 01. geimpfte Hund wird am 10. VI. 02 nach fast siebenmonatiger Beobachtung anderen Zwecken übergeben, er hat niemals weder an der Injektionsstelle noch auch allgemein Veränderungen gezeigt.

Am 11. III. 1903, also nach etwa $1\frac{1}{2}$ Jahren, wurden die 3 letzten Ratten der mit der Leopoldschen Hefe geimpften Gruppe getötet. Weder an den Impfstellen noch sonst im Körper ließ sich bei genauer Untersuchung irgendein pathologischer Befund erheben.

II. Versuche mit *Sanfelices Saccharomyces neoformans*.¹⁾

I. Meerschweinchen wird am 5. IV. 02 mit wässriger Aufschwemmung einer Gelatinekultur (2. Abstrich von der O. K.) subcutan in die Unterbauchgegend geimpft.

Am 18. IV. wird es durch Chloroform getötet.

Sektionsprotokoll. Nach Rasieren und Desinfizieren der Unterbauchgegend wird die Haut zurückpräpariert. In derselben an der Einstichstelle ein hanfkorn großes, derbes, indolentes Infiltrat. Von hier aus zieht sich im subcutanen Gewebe eine unregelmäßig begrenzte, derbe, speckige, flächenhafte Infiltration zur r. Leistenbeuge. Dasselbe hat eine unveränderte leicht verschiebbliche Haut über sich, sitzt der Bauchmuskulatur dagegen fest auf, wird mit ihr zusammen herausgeschnitten. In der r. Leistenbeuge eine derbe Drüse, grauweiß, ohne besondere Zeichnung auf der Schnittfläche, eine ebensolche links. Im großen Netz ein kleines stecknadelkopf großes graues Knöthchen; sonst Organe o. B.

Bakteriologisch: Ausstrich von Drüsensaft: massenhaft Hefezellen, sie sind in der Mehrzahl erheblich größer als die s. Z. injizierten.

Abstrich von Drüse, Infiltrat und Herzblut auf saure Gelatine.

23. IV. Von Drüse und Infiltrat sind kleine stecknadelkopfgroße grauweiße Kolonien gewachsen; Abstrich: Hefereinkultur; die einzelnen Zellen etwa wieder so groß wie die des Ausgangsmaterials.

Histologischer Befund: I. Bauchwandinfiltrat (Haematoxylin-eosinfärbung, Celloidinschmitte). In der Bauchwand hat sich eine breite Zone eines eigenartigen Neugewebes entwickelt. Es liegt nicht — so war der makroskopische Eindruck — auf der Bauchmuskulatur, also im subcutanen Gewebe, sondern ganz und gar zwischen den Muskelschichten. Man sieht auf dem senkrecht zur Oberfläche geführten Schnitt eine Schicht quergetroffener Muskelfasern, dann folgt nach innen eine Schicht längsgetroffener, und dann eine dicke wieder quergetroffener Muskelfasern. Wesentlich zwischen der ersten und zweiten Schicht und innerhalb der

¹⁾ Von Král in Prag bezogen.

letzteren hat sich das Neugewebe etabliert. Es ist dadurch so eigenartig, weil es sich aus zwei Komponenten aufbaut, die sich der Masse nach etwa zu gleichen Teilen an der Zusammensetzung beteiligen. Der eine Gewebsanteil ist etwa das, was man schlechthin als Granulationsgewebe bezeichnet, der andere Anteil wird ohne weiteres als Hefenmassen wiedererkannt.

Das Granulationsgewebe besteht zum größeren Teile aus großkernigen epitheloiden Elementen, die bläschenförmigen Kerne mit deutlichem Chromatinnetz haben; dagegen bleiben die Lympho- und Leukocyten zurück, die in kleineren und größeren Gruppen ziemlich gleichmäßig überall eingestreut sind. Die epitheloiden Zellen finden sich angelehnt an dickere oder schmälere Bindegewebssfasern, welche untereinander ein hier dichteres, dort weitmaschigeres Netzwerk bilden. Ganz junge, dünne Gefäße laufen in etwas verbreiterten Bindegewebsstegen. In dem Maschenwerk sind nun die Hefezellen eingeschlossen; bald sind die Maschenräume so klein, daß eben nur eine Zelle darin Platz findet, bald größer, so daß die Hefen sich in längeren Reihen oder Doppelreihen, palisadenartig senkrecht zur Oberfläche anordnen können. An den Stellen, wo das Netzgewebe so fest gefügt ist, daß es seinen wabenartigen Aufbau eingebüßt hat, finden sich ganz unregelmäßig vereinzelte Hefen eingestreut.

