

(Aus der Prosektur der Krankenanstalt „Rudolfsstiftung“ in Wien.
Stellvertr. Leiter: Dr. *Fritz Paul*.)

Zur Morphologie des Lyssaerregers.

Von

Dr. **Fritz Paul** und Dr. **Fritz Schweinburg**.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. März 1926.)

Im Jahre 1924 erschien eine Mitteilung von *Manouélian* und *Viala* über einen von ihnen entdeckten Erreger der Wut, den sie „*Encephalitozoon rabiei*“ nannten und in jedem Falle von natürlicher und experimenteller Straßenwut, vereinzelt auch bei Wut durch Virus fixe, in den verschiedensten Teilen des Gehirns und Rückenmarkes, ferner in den Cerebrospinal- und sympathischen Ganglien und endlich in den Speicheldrüsen nachweisen konnten.

Zu diesem Nachweise wird eine bestimmte Fixations- und Einbettungstechnik des Materials verlangt, die sich aber grundsätzlich in keiner Weise von der bisher geübten histologischen Technik unterscheidet.

Diese Mitteilung war umso auffallender, als danach die von ihnen beschriebenen Gebilde von den zahlreichen Forschern übersehen worden sein mußten, die sich, insbesondere seit der Entdeckung der *Negrikörperchen* (N.K.) und auch schon vorher, mit dem ätiologischen Problem der Lyssa histologisch beschäftigt hatten. Die meisten von ihnen haben noch dazu mit einer histologischen Technik gearbeitet, die sich nur unbedeutend in der Fixierungsflüssigkeit, gar nicht in der Färbemethode von der Methodik *Manouélians* und *Vialas* unterscheidet.

Da nach den Angaben *Manouélians* und *Vialas* und den der Arbeit beigegebenen Abbildungen der Nachweis dieser Gebilde sehr leicht gelingt, lag darin ein Widerspruch, der dringend einer Aufklärung bedurfte. Deshalb entschlossen wir uns zu einer Nachprüfung, zumal bisher eine solche unseres Wissens nicht vorliegt.

Im Verlaufe dieser Untersuchungen, die, wie gleich vorweggenommen sein soll, durchwegs ergebnislos verliefen, ergaben sich Befunde, die es uns wünschenswert erscheinen ließen, zu den in der Literatur vorliegenden Deutungen der für die Lyssa charakteristischen *Negrikörperchen* Stellung zu nehmen.

Die von *Negri* erstmalig beschriebenen Gebilde in den Ganglien-zellen haben sich bei allen Nachprüfungen als spezifisch für die Lyssa erwiesen. Ihr diagnostischer Wert ist über allen Zweifel erhaben. Doch stand von Anfang an die Frage im Mittelpunkt der Erörterung, was diese sog. *Negrikörperchen* eigentlich wären. Sie ist bis heute noch keineswegs gelöst, weil man zu ihrer Klärung ausschließlich auf das Ergebnis histologisch-morphologischer Untersuchungen angewiesen ist. Die Kultur eines für die Lyssa spezifischen Erregers ist bisher nicht ge-glückt. Die Angaben *Noguchis* einer gelungenen Züchtung des Lyssaeerregers haben den Nachprüfungen nicht standgehalten (*Volpino*, *Kraus* und *Barbara* u. a.).

Wenn auch von vorliegender Arbeit, die sich gleichfalls nur auf histologisch-morphologische Untersuchungen stützt, infolgedessen keine endgültige Lösung des Probléms zu erwarten ist, so können doch durch genaue Untersuchungen dieser Art zumindest einige Hypothesen über die Entstehung der N.K. widerlegt werden.

Das Material unserer Untersuchungen stammt zum größten Teile aus der „Staatl. tierärztl. diagnostischen Station“ in Mödling, deren Leiter, Direktor Dr. *Franz Gerlach*, uns in der liebenswürdigsten Weise fortlaufend sein reiches Material an Straßenwutgehirnen zur Verfügung stellte, wobei er selbst die Auswahl der geeigneten Präparate und zum Teile auch deren Fixierung besorgte, wofür wir ihm zu allergrößtem Danke verpflichtet sind. In den Kreis unserer Untersuchungen wurden fallweise auch Gehirne einbezogen, die aus dem Materiale der Staatl. Schutzimpfungsanstalt gegen Wut und der Prosektur der Kranken-anstalt „Rudolfsstiftung“ stammten.

Im ganzen gelangten 117 Gehirne (fast ausschließlich das Ammons-horn) *negripositiver* Straßenwutfälle zur Untersuchung. Davon stammten von wutkranken Hunden 74, von Pferden 2, von Rindern 4, von Katzen 3, von Ziegen 1, von Menschen 4 (in 2 von diesen Fällen wurden auch Rücken-mark und Speicheldrüsen untersucht), von *Kaninchen* (Straßenwut) erste Passage 6, zweite Passage 5, dritte Passage 1, vierte Passage 1, zehnte Passage 1, und endlich von Meerschweinchen (Straßenwut erste Passage) 1. Außerdem wurden von *Kaninchen* mit *Virus fixe Lyssa* 13 Ammonshörner untersucht.

Angewandte Technik: Wir gingen zunächst genau nach den Angaben *Manoué-lians* und *Vialas* vor und fixierten einen Teil der Ammonshörner in der Flüssigkeit von *Dominici*, den anderen in der Fixierungsflüssigkeit nach *Gilson* und als wir die grundsätzliche Brauchbarkeit beider Methoden genügend erprobt hatten, im späteren Verlaufe fast durchwegs nach *Gilson*. Zum Vergleich wurde häufig parallel auch 10 proz. Formalin, *Zenkersche* Flüssigkeit und Sublimat-alkohol zur Fixierung herangezogen. Letztere Fixierung ergab die besten und für jede Färbemethode brauchbarsten Bilder. Für bestimmte Einfachfärbungen (siehe später) leistete Fixierung in Alkohol oder Formolalkohol nach *Schaffer* die besten Dienste.

Die kombinierte Einbettung in Celloidin und Paraffin, wie sie *Manouélian* und *Viala* vorschreiben, hielten wir für entbehrlich, da der Zweck dieser Doppel-

einbettung, nämlich die Herstellung möglichst dünner, ungefalteter und zusammenhängender Schnitte, auch bei alleiniger Paraffineinbettung anstandslos gelingt.

An Färbemethoden wurden angewendet: Hämalaun, Hämalaun-Eosin, Hämalaun-Safranin mit Tannindifferenzierung, *Heidenhains* Eisenhämatoxylin, polychromes Methylenblau nach *Unna*, protrahierte Thioninfärbung, protrahierte Toluidinblaufärbung, Hämatoxylin-Picrofuchsin, Methylgrün-Pyronin nach *Pappenheim*, Hämalaun-Mucicarmine, Lithioncarmin-Muchämatein, Färbung nach *Giemsa*, nach *Mann*, nach *Lentz*, nach *Stutzer*, nach *Krogh*, sowie nach *Benedek* und *Porsche* (alle 3 Färbemethoden). Außerdem wurde die Silberimprägnation nach *Bielschowsky-Maresch* und die Nuclealreaktion nach *Feulgen* und *Rossenbeck* ausgeführt.

Schließlich hat uns eine Färbemethode sehr gute Dienste erwiesen, die der langjährige Laborant der Prosektur des Franz-Josefsspitals, *Franz Schönwetter*, in Anlehnung an die Methode nach *Lentz* zusammengestellt hat.

Die Methodik dieser Färbung ist folgende: Die Paraffinschnitte kommen nach vorheriger Entparaffinierung aus destilliertem Wasser in die Farblösung.

1. Lösung I: 10 Min.
2. Kurz abspülen mit Aqua dest.
3. Lösung II: 1 Min.
4. Mit zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnter Lugolscher Lösung abspülen und dieselbe Lösung 1 Min. auf dem Schnitt belassen.
5. Abtrocknen mit glattem Filterpapier.
6. Alkalischer Alkohol nach *Lentz* bis der Schnitt rostbraun.
7. Abspülen mit Aqua dest.
8. 2 proz. Fixiernatronlösung bis der Schnitt blau.
9. Abspülen mit Aqua dest.
10. Saurer Alkohol nach *Lentz*.
11. Absoluter Alkohol, Xylol, Balsam.

Lösung I: Ad 5 cem einer 1 proz. wässerigen Eosinlösung adde 0,25 neutrales 40 proz. Formol.

Lösung II: Löfflers Methylenblau 5 cem
Aqua dest. 10 „

Die Vorteile dieser Methode sind: relative Einfachheit und kurze Dauer, äußerst scharfe Färbung der *Negrikörperchen* mit ausgeprägter Darstellung der Innenstruktur, die sich von dem fast farblosen bis lichtblauen Gewebe als *einige* rotgefärbte Gebilde äußerst scharf abheben, wodurch ganz besonders das Suchen der kleinsten Formen der *Negrikörperchen* erleichtert wird. Nur die roten Blutkörperchen sind noch eosinrot gefärbt, jedoch in einer von den *Negrikörperchen* deutlich unterschiedenen Farbentonung.

Die *Negrikörperchen* erscheinen rosarot bis dunkleosinrot bis dunkelviolett, die Innenkörperchen stärker lichtbrechend, rosarot mit blauvioletten Punkten und Innenfiguren, Gliagewebe und Protoplasma der Ganglienzellen fast farblos, Ganglienzellkerne lichtblau, nur die Nucleolen und Gliakerne tief dunkelblau.

Andere Färbungen, von denen fast jeder Untersucher eine eigene angibt, haben wir deshalb nicht zur Untersuchung herangezogen, weil aus den Beschreibungen der Autoren hervorgeht, daß keine grundsätzlichen Unterschiede gegenüber den vorstehend angeführten Methoden bestehen.

Auch ergeben sich mit ihrer Hilfe keine neuen Einblicke in die Struktur der Negrikörperchen, die mit allen Färbungen gleiche Strukturbilder zeigen, wie sie auch die Betrachtung von Nativpräparaten gewährt.

An Färbemethoden sollen hier noch erwähnt sein: Die von *Borell* (modifizierte Eosin-Methylenblaufärbung), *Volpino* (Pikrocarmin, Methylenblau, Pikrinalkohol), *Amato* und *Fagella* (Methylgrün-Pyronin), *Andriani* (Malachitgrün-Orange G. mit nachfolgender Chromierung), *Epstein* (Fuchsin S, Thionin und Aurantia), *San Felice* (Safranin-Malachitgrün), *Neri* (jodiertes Eosin-Methylenblau), *Moon* (modifizierte van Giesonfärbung), *Gerlach* (Carbofuchsin-Methylenblau), *Gallego* (Eisensalpetersäure-Essigsäurefuchsin, Picroindigocarmin) usw.

Einige Worte zur *Mann*-Färbung: Bei vielen Autoren (*Lentz*, *San Felice*, *Epstein* u. a.) findet sich die Angabe, daß sich in den nach dieser Methode gefärbten Schnittpräparaten die Nucleolen der Ganglienzenellen mit demselben Eosin-ton rot färben, wie die Negrikörperchen, was zu diagnostischen Schwierigkeiten Veranlassung gebe. Diese Farbengleichheit hat aber auch zu falschen Schlüssen über die Genese der Negrikörperchen geführt.

Demgegenüber sei festgestellt, daß es bei Fixierung nach *Gilson*, aber auch nach *Zenker* und in Sublimatalkohol bei entsprechender Differenzierung stets gelingt, Schnitte zu erhalten, in denen die Nucleolen blau, die Negrikörperchen aber rot erscheinen, bei *Formalinfixierung* ist dieses Verhalten sogar die Regel. Diese Feststellung scheint uns besonders wichtig gegenüber den mehrfach vertretenen Ansichten über die Genese der N.K. Wir werden darauf im späteren eingehend zurückkommen zu haben.

Wie bereits erwähnt, verfolgten unsere Untersuchungen zwei verschiedene Zwecke, nämlich 1. Nachprüfung der Befunde *Manouélians* und *Vialas*, 2. Untersuchungen über Morphologie und Histogenese der Negrischen Körperchen.

Ad 1. Über diesen Teil der Untersuchungen können wir uns kürzer fassen. Es gelang uns bei keinem einzigen Falle von natürlicher oder experimenteller Straßenwut, bei keiner Tierart (auch nicht beim Menschen), mit keiner Fixierung und keiner Färbung trotz genauerer Durchmusterung von über 1000 durchwegs negripositiven Schnittpräparaten irgendein Gebilde zu finden, das uns berechtigen würde, abgesehen von den Negrikörperchen (auch den kleinsten Formen) einen eigenen, von den Negrikörpern verschiedenen Erreger im Sinne *Manouélians* und *Vialas* anzunehmen. Es erscheint ausgeschlossen, daß derartige, in Form und Färbbarkeit von den Negrikörperchen verschiedene Gebilde, wenn überhaupt vorhanden, unseren Augen entgangen wären, besonders da die Technik solcher Untersuchungen uns seit Jahren geläufig ist. Dieser Widerspruch bedurfte einer Aufklärung, weshalb wir uns durch Herrn Prof. *Kraus* unter Vermittlung von Prof. *Levaditi* an Herrn *Manouélian* mit der Bitte wandten, uns Originalpräparate zur Verfügung zu stellen. Diese Bitte blieb leider aus uns unbekannten Gründen unerfüllt. Durch die Unmöglichkeit einer Einsicht in die Originalpräparate ist eine Stellungnahme zu den Befunden von *Manouélian* und *Viala* naturgemäß sehr erschwert. Erwägungen über die Ursache des Widerspruches zwischen

den Befunden von *Manouélian* und *Viala* und uns können nur hypothetischen Wert haben. Trotzdem wollen wir im nachfolgenden den Versuch einer Aufklärung des Gegensatzes mit allen Vorbehalten machen.

Wenn wir die Beschreibung, die *Manouélian* und *Viala* von ihren Erregern geben, Punkt für Punkt durchgehen und gleichzeitig die ihrer Arbeit beigegebenen Abbildungen betrachten, so drängt sich eine Reihe von Einwänden auf. Zunächst, was den behaupteten Unterschied zwischen ihren Parasiten und den N.K. anlangt. Da uns Originalpräparate, wie bereits erwähnt, nicht zur Verfügung standen, können wir nur nach unseren Präparaten urteilen, wo in nach *Mann* gutgefärbten Schnitten die weitaus überwiegende Zahl der N.K. leuchtend eosinrot gefärbt erscheint, also dem, was *Manouélian* und *Viala* mit den Worten „un teint rose vif“ für ihren Erreger als charakteristisch bezeichnen, genau entsprechend. Wenn sich auch hier und da einzelne N.K. rot mit einem leichten Stich ins Orange färben, so darf man aus diesem Farbunterschied nicht schließen, daß rot und rotorange gefärbte Gebilde verschiedener Natur sein müssen. Selbst in gut gelungenen *Mann*-Präparaten können die N.K. an verschiedenen Stellen des gleichen Schnittes, ja oft in der gleichen Nervenzelle, wechselnde Farbtönungen von rotviolett über leuchtendrot bis rotgelblich darbieten. Ganz unrichtig ist weiter die Behauptung, daß die N.K. fast immer kreisrund sind, denn das gilt nicht einmal für die großen Formen, noch viel weniger für die kleinen Formationen *Negris*, die ganz so wie die Parasiten von *Manouélian* und *Viala* häufig „länglich, birn-, spindel- und schiffchenförmig“ angetroffen werden. Um dies zu beweisen, brauchen wir gar nicht auf unsere Untersuchungen einzugehen, sondern können auf die Beschreibungen und Abbildungen von *Negri*, *Koch* und *Riessling*, *Koch*, *Lentz* u. a. verweisen. Auch sind die N.K. durchaus nicht immer von einem lichten Hofe umgeben. Die Innenkörper der Parasiten *Manouélians* und *Vialas* verhalten sich bei allen Färbungen genau so, wie die basophilen Einschlüsse der Innenkörper der großen N.K., respektive wie die basophilen Einschlüsse der kleinen N.K. Anscheinend erkennen *Manouélian* und *Viala* nur die großen Gebilde als N.K. an und betrachten die kleinen N.K. als ihren eigenen Parasiten. Aus den Angaben über die Größe dieser Erreger geht hervor, daß sie sich von den kleinen Formen *Negris* auch darin gar nicht unterscheiden. Wenn wir die Abbildungen *Manouélians* und *Vialas* näher ansehen, so können wir ruhig behaupten, daß jedes einzelne Exemplar ihres Parasiten irgendeiner Erscheinungsform der N.K. in Form und Größe (Färbbarkeit) entspricht, wie sie uns nicht nur aus eigenen Untersuchungen, sondern auch aus den Beschreibungen und Abbildungen vieler anderer Untersucher geläufig ist. Es sei da nur auf die Abbildungen in der ersten Arbeit *Negris* aus dem Jahre 1903 verwiesen, wo einzelne Bilder eine geradezu verblüffende

Ähnlichkeit mit denen von *Manouélian* und *Viala* aufweisen (Vgl. Taf. 6, Abb. 2 der Orig.-Arb. *Negrис*).

Auch die kleinsten strukturlosen, eben die Sichtbarkeit erreichenden Erscheinungsformen der Parasiten von *Manouélian* und *Viala* wurden bereits von *Babes*, *J. Koch* und *Riessling* u. a. beschrieben und als früheste Entwicklungsformen eines Parasiten aufgefaßt. Es ist auffallend, daß diese wichtigen Arbeiten genannter Verfasser der Aufmerksamkeit *Manouélians* und *Vialas* entgangen sind oder wenigstens von ihnen nicht angeführt wurden. Was die Angaben *Manouélians* und *Vialas* anlangt, daß die kleinen Gebilde in der Nervenzelle agglutiniert werden und dann die großen Negrikörperchen bilden, so werden wir noch im späteren auf diese Frage zurückkommen. Wir müssen aber schon hier darauf aufmerksam machen, daß nach *Manouélians* und *Vialas* Auffassung von der Entstehung der N.K. die von allen Autoren bekannten kleinen Negrikörperchen überhaupt nicht vorhanden sein könnten, wenn sie nicht mit den Parasiten *Manouélians* und *Vialas* identisch wären.

Ein einziger Umstand unterscheidet die Zeichnungen *Manouélians* und *Vialas* von den geläufigen Bildern der Nervenzellen bei der Lyssa. Sie bilden nämlich die sog. Parasiten in ganz außerordentlichen Mengen in einer Nervenzelle ab. Diesen Unterschied können wir allerdings nicht erschöpfend aufklären. Immerhin können Zufälligkeiten des Materials eine Rolle spielen, weil auch uns Fälle unterkamen, wo wir die N.K. in großer Zahl in einer Nervenzelle antrafen (s. Abb. 1). Solche Bilder aber, wie sie auf Tafel 4 in der Arbeit von *Manouélian* und *Viala* (offenbar schematisch?) abgebildet sind, in denen die ganze Nervenzelle mit ihren Ausläufern von den Parasiten förmlich ausgestopft ist, haben wir nie gesehen. Es ist bemerkenswert, daß auch kein anderer Autor jemals derartige Parasitenmengen (Negrikörperchen, staubförmige Granulationen) in einer Zelle abgebildet hat. Die Richtigkeit der Abbildungen zugegeben, scheint es uns aber keineswegs berechtigt, nur aus der großen Zahl der Gebilde, bei gleicher Form, Größe und Färbbarkeit einen grundsätzlichen Unterschied gegenüber den N.K. abzuleiten.

Wir müssen daher, wenigstens solange wir keine Originalpräparate von *Manouélian* und *Viala* gesehen haben, an der Ansicht festhalten, daß *Manouélian* und *Viala* nichts anderes beschrieben haben als kleine Negrikörperchen.