Die Hefezellen sind in Form und Größe sehr verschieden; die ganz regelmäßig runden — doppelkonturiert, etwa von der Größe der zur Verimpfung gekommenen — sind in der Minderzahl und solche, die noch die Andeutung eines Kernes in der Mitte zeigen, ganz spärlich. Sie haben einen blaßrotvioletten Farbenton angenommen. Die anderen Hefezellen sind entweder größer, unregelmäßig gerandet, deutlich gebläht, glaskugelartig ohne jegliche Andeutung eines Kernes; die anderen kleiner, unregelmäßig zackig begrenzt, stern- oder maulbeerförmig, von blauvioletter Farbe; einzelne haben sich mit kleinen, dunkelblauen Krümeln (vielleicht Kalkkörnchen?) beladen.

Bei der Bussse-Färbung (Alaun-Hämatoxylin—Carbolfuchsin) treten die Hefen durch ihre deutliche Rotfärbung besonders gut hervor und scheinen dabei von einem lichteren Hof umgeben.

Von diesem zwischen den beiden Bauchmuskellagen etablierten Neugewebe gehen schmale Züge hauptsächlich des granulationsgeweblichen Anteils in die Muskelsepten hinein, ohne die Muskelfasern selbst zu alterieren; nur an einer umschriebenen Stelle ist die mittlere Bauchmuskellage von den hier gerade massenhaft angehäuften Hefen zur Seite geschoben, die sonst gerade verlaufenden Muskelfasern, verlaufen verschmälert und zusammengeschoben, in leichtem Bogen; die zunächst liegenden Muskelfasern zeigen aber direkte Lücken, hier ist Muskelgewebe zweifellos zum Schwund gekommen (Fig. 1, Taf. V), davon zeugen unzweideutig einige der Querstreifung entbehrende kernlose, unregelmäßige Muskelschollen am Rande des eingebrochenen Herdes. Eine schmale Zone entzündlicher Zellen rahmt den Hefeherd ringsum ein.

Inguinaldrüsen. Das lymphoide Gewebe auf kleine Reste zusammengedrängt; die ganze intumescierte Drüse ist erfüllt von Hefemassen, die ähnlich wie im Bauchdeckenfiltrat, in einem hier nur viel feineren Maschenwerk liegen.

Lungen, Nieren, Leber frei.

II. Meerschweinchen, ebenso wie I, aber intraperitoneal am 5. IV. 02 geimpft, gestorben am 25. IV. 02.

Sektionsprotokoll. Je eine fast bohnengroße Drüse in der r. und l. Leistenbeuge. Das Netz nicht entfaltbar, es bildet eine einzige gallertige, graurote und graugelbe Gewebsmasse, in der nur vereinzelte Fettläppchen erkennbar werden. Mesenterialdrüsen in größerer Anzahl bohnengroß, derb. Milz mit halbstecknadelkopfgroßen, grauen Knötchen bedeckt. In der Leber zwei haselnußgroße, gelbe, käsige Herde. Lungengewebe etwas luftärmer als gewöhnlich, besonders in den Unterlappen.

Bakteriologisch: Von Inguinal- und Mesenterialdrüsen, Herzblut, Netz, Milz auf saure Gelatine abgeimpft: Hefen wiederkultiviert.

Histologisch: Die Lunge ist geradezu mit Hefezellen überschwemmt; sie sind in der Hauptsache in die Alveolarsepten abgelagert, die dadurch vielfach aufs mehrfache verbreitert sind; stellenweise hat das Gewebe fast gar nicht darauf reagiert, an anderen Stellen ist interstitielle Pneumonie mit Vermehrung der angesessenen Kerne hinzu gekommen. In einzelnen Bezirken sind die Hefezellen in den Alveolen deponiert, wo sich ihnen spärliche desquamierte Epithelien beigemengt haben.

Die Hefen kommen auch dicht unter die Pleura zu liegen, ohne daß die größeren Herde eine Vorbuchtung der glatt verlaufenden Abschlußlinie bedingen. Eine besondere Lagerungsbeziehung zu den Gefäßen ist nicht mehr zu konstatieren; dagegen ist es offenbar unter dem Einfluß der eingelagerten Hefen zu Zirkulationsstörungen in einzelnen Bezirken gekommen; die Kapillaren hier deutlich gedehnt und gegen die Alveolen vorgebuchtet.