Eine Frage für sich sind die Parasitenbefunde *Manouélians* und *Vialas* in den Speicheldrüsen bei Lyssa. Bekanntlich sind von zahlreichen Untersuchern so gut wie nie Negrikörperchen in den Speicheldrüsen gefunden worden. In der Literatur liegt unseres Wissens nur eine Angabe von *Stefanescu* vor, der sie in einem Falle von Straßenwut im Drüsengewebe nachgewiesen haben will. *Manouélian* selbst hat seinerzeit unbedingt typische N.K. in den Ganglienzellen der intraglandulären

Ganglien, nicht aber im Drüsenparenchym gefunden. Nach seiner Angabe ist es oft sehr schwierig, im Drüsengewebe Zelltrümmer und besonders Kernfragmente polynukleärer Leukocyten von den N.K. zu unterscheiden. *Amato*, der sich sehr eingehend mit der Histopathologie der Speicheldrüsen bei Wut befaßte, fand in zahlreichen Untersuchungen niemals N.K., wohl aber hier und da Körperchen, die eine gewisse Ähnlichkeit mit diesen haben, aber immerhin von ihnen zu unterscheiden und zweifellos als Zell(Kern)trümmer aufzufassen sind. Ebenso hatte *Ganslmeier* bei Untersuchung von 67 Speicheldrüsen wutkranker Tiere stets negative Resultate zu verzeichnen. Ausreichende eigene Erfahrungen über Speicheldrüsen fehlen uns infolge Materialmangels. In zwei untersuchten Fällen negripositiver menschlicher Wut haben wir Negrikörperchen in den Speicheldrüsen vergeblich gesucht, aber auch keine Gebilde gefunden, die denen von *Manouélian* und *Viala* irgendwie entsprochen hätten.

So können wir zu dieser Frage nicht entscheidend Stellung nehmen. Immerhin gilt hier dasselbe, was wir bereits bei den Gehirnbefunden *Manouélians* und *Vialas* gesagt haben, daß sich nämlich die von ihnen in den Speicheldrüsen abgebildeten Körperchen in keiner Richtung von den kleinsten Negrikörperchen beziehungsweise von den „staubförmigen Granulationen“ (*Babes, J. Koch*) unterscheiden lassen.

Zusammenfassend ist also zu sagen, daß die Befunde von Manouélian und Viala sie nicht zur Behauptung berechtigen, einen eigenen Erreger der Lyssa entdeckt zu haben. Alles was sie als Parasiten beschrieben und abgebildet haben, entspricht vollkommen irgendwelchen Formen der Negrischen Körperchen oder den Babes-Kochschen staubförmigen Granulationen.

Ad 2. Ursprünglich hatten wir gar nicht die Absicht, uns mit der Morphologie und Histogenese der Negrikörperchen zu beschäftigen; da ja das Schrifttum über diese Fragen ein derart reichhaltiges ist, daß es eigentlich müßig erscheinen mußte, nochmals nur auf Grund histologischen Materials auf dieses Thema zurückzukommen. Wenn wir uns trotzdem entschlossen haben, dieser Frage näher zu treten, so liegen dafür zwei Gründe vor.

Erstens glauben wir, bei der Durchsicht unserer Präparate manches gesehen zu haben, was von früheren Autoren vielleicht nicht bemerkt oder nicht entsprechend gewürdigt wurde und doch geeignet scheint, einiges Licht auf die Herkunft der N.K. zu werfen.

Zweitens ist die Literatur über Bedeutung und Entstehung der N.K. in den ersten Jahren nach ihrer Entdeckung zwar überaus groß, aber seit den zusammenfassenden Referaten von *Negri-Luzzani* und *J. Koch* (im Handbuch von *Kolle-Wassermann*) im Jahre 1913 nur durch zwei Arbei-

ten von Bedeutung bereichert worden, nämlich von *San Felice* im Jahre 1916, der die N.K. von den Nucleolen der Ganglienzellen ableitet, und durch die monographische Darstellung von *Benedek* und *Porsche* im Jahre 1922, die gleichfalls auf diesem Standpunkt steht. Gerade diese Arbeiten, auf die unseres Wissens bisher kein Widerspruch erfolgt ist und die so gewissermaßen abschließend über die Entstehung der N.K. dahin urteilen, daß sie von den aus dem Kern ausgetretenen Kernkörperchen abzuleiten seien, haben uns veranlaßt, dazu Stellung zu nehmen, eben weil wir diese Ansicht nicht teilen können.

In diesem Zusammenhange dürfte es von Wert sein, hier die bisher im Schrifttum geäußerten Meinungen und Hypothesen über die Natur und Entstehung der *Negrikörperchen* anzuführen.

Im Jahre 1903 beschrieb *Negri* charakteristische Gebilde in den Ganglienzellen bei der Straßenwut, die einen regelmäßigen Befund darstellten und bei zahlreichen Kontrolluntersuchungen in normalen und pathologisch veränderten Gehirnen niemals zu finden waren. Er faßte sie als die spezifischen Parasiten der Wut auf und glaubte in der Folge, den ganzen Entwicklungszyklus dieses Protozoons (*Neurocytes hydrophobiae Calkins*) in Schnitt- und Ausstrichpräparaten darstellen zu können. Diese Befunde wurden bald von vielen Nachuntersuchern bestätigt. *Babes* hatte schon früher diese Gebilde gesehen, ohne ihnen jedoch die charakteristische Bedeutung zuzuerkennen, die ihnen tatsächlich zukommt. Die ersten Nachuntersucher beschränkten sich auf das rein Morphologische, ohne in die Deutung näher einzugehen. Nur *Amato* hat schon 1904 eine Reihe von Bedenken gegen die parasitäre Theorie *Negrismus* vorgebracht. Bald darauf entwickelte sich eine lebhafte Erörterung über die Natur dieser Gebilde, die bis heute nicht zur Ruhe gekommen ist.

Zunächst wurde die Bedeutung der Innenkörper bei den *Negrischen* Gebilden studiert. *Volpino* stellte die Theorie auf, daß nur die basophilen Einschlüsse in den N.K. die Parasiten der Wut darstellen. Mit ihm fassen *Babes*, *Lipschütz*, *J. Koch* und *Rissling* u. a. die Hülle als Reaktion der Zelle auf den einge drungenen Erreger auf und sehen somit die Innenkörper als die eigentlichen Erreger der Lyssa an, die nach dieser Auffassung echte Clamydozoen im Sinne von *v. Prowazek* wären.

Von den Verfassern, die sich nur gegen die Parasitentheorie in jeder Form aussprechen oder zumindest an ihr zweifeln, ohne eine eigene Meinung über die Natur der *Negrikörperchen* zu äußern, wie *Amato* und *Fagella*, *Steinhart*, *Bohne*, *Pace* u. a. kann hier abgesehen werden.

Lentz, dessen Färbung für die feinere Morphologie der N.K. Vortreffliches leistet, glaubt, die N.K. ganz analog seinen Passagewutkörperchen als *unspezifische*, wenn auch *charakteristische* Degenerationsprodukte des Ganglienzellkernes auffassen zu müssen. Ihm pflichtet *Marx* bei. Im Gegensatz dazu geht *Kotzevaloff* soweit, nicht nur die Straßenwutkörperchen, sondern auch die Passagewutkörperchen als Parasiten zu bezeichnen. Dagegen glaubt *Tanakanaru*, den N.K. jede Bedeutung absprechen zu müssen, da sie nichts anderes seien als Altersveränderungen der Ganglienzellen (Lipofuscin), die man in allen möglichen gesunden und kranken Gehirnen finden könne.

Luzzani und *Jastremsky* haben gelegentlich im Ammonshorn gesunder (oder nicht wutkranker) Katzen den N.K. ähnliche Gebilde gefunden und empfehlen daher zur Wutdiagnose für diese Tierart die Untersuchung der Hirnrinde.

Acton, Hugh und *Harvey* 1911, sowie *San Felice* 1916 (auf dessen Theorie wir noch eingehend zurückzukommen haben), und endlich *Benedek* und *Porsche* leiten die N. K. von den Nucleolen der Ganglienzellen ab. Erstere halten sie für unspezifisch und uncharakteristisch, da es ihnen gelang, den N. K. entsprechende Gebilde bei Hunden experimentell durch Schlangengift und bei Meerschweinchen durch Einspritzungen von Hundegehirn zu erzeugen.

Bezüglich der ausführlichen Zitate der Literatur sei auf die überaus gründliche Einleitung zur Arbeit *Benedeks* und *Porschens* verwiesen, wo die gesamte Literatur bis zum Jahre 1921 angeführt ist.

Auf die Gründe, womit die Hauptvertreter der verschiedenen Ansichten ihre Hypothesen stützen, werden wir bei Besprechung unserer eigenen Meinung näher eingehen.

Die Ansichten, ob Parasit in irgendeiner Form oder Degenerationsprodukt der Zelle oder eines ihrer Teile, specifisch oder unspezifisch, stehen einander heute noch diametral gegenüber.

Nichts beleuchtet die Schärfe dieses Gegensatzes deutlicher als der Ausspruch *Pianeses*: „Die Histologen sagen: die Negrikörperchen sind Parasiten, denn wir kennen keinen besonderen degenerativen oder regenerativen Prozeß, der fähig wäre, Körper wie die von *Negri* beschriebenen zu erzeugen; und die Gegner, die Zoologen, sagen: die Negrikörperchen sind keine Protozoen, denn wir kennen kein Protozoon, das in irgendeiner seiner Evolutions- oder Involutionsphasen die Form annimmt, welche die Negrikörperchen zeigen.“

Die von uns geübte Technik haben wir schon angeführt. Da wir ausschließlich Ammonshörner von Tieren untersucht haben, bei denen schon vorher (durch Dr. *Gerlach*) die Anwesenheit von Negrikörperchen festgestellt worden war, können wir über die Häufigkeit ihres Vorkommens bei Straßenwut keine Angaben machen. Doch geht aus den regelmäßigen Berichten der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling hervor, daß negativer N.K.-Befund bei positivem Tierversuch zu den größten Seltenheiten gehört und eigentlich nur dann vorzukommen scheint, wenn die Gehirne im Zustand vorgeschrittener Fäulnis zur Untersuchung gelangen.

Die Zahl der Negrikörperchen im Ammonshorn bei den einzelnen Fällen ist überaus schwankend. So gibt es Präparate, wo es nur nach längerem Suchen gelingt, einzelne N.K. aufzufinden, während in anderen die N.K. so zahlreich auftreten, daß fast jede Ganglienzelle ein oder mehrere Körperchen enthält. Die Verteilung im Ammonshorn ist keine gleichmäßige. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von *Lentz* konnten auch wir feststellen, daß im allgemeinen die der Fimbrie zunächst liegenden $\frac{2}{5}$ die meisten N.K. enthalten. Im dritten und letzten Fünftel liegen sie spärlicher, während sie im vierten Fünftel häufig (wenn auch nicht immer) ganz fehlen. Über die Ursachen dieser Verteilung kann nichts ausgesagt werden.

Wenn auch ein großer Teil der N.K. im Cytoplasma der Ganglienzellen, beziehungsweise in ihren protoplasmatischen Fortsätzen ange troffen wird, so liegen doch fast stets N.K. der verschiedensten Größe frei zwischen den Ganglienzellen im Zuge des Ammonshornes, sodann in Teilen, wo die Möglichkeit bestünde, daß sie in Ganglienzellfortsätzen liegen, deren zugehörige Zellen im Schnitt nicht getroffen sind. Besonders wichtig scheint uns aber das ziemlich häufige Vorkommen von N.K. weit entfernt vom Ganglienzellzuge *frei in den Lücken der Glia* an Stellen, wo von einer intragangliozellulären Lagerung keine Rede sein kann (weder im Ganglienzelleib noch im Fortsatz, aber auch nicht im Protoplasma amöboider Gliazellen).

Dieses Verhalten kommt in allen Präparaten zur Ansicht, die reichlich N.K. enthalten, eine Tatsache, auf deren Feststellung wir deshalb besonderes Gewicht legen, weil sie bei der Beurteilung der Entstehung der N.K. gar keine Beachtung gefunden hat, ein extrazelluläres Vorkommen zumindest nicht angeführt (*Negri, Koch*), ja sogar die ausschließlich intrazelluläre Lagerung besonders betont wird (*Lentz*, im Gegensatz zu den extrazellulären Gebilden bei der Passagewut = Passage wutkörperchen). Nur *Achucarro* erwähnt als selten auch extrazelluläres Vorkommen.

Die Möglichkeit, daß diese zum Teil auch sehr großen Gebilde nach Zugrundegehen von Ganglienzellen im Gewebe liegen geblieben sind, kann, wie bereits erwähnt, schon aus dem Grunde ausgeschlossen werden, weil sich diese extrazellulären N.K. auch an Stellen finden, wo Ganglienzellen überhaupt nicht vorkommen. Dies scheint uns noch von besonderer Bedeutung gegenüber den Forschern, die die N.K. von den Nucleolen ableiten, da man ja den Kernkörperchen eine aktive Bewegungsfähigkeit zubilligen müßte, wenn sie nicht nur aus dem Kern, sondern auch aus der Zelle, ja sogar aus der Zellschicht auswandern könnten. Wir werden darauf im weiteren noch zurückkommen.

Was die Lagerung *in* der Ganglienzelle anlangt, so liegen die N.K. *stets* im Protoplasma, *niemals* im Kern; dort, wo N.K. *anscheinend* intranuklear liegen, genügt eine Drehung mit der Mikrometerschraube, um dieses Trugbild dahin zu klären, daß sie unter- oder oberhalb des Zellkerns im Cytoplasma liegen. Wir befinden uns da in Übereinstimmung mit sämtlichen Autoren (mit Ausnahme von *Benedek* und *Porsche*), denn wir haben nirgends in der Literatur eine Abbildung eines intranukleären N.K. oder eine Angabe darüber gefunden.

Was *Form* und *Größe* der N.K. anlangt, so konnten wir darüber nichts grundlegend Neues feststellen. Von *Negri* und seinen Mitarbeitern sind eigentlich schon alle Struktur- und Formeinzelheiten, mit denen sich die N.K. vorstellen können, erschöpfend beschrieben worden. Von den zahlreichen Nachuntersuchern, gleichgültig auf welchem Standpunkt sie

bezüglich der Entstehungsweise der N.K. stehen, wurden durch neu angegebene Färbungen grundsätzlich neue morphologische Gesichtspunkte nicht eröffnet. (Bezüglich Form und Färbbarkeit der N.K. sei auch auf die Abbildungen im Buche „*Lyssa*“ von *Kraus, Gerlach* und *Schweinburg* verwiesen.)

Die N.K. erscheinen bei allen Färbungen wie auch in Nativpräparaten scharf begrenzt mit den gleichen Strukturbildern. Die Grundform scheint die kreisrunde oder elliptische (beziehungsweise räumlich betrachtet die Kugel- oder Eiform) zu sein, weil diese Formen bei weitem vorherrschen. Dies ist vor allem die Regel bei solchen Gebilden, die frei im Cytoplasma liegen, ohne durch die Zellgrenzen an ihrer Formentfaltung gehindert zu sein. Bei den N.K., die in den Fortsätzen liegen, ist ihre Gestalt der Form des Fortsatzes weitgehend angepaßt, so daß spindelige und ausgesprochen längsovale, wie auch zusammengedrückte Formen, und dreieckige mit abgerundeten Ecken (Kegelstutz) entstehen, die stets parallel der Längsachse des Fortsatzes liegen (s. Abb. 4). Es wird dadurch der Eindruck erweckt, daß die räumliche Beengung durch den schmalen Fortsatz einen modellierenden Einfluß auf die Form ausgeübt hat. Dies ist besonders bei größeren Gebilden deutlich, sobald sie im Fortsatz liegen. Auf diese Tatsache hat übrigens bereits *Negri* in seiner ersten Arbeit hingewiesen. Ihre neuerliche Feststellung erscheint uns aber von Wert, weil dadurch — wie wir glauben unzweideutig — bewiesen ist, daß entweder die Gebilde an Ort und Stelle an Größe zugenumommen haben oder sich durch aktive Bewegung an eine derart enge Stelle begeben haben müssen.

Daß die Grundform des N.K. die kugelige ist, geht auch daraus hervor, daß die sicher extrazellulär gelegenen ausnahmslos und unabhängig von ihrer Größe kreisrund erscheinen. Dies ist gleichzeitig auch ein weiterer Beweis dafür, daß die extrazellulären N.K. nicht in unsichtbaren Fortsätzen liegen können, wo sie stets länglich oder spindelig angetroffen werden.

Die Größenunterschiede der einzelnen Formen sind bei natürlicher Straßenwut beträchtlich. Auch in ein und demselben Schnittpräparat und in derselben Zelle sind N.K. verschiedenster Größe anzutreffen. Doch hat man im allgemeinen den sicheren Eindruck, daß in jedem einzelnen Falle eine bestimmte Größe die vorherrschende ist. Die kleinsten N.K. sind etwa kokkengroß, die größten überschreiten die Größe eines *Ganglionzellkernes*. Zwischen diesen beiden Extremen kommen alle Zwischenstufen vor. Hervorgehoben werden muß, daß vielfach in einer Zelle zahlreiche N.K. (20 und mehr) verschiedenster Größe gleichzeitig beobachtet werden können. Als N.K. bezeichnen wir vorläufig nur die Gebilde, die bereits eine deutlich ausgeprägte Innenstruktur aufweisen, die im nachfolgenden näher beschrieben werden soll. Auf noch kleinere, in

der Färbbarkeit mit den N.K. übereinstimmende, strukturlose Gebilde werden wir noch ausführlich zurückzukommen haben.

Über die Beziehung der Größe der N.K. zur Krankheitsdauer fehlen uns eigene Erfahrungen, da wir von den untersuchten Wuthirnen mit wenigen Ausnahmen niemals wußten, wie lange das betreffende Tier krank war. Es ist aber auch gar nicht notwendig, hierüber ausführlicher zu sprechen, da genügend Beobachtungen vorliegen, nach denen diese Frage einwandfrei geklärt ist. Die Größe der N.K. hängt danach ausschließlich von der Krankheitsdauer in dem Sinne ab, daß die Gebilde mit längerer Dauer der Erkrankung an Größe zunehmen. Die Länge der Inkubation soll keinen Einfluß auf die Größe der N.K. haben.

Im allgemeinen haben größere Tierarten (Ziege, Rind, Pferd usw.) auch größere Formen der N.K., *was ausschließlich damit zusammenhängt, daß die Krankheitsdauer bei diesen Tieren länger ist.*

Was den Zeitpunkt ihres Auftretens anlangt, so haben zahlreiche Untersuchungen übereinstimmend ergeben, daß sie während der Inkubation auch an deren Ende fehlen und erst etwa gleichzeitig mit dem Beginn der Vorläufererscheinungen, zuerst sehr spärlich und klein, gesichtet werden können. Also nicht nur ihre Größe, sondern auch ihre Zahl nimmt mit der Dauer der Erkrankung zu.

Bei experimenteller Straßenwut des Kaninchens ist es bemerkenswert, daß in den ersten Passagen die N.K. so angetroffen werden, wie bei der natürlichen Straßenwut, d. h. sie kommen ziemlich zahlreich und in ganz verschiedenen Größen vor. Mit zunehmender Passagenzahl werden die N.K. einförmiger in ihrer Struktur, kleiner und in geringerer Zahl gefunden. Doch kommen auch Ausnahmen vor. So haben wir beispielsweise bei gleicher Krankheitsdauer und gleichem Virus einmal in der 4. Passage bedeutend mehr und größere N.K. angetroffen wie in der 3. Passage.

Kurz angeführt verhielt sich dieser Fall folgendermaßen:

1. Kaninchenpassage (Fall Sch., Straßenwut bei nicht schutzgeimpften Menschen), Inkubation 18 Tage, Krankheitsdauer 2 Tage: Spärlich mittelgroße N.K.
2. Kaninchenpassage: Inkubation 31 Tage, Krankheitsdauer 3 Tage. Spärlich mittelgroße N.K.
3. Kaninchenpassage: Inkubation 16 Tage, Krankheitsdauer 3 Tage: Massenhaft kleinste und kleine N.K., reichlich unterkokkengroße Granula (s. Abb. 9).
4. Kaninchenpassage: Inkubation 15 Tage, Krankheitsdauer 3 Tage: Enorme Menge von kleineren und mittleren, vereinzelte große N.K. Sehr reichlich unterkokkengroße Granula.

In den ganz vereinzelten Fällen von späteren Passagen von Straßenwut (von der 10. an) haben wir N.K. nicht mehr feststellen können.

Ebensowenig bei den ziemlich zahlreichen Untersuchungen von Virusfixe Kaninchenhirnen (Virus Paris ca. 1450. Passage, Virus Nisch ca. 200. Passage, Virus Krakau ca. 500. Passage). Beide Beobachtungen

stimmen mit den Befunden anderer Autoren überein. So konnte *Schiffmann* in einer größeren Versuchsreihe nach der 40—45. Passage N.K. nicht mehr feststellen. Dagegen fand *Lentz* N.K. bei Virus fixe in 50% aller Fälle. Was die Frage der *Lentzschen* Passagewutkörperschen anlangt, so können wir uns hier nicht mit ihr befassen, doch glauben wir in Übereinstimmung mit *Pinzani*, daß die Passagewutkörperchen genetisch keinen Zusammenhang mit den N.K. haben und als Zelldegenerationsprodukte aufzufassen sind.

Die kleinsten N.K. zeigen, gleichgültig ob kreisrund oder elliptisch, bei allen Färbungen eine äußere dunkler gefärbte, sich mit sauren Farbstoffen färbende Zone, die ein stärker lichtbrechendes, weniger gut gefärbtes helleres Gebilde einschließt, in dessen Mitte man häufig noch ein Innenkörnchen nachweisen kann, das sich mit basischen Farbstoffen anfärbt. Eine generelle Beschreibung der größeren N.K. ist wegen des Formenreichtums ihrer Innenstrukturen nicht möglich, so daß nur die verschiedenen Grundtypen kurz angeführt werden können. Zwischen diesen kommen alle Übergänge vor. Eines der häufigsten Bilder ist die Rosettenform, daß nämlich um ein größeres, stark lichtbrechendes Innengebilde (große Innenformation *Negris*) zahlreiche kleinere ebensolche Körperchen kreisförmig nach Art eines Kugellagers angeordnet sind, wobei von der Grenze des großen Innenkernes bis zur Grenze des N.K. nur eine Schicht der kleinen Gebilde liegt. Die Innenkörperchen treten stets ungemein plastisch aus der homogenen, dunkler gefärbten Grundsubstanz hervor, so daß man einen direkt räumlichen Eindruck der Kugelform des Einzelgebildes gewinnt. In diesen größeren, aber auch in den kleineren Innengebilden färben sich vielfach Innenstrukturen mit basischen Farbstoffen. Diese Strukturen treten in den kleineren Gebilden stets in Form eines einfachen Kernes auf, während sie sich in den größeren auch als unregelmäßige Körnelung, manchmal auch als strahlige Figuren darstellen können.

Eine andere Form läßt sich am besten als Maulbeerform bezeichnen. Bei dieser ist das N.K. erfüllt von gleich großen, runden, stärker lichtbrechenden Kugelchen, die wieder in ihrer Mitte je ein basophiles Innenkörnchen zeigen können.

Ferner kommen ziemlich häufig Formen zur Beobachtung, die ein größeres, stets exzentrisches Innengebilde mit den bereits beschriebenen Eigenschaften aufweisen, während der übrige Teil des N.K. erfüllt ist von kleineren entweder gleich oder verschieden großen Kugelchen. Auch solche N.K. kommen vor, besonders bei ovoiden und langovalen Formen, wo in beiden Polen je ein großes, kugelrundes Innengebilde liegt, die übrige Grundsubstanz aber wieder in bekannter Weise von kleinen Kugeln ausgefüllt erscheint. Dann sieht man auch solche N.K., wo in der homogenen Grundsubstanz nur 2—3 Innengebilde gleicher oder verschiedener

Größe eingelagert sind, ohne den Raum des N.K. auszufüllen. Eine letzte Form endlich ist die, wo das ganze Innere des N.K. erfüllt ist von kleinsten Granulis, die sich teils mit sauren, teils mit basischen Farbstoffen färben.

So verschieden die Formen der Innenkörper (I.K.) auch an sich sind, so haben wir doch den Eindruck gewonnen, daß im einzelnen Falle *ein* bestimmter Typus in Form und Anordnung der N.K. überwiegt, so z. B. fast nur Rosettenformen, ein anderes Mal nur Maulbeerformen usw.

Etwas ausführlicher müssen wir auf die einzelnen Färbungen eingehen, besonders in der Hinsicht, wie sich dabei die Zell- und Gewebsbestandteile und die *Negrökörperchen* verhalten. Es sei hier nochmals betont, daß wir unsere Untersuchungen ausschließlich am Ammonshorn und in Schnittpräparaten (Paraffinschnitten) angestellt haben. Es wird dabei zweckmäßig sein, jede Färbung für sich genauer zu betrachten.

1. *Hämalaun allein* färbt als reiner Kernfarbstoff der Hämatoxylingruppe das Chromatin des Ganglienzellkernes und das Kernkörperchen dunkelblau bis schwarzblau, je nach der Färbungskraft, wobei der Nucleolus manchmal eine gewisse feinkörnige Struktur (dunklere Körnchen auf hellerem Grunde) und oft eine runde ungefärbte Vakuole (Krystalloid) erkennen läßt. Der Nucleolus ist gegen das übrige Kernchromatin scharf abgesetzt. Der Zelleib ist nur soweit schwachblau gefärbt, als eine Niblstruktur zum Ausdruck kommt, im übrigen aber ungefärbt. Gliakerne sind stark schwarzblau gefärbt. Die N.K. erscheinen als fast ungefärbte, scharf umrissene Gebilde mit stärker lichtbrechenden Innenkörpern. Die roten Blutkörperchen sind ungefärbt.

2. *Hämalaun-Eosin*: Wird mit Eosin nachgefärbt, erhält der Nucleolus einen deutlich rötlichen Farbenmischton, die Kernfärbung bleibt im übrigen unverändert, während Protoplasma und Gliagewebe eosinrot gefärbt sind. Die N.K. nehmen ebenso wie die roten Blutkörperchen das Eosin stärker auf als das Protoplasma und treten dadurch ziemlich deutlich aus der im übrigen gleich gefärbten Umgebung hervor. Die Innenkörper bleiben ungefärbt.

3. *Hämalaun-Safranin* mit Tannindifferenzierung: Durch Tannindifferenzierung wird erreicht, daß sämtliche Gewebs- und Zellbestandteile das aufgenommene Safranin wieder abgeben mit Ausnahme der N.K., die als leuchtend rote Gebilde sich scharf vom Hämalaunton des Kernes und dem fast ungefärbten Protoplasma abheben. Feinere Einzelheiten des Baues kommen dabei allerdings nicht zur Ansicht.

Das Kernkörperchen behält einen etwas rötlichen Farbenton.

4. *Heidenhains Eisenhämatoxylin*: Als Lackfärbung werden zuerst alle Zell- und Gewebleiste stark schwarz überfärbt und es liegt vollkommen in der Willkür dessen, der unter mikroskopischer Kontrolle die Differenzierung mit Eisenalaun vornimmt, mehr oder weniger Zellteile zu entfärbten. Wichtig ist nur festzustellen, daß die Reihenfolge der Entfärbung so vor sich geht, daß zuerst Gliagewebe und Zellprotoplasma sowie das Kernplastin die Farbe abgeben, dann das Kernchromatin, so daß bei diesem Grade der Differenzierung nur die Kernkörperchen, Gliakerne, roten Blutkörperchen und N.K. noch schwarz gefärbt auf rauchgrauem Grunde hervortreten. Dann folgt eine Differenzierung der ursprünglich ganz homogen schwarz gefärbten N.K. derart, daß zunächst von den größeren Gebilden die Innenkörper entfärbt werden, später sich das ganze N.K. als rauchgrauer, scharf konturierter Schatten sich darstellt. Die kleinen N.K. behalten die Farbe länger, am längsten jedoch Nucleolus und Erythrocyten (s. Abb. 10).

5. *Polychromes Methylenblau* nach *Unna*: Reinblaue Färbung von Kernchromatin und Nißlstruktur des Protoplasmas. Kernkörperchen und Gliakerne tiefschwarzblau tingiert. *Die N.K. ungefärbt oder ganz schwach graublau.* Die I.K. schlecht sichtbar.

6. *Protrahierte Thioninfärbung*: (2 Tropfen einer 1 proz. wässrigen Lösung auf 10 ccm Aqua dest. durch 24 Stunden, nach Fixierung in Sublimatalkohol, neutralem Formalin, oder Formolalkohol nach *Schaffer*). Kernmembran und Gerüst dunkelviolett, der Nucleolus stark dunkelviolett, wobei die Kontur schwarzviolett mit knopfartigen Verdickungen, das Zentrum als ungefärbte Lücke (Kristalloid) erscheint. Das Cytoplasma der Ganglienzellen mit ausgeprägter rötlich-violetter Nißlstruktur. Gliakerne tief dunkelblau. Die N.K. kaum gefärbt, schwach graublau, scharf konturiert, oft farblos, in der Nißlstruktur wie ausgespart. I.K. lichter und lichtbrechend.

7. *Protrahierte Toluidinblaufärbung*: (Technik ebenso wie bei der Thioninfärbung).

Ebenso wie im Thioninpräparat Kernchromatin, Nucleolus und Gliakerne rotviolett, jedoch dunkler im Ton. Nißlstruktur sehr dunkel gefärbt und überaus scharf. *Die N.K. rein lichtblau, manchmal auch etwas dunkler, aber stets rein blau.* *Die I.K. ungefärbt mit deutlichen dunkelschwarzblauen Innenstrukturen.* Die Form dieser Innenstrukturen wechselt vom einfachen Korne bis zu Ringformen und Liniengerüsten mit strahligen Figuren.

8. *Hämatoxylin-Pikrofuchsin*: Ganglien- und Gliazellkerne schwarzblau, Kernkörperchen dunkel konturiert lichtgrauviolett, Zelleib schwach graugelblich, Blutkörperchen und N.K. pikringelb, letztere ohne deutlichere Struktur.

9. *Methylgrün-Pyronin nach Pappenheim*.

Kernchromatin grün, Gliakerne dunkelblaugrün, Nucleolus und Nisslstruktur leuchtend pyroninrot. Erythrocyten ungefärbt, N.K. ganz schwach grünlich, fast ungefärbt mit farblosen, lichtbrechenden I.K.

10. *Hämalaun-Mucicarmine*: Reine Hämalaunfärbung. *N.K. ungefärbt.* Diese wie die nachfolgende Färbung wurden deshalb angewendet, um festzustellen, ob die bei der Methode nach *Stutzer* auftretende Metachromasie der N.K. auf der Anwesenheit einer mucoiden Substanz in ihnen beruht. Nucleolen rein mit Hämalaun gefärbt.

11. *Lithioncarmin - Muchämatin*: Lithioncarmin - Kernfärbung. *N.K. ungefärbt.* Nucleolen rein rot mit Lithioncarmin gefärbt.

12. *Färbung nach Giemsa*: Nach allen Fixierungen (*Gilson, Dominici, Zenker, Formalin, Sublimatalkohol*) ergaben sich nur wenig befriedigende Bilder. Ganglienzellen und -kerne im allgemeinen dunkelviolett mit tiefdunklen Nucleolen. Im Protoplasma treten die rotgefärbten N.K. nur wenig deutlich hervor und zeigen keine besonderen Innenstrukturen. Es ist uns nicht ganz klar, weshalb wir trotz genauer Beobachtung der Technik keine verwertbaren Ergebnisse erzielten im Gegensatz zu *Babes* und anderen Untersucher, sowie zu den guten Resultaten bei Ausstrich- und Klatschpräparaten. Wir legen darauf aber kein besonderes Gewicht, da uns die übrigen Färbemethoden genügten.

13. *Färbung nach Mann*: So schöne, klare Bilder der N.K. diese Methode im allgemeinen gibt, so leiden die Präparate durch eine gewisse Dichte der Färbung, wodurch das ganze Gewebe (auch in sehr dünnen Schnitten) ziemlich tief blau erscheint und Zellstrukturen nur undeutlich dargestellt werden. Wie bereits erwähnt, können wir nur solche *Mann*-Färbungen als gelungen ansehen, bei denen die Nucleolen tiefblau im Gegensatz zu den leuchtendroten N.K. erscheinen. Die übrigen Zell- und Gewebsbestandteile sind mehr oder weniger blau gefärbt. Nur die Erythrocyten erscheinen eosinrot, meist in einer anderen Farbnuance als die

N.K., von denen sie schon durch die mangelnden Innenkörper leicht zu unterscheiden sind. Die Innenkörper färben sich, wenn auch nicht immer, leuchtend rot, manchmal auch heller und stärker lichtbrechend. Die Innenstrukturen kommen gelegentlich (besonders in nicht zu stark gefärbten Präparaten) in Form dunkelvioletter bis dunkelblauer Körnchen und Figuren zur Ansicht.

14. *Färbung nach Lenz*: Die Bilder dieser Methode sind wohl allgemein bekannt, da sie einer der gebräuchlichsten diagnostischen Färbungen darstellt. Wir finden sie im Gegensatz zu *Benedek* und *Porsche* auch für das Studium feiner Struktureinzelheiten der N.K. und der Zellen recht geeignet, wie ja auch diese Methode eigentlich deshalb von *Lenz* angegeben wurde. Zellkerne lichtblau und durchscheinend, Nucleolus und Gliakerne tiefschwarzblau, Nißlstruktur manchmal sehr schön (blau) dargestellt. Gliagewebe rosa. Erythrocyten eosinrot. *N.K. carmoisinrot, sehr scharf unrissen und deutlich zu erkennen. Innenkörper lichter, weisen fast stets blaugefärbte Innenstrukturen verschiedener Form auf.*

15. *Färbung nach Schönwetter*: Wie die einzelnen Gebilde bei dieser Färbung dargestellt werden, wurde bereits ausführlich geschildert. Die Einzelheiten des Baues der N.K., insbesondere der Innenstrukturen auch kleinster Innenkörper, haben wir in dieser Klarheit bei keiner anderen Methode beobachten können. Ganz besonders hingewiesen sei auf dunklere Färbungen dieser Methode, wo die N.K. dunkelviolett, scharf konturiert und strukturiert aus dem, im übrigen außerordentlich durchscheinend und zart gefärbten Präparate mit ganz hervorragender Deutlichkeit hervortreten, was dieser Methode zur Auffindung spärlicher N.K. ganz besonders geeignet macht.

16. *Färbung nach Stutzer*: Diese verhältnismäßig sehr einfache Färbung mit verdünntem *Löfflerschen* Methylenblau und nachfolgender Tannindifferenzierung liefert gute, wenn auch nicht lange haltbare Bilder, die insofern von Bedeutung sind, als sich *ganz isoliert die N.K. metachromatisch rotviolett bis rosarot färben*, während alles andere den Methylenblauton behält und auch die Nucleolen schwarzblau bleiben. *Die I.K. sind fast ungefärbt, die Innenstrukturen dunkelblau und sehr deutlich.*

17. *Färbung nach Krogh*: Diese Methode verlangt zu ihrem Gelingen Sublimatfixation (*Zenker*, Sublimatalkohol usw.) und ist verhältnismäßig launenhaft. Gelingt sie aber, liefert sie ganz außerordentlich schöne und lehrreiche Bilder.

Das Chromatin der Ganglienzelle ist dunkelblau, Nißlstruktur überaus prägnant, etwas heller blau, Achsenzylinder violett. Erythrocyten violett. Glia blaßgrünlich. Nucleolen tief schwarzblau, *N.K. rotviolett, Innenkörper hell mit blauen Innenstrukturen*. Kleinste Negrikörperchen und unterkokkengroße Granula rot bis lila.

Die Färbemethoden 15, 16, und 17 sind auch ganz besonders geeignet zur Darstellung jener unterkokkengroßen Gebilde, von denen nachfolgend noch eingehend die Rede sein wird.

18. *Färbung nach Benedek und Porsche*: Die komplizierte Technik dieser und der folgenden Methoden ist im Original nachzulesen. *I. Methode*: Ganglienzellkerne graublau, Nucleolen ziemlich unscharf, dunkelgraublau, Protoplasma und Glia rötlich-grau, Gliakerne dunkelgraublau. Erythrocyten und *N.K. leuchtend erythrosinrot, letztere mit sehr deutlichen, lichtbrechenden Innenkörpern*. Innenstrukturen kommen nicht zur Ansicht.

19. *Färbung nach B. und P. II. Methode*: Ganglienzellkerne dunkelrotviolett, Nucleolen dunkelviolett, Erythrocyten bis blauschwarz. Protoplasma und Glia lichtrot. *N.K. erythrosinrot, ihre Grenzen und die basophilen Teile der I.K. dunkelviolet.*

20. *Färbung nach B. und P. III. Methode*: Kernmembran und Chromatin dunkelgrün bis cyanblau, Nucleolen dunkelgrünblau, vereinzelt auch violettrot.

Erythrocyten rot. N.K. *blaßpurpur* bis *dunkelrot*. Bei den kleinen N.K. ist der Ring *purpur*, der Innenkörper *blaugrün* mit *rotem Innenkorn*.

21. *Silberimpregnation nach Bielschowsky und Maresch*: Kernmembran und Chromatin nur schwach graubraun gefärbt, Nucleolus etwas dunkler. Protoplasma der Ganglienzellen ebenfalls fast ungefärbt. Grundsubstanz der N.K. ungefärbt, Innenkörper tiefschwarz ohne Innenstruktur. Diese Methode wurde zur Darstellung der Innenkörper erstmals von *Maresch* angewendet.

22. *Nuclealreaktion nach Feulgen und Rossenbeck*: Dieser Methode dürfte besondere Bedeutung zukommen, da sie den mikrochemischen Nachweis der Nucleinsäure gestattet. Sie verlangt Sublimatfixation. Sie beruht darauf, daß das Präparat zuerst einer sauren Hydrolyse unterworfen wird, wodurch die Purinkörper der Kerne rasch abgespalten werden. Dadurch werden reduzierende Aldehydgruppen frei, die sich mit fuchsinschweifiger Säure zu einem stark rot-violetten Farbstoff verbinden. Die Färbung ist somit elektiv auf die Kernsubstanz (Chromatin) beschränkt, da im Protoplasma keine Aldehydgruppen vorkommen. In Vergleichspräparaten, die *ohne* Hydrolyse der Wirkung der fuchsinschweifigen Säure ausgesetzt werden, dürfen die Kerne keinerlei Anfärbung zeigen. Unseres Wissens haben *wir* diese Methode erstmals dazu verwendet, einen Einblick zu erhalten, ob irgendein Bestandteil der N.K. positiv reagiert, d. h. Nucleinsäure enthält, was man doch unbedingt verlangen müßte, wenn sie sich von Kernbestandteilen ableiten würden: *In genau nach der Originalvorschrift gefärbten Präparaten zeigt sich, daß tatsächlich nur die Ganglien- und Gliazellkerne und ein Teil des Nucleolus, der dem Kernchromatin entspricht, rotviolett gefärbt erscheinen, wogegen die N.K. stets vollkommen ungefärbt bleiben. Auch die Innenstrukturen der N.K. gelangen niemals zur Darstellung.*

Damit glauben wir einen überzeugenden Beweis erbracht zu haben, daß hinsichtlich der chemischen Struktur zwischen Kernchromatin und Negrikörperchen keinerlei Beziehungen bestehen können, und daß das N.K. auch keine andere Chromatinsubstanz enthält.