Milz. Das Organ als solches kaum wiederzuerkennen, so stark ist der ganze Aufbau alteriert. Das ganze Organ ist mit massenhaften Hefen angefüllt, die sich zumeist in Herden von der Größe der Follikel angeordnet haben. Wo noch einige Follikel vorhanden, sind sie auch von Hefen betreten.

Das Netz bildet eine einzige große Anhäufung von Hefezellen. Der Schnitt weist fast nichts als Hefezellen auf, dazu nur ein so spärliches feines Stützgerüst — mit ein paar jungen Gefäßen — als eben unbedingt nötig ist, um den eingelagerten Massen eine Stütze zu geben. Keine Zeichen einer entzündlichen Reaktion (vergl. Sternberg, Fig. 3 Taf. I).

Inguinal- und Claviculardrüsen im ganzen wie bei I. Die Ausfüllung der Drüse nur noch nicht in dem hohen Maße. Man sieht hier zunächst die Lymphsinus verbreitert und mit Hefezellen angefüllt; Follikel und Markstränge sind dadurch verschmäler und verzerrt. Auch in dem

periglandulären lockeren Zellgewebe reichliche Hefeanhäufungen, die vielfach präformierte Räume (Lymphgefäß) in Quer- und Längsschnitten auszufüllen scheinen.

Leber frei von Blastomyceten. Die verdächtigen Herde erweisen sich als einfache Nekrosen.

III. Meerschweinchen wie II am 5. IV. 02 geimpft; nachdem es schon einige Tage schlecht gefressen, gestorben 26. IV. 02.

Sektionsprotokoll. An der Injektionsstelle ein erbsengroßes Infiltrat; in beiden Inguinalbeugen mehrere kleinhaselnußgroße derbe Drüsen. Vereinzelte erbsengroße Mesenterialdrüsen. Kleine flache, hirsekorngroße Knötchen auf Milz, Kapsel und Lungenpleura. Lungenparenchym dunkelblaurot, hier und da verdichtete Bezirke.

Bakteriologisch: Wiederkultur der Hefen gelingt aus Infiltrat, Inguinaldrüse und Herzblut.

Histologisch: Milz mit Hefen überschwemmt. Vorbuckelung der Kapsel durch herdförmige runde Hefeanhäufungen. Vereinzelte Nekrosen am Stützgerüst, das homogenisiert und kernlos geworden ist; hier sind auch die Konturen der Hefen undeutlicher geworden.

Lunge wie bei II.

Inguinaldrüsen voll Hefen, das einhüllende Fettgewebe überschwemmt davon, die Lymphgefäßquerschnitte vollgestopft.

Mesenterialdrüsen verheft. Eine kleine Drüse im Zusammenhange mit dem Darm geschnitten. Der letztere frei.

Claviculardrüsen verheft.

IV. Meerschweinchen am 23. IV. 02 mit „1. Passage“ subcutan geimpft, gestorben 20. V. 02.

Kleine Hautfistel an der Einstichstelle. Nach Zurückschlagen der Haut, die an der Einstichstelle in Pfennigstückumfang adhären ist, kommt, den Bauchmuskeln fest aufsitzend, ein flaches, speckiges, graurotes Infiltrat zum Vorschein. Erbsengroße Drüse an der l. Inguinalbuge, rechts zwei solche. Peritoneum glatt und spiegelnd.

Auf der Milz viele, in der Lunge vereinzelte graue Knötchen. Nieren frei.

Keine Axillar- und Claviculardrüsen.

Bakteriologisch: Nur Wiederkultur aus Mesenterialdrüse möglich. Ausstrich reich an Hefen.

Histologisch: Bauchwandinfiltrat ist aufgebaut aus einem auf und in der Bauchmuskulatur gelegenen Granulationsgewebe, das zum größten Teile schon organisiert ist; die Oberfläche ulceriert und eitrig belegt. Keine Spur von Hefen.

Milz verheft.

Lungen frei.

Mesenterialdrüsen. Nur kleine Hefeherde; in dem Lymphsinus hat sich ein großzelliges Granulationsgewebe etabliert, das stellenweise runde tuberkelartige Herde bildet.

Kaninchen I, am 5. IV. 02 mit Aufschwemmung von Gelatinekultur (2. und 3. Abstrich von Originalkultur) intraperitoneal geimpft; am 16. V. 02 gestorben.