Es wird aufgefallen sein, daß bei vielen der angegebenen Färbungen, besonders den Succedanfärbungen mit nachfolgender Differenzierung (regressive Methoden) der Nucleolus häufig rein mit der basischen Farbe gefärbt erscheint, trotzdem er hinsichtlich seiner chemischen Affinität überwiegend oxyphiler Natur ist. Bei den Einfachfärbungen aus neutraler Fixierung (Formol, Formolalkohol nach *Schaffer*) färbt sich nur ein geringer Teil des Nucleolus mit dem basischen Farbstoff, der größere Teil mit dem sauren. Dies kommt daher, weil (wie längst bekannt) in sehr vielen (freilich nicht allen) Nucleolen saure und basische Anteile enthalten sind, wobei meist der basische (oxyphile) Anteil an Menge überwiegt (*Maziarsky*). Bei der *Pappenheimschen* Methylgrün-Pyroninfärbung erscheint der Nucleolus leuchtend pyroninrot im Gegensatz zum grüngefärbten Chromatingerüst des Kernes und dokumentiert dadurch seinen überwiegenden Gehalt an Kernplastin. Denn diese Färbung gestattet auch eine morphologische Trennung zwischen Chromatin des Kernes (Grünfärbung) und Plastin der Zelle (Rottfärbung), und zwar werden sowohl karyogenes wie plasmatisches Basi- und Oxyplastin rot gefärbt. Daher färbt sich in den Ganglienzellen, im Gegensatz zu allen anderen

Färbungen, Kernkörperchen und Nissl-Substanz leuchtend rot, während das Kernchromatin grün gefärbt erscheint. Da sich nun kein Bestandteil der N.K. rot färbt, aber auch die grüne Farbe so gut wie gar nicht aufgenommen wird, so dürfen wir wohl den Schluß ziehen, daß die Substanz der N.K. weder mit der Nissl-Substanz (Basiplastin) übereinstimmend ist noch Kernchromatin enthält (siehe auch früher Nuclealreaktion).

Bei den verwickelten Färbungen, die ja von dem Prinzip aus gehen, die Struktur des N.K. möglichst deutlich darzustellen, wird auf eine natürliche Färbung des Nucleolus keine Rücksicht genommen, und durch wiederholte Behandlung der Schnitte mit Beizungen, sauren und basischen Differenzierungsmitteln geht der natürliche chemische Charakter des Nucleolus verloren. Wir werden darauf noch zurückkommen.

Bemerkenswert gestalten sich Färbungsversuche, die den Einfluß längerer Fäulnis auf die Färbbarkeit der N.K. darstellen sollten. Zu diesem Zwecke wurden Ammonshörner *negri*positiver Wuthirne vor der Fixierung längere Zeit bei Zimmertemperatur stehen gelassen, bis sich verschiedene Grade stinkender Fäulnis eingestellt hatten. Dann wurden sie wie andere fixiert, eingebettet, geschnitten und gefärbt. Im Gegensatz zu *Lentz* ergab sich eine bedeutende Widerstandsfähigkeit der N.K. gegen die Fäulnis, derart, daß sich das Gewebe, speziell die Ganglienzellen, oft schon im Stadium des Zerfalles befanden, während die N.K. in Struktur und Färbbarkeit überraschend unverändert dargestellt werden konnten. Dabei wurde auch die Beobachtung gemacht, daß die Fäulnis je nach ihrer Dauer an den Ganglienzellen Veränderungen bewirkt, wie sie den verschiedenen Graden der Zelldegeneration entsprechen, die von mehreren Autoren im Gegensatz zu uns bei der Straßenuft beobachtet wurden (siehe später). Es ist daher nicht unwahrscheinlich, daß ein Teil der von ihnen beschriebenen schweren degenerativen Veränderungen auf Fäulniserscheinungen des Materials zurückzuführen ist. Denn sonst wäre dieser Gegensatz unverständlich. Wir befanden uns in dieser Hinsicht in besonders günstiger Lage, da Dr. *Gerlach* sich in der liebenswürdigsten Weise stets persönlich von dem Zustand der Gehirne überzeugte und uns ausschließlich frisches Material fixiert zukommen ließ. Wir haben in unseren Präparaten überwiegend und ganz regelmäßig nur geringe degenerative Veränderungen feststellen können, die dann stets von einer ausgesprochenen Neuronophagie begleitet waren, und dies immer nur an einzelnen Zellen, während die Mehrzahl und speziell die N.K. enthaltenden Ganglienzellen keinerlei mikroskopisch feststellbare Anzeichen einer Degeneration aufwiesen. Zu bemerken wäre noch, daß an den Zellen bei der *Mann*-Färbung die durch Fäulnis hervorgerufenen Veränderungen wenig zum Ausdruck kommen, wie ja überhaupt diese Färbung zur Darstellung feinerer Zelldetails nicht geeignet ist. Aber auch bei

den anderen *Negrikörperchenfärbungen* kommt dies nicht so deutlich zum Ausdruck wie bei einfacher Hämalaun-Eosinfärbung.

Nachdem wir bisher die Form, Größe und Lagerung der N.K. erörtert haben, müssen wir, bevor wir ihre Genese besprechen, auf die Veränderungen der Ganglienzellen eingehen, die diese Gebilde beherbergen, da ja, wie bereits erwähnt, degenerative Zellveränderungen mit der Entstehung der N.K. in Zusammenhang gebracht wurden.

Nach *Babes* sollen sich die kleinsten, noch zu besprechenden Gebilde (Granulationen) vorwiegend in den Zellen finden, die alle Zeichen einer schweren Degeneration aufweisen, ausgebildete N.K. dort, wo die Zellen fast unverändert sind. Dieses Verhalten führte ihn ja zu dem Schlusse, daß die N.K. in besonders widerstandsfähigen Zellen durch Reaktion des Protoplasmas (Sequester) auf die eingedrungenen Erreger (Granulationen) entstehen.

Wir müssen bei dieser Gelegenheit betonen, daß die Ganglienzellen des Ammonshornes (und nur diesen Hirnteil haben wir für unsere Untersuchungen verwendet) bei der Straßenwut überhaupt nicht den Eindruck einer schweren Schädigung machen, was ja auch von vielen anderen Autoren wie *Bohne*, *Schiffmann*, *Babes* u. a., bereits festgestellt wurde. In neuerer Zeit betonen *Levaditi* und seine Mitarbeiter ausdrücklich, daß die Entwicklung des Lyssaerregers zum *Negrikörperchen* an die vitale und morphologische Unversehrtheit der Ganglienzelle gebunden ist. Wenn es auch oft schwierig ist, trotz (oder wegen?) Anwendung komplizierter Färbemethoden den Zustand einer Ganglienzelle zu beurteilen, kann doch so viel als sicher gelten, daß schwere Schädigungen nur selten anzutreffen sind, sofern man mit frischem und gut konserviertem Materiale arbeitet. Zu diesem Schlusse berechtigen: Die erhaltene Form, Größe und Färbbarkeit der Ganglienzellen, die Darstellbarkeit der Nissl-Struktur, die in ihrer Form, Lage im Zelleib, in Struktur und Färbbarkeit gut erhaltenen Kerne mit regelmäßiger Kernmembran und ausgeprägtem Kernkörperchen.

Schwere Veränderungen der Ganglienzellkerne, wie Pyknose, Karyolyse, Karyorrhexis, haben wir in unseren Präparaten nur ausnahmsweise gesehen, sicher aber nicht derart, daß auch nur andeutungsweise der Gedanke hätte entstehen können, daß die Zahl der *Negrikörperchen* mit der Schwere der Ganglienzellveränderungen in irgendinem Zusammenhange stehe. Im Gegenteile müssen wir feststellen, daß das Gros der Zellen, die N.K. beherbergen, allen Kriterien gerecht wird, die *Spielmeyer* für die normale Ganglienzelle verlangt; auch eine höhergradige Neuronophagie, d. h. Anlagerung bzw. Eindringen von amöboiden Gliazellen (*Alzheimer*), ist nur sehr selten zu beobachten. Dabei zeigten diese Gliazellen niemals Veränderungen in Form und Färbbarkeit, die eine Verwechslung mit N.K. zugelassen hätten. Im Gegen-

teil waren auch in den Fällen von ins Ganglienzellprotoplasma eingedrungenen Gliazellen diese als solche stets mit Sicherheit zu erkennen. Nichts erlaubt ferner den Schluß, daß sich etwa Gliakerne in N.K. umgewandelt hätten.

Das Fehlen eines Kernkörperchens im Kerne, das wir nicht allzusehr in Zellen mit und ohne N.K. gesehen haben, ist etwas ganz Natürliches und auch in Schnittpräparaten normaler Gehirne häufig zu beobachten. Der Grund dafür ist der, daß bei der physiologischen Größe der Ganglienzelle in die Schnittebene eines 3—4 μ dicken Schnittes Teile der Ganglienzelle oder des Kernes fallen können, wo das Kernkörperchen nicht getroffen erscheint. Ja es kann sogar Kernlosigkeit dadurch vorgetäuscht werden. An Serienschnitten kann man sich leicht davon überzeugen (siehe dazu *Nissl*).

Die schweren Ganglienzell- und Gliazellveränderungen, die *Achucarro* beschreibt, wobei allerdings betont werden muß, daß dieser Autor seine Studien hauptsächlich an Virus-fixe-Kaninchen angestellt hat, haben wir bei unseren Straßenwutfüllen niemals, zumindest nicht in diesem Ausmaße gesehen. *Achucarro* beschreibt als hauptsächliche Veränderung des Kernes folgendes: Die Kerndegeneration leitet sich mit Auflösung des Chromatingerüstes in kleine Körnchen ein, dann geht die Kernmembran verloren, dann löst sich der Nucleolus auf, so daß an Stelle des Kernes nur ein rundlicher Haufen acido- und basophil gefärbter Brocken liegt (Pyknose). Dann schrumpft die Zelle gleichmäßig, so daß schließlich von der Zelle eine acidophile Kugel mit basophilen Klumpen übrig bleibt. Auch Gliazellen können in genau gleicher Weise entarten, und nach *Achucarro* ist es dann unmöglich, diese einander ähnlichen Gebilde von N.K. zu unterscheiden (? ?). Immerhin behauptet *Achucarro* keineswegs, daß alle N.K., insbesondere nicht die kleinsten, auf diese Weise entstehen. Es scheint uns, daß die Beschreibung *Achucarros* ganz dem entspricht, was *Lentz* als charakteristisch für seine Passagewutkörperchen bei Virus fixe angibt, die er aus einer Degeneration der Ganglienzellkerne entstehen läßt.

Was den Nucleolus anlangt, so sahen wir nur Veränderungen derart, daß er manchmal eine körnige Struktur aufwies und hie und da auch kleine Vakuolen in ihm zu sehen waren, die jedoch niemals eine basophile Innenstruktur, niemals die regelmäßige Form der Innenkörper der N.K. zeigten. Auch eine Lagerung des Nucleolus an die Kernwand oder gar ein „sog. Durchtreten“ durch die Kernmembran oder ein in den Zelleib ausgestoßenes Kernkörperchen (bei erhaltenem Zellkern) haben wir niemals beobachtet. Ebensowenig sahen wir intranucleären Zerfall des Nucleolus, obwohl wir auf diese Verhältnisse unser ganz besonderes Augenmerk gerichtet haben. Was die Färbung des Nucleolus bei den verschiedenen Färbemethoden betrifft, so haben wir bereits sein Verhalten bei der *Mann*-Färbung (Nucleolus blauviolett, N.K. leuchtend eosinrot) und bei der *Schönwetter*-Färbung (N. schwarzblau, N.K. stark

rot) besprochen. Die tiefblaue Färbung des N. bei der *Lentz*-Färbung im Gegensatz zum karmoisinrot gefärbten N.K. ist bekannt. Bei der *Stutzer*-Färbung ist ebenfalls der Nucleolus stets tiefblau gefärbt, während das N.K. einen metachromatisch roten Farbenton annimmt, ebenso bei der *Krogh*-Färbung (N.K. braunviolett). Bei den Methoden von *Benedek* und *Porsche* entstehen meist Mischtöne der Nucleolen, aber ebenfalls von den N.K. verschiedene Färbungen, so bei Methode 1: N. blauviolett, N.K. leuchtend rot, Methode 2: N. dunkelblau bis schwarz, N.K. leuchtend rot, Methode 3: N. dunkelgrünblau (selten rotviolett), N.K. purpurrot. Allerdings ergeben sich diese Farbunterschiede bei den letzten 3 Methoden nicht immer so ausgeprägt, was ja diese Forscher zu weitgehenden Schlüssen über die Genese der N.K. verleitet hat.

Nach der Färbung von *San Felice* (Safranin-Malachitgrün) erscheinen die Nucleolen aus blauen und roten Teilen zusammengesetzt, die N.K. grün mit roten Innenkörpern. Bei Methylgrün-Pyroninfärbung (*Amato* und *Fagella*) ist der N. pyroninrot, das N.K. schwachrot mit blauen Pünktchen. Nach *Epstein* (Fuchsin S. Thionin-Aurantia) die N. grau-schwarzviolett, die N.K. rosarot. Nach *Volpino* (Pikrocarmin-Methylenblau) N. rot, N.K. tiefgelb. Nach *Andriani* (Malachitgrün-Orange G.), N. ungefärbt, N.K. grün. Nach *Gerlach* (Carbolfuchsin-Methylenblau), N. blau, N.K. leuchtend rot.

Diese kleine Auslese, die keineswegs Anspruch auf Vollständigkeit macht, zeigt bereits das *stets zu beobachtende differente färberische Verhalten von Kernkörperchen und Negrikörperchen*. Bezuglich der *Heidenhain*-Färbung, der als Lackfärbung keine Bedeutung in dieser Frage zukommt, sei auf das bereits früher Gesagte verwiesen. Wenn also die Färbung des Nucleolus und damit seine chemische Struktur, solange er sich intranucleär befindet — und anderswo haben wir ihn niemals gesehen — sich bei allen Färbemethoden stets grundsätzlich verschieden von der N.K. verhält, können wir auch nicht annehmen, daß das N.K. aus dem Nucleolus entsteht. Es sei denn, daß man sich auf den Standpunkt stellt, daß er bei seinem Austritt aus dem Kern grundlegende chemische Änderungen erfahren würde, wodurch seine färberischen Qualitäten denen eines N.K. gleich geworden seien.

Da dieser angenommene Austritt (richtiger gesagt, wohl Ausgestoßenwerden) nur Bruchteile einer Sekunde dauern kann, in denen eine so tiefgreifende Strukturänderung doch nicht vor sich gehen kann, so müßten sich nach dieser Auffassung zahlreiche intranucleäre N.K. (i. e. zu N.K. umgewandelte Nucleolen) finden. Nimmt man aber an, daß die Nucleolen erst nach ihrem „Austritte“ im Cytoplasma diese Strukturänderung erfahren, müßte man wieder dort zahlreiche sich noch typisch färbende Nucleolen finden können.

Aber weder das eine noch das andere wird selbst von Untersucher die die Umwandlung der Nucleolen zu N.K. behaupten, angeführt. Die übrigen (*Negri*, *Babes*, *Koch*, *Bertarelli*, *Volpino*, *Amato-Fagella*, *Luzzani* u. a.)

sprechen niemals von intranucleären N.K. oder intra-protoplasmatischen Nucleolen.

Sehen wir uns an, was *San Felice* und *Benedek* und *Porsche* an Gründen anführen, um ihre Behauptung der Umwandlung der Nucleolen in N.K. zu beweisen. *San Felice* stützt sich vor allem auf seine Befunde bei *Molluscum contagiosum*, dessen Körperchen nach ihm von N.K. nicht zu unterscheiden sind, und deren Abstammung von den Nucleolen er bewiesen zu haben glaubt. Diese Beweisführung, die unseres Erachtens ebenfalls nur auf sehr schwachen Grundlagen ruht, kann aber keineswegs als Stütze für die Gleichartigkeit des Prozesses bei der Lyssa dienen, da *Molluscumkörperchen* und *Negrikörperchen* niemals miteinander verwechselt werden können, wie wir uns an einschlägigen Präparaten überzeugten. Sogar aus den Abbildungen, die *San Felice* seinen Arbeiten über *Molluscum contagiosum* beigegeben hat, ist es nicht ersichtlich, warum ihm die Unterscheidung von N.K. solche Schwierigkeiten bereitet hat. Für uns haben die abgebildeten *Molluscumkörperchen* höchstens eine ganz oberflächliche Ähnlichkeit mit den N.K. Aber auch die Nucleolen-abstammung der *Molluscumkörperchen* ist noch keineswegs entschieden. So steht *Lipschütz*, gewiß ein genauer Kenner der Materie, auf dem Standpunkt, daß sie Parasiten (Chlamydozoen) sind.

Wir haben keine Veranlassung, uns mit diesen, unser Thema nicht unmittelbar berührenden Fragen hier zu beschäftigen, und wollen ausschließlich die N.K. ins Auge fassen, aber an dieser Stelle mit allem Nachdruck hervorheben, daß uns eine Verwechslung von N.K. mit anderen Zelleinschlüssen, wie bei Variola, Vaccine, Herpes, *Molluscum contagiosum*, Geflügelpocken, Staupe, Bornascher Krankheit usw., in gut konserviertem Materiale, bei entsprechender Färbung und einiger Erfahrung — auch abgesehen von der Lokalisation — nach rein morphologischen Kriterien unmöglich erscheint.

Unmöglich ist nur ihre Unterscheidung von den Körperchen, die *Koritschoner* in Ganglienzellen von angeblicher Encephalitis beim Hunde nachgewiesen und abgebildet hat. Das kann uns nicht wundernehmen, nachdem *Schweinburg* experimentell beweisen konnte, daß das „Virus *Koritschoner*“ nichts anderes als ein atypisches Straßenwutvirus darstellt, was auch später von *Dörr*, *Levaditi*, *Kraus* und *Takaki* bestätigt wurde.

Im übrigen führt *San Felice* als Gründe nur die angeblichen Tatsachen an, daß bei Lyssa die bereits physiologische Auswanderung der Nucleolen aus den Ganglienzellkernen gesteigert ist, die ausgewanderten Nucleolen im Protoplasma an Größe zunehmen und sich in N.K. umwandeln, wobei besonders auf die aus basophilen und acidophilen Bestandteilen bestehende Struktur des Nucleolus hingewiesen wird. Als Beweis, daß es sich tatsächlich um ausgetretene und umgewandelte Nucleolen handle, gibt *San Felice* an, daß in solchen Zellen die Nucleolen im Kerne fehlen(!) (ganz im Gegensatz zu den zweiten energischen Vertretern der Nucleolen-

theorie, *Benedek* und *Porsche*). Wie wir schon früher ausgeführt haben, besteht diese Tatsache keineswegs zu Recht, denn wir konnten als Hauptcharakteristikum der *Negrikörperchen* führenden Ganglienzellen die verhältnismäßige Unversehrtheit des Kernes und das regelmäßige Vorhandensein eines Nucleolus anführen (siehe dazu auch *Babes*, *J. Koch* u. a.). Somit fallen die Stützen für seine Hypothesen, und was *San Felice* sonst an Gründen gegen die parasitäre Natur der N.K. vorbringt, wurde bereits vor ihm von anderen Forschern geltend gemacht und soll weiter unten zusammenfassende Berücksichtigung finden.

Viel eingehender befassen sich *Benedek* und *Porsche* mit dieser Frage. Ihre Darlegungen sind derart ausführlich und die Begründung für ihre Theorie zum Teil so verwickelt, da sie sich auf mikrochemische Gewebsreaktionen an der Hand dreier von ihnen angegebenen Färbemethoden stützen, daß wir hier nur die wichtigsten Schlußsätze ihrer Arbeit zum näheren Verständnis unserer Gegengründe anführen können.

Wir zitieren:

„Im Kernchylema, vom Kerngerüst oft vollkommen unabhängig, erscheinen kleine, mehr sphärische Körperchen von solcher Zahl und Häufigkeit, wie das unter normalen Verhältnissen nie vorkommt. Der größte Teil der Gebilde ist leuchtend und acidophil, zum geringeren Teil sind sie basophiler Natur.“

„Morphologisch mit diesen völlig übereinstimmende Gebilde können auch in der Grundsubstanz des Nucleolus auftreten . . .“ „Mit dem Zerfall des Nucleolus können diese als selbständige Schollen nebeneinander bleiben oder sich im Kernkörper verteilen. Die oben geschilderten Schollen verschiedener Affinität sind jedoch auch *bei Unversehrtheit des Nucleolus*¹⁾ anzutreffen, doch wächst ihre Zahl in den Kernen ohne Kernkörperchen beträchtlich an, so daß mit Recht anzunehmen ist, daß die Mehrzahl dieser soeben beschriebenen, im Kernplasma suspendierten Schollen ihr Bestehen der Fragmentation des Nucleolus verdankt. In Anbetracht der erhöhten Produktion der Kernkörperchen bei der Lyssa ist es anzunehmen, daß diese neben den intakten Nucleolen sich zeigenden Gebilde aus der Fragmentation eines zweiten oder des vorigen Kernkörperchen entstanden sind . . .“

„Den im Kernkörper gefundenen kleineren oder größeren, verschieden gefärbten Schollen ähnliche Gebilde treten bei der Wut auch im Cytoplasma häufig auf. Zu der Annahme, daß diese aller Wahrscheinlichkeit nach identisch sind mit den im Kern befindlichen, berechtigt jener Umstand, daß in Verbindung mit der partiellen Defektuosität der Kernmembran vorzüglich jener Teil des Cytoplasmas solche enthält, bei welchem, infolge Mangels des Kernmembranteiles, die Möglichkeit einer ‚Vermischung‘ mit dem Karyoplasma besteht. In je größerer Ausdehnung die Kernmembran insuffizient ist, um so größer ist die Zahl der kleinen Einschlüsse im Protoplasma der Ganglienzellen. Die Insuffizienz der Kernmembran kommt mikroskopisch in der Verschwommenheit der Kernkontur zum Ausdruck.“

„Bei der Lyssa . . . ist der Austritt des Kernkörperchens in das Cytoplasma auffallend gesteigert.“

„Die Konzentrierung einzelner Bestandteile des Nucleolus in Schollen oder

¹⁾ Im Originale nicht kursiv gedruckt.

eine anders gestaltete räumliche Differenzierung und Hypertrophisierung kann im Zeitpunkt des Austrittes bis zu verschiedenen Stadien vorgeschritten sein.“

„Die strukturelle Veränderung des Kernkörperchens nähert sich in ihrem extremen Grad der Struktur der typischen *Negrirkörperchen*.“

„Im Kernplasma bleibt der Weg des Austrittes, nach dem Vollzug dieses, längere oder kürzere Zeit als rarefizierter, oft scharf begrenzter Teil zurück. Dem Austritt des Nucleolus folgt sofort die Bildung eines neuen Kernkörperchens. Der Prozeß des Ersatzes scheint bei der Lyssa beschleunigt zu sein.“

Das im Zellkörper befindliche Kernkörperchen ist weiteren Änderungen unterworfen. Es verrät in seiner Anpassung an die Umgebung große Plastizität. Außerdem wandert es aus dem den Kernkörper umgebenden zentralen Cytoplasmateil gegen die Peripherie und kann in die Fortsätze gelangen. Zuweilen steht es dem Austritt durch die Zellmembran nahe.“

„Oft scheint der Nucleolenaustritt erhöht zu sein, so zwar, daß im Zellkörper selbst 3 gut ausgeprägte, basophile Nucleolen zu sehen sind, außer dem im Kern befindlichen. Dann ist der Kern noch ziemlich scharf abgegrenzt.“

„Die Grundsubstanz des Nucleolus und der *Negrischen* Körperchen zeigt bei den verschiedenen Verfahren ein übereinstimmendes oder einander sehr nahestehendes tinktorielles Verhalten.“

„Zusammenfassend können wir sagen, daß die typischen Formen der *Negrirkörperchen* aus den strukturellen Veränderungen der Nucleolen abzuleiten sind. Die kleinen homogenen Einschlüsse entstammen aller Wahrscheinlichkeit nach den, in der Kernsubstanz suspendierten acido- und basophilen Schollen. Die kleineren Einschlüsse mit einer einzigen Innenformation und gut färbbarem Hof entstehen vielleicht infolge der ähnlichen strukturellen Änderungen der im Kern zeitweise anzutreffenden nucleolenartigen Gebilde.“

So weit einige Hauptsätze der Thesen *Benedeks* und *Porsches*. Einzelheiten sind im Original nachzulesen.

Die Hypothesen *Benedeks* und *Porsches* gründen sich demnach vor allem auf der Voraussetzung, daß sich ein Nucleolus, bereits physiologisch und bei Lyssa pathologisch gesteigert, beliebig oft in einer Ganglienzelle regenerieren könne, nachdem der frühere entweder in Schollen zerfallen oder ins Plasma ausgetreten sei. Diese Voraussetzung wird von ihnen als selbstverständlich angenommen und in keiner Weise begründet (denn der Schluß, aus der Anwesenheit mehrerer *Negrirkörperchen* im Protoplasma rückschließend die Bildung mehrerer Nucleolen im Kerne zu folgern, ist doch wohl nicht angängig. Man kann doch nicht mit dem, was bewiesen werden soll, die Voraussetzung des Schlusses beweisen!).

Uns selbst war von der Möglichkeit einer Regeneration und gar einer oftmaligen Regeneration des Kernkörperchens in einem Kerne bis dahin nichts bekannt. Auch in der Fachliteratur über normale und pathologische Histologie des Zentralnervensystems und ganz besonders in den, von *Benedek* und *Porsche* wiederholt angeführten Arbeiten von *Nissl* und *Alzheimer* haben wir nichts darüber finden können, obwohl dort die pathologischen Veränderungen an Kern und Kernkörperchen bei den verschiedensten Erkrankungen eingehend geschildert werden.

Trotzdem haben wir uns noch zur Vorsicht an einen führenden Vertreter der normalen Histologie um Aufklärung in dieser grundlegenden

Frage gwendet. Die Antwort lautete kurz und bündig, daß eine Neubildung des Nucleolus nach seiner Ausstoßung unmöglich sei, denn wie und woraus sollte er sich auch wieder bilden? Eine Teilung des Nucleolus erfolge nur bei der Zellteilung, und auch da entstehen naturgemäß nur zwei Zellen mit je einem Kernkörperchen. Daß aber eine derartige Neubildung des Kernkörperchens gar wiederholt in *einem* Zellkern erfolgen könne, wurde geradezu als absurd bezeichnet. In einer sehr ausführlichen Arbeit beschäftigt sich *Maziarsky* mit der normalen Morphologie des Kernes und des Kernkörperchens. Es findet sich darin kein Wort, das auf die Möglichkeit einer Nucleolusregeneration hinweisen würde. Nach *Maziarsky* stellt der Nucleolus einen Nucleinspeicher für den Kern dar und besteht aus acidophilen (mit dem Kernplastin identischen) und basophilen (mit dem Kernchromatin gleichen) Stoffen. Je nach dem Funktionszustand ist er reicher oder ärmer an basophiler Substanz. Relative Acido- oder Basophilie sind danach keine Degenerations-, sondern Funktionszustände und können jederzeit ineinander übergehen. Vakuolisierung ist physiologisch als Funktionszustand (Abgabe von Substanz an den Kern) zu werten. Nucleolen sind also besondere Produktions- und Speicherstätten des Chromatins, das nach Bedarf an den Kern abgegeben wird. Sie haben sichere sekretorische Funktion, ihr Ausdruck ist die normalerweise vorkommende Vakuolisierung. Bei Doppelfärbungen nimmt der Nucleolus beide Farben an, wobei meist die saure Farbe überwiegt. Doch kommen Funktionsstadien vor, wo sich der Nucleolus wie ein kompakter basophiler Körper ausnimmt und seine Oxyphilie vollkommen verloren hat. — Die Größe des Nucleolus ist unabhängig von der Kerngröße. — Auch seine Vergrößerung kann ein funktioneller Zustand sein. — Ist der Kern sehr chromatinarm, so ist der Nucleolus sehr chromatinreich (also basophil) und umgekehrt.

Maziarsky stützt sich bei seinen Ausführungen außer auf sehr gründliche eigene Untersuchungen auf Arbeiten von *Hertwig*, *Mosoff*, *Laguesse* u. v. a. Ähnlich äußern sich *Biondi*, *Timozeew* u. a.

Dem sei noch hinzugefügt, daß nach *Benedek* und *Porsche* sogar von *kranken* Zellkernen verlangt wird (denn als krank sehen sie ja *Benedek* und *Porsche* an, wenn sie von pathologisch gesteigerter Nucleolenbildung sprechen), daß sie wiederholt *normale* Nucleolen regenerieren, die erst nach ihrer Bildung wieder degenerative Veränderungen in Form und Chemismus erleiden und ins Plasma austreten. Daß das unmöglich ist, wird wohl jedem einleuchten. Damit erscheint aber auch der Schluß *Benedeks* und *Porsches*, daß die kleinsten, in der Kernsubstanz suspendierten Schollen bei erhaltenem Kernkörperchen ihre Entstehung einer Fragmentation früherer Nucleolen in demselben Kern verdanken, hinfällig.

Zusammenfassend müssen wir also sagen, daß es eine Regeneration des Nucleolus in einer reifen Ganglienzelle nicht gibt, daß sie zumindest bis

jetzt nicht nachgewiesen wurde. (Ein direkter Beweis wäre ja auch nur durch Beobachtung überlebender Zellen, niemals in Schnittpräparaten zu erbringen.)

Demnach fußen *Benedek* und *Porsche* auf einer unrichtigen Voraussetzung, womit ihr ganzes so kunstvoll errichtetes Gebäude in sich zusammenstürzt. Trotzdem wollen wir noch auf andere Gründe, die sie anführen, näher eingehen.

Zunächst, was den behaupteten Austritt des Nucleolus aus dem Kern anlangt. Hier wird es bereits schwierig, ihrer Beweisführung zu folgen, da sie mikroskopische Schnittpräparate grundlegend anders beurteilen, als wir dies gewöhnt sind. *Benedek* und *Porsche* schließen aus Lagebildern im Nebeneinander der Schnitte auf Bewegungen, die die einzelnen Gebilde entweder vollführen oder vollführt haben. Diese Betrachtungsweise im Sinne einer Beweisführung erscheint uns ganz unrichtig. Denn es läßt sich aus Einzelbildern keine Bewegung erschließen. So kann man unseres Erachtens beispielsweise nur sagen: Das Kernkörperchen liegt am Rande der Kernmembran, niemals aber „es tritt aus“. Ja, selbst die Lage des Nucleolus außerhalb des Kernes ist keinerlei Beweis für einen stattgehabten Austritt. So sagt z. B. *Nissl* bei Besprechung schwerster Veränderungen, die er durch Gifte experimentell an Ganglienzellen hervorgerufen hat:

„Hier und da fehlt der Nucleolus. Ich kann nicht genug hervorheben, daß diese Erscheinung an sich gar nichts beweist. Selbst bei den schwersten Zellveränderungen finden wir häufig die Nucleolen scheinbar kaum verändert. Bei jener Alteration aber, wo die Nucleolen deutlich verändert sind, ist die Läsion des Zelleibes immer deutlich vorhanden. Eine der häufigsten Ursachen des Fehlens des Nucleolus ist die mechanische Entfernung desselben durch die Gewalt des Mikrotommessers.“ In ähnlicher Weise äußert sich *Spielmeyer*. Nach *Nissl* beweist ferner nicht einmal das Fehlen eines Kernes im Zelleib die Kernlosigkeit, da er im Schnitte nicht getroffen zu sein braucht. Das durch Fixierung und Härtung spröde gewordene Kernkörperchen kann durch das Mikrotommesser aus seiner normalen Position im Kern ins Plasma verlagert werden, und so beweist nicht einmal das Vorhandensein eines vollkommen unveränderten, zweifellosen Kernkörperchens im Protoplasma, daß es dorthin „ausgetreten ist“. Ein Austritt bei unversehrter Kernmembran ist nach Äußerung des bereits erwähnten Histologen unmöglich. Nachdem wir unzählige *Negrirkörperchen* im Plasma von Zellen mit tadellos erhaltener Kernmembran gesehen haben, so kann wenigstens in diesen Zellen (es ist weitaus die Mehrzahl!) von einem Austritt des Kernkörperchens nicht die Rede sein.

Geradezu grotesk muten die Bilder an, die nach *Benedek* und *Porsche* den Austritt des Nucleolus veranschaulichen sollen, und in denen in der

dunkelgefärbten Kernmasse der Platz scharf umschrieben als heller Fleck zu sehen ist, wo das ausgetretene Kernkörperchen früher gelegen haben soll (siehe ihre Taf. 3, Abb. 3, 4, 5, Taf. 8, Abb. 18).

Es scheint uns sicher, daß nach dem *angenommenen vitalen* Austritt des Nucleolus in der Kernmasse doch keine Art *Vakuum* auch nur kurze Zeit bestehen bleiben kann, da ja der Kern keine *feste Masse* darstellt, sondern aus zähflüssigen Bestandteilen besteht und eine entstandene

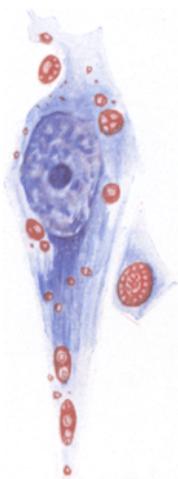


Abb. 1. Färbung nach *Benedek* und *Porsche* (F.M.I.) Straßenwut beim Rind. Ganglienzelle des Ammonshornes mit zahlreichen N.K. verschiedenster Größe gefüllt. Vom kleinsten eben sichtbaren Korn bis zum großen N.K. alle Übergänge. Kernkörperchen und Kernstruktur unversehrt.

Lücke sofort ausgefüllt werden muß. Da wir andererseits keinen Grund haben, an der Richtigkeit der Beobachtung genannter Autoren zu zweifeln, wäre eine annehmbare Erklärung vielleicht die, daß das fixierte und gehärtete Kernkörperchen im Schnittpräparat beim Schneiden des Paraffinblockes aus seiner Lage gerissen wird und dadurch Kunstprodukte in der geschilderten Art entstehen. Nur so können an Stelle der ursprünglichen Lage des Nucleolus ungefärbte Lücken und Bahnen („Wege des Austrittes“) zur Beobachtung gelangen. Denn am fixierten Material können naturgemäß entstandene Lücken nicht mehr ausgefüllt werden. Wir haben selbst hier und da derartige Trugbilder gesehen, die nur auf die bereits von *Nissl* und *Spielmeyer* erwähnte und schon früher von uns angeführte Weise erklärt werden können.

Zugegeben, daß gelegentlich ein Kernkörperchen aus dem Kern ausgestoßen werden kann (obwohl wir in unseren Präparaten außer in den seltenen, unmittelbar vorher erwähnten Fällen, wo die mechanische artefizielle Entstehung klar nachzuweisen war, Nucleolen im Protoplasma der Ganglienzellen niemals gesehen haben), so ist dieser Vorgang durch *Benedek* und *Porsche* bei der Lyssa in keiner Weise bewiesen worden, der Beweis aus Schnittpräparaten überhaupt nicht zu erbringen.

Vollkommen ausgeschlossen scheint es des weiteren, daß ein Nucleolus den *Zelleib* verlassen könnte und ins Gliagewebe außerhalb des Ganglienzellzuges gerät. Das müßte er aber, wenn man alle Negrikörperchen durch Umwandlung aus den Nucleolen erklären wollte; denn man kann fast in jedem Präparat, wie bereits erwähnt, extracelluläre N.K. oft in großer Zahl und gruppenweise in der Glia feststellen.

Ganz unmöglich mutet es an, die Entstehung der N.K. durch Austritt mehrfach regenerierter Nucleolen aus dem Kern dann abzuleiten, wenn man Präparate vor sich hat, wo in einer Zelle bis zu 20 große N.K. zur

Ansicht kommen, somit der Zelleib mit N.K. erfüllt ist, während Zellkern, Kernmembran und Kernkörperchen vollkommen unversehrt erscheinen. Man müßte bei solchen Zellen — und es ist dies durchaus kein seltener Befund! — eine ganz außerordentlich gesteigerte (fabrikmäßige!) Bildung von Nucleolen annehmen, die in unmittelbarer Folge — immer eins nach dem anderen — im (kranken!) Kern gebildet und ins Plasma abgegeben werden, wo sie sich dann sofort zu N.K. umwandeln.

Auch die Größe der großen N.K. spricht gegen die Theorie *Benedeks* und *Porschess*. Sind ja N.K. in der Größe eines Ganglienzellkernes nicht

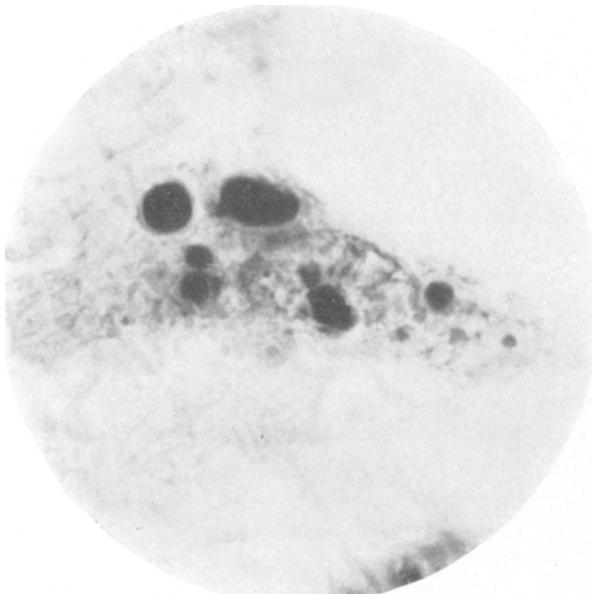


Abb. 2. Färbung nach *Krogh*. Straßenwut bei einer Ziege. Zeiss Apochr. 2 mm, Komp. Ok. 4, Grünfilter. Kameraauszug 70 cm, Vergr. 1500fach. Zahlreiche N.K. verschiedener Größe neben kokkenartigen Gebilden im Plasma einer Ganglienzelle bei gut erhaltenem Kern und Kernkörperchen.

allzu selten. Da man kaum annehmen kann, daß der Nucleolus vor seinem Austritt zu einer den Kern ausfüllenden Größe angewachsen ist und, selbst wenn das möglich wäre, den Kern ohne dessen Zerstörung verlassen könnte (aus den Abbildungen *Benedeks* und *Porschess* geht hervor, daß sie höchstens mit einer geringen Größenzunahme des Nucleolus vor seinem Austritt rechnen), wäre man zur Annahme gezwungen, daß eine extranucleäre Größenzunahme des Nucleolus erfolgt. Diese könnte dann wohl nur durch aktives Wachstum des Nucleolus erklärt werden, kaum aber durch Degeneration etwa im Sinne hydropsischer Quellung. Denn, räumlich gesehen, ist so ein großes N.K. gut 300mal so groß wie ein normaler Nucleolus, was durch Berechnung des Volumens aus dem Radius

hervorgeht. Aktives Wachstum aber eines degenerierten und verlagerten Nucleolus kann doch wohl nicht ernsthaft in Betracht gezogen werden.