Sektionsprotokoll. Fünfpfennigstückgroßes, den Bauchdecken fest aufsitzendes Infiltrat an der Injektionsstelle.

Keine Inguinaldrüsen.

Im r. Ober- und Mittellappen ausgedehnte rote Hepatisation.

Bakteriologisch: Hefen nicht wiederzukultivieren.

Histologisch: Bauchdeckeninfiltrat: pilzförmiger Herd von Granulationsgewebe, gut abgegrenzt der Bauchwand aufsitzend; großzelliges Gewebe, im Zentrum des Herdes nekrotisch; vereinzelte Hefen.

Lunge und Nieren frei.

Kaninchen II, wie I nur subcutan 5. IV. 02 geimpft, gestorben am 25. VI. 02.

Sektionsprotokoll. An der Injektionsstelle nichts zu sehen; keine geschwellten Inguinaldrüsen. Einzelne Mesenterialdrüsen vergrößert, zum Teil erweicht. Sonst Organe o. B.

Bakteriologisch: Aus Mesenterialdrüsen, Milz, Herzblut keine Hefen zu kultivieren.

Histologisch: Umfängliche Nekrosen in den Mesenterialdrüsen, deren ursächlicher Zusammenhang mit der Hefeinjektion aber nicht wahrscheinlich zu machen ist (keine Hefen).

Die übrigen Organe frei.

Hund Vally (1jähriger gelber Zughund); am 31. V. 02 wird ihm eine Aufschwemmung von 1. und 2. Meerschweinchenpassage in die 2., 3. und 4. linksseitige Mamma injiziert (etwa je 3—5 ccm Aufschwemmung). Der Hund bekommt in den darauf folgenden Tagen schmerzhafte Infiltrationen der injizierten Brustdrüsen, bei leicht geröteter Haut, leichte Inguinaldrüsenschwellungen. Allgemeinzustand kaum wesentlich alteriert. Die Infiltrationen gehen langsam zurück, ohne Residuen zu lassen.

Am 25. VII. nochmalige Injektion in die 2., 3., 4. und 5. l. Mamma mit Aufschwemmung von mehrfacher Meerschweinchenpassage. Die Mammea werden leicht intumesciert, an der 4. Mamma eine kleine Hautulceration.

Am 1. VIII. Tod durch Erschießen.

Sektionsprotokoll. Leicht abgemagerter Hund. Die unterste (5.) Mamma unter leicht oedematöser Haut zu Walnußgröße angeschwollen; das Drüsengewebe ist sehr durchfeuchtet, schwammig, hier und da von grauroten Granulationsgewebszügen durchsetzt. Die 4. Mamma ist in derselben Weise, wenn auch nicht in gleichem Maße vergrößert, die gespannte Haut darüber an einer pfennigstückgroßen Stelle ulceriert.

2. und 3. Brustdrüse leicht oedematös.

Keine geschwellten Inguinal-, Clavicular- und Axillardrüsen. Brustorgane o. B., bis auf einzelne stecknadelkopfgroße subpleurale Knötchen.

Abdominalorgane: Milzpulpa nicht überquellend, normal.

Nieren: in der Rinde dicht unter der Oberfläche stecknadelkopf-große, gelbliche, scharf abgegrenzte Herde.

Mesenterialdrüsen leicht vergrößert.

Gehirn o. B.

Histologisches. Schnitte aus beiden intumescierten Mammae zeigen Ausführungsgänge und Acini von einem teils derbfaserigen, teils stark kleinzellig infiltrierten Bindegewebe umgeben. Die Züge des Neugewebes gehen auch in die darunter liegende Muskulatur. Keine Hefen nachweisbar.

Mesenterialdrüsen frei.

Nierenknötchen bestehen aus einem sehr großzelligen Granulationsgewebe, das so dicht ist, daß die Nierenstruktur vollkommen verdeckt ist.

Bei einem Knötchen in der Mitte beginnende Nekrose; keine Hefen.

Leberknötchen: außen eine Zone von kleinzelligem, konzentrisch angeordnetem Gewebe; dann großzelliges Gewebe, in der Mitte nekrotisches Gewebe mit Einlagerung von Kalkkrümeln; scharfe Grenze gegenüber dem Lebergewebe.