Auch die Form der N.K. in den Fortsätzen scheint uns dagegen zu sprechen, daß es sich um durch intraprotoplasmatische Strömung dorthin eingeschwemmte Nucleolen handeln könnte. Die Nucleolen besitzen zweifellos, was schon aus der dunkleren Färbung hervorgeht, eine höhere Konsistenz als das Protoplasma der Zelle. Es müßte sich also die Form des Zellfortsatzes etwa in Gestalt einer Ausbuchtung der Form des Nucleolus (N.K.) anpassen. Tatsächlich paßt sich aber das

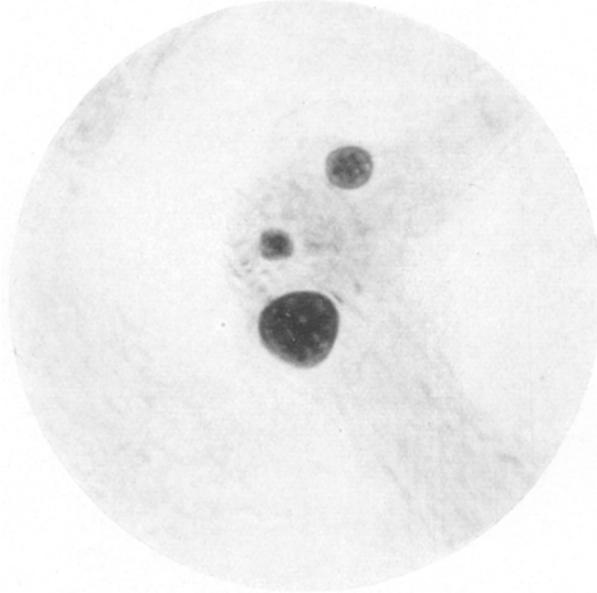


Abb. 3. Färbung nach *Schönwetter*. Straßenwut beim Hund. Zeiss Apochr. 2 mm, Komp. Ok. 6, Grünfilter. Kameraauszug 70 cm, Vergr. 2000fach. Bipolare Ganglienzelle mit zwei verschiedenen großen N.K. (Maulbeerform). Kernkörperchen deutlich sichtbar, gute Nisslstruktur des Protoplasmas.

N.K. der Form des Fortsatzes weitgehend an, was, unserer Ansicht nach, nur durch aktives Wachstum an Ort und Stelle erklärt werden kann. Da, wie bereits festgestellt, ein aktives Wachstum des extranucleären Nucleolus nicht in Frage kommt, spricht dieser Befund allein schon gegen die Nucleolengenese der N.K.

Ganz besonders hervorheben müssen wir aber, daß sich *Benedek* und *Porsche* bei ihrer Theorie weitgehend darauf stützen, daß in der Färbbarkeit zwischen Nucleolen und N.K. Ähnlichkeiten bestehen. Diese Farbähnlichkeiten sind für die von ihnen angewendeten Färbungen zuzugeben, fehlen aber bei allen übrigen Färbungen, ob einfach oder

kompliziert, ja es besteht sogar, wie wir zeigen konnten, ein prinzipieller Unterschied im färberischen Verhalten zwischen N.K. und Nucleolen. Wenn aber aus Farbengleichheit Schlüsse auf die Gleichartigkeit verschiedener Körper gezogen werden (es scheint ja überhaupt zweifelhaft, ob ein derartiger Schluß im positiven Sinne statthaft ist), so ist unbedingt zu verlangen, daß sich diese Gleichheit bei *allen* Färbungen *ausnahmslos* feststellen lassen muß. *Benedek* und *Porsche* beziehen aber andere Färbungen als die von ihnen angegebenen überhaupt nicht in den Kreis ihrer Untersuchungen ein, und diese drei Färbungen, so gute

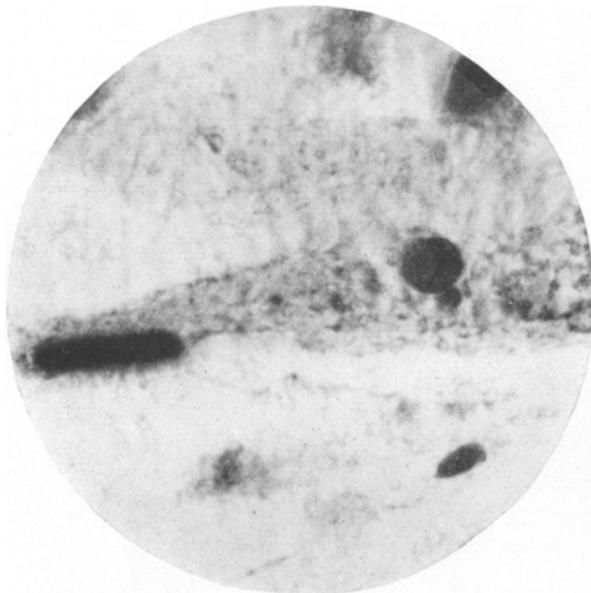


Abb. 4. Färbung nach *Krogh*. Straßenwut bei einer Ziege. Zeiss Apochr. 2 mm, Komp. Ok. 4, Grünfilter. Vergr. 1500 fach. Ganglienzellfortsatz. Im breiteren Teil ein rundes, im schmalen Teil ein spindeliges N.K. Daneben auch kleinste Granula.

diagnostische Bilder der N.K. sie an sich geben, haben eben den Fehler, die Farbunterschiede von N.K. und Nucleolen nicht so genau zum Ausdruck zu bringen wie die anderen bisher üblichen Färbemethoden.

Wir glauben, mit diesen Ausführungen unzweifelhaft bewiesen zu haben, daß *nichts für*, aber *alles gegen* die Abstammung der N.K. aus den Nucleolen spricht!

Nachdem wir also festgestellt haben, daß die Auffassung der N.K. als Degenerationsprodukte des Nucleolus nicht in Betracht kommt, die Möglichkeit einer Entstehung aus degenerierten Zellkernen aus den gleichen Gründen abzulehnen ist (Unversehrtheit der Kernstruktur und

Unmöglichkeit einer unbeschränkten Regeneration des Kernes, stets verschiedene Färbung usw.), erhebt sich die Frage: Was sind die *Negri*-körperchen eigentlich sonst?

Zwei Entstehungsmöglichkeiten wären noch in Erwägung zu ziehen, wenn man die N.K. als Produkte einer reinen Zelldegeneration ansehen will.

1. Können sie durch umschriebene Entartung des Protoplasmas der Ganglienzellen entstanden sein. Für die Lyssa wurde diese Annahme bisher nur von *Höfer* in Betracht gezogen. Er hält die N.K. für eine bestimmte Form von Koagulationsnekrose des Protoplasmas, d. h. spezifische umschriebene tropfige Entmischung des Plasmas, entstanden durch Wirkung des Lyssagiftes. Neuestens hat *Schütz* die *Guarnierischen* Körperchen bei Variola in diesem Sinne zu deuten versucht. Er faßt die *Guarnierischen* Körperchen als cytoplasmatische Gebilde sui generis auf, die aus winzigen sphäroiden Körperchen (Tröpfchen) hervorgehen und zu keinen normalen Zellorganellen in genetischer Beziehung stehen. Der Entwicklungsgang dieses Tröpfchens scheine kein morphologischer zu sein, sondern lediglich physikalisch-chemischer Natur (Volumszunahme durch Quellung). „Die *Guarnierischen* Körperchen sind weder amöbenartige noch chlamydozoenartige Organismen noch ausgetretene Nucleolen oder degenerierte Zellorganellen, sondern echte cytoplasmatische Gebilde, entstanden als Antwort auf Erkrankung oder Vergiftung der Zelle durch das Pockenvirus.“

Gleicherart könnten die N.K. aufgefaßt werden. Wir glauben diese Möglichkeit, wenigstens für die Lyssa, aus folgenden Gründen ablehnen zu müssen: Eine Degeneration, die circumscribt an verschiedenen Stellen des Protoplasmas einer Zelle angreift, dort scharf umschriebene und kompliziert strukturierte Gebilde schafft, wurde bisher bei keiner Krankheit und keiner Zellart jemals beschrieben, bei der ein bekannter Erreger Ursache der Erkrankung ist. Die Histopathologie der Zelle kennt eine derartige Schädigung nicht. Die tropfige Entmischung des Protoplasmas, an die *Höfer* offenbar denkt, und die als degenerative Zellschädigung beispielsweise an den Nierenepithelien sehr häufig bei den verschiedensten Krankheiten zur Beobachtung gelangt, kann wohl kaum mit den Befunden in den Ganglienzellen bei der Lyssa in Analogie gesetzt werden. Dort entsteht eine Degeneration des *ganzen* Protoplasmas derart, daß das Eiweiß zu größeren, hyalinen, unstrukturierten Tröpfchen zusammenfließt, die nur die Farbreaktion der hyalinen Substanz im allgemeinen geben, während hier im anscheinend intakten Protoplasma gutstrukturierte und komplizierte Gebilde auftreten, die sowohl saure als basische Anteile aufweisen. Auch die *Mikulicz*-Zellen bei Rhinosklerom und die Globi bei der Lepra können hier kaum vergleichsweise herangezogen werden. Denn dort werden die kugeligen Proto-

plasmainnengebilde von den Schleimkapseln des Erregers gebildet, hier wieder das in toto wabig degenerierte Protoplasma von Leprabacillen ausgefüllt.

Ferner ist in den Zellen mit N.K. die Nissl-Struktur, die am frühesten bei den degenerativen Prozessen leidet, häufig tadellos erhalten. Weiter finden sich ja N.K., wie wiederholt erwähnt, auch extracellulär und weit ab von der Ganglienzellschicht. Es erübrigt sich daher, unseres Erachtens, auf diese Hypothese noch weiter einzugehen.

In allerjüngster Zeit hat *Goodpasture* in einer ausführlichen Arbeit den Nachweis zu erbringen versucht, daß die N.K. genetisch von degenerierten Neurofibrillen und Mitochondrien der Ganglienzellen abzuleiten sind, und zwar derart, daß der basophile Anteil der N.K. von den Mitochondrien, der acidophile von den Neurofibrillen abstamme. Abgesehen davon, daß es gar nicht feststeht, daß in den Ganglienzellen überhaupt Mitochondrien vorkommen, scheint seine Beweisführung auf Grund seiner Neurofibrillenfärbung durchaus nicht zwingend, seine Abbildungen nicht überzeugend. Uns ist es jedenfalls nicht gelungen, uns an nach *Goodpasture* gefärbten Präparaten von der Richtigkeit seiner Anschaufung zu überzeugen, ganz abgesehen von allen Erwägungen, die diese Möglichkeit schon von vornherein ausschließen, und die sich zwanglos aus unseren Ausführungen über die Ableitung der N.K. von degenerierten Zellbestandteilen anderer Art ergeben.

2. Könnte es sich um Gliakerne im Inneren der Ganglienzelle handeln (Neuronophagie), die dort oder auch schon vorher Veränderungen ihrer Struktur und Färbbarkeit erfahren haben (*Achucarro, Benedek und Porsche*). Dagegen sprechen unsere, an zahlreichen Präparaten und mit genügend zahlreichen Färbemethoden erhobenen Befunde, die stets eine prinzipielle Farbdifferenz zwischen N.K. und Kernen amöboider Gliazellen feststellen ließen. Sowohl extra- wie intracelluläre Gliazellen waren als solche stets zweifellos zu erkennen, und es wurden niemals Bilder gesehen, die etwa auf einen Übergang von Gliakernen zu N.K. hätten schließen lassen. Bilder, wie sie *Achucarro* (hauptsächlich bei Virus-fixe-Lyssa), beschreibt und wie sie *Benedek* und *Porsche* abbilden, haben wir niemals gesehen, auch nicht bei den 3 Färbemethoden *Benedeks* und *Porschess*.

Es führt schon zu falschen Ergebnissen, wenn man sich gleich färbende Gebilde stets für gleichartig hält. Derartige Schlüsse sind, wenn überhaupt, nur mit großem Vorbehalte zu ziehen. Dagegen kann man ohne weiteres annehmen, daß Strukturen, die sich bei gleicher Behandlung und unter gleichen Bedingungen *stets verschieden* färben, auch in Wirklichkeit verschiedener Natur sind. Da diese Farbdifferenzen aber bei allen angewendeten (20) Färbemethoden stets ausgesprochen sind, sich der Gliakern stets mit dem basischen Farbstoff, die N.K. stets mit dem sauren

Farbstoff färben, ist es unmöglich, die N.K. mit Gliakernen in genetische Verbindung zu bringen. Prinzipiell entscheidet der Ausfall der Nucleareaktion von *Feulgen* und *Rossenbeck* diese Frage, da sich die N.K. vollkommen *negativ* gegen diese Reaktion verhalten. Es müßten also die Gliakerne ihren Gehalt an Nucleinsäure vollkommen eingebüßt haben, als sie zu N.K. wurden!

Zudem geht bei Straßenwut die Zahl der N.K. durchaus nicht dem Grade der Neuronophagie parallel (sehr viele N.K., meist nur mäßige Neuronophagie!). Im Gegensatz dazu lassen sich bei Virus-fixe-Lyssa, wo Neuronophagie und degenerative Veränderungen der Ganglienzellen sehr hochgradig sind, meist keine N.K. feststellen!

Wie wir also bewiesen zu haben glauben, können die N.K. genetisch von keinem Zell- oder Gewebsbestandteil abgeleitet werden, müssen also *zellfremde* Gebilde sein. Als solche kommen wohl nur *Parasiten* in Betracht. Als Parasiten wurden die N.K. ursprünglich aufgefaßt und werden auch heute noch vielfach so angesehen. Zwingende Beweise dafür liegen bisher allerdings nicht vor. Gründe *für* diese Auffassung und Gründe *gegen* sie wurden aber häufig geltend gemacht. *Frosch* hat beide in folgenden Punkten zusammengefaßt:

a) Gründe *für* die parasitäre Natur:

1. Das nachgewiesene ausschließliche Vorkommen bei der Wutkrankheit.
2. Das nahezu konstante Auftreten (98—99% aller Fälle) bei natürlicher oder künstlicher Infektion mit Straßenwut.
3. Die Lokalisation im Zentralnervensystem.
4. Der Besitz einer typischen Innenstruktur.
5. Die Körperchen finden sich eingeschlossen in Zellen, deren Protoplasma, Kern und Kernkörperchen gut erhalten ist. Sie können daher nicht als Degenerationsprodukt der Wirtszelle aufgefaßt werden. Umgekehrt fehlen sie gerade in den Zellen, die Degenerationserscheinungen zeigen.
6. Die äußere Form, die je nach der Lage im Zellprotoplasma oder in den Fortsätzen der Ganglienzelle der Umgebung angepaßt ist, scheint auf ein Wachstum in der Zelle zu deuten.
7. Ex juvantibus: Gewisse experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen der N.K. zum Wutgift.

b) Gründe *gegen* die parasitäre Natur:

1. Das gänzliche Fehlen von N.K. in sicher virulentem Material, wie im Speichel, in der Nervensubstanz im ganzen Verlaufe der Krankheit, sowie ihre ausgesprochene Seltenheit im Rückenmark.
2. Selbst im Organ ihres hauptsächlichsten und gewöhnlichsten Sitzes (im Ammonshorn) fehlen sie in der Inkubationsperiode, obwohl das Organ bereits infektiös ist.
3. Das Lyssagift geht durch bakteriendichte Filter, deren Poren selbst für die kleinsten bisher gesehenen, erkennbaren Formen der N.K. als unpassierbar gelten.
4. Positive Übertragungsversuche mit zentrifugierten oder stark verdünnten Wutgiftemulsionen stehen ebenfalls nicht im Einklang mit Größe und Zahl der N.K. in dem betreffenden Materiale.

J. Koch fügt daran folgende Bemerkung:

„Alle diese Bedenken würden aus dem Wege geräumt sein, wenn es gelänge, noch kleinere Formen als die kleinsten N.K. als parasitäre Gebilde im Gehirn und Rückenmark wutkranker Tiere nachzuweisen und ihre Beziehungen zu den N.K. in befriedigender Weise aufzuklären.“

Koch selbst und vor ihm *Babes* haben für dieses notwendige Postulat genügende Unterlagen geliefert, indem sie als die *ersten* kleinste, eben an der Grenze der Sichtbarkeit stehende Gebilde als regelmäßigen Befund bei der Straßenwut beschrieben haben.

Koch faßte diese Gebilde als die Erreger der Lyssa auf und begründete diese Auffassung des näheren.

Mit der Feststellung dieser kleinsten Körperchen auch in der Inkubationsperiode und in den seltenen Fällen ohne N.K. fallen alle Gegengründe gegen die parasitäre Natur der N.K., wie sie *Frosch* angeführt hat. Sie besitzen eine Größe, die es ihnen gestattet, Bakterienfilter zu passieren.

Wenn sich nun eine Beziehung zwischen diesen „staubförmigen Granulationen“ Kochs und den N.K. herstellen läßt, kann gegen die parasitäre Natur der N.K. keine Einwendung mehr erhoben werden.

Wir konnten nun in fast allen Präparaten bei verschiedenen Färbungen mehr weniger reichlich Gebilde zur Ansicht bringen, die der Beschreibung J. Kochs entsprechen, und die die Größe der kleinsten N.K. höchstens erreichen, meist aber kleiner sind, oft eben an der Grenze der Sichtbarkeit stehen, die sich fürberisch ganz ebenso wie die Grundsubstanz der N.K. verhalten.

Sie stellen sich als kleinste, immer runde (kugel- oder eiförmige) Körnchen dar, deren Größe sehr wechselt und zwischen der eines eben sichtbaren Pünktchens und der eines Staphylokokkenkornes schwankt. Sie liegen entweder einzeln oder in Diploform oder in kurzen Ketten aneinander gereiht, die größeren sind auch birn- und schiffchenförmig, sowohl im Protoplasma der Ganglienzelle (*niemals im Kern*) und deren Fortsätzen als auch extracellulär, wenn sie dort auch schwerer sichtbar zu machen sind. (Wir haben im Gegensatz zu *J. Koch* niemals feststellen können, daß die größeren dieser unstrukturierten Gebilde aus kleinen Einzelkörnchen zusammengesetzt sind und daß man Teilungslinien in ihnen wahrnehmen kann.) Sie sind häufig, durchaus aber nicht immer, von einem hellen Hofe umgeben. Manchmal sind die Ganglienzelleiber von ihnen förmlich übersät, wobei sich aber dann der Körnchenbestand streng an die Grenzen der Zelle hält. Sie sind über die einzelnen Teile eines Schnittpräparates keineswegs gleichmäßig verteilt, man sieht Ganglienzellen mit ihnen und solche ohne sie. Sie kommen auch in Zellen zur Ansicht, die N.K. verschiedener Größe und Zahl enthalten.

In Übereinstimmung mit *J. Koch* müssen wir feststellen, daß die Unterscheidung der größeren kokkenartigen Gebilde von kleinsten N.K.

unmöglich ist, da es dem subjektiven Ermessen des einzelnen Beschauers überlassen bleiben muß, zu bestimmen, was er noch als staubförmiges Korn oder schon als N.K. auffassen will. Es ist sicher willkürlich, alle auch noch so kleinen Gebilde, die irgendeine Struktur aufweisen, als N.K. zu bezeichnen, alle unstrukturierten auch dann staubförmige Granulationen zu benennen, wenn sie etwas größer sind als die kleinsten mit Struktur, dies schon deswegen, weil man ja aus einem Einzelschnitt bei so kleinen Gebilden nie mit Sicherheit ihre Strukturlosigkeit behaupten kann.

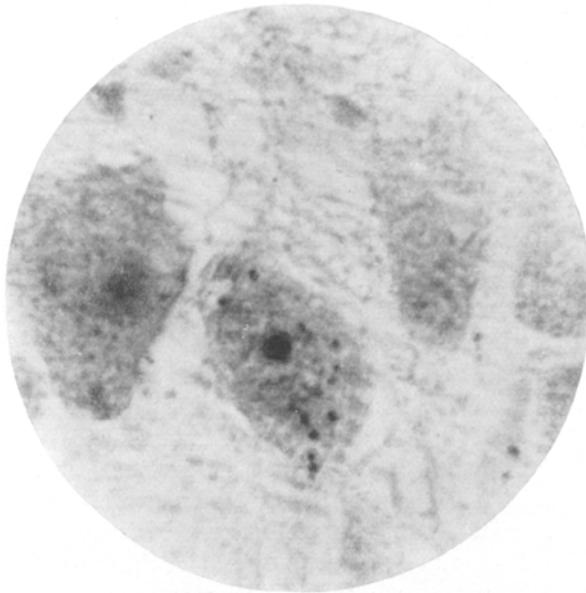


Abb. 5. Färbung nach *Heidenhain*. Straßenwut beim Hunde. Zeiss Apochr. 2 mm, Komp. Ok. 4, Grünfilter. Kameraauszug 70 cm, Vergr. 1500fach. Ganglionzelle mit zahlreichen kokkenartigen Gebilden und staubförmigen Granulationen.

Schon aus diesen Überlegungen ergeben sich Hinweise dafür, daß die N.K. vielleicht aus den kleinsten Körnchen hervorgehen. Tatsächlich finden wir in dem immer wiederkehrenden Nebeneinander solcher Formen in ein und demselben Schnitt, die keine Entscheidung über ihre Gruppenbestimmung, ob Granulum oder N.K., zulassen, gewichtige Stützen für diese Auffassung. Weitere Gründe dafür ergeben sich aus der Möglichkeit, auch die kleinsten Granula bei fast allen N.K.-Färbungen im gleichen Farbenton wie die N.K. selbst sichtbar zu machen. Daß diese wichtige Tatsache, die wir regelmäßig feststellen konnten, für die Genese der N.K. nicht genügend gewürdigt wurde, liegt wohl daran, daß Koch und seine Schüler nur mit zwei Färbemethoden gearbeitet haben, von denen die eine (*Heidenhain*) keinen sicheren Schluß zuläßt,

die andere (*Krogh*) häufig mißlingt, und auch andere Autoren diese Körnchen entweder nicht gesehen oder falsch gedeutet haben (*Benedek* und *Porsche*). Uns ist dagegen fast in allen Fällen und fast mit allen Färbungen ihr Nachweis gelungen. *Wir stellen damit als erste fest, daß ein Körnchenbefund ein ebenso pathognostischer bei der Straßenwut ist, wie der Befund von N.K.*

Besonders was ihr färberisches Verhalten anlangt, müssen wir somit die Angaben *J. Kochs* ergänzen und berichtigen. Es ist zwar zutreffend, daß, wie *Koch* angibt, die kleinen Körnchen mit den Fär-

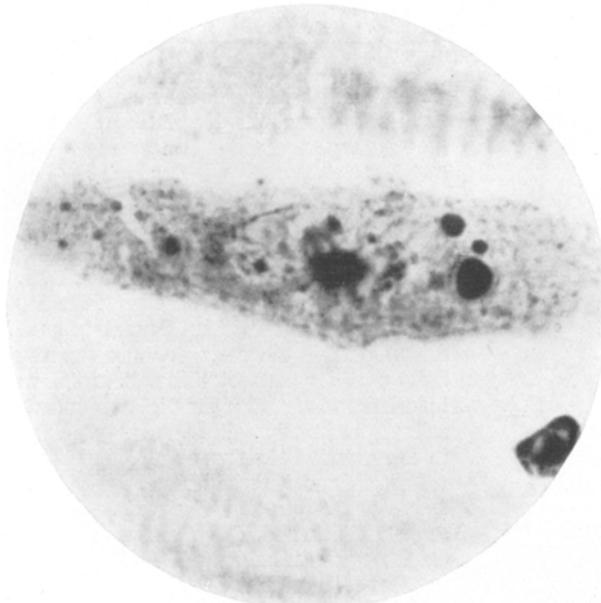


Abb. 6. Färbung nach *Krogh*. Straßenwut beim Hunde. Zeiss Apochr. 2 mm, Komp. Ok. 4, Grünfilter. Kameraauszug 70 cm, Vergr. 1500fach. Ganglienzelle mit zahlreichen kokkenartigen Gebilden, kleinsten und kleinen N.K. Kern und Kernkörperchen intakt.

bungen von *Heidenhain* und *van Krogh* am reichlichsten zur Darstellung kommen. Keineswegs aber können sie nur mit diesen Färbemethoden dargestellt werden. Wir finden sie regelmäßig auch bei Färbungen nach *Schönwetter* und *Stutzer*, häufig nach *Lentz* und, wenn auch seltener, nach *Mann*. Wir haben sie ferner bei den Färbungen nach *Benedek* und *Porsche* gesehen. Mit der *Mann*-Färbung ist ein Körnchenbefund bisher unseres Wissens noch niemals erhoben worden. Daß sie bei dieser Färbung nur selten zur Wahrnehmung gelangen, liegt wohl an der dunklen Methylblaufärbung des Protoplasmas und der Glia, wodurch die Körnchen verdeckt werden. Die Detailstruktur des Kernes und der Zelle ist dabei überhaupt schlecht dargestellt und durch die gleichmäßig opake

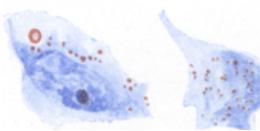


Abb. 7. Färbung nach *Mann*. Straßenwut beim Hunde. Zwei Ganglionzellen des Ammons-hornes, eine davon scheinbar kernlos (Kern liegt außerhalb der Schnittebene). Im Proto-plasma reichlich kokkenartige acidophile Gebilde und staub-förmige Granula, sowie ein kleines N.K. mit einfacher Struktur.

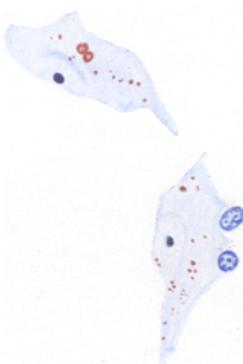


Abb. 8. Färbung nach *Schönwetter*. Straßenwut beim Hunde. Ganglionzellen mit kleinen N.K. und reichlichen staubförmig. Granulationen. Einer Ganglionzelle anlie-gend zwei amöboide Glia-zellen (Neuronophagie).



Abb. 9. Färbung nach *Lentz*. 3. Kaninchenpassage von menschlicher Straßenwut. Zahl-reiche kleinste N.K. und kokken-artige Gebilde.

normalen oder sonst pathologisch veränderten Gehirn und Rückenmark.

J. Koch hält sie somit auch für den Wuterreger und das N.K. für ein Reak-

Färbung verwischt. Auch bei den Färbungen nach *Lentz* und *Schönwetter* sind die Körnchen immer dann am besten zu sehen, wenn durch stärkeres Differenzieren eine möglichst schwache Färbung des Gewebes erzielt wird.

*Sind die Körperchen vorhanden, so färben sie sich bei allen Methoden genau in gleichem Farbenton wie die Grundsubstanz des N.K. acidophil und nicht, wie dies *J. Koch* angibt, im Farbenton der Innenkörper, die ja vielfach ungefärbt erscheinen und häufig basophile Innenstrukturen zeigen.*

Babes hat offenbar schon als erster 1892 (noch vor Entdeckung der Negrikörperchen) diese Gebilde im Schnittpräparat mit den Färbungen von *Ramon y Cajal*, *Cajal-Giemsa* und *Romanowsky* dargestellt und als Parasiten der Wut gedeutet. In einer späteren Arbeit präzisiert er seinen Standpunkt dahin, daß diese kleinsten Gebilde dort zur Ansicht gelangen, wo die Nervenzellen schwer geschädigt sind, N.K. hauptsächlich dort, wo die Nervenzellen relativ gut erhalten sind. *Babes* findet sie im Gegensatz zu *J. Koch* nie-mals extracellulär, stets nur „an der Oberfläche der Zelle oder im Zellprotoplasma“. *Koch* weist sie auch innerhalb wenig oder gar nicht veränderter Ganglien-zellen gleichzeitig mit N.K., aber auch extracellulär in der grauen Substanz und in den Lücken des Gliage-webes, sodann innerhalb von Blutgefäßen bei *Heiden-hain-* und *Krogh*-Färbung nach. Trotz dieser Unter-schiede scheint es, daß *Koch* und *Babes* die gleichen Gebilde gesehen haben, wie sie diese ja auch beide in annähernd gleicher Weise als Erreger der Wut deuten.

Babes sagt darüber: „Das Wesen des geschilderten Prozesses ist also das Eindringen eines reizen-den Elements (i. e. kleines Körnchenerreger) in die Zelle, was zu einer hyalinen metachromatischen Entartung, zu einer Art Koagulationsnekrose des Protoplasmas führt, wobei aber die Zelle selbst die Lebensfähigkeit bewahrt und sich durch die Einkapselung und Sequestration desselben vor dem schädlichen Eindringling schützt“ (i. e. ihn zum N.K. macht).

J. Koch führt als Gründe für die parasitäre Natur der kokkenartigen Gebilde folgendes an: Ihre Gestalt und feinere Struktur, ihr Vorkommen in den Ganglionzellen, die herdweise Durch-setzung einzelner grauer Hirnbezirke, die Übergänge zwischen ihnen und den N.K., ihr Vorhandensein in den Frühstadien und bei allen Formen der Straßenwut, auch bei fehlenden N.K., ihre Übereinstimmung in Größe, Färbbarkeit und Gestalt mit den Innenformationen der N.K. und endlich ihr Fehlen im

tionsprodukt der Zelle auf den Erreger und schließt sich damit der Chlamydozoenlehre *Prowazeks* (Strongyloplasmenlehre *Lipschütz*) an.

Diese Befunde von *Babes* und *J. Koch*, deren Wichtigkeit für die Ätiologie der Lyssa, wie wir glauben, ganz bedeutend ist, haben merkwürdigerweise im Schrifttum sehr wenig Beachtung gefunden. So sind z. B. in der Arbeit von *San Felice* im Jahre 1916, der bezüglich der Genese der N.K. doch auf dem entgegengesetzten Standpunkt steht wie *Babes* und *Koch*, diese Befunde überhaupt nicht erwähnt. Nur *Benedek* und *Porsche* (1922) führen sie an. Die Ablehnung, die sie der *Kochschen* Deutung zuteil werden lassen, ist durch keinerlei abweichenden Befund gestützt. Wir kommen auf ihre Ansicht über die kleinen Körnchen noch zurück. Andere Arbeiten der neueren Zeit (soweit sie nicht aus der Schule *Kochs* stammen, wie die von *Stutzer* und *van Krogh*), die auf diese Frage eingehen, sind uns nicht bekannt. *Benedek* und *Porsche* deuten an, daß sie diese staubförmigen Granulationen *Kochs* für Kunstprodukte, beziehungsweise unspezifische Degenerationsprodukte der Ganglienzellen und Gliakerne halten, unter Beziehung auf Befunde *Achucarros* und *Alzheimers*. Doch zeigt ein Blick auf ihre eigenen Abbildungen (Taf. 1, Abb. 4, 9, 14, 16, 17 u. a.) besser als alle Gegengründe, die wir anführen könnten, die Unhaltbarkeit ihrer Ansicht.

Die Gründe *J. Kochs* für die Parasitennatur seiner Gebilde scheinen einleuchtend, aber ergänzungsbedürftig, weil seine Schlußfolgerungen hauptsächlich aus Präparaten nach *Heidenhain* abgeleitet sind und seine zweite Färbung (*van Krogh*) wenig verlässliche Resultate zu geben scheint (auf die technische Schwierigkeit dieser Färbung weist *Koch* selbst hin). Was nun die *Heidenhain*-Färbung anlangt und die Schlüsse, die man aus ihr ziehen kann, muß vor allem darauf hingewiesen werden, daß dabei die Bilder weitgehend durch verschiedene Differenzierungsgrade beeinflußt werden können. Nicht alles, was bei geringer Differenzierung als schwarzes Körnchen imponiert, kann als spezifisch gelten und mit den *Kochschen* Gebilden identifiziert werden. Denn es färbt sich mit Eisenhämatoxylin auch die Chromatinsubstanz der Kerne körnig, die Lipoidosomen und fuchsinophilen Granula des Ganglienzelleibes und der Gliazellen, ja auch Plastingranula, so daß hier eine Unterscheidung von spezifischen Gebilden unmöglich ist. Erst bei stärkerer Differenzierung, die so weit getrieben werden muß, daß von den normalen Ganglienzellbestandteilen nur die Kernkörperchen schwarz gefärbt erscheinen und die *Negrikörperchen* ihre Farbe teilweise, ja sogar vollständig abgegeben haben und als ungefärbte, blassen, scharf konturierte Scheiben nur undeutlich sichtbar sind, können die staubförmigen Granulationen *Kochs*, die nach unseren Erfahrungen am längsten der Differenzierung widerstehen, scharf als spezifische Gebilde erkannt werden. Die übrigen körnigen Gebilde der degenerierten Ganglienzellen, insbesondere die lipo-

chromen Körnchen und fuchsinophilen Granula (die nach *Alzheimer* als Vorstufen der Lipoidosomen aufzufassen sind) haben in diesem Differenzierungsstadium bereits vollständig die Farbe abgegeben. Dies scheinen Schnittbilder zu beweisen, wo an gut differenzierten Stellen diese Granulationen nur in einzelnen Zellen vollkommen fehlen, während in serienmäßig unmittelbar folgenden Schnitten bei schwächerer Differenzierung das ganze Präparat von Körnchen übersät ist. Wie vorsichtig man in der Deutung solcher Befunde sein muß, hat schon *J. Koch* selbst hervorgehoben, und bei Betrachtung seiner Abbildungen scheint es uns, als ob nicht alle abgebildeten Körnchen und Körner tatsächlich mit seinen Parasiten identisch wären (siehe besonders seine Abbildungen

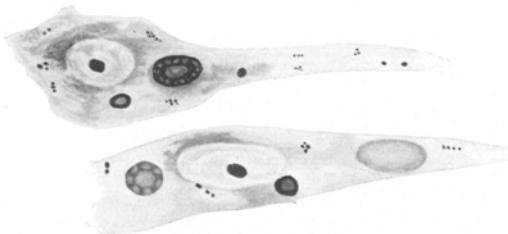


Abb. 10. Färbung nach *Heidenhain*. Straßenwut beim Hunde. Verschiedene Differenzierungsgrade der N.K. nebeneinander. Verschieden große N.K. und kokkenartige Gebilde in einer Zelle. Während die kleinsten noch intensiv geschwärzt sind, haben die großen N.K. bereits die Farbe (wenigstens zum Teil) abgegeben.

der angeblichen staubförmigen Granulationen im Gefäßlumen, Befunde, die wir nie erheben konnten).

Den Einwand, daß es sich bei den Befunden von *Babes* und *J. Koch* um „gröbere Kunstprodukte“ handle, erhoben *Benedek* und *Porsche*. Sie suchten dies durch

folgenden Versuch zu

stützen: Sie setzten mit Eiweiß und Fettstoffen bestrichene Objektträger der Einwirkung eines Silberbades und nachher der von Reduktionsmitteln aus und fanden, daß oft die niederschlagartig ausgeschiedenen Silberkörnchen in einzelnen Teilen des Präparates so angeordnet waren, wie die *Kochschen* Granulationen zwischen den Blutkörperchen. Mag dies für Silberimprägnationen zutreffen (*Babes*), so doch keineswegs für Methoden, die mit einer Silberimprägnierung nichts zu tun haben. So fehlen den Einwänden *Benedeks* und *Porsche* die Unterlagen. Überzeugend spricht gegen Auffassung der Körnchen als Niederschlagsbildung oder unspezifischer Zellkörnchen der regelmäßige Nachweis dieser Körnchen auch mit anderen Färbungen, besonders solcher, welche N.K. und Granula im Gegensatz zu den übrigen Zellen elektiv in der gleichen Farbe darstellen, wobei die lipochromen Körnchen ungefärbt bleiben. *Koch* selbst hat dies bereits als Kriterium gefordert und seinen *Heidenhain*-Befunden nur dann Beweiskraft zuerkannt, wenn an den gleichen Stellen auch mittels der *Krogh*-Färbung (bei der sich nach *Koch* keine anderen Körnchen färben), selten auch nach *Lentz*, die gleichen Körnchen darstellbar sind (gelungene Umfärbungsversuche am selben Schnitt).

In unseren Präparaten haben wir ihr Vorkommen fast stets, wie bereits erwähnt, auch mit den Färbungen nach *Schönwetter*, *Lentz*, *Stutzer*, *Benedek* und *Porsche* und sogar bei der *Mann*-Färbung darstellen können (siehe Abb.). Ihre Morphologie stimmt auch bei diesen Färbemethoden genau mit den Angaben *J. Kochs* überein.

Diese Gebilde als Degenerationsprodukte der Zelle aufzufassen, scheint uns unmöglich, da wir sie überwiegend nur in solchen Ganglienzellen gefunden haben (wir stehen da im Gegensatz zu *Babes*), die keinerlei degenerative Schädigung aufwiesen, in denen Kernstruktur und Nucleolus tadellos erhalten war und auch das Protoplasma keine Zeichen einer beginnenden Degeneration gezeigt hatte. *Vielmehr stehen wir nicht an, zu behaupten, daß nach Form, Färbbarkeit und Vorkommen diese kleinen Gebilde nichts anderes sein können als Vorstufen der Negrikörperchen.* Ihre

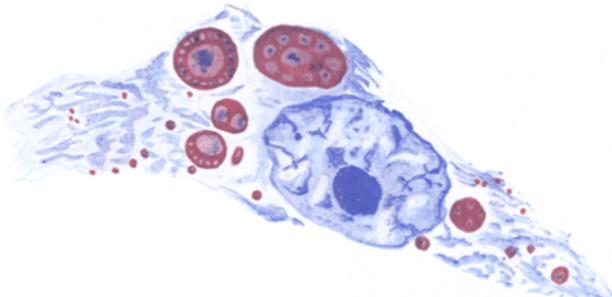


Abb. 11. Färbung nach *Krogh*. Straßenwut beim Rinde. (Vergr. ca. 1500—2000 fach.) N.K. verschiedener Form und Größe neben kokkenartigen Gebilden und staubförmigen Granulationen im Plasma einer Ganglienzelle. In den N.K. verschiedene große und verschieden geformte Innenkörper und basophile Innenstrukturen.