Wenn wir nun dazu kommen, die Ergebnisse unserer Tierversuche noch einmal kurz zu überblicken, so ergibt sich zunächst für die Impfungen mit der Leopoldschen Hefe, daß diese sich bezüglich einer akuten Reaktion auf den Tierkörper durchaus avirulent verhält. Auch Sternberg gibt dasselbe für seine Versuche mit der Hefe von Leopold an. Dieses Verhalten würde natürlich allein für sich keineswegs gegen eine Beziehung zu einer eventuellen geschwulsterzeugenden Fähigkeit dieser Blastomyzeten sprechen; im Gegenteil würde ein solches positives Verhalten nicht dem klinischen Verlauf der menschlichen bösartigen Tumoren entsprechen. Nun hat sich aber auch bei fortgesetzter längerer Beobachtung, nach 3, 7, 9 Monaten, ja nach $1\frac{1}{2}$ Jahren bei einer Anzahl Tiere, nichts ergeben, was als eine echte Tumorbildung im Zusammenhang mit den verimpften Hefen gedeutet werden könnte. Von dem zunächst auffallenden vereinzelten Befunde eines kleinen Tumors in der Niere einer Ratte war schon oben ausführlich die Rede. Nach genauer objektiver Untersuchung sind wir zu dem Resultat gekommen, daß es sich um den zufälligen Nebenbefund einer vielleicht hypernephromähnlichen kleinen Geschwulst handelt. Der kulturelle Nachweis der Hefen ist nicht gelungen und die mikroskopischen Reaktionen im Schnitt sprechen dagegen, vereinzelte Hefen anzunehmen, worauf das Aussehen der mit den

gewöhnlichen Kernfarben hergestellten Präparate zunächst etwas verdächtig war. Nach unserer Meinung handelt es sich am wahrscheinlichsten um in Degeneration begriffene Zellen der Neubildung, die ein etwas eigenümliches Aussehen bei gewissen Färbungen angenommen haben. Immerhin ist die Erfahrung mit diesem kleinen Tumor wichtig für die Beurteilung solcher Tierversuche und mahnt zur Vorsicht. Wir möchten auch glauben, daß der bekannte Fall von Sanfelice ebenso zu beurteilen ist, der nach einer Injektion seines *Saccharomyces neoformans* in der Brustdrüse einer Hündin (etwas über einen Monat nachher, — das wäre ein sehr rasches Wachstum!) ein Karzinom (Adenokarzinom) entstehen sah mit Metastasen in den zugehörigen Lymphdrüsen¹⁾. Da die Hefen kulturell trotz der relativ kurzen Zeit nach der Impfung nicht mehr kultivierbar waren, und es mit der Deutung einzelner Hefen im Gewebe seine Schwierigkeiten hat, wie alle erfahrenen Kenner der Blastomyceten zugeben, so scheint mir dieser vereinzelte Fall, dem sich noch ein zweiter (Hodengeschwulst, aber ohne Lymphdrüsenmetastasen) anschloß, ebenso zu deuten zu sein, wie unsere Erfahrung. Wir stimmen mit Sternberg völlig überein in dieser Auffassung, der ausgerechnet hat, daß nach großen Statistiken die Prozentzahlen der bei Hunden überhaupt zu beobachtenden Karzinome etwa übereinstimmen mit den positiven Fällen Sanfelines im Verhältnis zu der Zahl der verwendeten Versuchstiere.

Dagegen erwies sich im Gegensatz zu der Leopoldschen Hefe der *Saccharomyces neoformans* von Sanfelice auf eine Anzahl Versuchstiere als recht virulent. Was wir aber von Reaktion bei den Tieren gesehen haben, entsprach makroskopisch und mikroskopisch lediglich dem, was man als „Hefetumoren“ bezeichnet hat, d. h. einer Vermehrung der Hefen im Tierkörper, die schon durch ihre Masse dem bloßen Auge als geschwulstähnliche Produkte erscheinen unter mehr oder weniger ausgiebiger Mitwirkung eines plastischen Granulationsgewebes. Auch bei diesen Versuchen ist uns nichts begegnet, was entfernt mit einer echten malignen Geschwulst,

¹⁾ Über die pathogene Wirkung der Blastomyceten. V. Abhandlung, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XXIX. 1898.

San felic esche Hefe.						
Tier	Art der Infektion	Nr.	Datum der Infektion	Datum des Todes	Beobachtungs-dauer	pathologisch-anatomischer Befund
Meerschweinchen	subcutan	1	5. IV. 02	18. IV. 02 (getötet)	13 Tage	Infiltrat an der Injektionsstelle. Ingualndrüsen infiltriert. Ingualndrüsen und Mesenterialdrüsen infiltriert. Milz, Netz (!), Lungen befallen.
Meerschweinchen	intraperitoneal	2	5. IV. 02	25. IV. 02 (gestorben)	20 Tage	Infiltrat an der Injektionsstelle. Clavicular, Ingualndrüsen und Mesenterialdrüsen, Milz und Lungen befallen.
Meerschweinchen	intraperitoneal	3	5. IV. 02	26. IV. 02 (gestorben)	21 Tage	Infiltrat an der Injektionsstelle. Clavicular, Ingualndrüsen und Mesenterialdrüsen, Milz und Lungen befallen.
Meerschweinchen	subcutan	4	23. IV. 02	20. V. 02 (gestorben)	27 Tage	Ingualndrüsen mit sicheren Hefen. Milz. Infiltrat an der Injektionsstelle nur noch entzündlich, keine Hefen mehr.
Kaninchen	intraperitoneal	38	5. IV. 02	16. V. 02 (gestorben)	41 Tage	Infiltrat an der Injektionsstelle mit spärlichen Lungenverdichtungen ohne Hefen.
Kaninchen	subcutan	39	5. IV. 02	25. VI. 02 (gestorben)	80 Tage	An der Injektionsstelle nichts. Kein Befund.
Hund	in die Mammae		Vally	31. V. 02 und 26. VII. 02	60 Tage	Mammæ mit Granulationsgewebe durchsetzt. Keine Hefen.

einem Sarkom oder Karzinom, zu identifizieren wäre. Weder an den mesenchymalen Geweben noch am Epithel war auch nur der Ansatz zu einer atypischen Wucherung festzustellen. Im einzelnen konnten wir größtenteils bestätigen, was von früheren Untersuchern über die Wirkung pathogener Hefen auf den Tierkörper beobachtet wurde. In manchen Fällen scheinen die Hefen wirklich nur durch ihre Masse zu wirken (z. B. Meerschweinchen II, Netztumor), fast ohne jede entzündliche Reaktion des Körpers und Beteiligung von entzündlicher Neubildung zum Substrat des „Tumors“. In den allermeisten Fällen aber konnten wir beobachten, daß je nach dem mehr oder weniger chronischen Verlauf eine sehr ausgesprochene entzündliche Granulationswucherung und ein aggressives Vordringen gegen die Gewebe z. B. die Körpermuskulatur (Fig. 2, Taf. V) festzustellen war. Es wäre ja auch sehr merkwürdig, wenn der Körper gegenüber Infektionserregern, die sich in ihm vermehren, also einen günstigen Nährboden in ihm finden, so wenig Reaktion zeigen würde.¹⁾ Aber die verschiedenen Hefearten verhalten sich offenbar in dieser Beziehung sehr verschieden. Wird der Prozeß chronischer, so tritt an die Stellen akut entzündlicher Infiltration ein Granulationsgewebe, das aus epitheloiden Zellen mit großen Kernen sich aufbaut. Riesenzellen haben wir weniger gefunden. Dieses stellenweise recht großzellige Granulationsgewebe ist es offenbar, das gelegentlich zu der Annahme eines positiven Impferfolges quoad Sarcom geführt hat. Das ganze histologische Bild und der mangelnde progreidente Charakter des neugebildeten Gewebes spricht aber sofort gegen eine solche Auffassung. Obgleich das Granulationsgewebe bei der Blastomykose nicht sehr zur Nekrose tendiert, kommen doch kleinere solche Herde zur Beobachtung und sie können etwas an tuberkulöses Granulationsgewebe erinnern. Besonders bei Hund V. war das der Fall; aber es war der absolut sichere Beweis nicht zu führen, daß die betreffenden Herde wirklich blastomykotischer Natur waren, weil weder kulturell noch mikroskopisch mit Sicherheit die Erreger nachzuweisen waren.

1) Vgl. eine diesbezügliche Bemerkung von v. Baumgarten in seinen Jahresberichten.

Das Resultat unserer Tierversuche ist also bezüglich der Frage, ob die untersuchten Hefestämme imstande sind, im Tierkörper echte Neubildungen hervorzurufen, die mit den malignen Geschwülsten, dem Karzinom oder Sarkom, übereinstimmen, durchaus ein negatives. Wenn eine Reaktion der Hefen auf den Tierkörper überhaupt eintritt, wie bei der Sanfeliceschen Hefe, so geschieht dies in Form einer einfachen Entzündung, die, wenn der Prozeß chronischer verläuft, in ein plastisches Granulationsgewebe übergehen kann. Ein solches muß auch Leopold in dem Fall vorgelegen haben, den er als Riesenzellensarkom deutet. Die Mitteilungen von Wlaeff z. B. sind ebenso zu beurteilen.¹⁾ Es ist für die Beurteilung solcher Befunde weiterhin die Tatsache hinzunehmen, daß Tiere nicht selten spontan an Tumoren erkranken und so ein positives Impfergebnis vorgetäuscht werden kann (Fälle von Sanfelice, unser Tumor bei der einen Ratte).

Wir hatten uns vorgenommen, Untersuchungen über das Vorkommen von Hefen in malignen menschlichen Tumoren anzuschließen, wenn sich uns aus den Tierversuchen ein Anhalt für eine Beziehung ergeben würde. Der Ausfall unserer Versuche hat uns aber nicht ermuntert, der Frage nach einem Zusammenhang von pathogenen Hefen und echter Geschwulstbildung weiter nachzugehen. Übrigens hat sich eine Reihe von Untersuchern dieser Mühe schon unterzogen, fast alle mit negativem Resultat, wenn die Tumoren natürlich nicht exulceriert waren, z. B. Exner und Petersen, Sternberg, Busse²⁾. Nach diesen Ergebnissen sorgfältiger Untersuchungen möchten wir fast glauben, daß es kaum mehr aussichtsreich erscheint, die Beziehungen gewisser Hefearten zu den malignen Tumoren noch weiter zu verfolgen. Ob die modernen Bemühungen, Protozoen an die Stelle der Hefen zu setzen, von mehr Erfolg gekrönt

¹⁾ Auch Ziegler hat sich auf dem Internationalen Kongreß in Paris 1900 gegen die Auffassung dieses Autors von einem Zusammenhang pathogener Hefen mit wahrer Geschwulstbildung ausgesprochen.

²⁾ Wenigstens sagt Busse, daß er gewöhnlich keine Hefen in den Tumoren gefunden habe, wenn sie nicht exulceriert waren. (Verhandlungen der Deutsch. Pathol. Gesellschaft, Berlin 1904. Diskussion zu dem Vortrage von Henke.)

sein werden und dem entscheidenden Tierversuche standhalten dürften, bleibt abzuwarten. Vorläufig haben alle diese Bestrebungen ätiologischer Forschung über die Genese der Tumoren nach unserer Meinung kein eindeutiges Resultat ergeben. Es geht unseres Erachtens auch viel zu weit, die parasitäre Natur der Geschwülste als ein wissenschaftliches Postulat zu proklamieren. Andererseits soll nicht geleugnet werden, daß auch die gegnerische Partei zu weit geht, wenn sie ebenso strikte die Unmöglichkeit einer parasitären Genese der malignen Geschwülste erklärt. Vielleicht ist die Ursache der bösartigen Geschwülste gar keine einheitliche, sondern im Gegenteil von sehr verschiedenartigen Noxen abhängig, unter denen Entwicklungsstörungen wohl sicher eine große Rolle spielen.

Erklärung der Abbildungen auf Taf. V.

- Fig. 1. Randstelle des kleinen Nierentumors einer Ratte. Nach unten im Bilde die angrenzende normale Nierensubstanz. Vgl. den Text Zeiss AA Oc. II. Häm.-Eosin.
- Fig. 2. Meerschweinchen II (Sanfelicesche Hefe). Vordringen der Blastomyzeten in die Bauchmuskulatur unter entzündlichen Erscheinungen.

V.

Experimentelle Beiträge zur Frage kongenitaler Tuberkelbazillenübertragung und kongenitaler Tuberkulose.

Von
Friedrich Franz Friedmann in Berlin.

Die im folgenden beschriebenen Untersuchungen, zu deren Veröffentlichung ich aus äußeren Gründen erst jetzt komme, wurden im Sommer 1901 im hiesigen anatomisch-biologischen und hygienischen Universitätsinstitut begonnen und im Jahre 1903 abgeschlossen.

Die Geldmittel zu diesen Arbeiten wurden mir zum Teil von der hohen Berliner Fakultät aus der Gräfin Bose-Stiftung,