Entwicklung scheint derart vor sich zu gehen, daß die kleinsten Körnchen (aus unsichtbaren Vorstufen?), allmählich an Größe zunehmen, bis die ungefähre Größe eines Staphylokokkenkernes erreicht ist, ohne bis dahin eine erkennbare Struktur aufzuweisen. Dann tritt ein kleines, stark lichtbrechendes Körnchen im Mittelpunkt auf, womit der Übergang zum Negrikörperchen vollzogen ist. Natürlich läßt sich diese Entwicklung aus Schnittpräparaten nicht erweisen, da man stets ein Nebeneinander vor sich hat und auf ein Nacheinander nur schließen kann. Wenn man aber Bilder sieht, wie unsere Abbildungen zeigen, wo man die einzelnen Stadien in einer Zelle unmittelbar nebeneinander vor sich hat (und derartige Bilder haben wir unzähligemal gesehen), so erscheint der Schluß, den wir gezogen haben, auch bei bloß mikroskopischer Betrachtungsweise berechtigt. *Zahlreiche Vergleichsuntersuchungen an Gehirnen von Krankheiten verschiedenster Art, insbesondere solcher von toxischer Diphtherie, Staube, Encephalitis usw. haben uns gezeigt, daß niemals irgendwelche Befunde zu erheben waren, die auch nur im geringsten an die Veränderungen*

(Körnchenbefunde) bei Straßenwut erinnerten. Die kleinsten Gebilde sind also für die Lyssa (Straßenwut) streng spezifisch.

Koch, Babes, Lipschütz u. a. haben den Zusammenhang zwischen N.K. und kleinsten Gebilden in der Richtung gesucht, daß sie annahmen, daß durch spezifische Degeneration eines Teiles der Wirtszelle der Parasit eingekapselt und damit zum Innenkörper des N.K. wird. Das ganze N.K. bestünde dann aus einem oder mehreren Parasiten und einer, vom Zellprotoplasma beigestellten Hülle (Chlamydozoon im Sinne Prowazeks). Es ist kein Zweifel, daß mit dieser Theorie auch alle Gegengründe gegen die parasitäre Entstehung der N.K. aus dem Wege geräumt sind (wie insbesondere die Filtrierbarkeit des Wuterregers, Fehlen von N.K. in der Inkubation, negrinenegative Wutanfälle usw.).

Babes hat in sehr ausführlichen Darlegungen diese Theorie mit einer Reihe von Gründen der Überlegung zu stützen gesucht. Ihr Resultat faßt er folgendermaßen zusammen: „Es scheinen genügende Gründe vorhanden, anzunehmen, daß gewisse, feine, runde Granulationen, die man bei der Wut ausschließlich im Protoplasma schwer degenerierter Nervenzellen findet, den Erreger der Wut in aktivem Zustande darstellen. Die N.K., welche sich in wenig oder gar nicht veränderten Zellen finden, sind nicht die aktiven Parasiten der Wut, sondern wahrscheinlich eingekapselte Formen, die den Wutparasiten in einem Stadium der Involution oder Transformation einschließen. Dies als Resultat einer starken Lokalreaktion einer sehr widerstandsfähigen Zelle (Ammonshorn), hervorgerufen durch das Eindringen des Parasiten, gefolgt von der Einkapselung und der Sequestration des Parasiten durch die Zelle.“

Ähnlich interpretiert Koch diesen Vorgang und stellt die Innenkörper seinen staubförmigen Granulationen gleich.

Volpino hat als erster, schon vor Bekanntwerden der J. Kochschen Befunde, die basophilen Innenformationen der N.K. als die Parasiten der Wut aufgefaßt und sie auf Grund seiner Pikrocarmine-Methylenblaufärbung mit anderen einfachsten Lebewesen in Analogie gesetzt. Er glaubte auch einen Entwicklungskreis dieser Lebewesen nachweisen zu können, wobei die verwickelten Strukturen der N.K. durch Teilung der anfänglich einfachen basophilen Substanz entstehen. Die Grundsubstanz der N.K. wurde als eine von der Zelle beigestellte Hülle aufgefaßt. Volpino ist somit ein Vorläufer der Chlamydozoenlehre Prowazeks.

Angewendet auf den Lyssaerreger hat diese Lehre manches Bestechende für sich. Trotzdem gibt sie gerade bei den N.K. zu vielen Bedenken Anlaß. Ist es doch sehr unwahrscheinlich, daß ein bestimmter, im Verhältnis zur Zellgröße außerordentlich kleiner Teil des Protoplasmas für sich und umschrieben degenerieren könne, und daß diese Degeneration nicht nur an einer, sondern an vielen Stellen (z. B. in Zellen mit 20 N.K.!) eintreten könnte, ohne daß der Rest des Protoplasmas irgendwie in Mitteidenschaft gezogen werden sollte! Dergleichen gibt es in der Histopathologie der Zelle unseres Wissens nicht. Aber ebenso spricht die regelmäßige Strukturform gegen diese Annahme und die unmittelbare Nachbarschaft solcher „degenerierter Protoplasmabezirke“ mit scharfer Trennungslinie. Man müßte doch wohl annehmen, daß derartige, nahe beieinanderliegende Parasiten gemeinsam abgekapselt werden oder min-

destens die Degenerationsbezirke ineinander fließen müßten. Nach dieser Theorie ist ja die gemeinsame Abkapselung mehrerer Parasiten sogar die Regel, da ein N.K. zahlreiche Innenformationen enthält. Dieser gemeinsamen Abkapselung müßte eine Zusammenhäufung der kleinsten Körperchen unbedingt vorausgehen. Solche Bilder haben wir aber niemals zu Gesicht bekommen. Zu Beginn der Erkrankung haben die zuerst auftretenden kleinsten N.K. nur *ein* Innengebilde, erst bei längerer Krankheitsdauer werden größere N.K. gesichtet. Wenn also da nahe aneinanderliegende Degenerationsbezirke zusammenfließen sollen, ist es unverständlich, wieso später (in Zellen mit zahlreichen aneinanderstoßenden, aber gegeneinander scharf abgegrenzten N.K.) dieses Zusammenfließen nicht mehr eintreten sollte. Auch ist es sonderbar, daß derartige Hüllbildungen des Protoplasma als Abwehrreaktion niemals bei bekannten Erregern gefunden wurden, obwohl das Eindringen oder die Aufnahme in Zellen ein sehr häufiges Ereignis darstellt. Da reagiert die Zelle entweder gar nicht oder mit einer totalen Degeneration usw., niemals in der Art einer circumscripten Abkapselung in der Zelle.

Die Innenkörper liegen in den N.K. stets in regelmäßiger geometrischer Anordnung, beispielsweise in der typischen Rosettenform. Es wäre unverständlich, daß eingedrungene Parasiten sich erst derart anordnen sollten, bevor sie vom Protoplasma abgekapselt werden. Dagegen wäre eine solche Anordnung leicht verständlich, wenn diese Innengebilde durch Teilung aus einem Einzelkorn hervorgegangen sind.

Das Wichtigste ist aber die differente Färbung der freien Granula und der Innenformationen. Jene färben sich sauer, wie die Grundsubstanz der N.K., diese basophil.

Zuletzt wäre noch auf die häufigen extracellulären Formen der N.K. hinzuweisen, die mit dieser Theorie überhaupt nicht erklärt werden könnten.

Es ist nicht unsere Aufgabe, uns mit der ganzen Chlamydozoenlehre als solcher auseinanderzusetzen. Wir wollen nur für die Lyssa festgestellt wissen, daß hier kein positiver Beweis erbracht ist, daß die N.K.-Produkten einer Zelldegeneration um den Parasiten ihre Entstehung verdanken, im Gegenteil spricht fast alles gegen diese Annahme.

Wenn wir also auch in der Morphologie und Deutung der Gebilde mit *J. Koch* übereinstimmen und seine Körnchenbefunde durch ihren Nachweis mittels anderer Färbungen gestützt haben, so unterscheiden wir uns bezüglich ihrer Stellung zu den N.K. *grundsätzlich* von *Babes* und *Koch*, die annehmen, daß das Körnchen zum Innenkörper des N.K. wird und die Grundsubstanz des N.K. von der Zelle als Reaktionsprodukt beigestellt ist. *Wir behaupten vielmehr auf Grund zahlloser Übergangsbilder und der färberischen Übereinstimmung der kleinsten Granula mit der Grundsubstanz der N.K.; daß aus dem einzelnen Körnchen, zuerst durch Größenzunahme und*

dann durch Auftreten eines Innengebildes, das ganze Negri-Körperchen gebildet wird. Jedenfalls scheint es unmöglich, daß die stets acidophilen kleinsten Granula zu basophilen Innenkörpern werden könnten.

Levaditi und seine Mitarbeiter halten den Lyssaeerreger für ein *Mikrosporidium* (*Glugea lyssae*) und stützen sich dabei weitgehend auf Analogien mit dem von Levaditi beschriebenen *Encephalitozoon cuniculi* (Erreger der Spontanencephalitis der Kaninchen). Der eigentliche Erreger ist unsichtbar und filtrierbar und zerstört die Zellen wie andere Mikrosporidien. Wenn er auf widerstandsfähige Ganglienzellen (Ammonshorn usw.) stößt, so macht er einen Entwicklungskreis durch, dessen letzte Phase, die Pansporoblasten und Cysten, das große N.K. darstellt. Die Bildung der N.K. scheint an die vitale und morphologische Unversehrtheit der Ganglienzelle gebunden zu sein. Ist der Wuterreger imstande, die Zelle zu vernichten, so kann sich kein N.K. bilden. Nach Levaditi läuft der Entwicklungszyklus auch anderer Mikrosporidien nur in anscheinend unveränderten Zellen vollständig ab. Jeder Innenkörper ist ein Aggregat von Mikrosporidiensporen, die einzelnen Sporen sind unsichtbar, die Innenkörper entsprechen somit den Pansporoblasten, die gemeinsame Kapsel kommt von der Zelle.

Negri hat von Anfang an behauptet, daß das ganze N.K. ein Stadium des Wutparasiten darstellt, eine Ansicht, der sich Golgi, Segré, Grassi, Pröscher, Kelser, Kotzewaloff, Watson, Luzzani, Williams und Lowden u. a. angeschlossen haben. Negri glaubte auch den ganzen Entwicklungszyklus dieses Protozoons darstellen zu können. Dagegen wurde hauptsächlich geltend gemacht, daß sich ein derartiges Protozoon in keine bekannte Protozoengruppe einreihen lasse. Das ist jedoch kein stichhaltiger Einwand, denn schließlich könnte dies gegen jede Erstentdeckung einer neuen Gruppe geltend gemacht werden. Auch ist es durchaus nicht notwendig, daß der Parasit einer Gruppe *bekannter* Protozoen angehört; nach seiner Neurotropie und der Symptomatologie der Wutkrankheit ist dies nicht einmal wahrscheinlich. Ja, es ist nicht einmal notwendig, daß der Wuterreger gerade ein Protozoon sein muß.

Wir konnten den Entwicklungszyklus *Negris* nicht bestätigen, insbesondere glauben wir, daß ein Zerfall des sog. reifen Parasiten (das ist nach Negri die Form, wo das ganze Körperchen von lauter kleinsten Körnchen erfüllt ist) in kleinste Formen nicht stattfindet. Wir haben jedenfalls nie ein Zwischenglied (Teilungsform) gesehen. Wohl aber stimmen wir mit Negri darin überein, daß tatsächlich das N.K. ein Entwicklungsstadium des Erregers und kein Reaktionsprodukt der Wirtszelle um ihn darstellt.

Wir glauben an der Hand der verschiedensten Färbemethoden dargelegt zu haben, daß aus den staubförmigen Granulis in einer ununterbrochenen Reihe die kleinen N.K. durch Größenzunahme und Auftreten eines Innenkernes hervorgehen. Die weitere Entwicklung zu den größeren Gebilden ist nur an der Hand zahlreicher Präparate zu erschließen.

Wir stellen uns diese Entwicklung so vor, daß durch Aufnahme von Nährmaterial aus der Wirtszelle das Wachstum derart stattfindet, daß

das zuerst kleine lichtbrechende Innenkorn an Größe zunimmt. Damit würde gut übereinstimmen, daß diese Innenkörper lipoider Natur zu sein scheinen, was durch ihre schlechte Färbbarkeit, starke Lichtbrechung, Darstellung mittels Silberimprägnation (*Maresch*), durch die, von *Tanakanaru* festgestellten positiven Lipiodreaktionen und ihren Phosphorreichtum (*Volpius*) wahrscheinlich ist. Denn das Nährmaterial, das dem Parasiten im Nervengewebe zur Verfügung steht, ist außerordentlich reich an Lipoiden. Sodann zerfällt das großgewordene Innenkorn in kleinere Kugelchen, einzelne davon werden wieder zu größeren Gebilden die allenfalls abermals zerfallen können. Dabei nimmt das N.K. an Größe zu. In den Innenkörperchen eingeschlossen (lipoide Hülle ?) sind chromatinartige (basophile) Stoffe nachzuweisen, die mitunter komplizierte Strukturen bilden können, nach der negativen Nucleareaktion zu urteilen, jedoch nicht mit Chromatinsubstanzen gleichgestellt werden können. Daraus erklären sich zwanglos die so abwechslungsreichen Formen und Größen der Innenkörper und auch die Tatsache, daß in den meisten Fällen eine bestimmte Strukturform vorherrscht.

Mit zunehmender Größe gelangt der Parasit gewissermaßen zu einem Entwicklungsabschluß, der gleichbedeutend mit dessen Absterben sein könnte. Dafür spricht uns, daß man in gelungenen Färbungen stets neben gutgefärbten N.K. auch solche (und zwar nur große) Exemplare findet, die eine Färbung kaum mehr annehmen und nur als Schatten sichtbar sind, eine Tatsache, auf die auch schon *Manouelian* hingewiesen hat. Dafür sprechen ferner die Befunde von *Amato*, der, bei Implantation von N.K.-haltigem Ammonshorn in das Gehirn von Kaninchen, ein Zugrundegehen der N.K. im Implantat feststellen konnte, bevor das Gehirn des Wirtstieres infektiös wurde. *Amato* hat allerdings diesen Befund dahin gedeutet, daß die N.K. keine Parasiten sein können, wss durchaus nicht zutreffen muß, wenn die N.K. ausgereifte und absterbende Formen des Virus darstellen.

Die Infektiosität scheint uns durch die kleinsten Formationen (Granulaform), vielleicht auch nur durch *unsichtbare Vorstufen* bedingt zu sein, in welchem Stadium auch die Vermehrung durch einfache Teilung erfolgen könnte (Virus fixe).

Beweisen läßt sich dieser angenommene Entwicklungsgang aus Schnittpräparaten nicht. Wirkliche Beweise können vielmehr erst dann erbracht werden, bis die Kultur des Wuterregers geglückt sein wird. Wahrscheinlich müssen dazu aber erst ganz neue Methoden geschaffen werden (Züchtung in überlebenden Gewebsteilen ?).

Kraus, Keller und *Clairmont* haben nämlich nachgewiesen, daß der Wuterreger im toten Nervengewebe sich nicht mehr vermehrt.

Ob die großen Formen der N.K. wirklich absterbende Parasiten sind, wissen wir nicht, denn es könnte sein, daß der Entwicklungszyklus durch

Zugrundegehen des Wirtes als Folge der Erkrankung stets vorzeitig sein Ende findet. Mit längerer Krankheitsdauer der Straßenwut geht immer auch Größenzunahme der N.K. Hand in Hand.

Durch Virulenzzunahme in fortdauernden Tierpassagen und Abkürzung der Krankheitsdauer kommt es überhaupt nicht mehr zur Entwicklung sichtbarer Formen trotz erhaltener Infektiosität, wobei auch die progressive Abkürzung der Inkubationszeit eine Rolle spielen mag. Man hat eingewendet, daß die verschiedene Größe der N.K. bei verschiedenen Tierarten gegen die einheitliche Auffassung als Parasit spreche. Wie bereits erwähnt, hängt jedoch die Größenzunahme der N.K. bei den großen Tieren ausschließlich von der längeren Krankheitsdauer ab, die bei diesen Tierarten fast immer zur Beobachtung gelangt.

Ein weiterer Einwand gegen die Erregernatur der N.K. war der, daß sie sich in vielen Organen trotz deren Infektiosität nicht nachweisen lassen. Demgegenüber ist festzustellen, daß die Entwicklung der Erreger zu N.K. offenbar an das Vorhandensein von nervöser Substanz als Nährsubstrat gebunden ist. Tatsächlich wurden N.K., wenn auch selten, im Markanteil der Nebenniere (als Abkömmling des Sympathicus) (*Da Costa*), in den intraglandulären Ganglien der Speicheldrüsen (*Manouélian* u. a.) und bei intraokulärer Impfung auch in der Netzhaut (*De Vasseur* usw.) nachgewiesen.

Wir wollen durchaus nicht in den Fehler verfallen, aus dem Nebeneinander histologischer Schnittbilder ein Nacheinander in Form eines Entwicklungszyklus aufzurichten, sondern vielmehr nur auf bestimmte sich ergebende Tatsachen hinweisen und Überlegungen daran knüpfen. Es liegt uns auch ferne, den angenommenen Parasiten irgendwie klassifizieren und benennen zu wollen.

Es scheint uns aber, daß die *Protozoennatur* des Wuterregers keineswegs sichergestellt ist. Jedenfalls fehlt dem N.K. nach unseren Befunden ein, als Kern anzusprechendes Gebilde, wie es den Protozoen als Chromatinkorn zukommt. Die Färbung des N.K. entspricht auch nicht der der Protozoen, die stets ein basophiles Protoplasma und ein acidophiles Chromatinkorn aufweisen. Den basophilen Strukturen in den Innenkörpern der N.K. kann der Charakter eines Kernes nicht zugebilligt werden (Fehlen der Nuclealreaktion!). — Ganz hypothetisch könnte der Wuterreger pflanzlichen Parasiten nahestehen.

Unsere Aufgabe bestand hauptsächlich darin, zu zeigen, daß die Theorien, die die N.K. als Bildungen der Degeneration bestimmter Zellbestandteile hinstellen wollen, unrichtig sind und auch die Chlamydozoenlehre, auf den Lyssaerreger angewendet, nicht restlos befriedigt. *Dagegen glauben wir, die Parasitennatur des ganzen Negrikörperchens wahrscheinlich gemacht zu haben, und das nicht nur per exclusionem.* *Es scheint uns, daß die Tatsachen, die wir für die direkte Entstehung*

der N.K. aus den kokkenartigen Gebilden namhaft gemacht haben, einen gewichtigen Grund für diese Auffassung darstellen.

Literaturverzeichnis.

- Achucarro*, Histol. u. histopathol. Arb. **3**, 143. 1910. — *Acton, Hugh* und *Harvey*, Parasitology **4**, 255. 1911. — *Alzheimer*, Zeitschr. f. Psychi. 1906.; Histol. u. histopathol. Arb. **3**, 402. 1910; Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiatrie **5**, 757. 1912. — *Amato*, C. f. B., Orig., **76**, 403. 1915. Rif. med. **20**, 146. 1904. — *Amato* und *Fagella*, Zeitschr. f. Hyg. **65**, 353. 1910. — *Andriani*, Ann. de l'inst. Pasteur **38**, 520. 1924. — *Babes*, Traité de la rage, Paris 1912. Compt. rend. de la soc. de biol. **78**, 457. 1907; Zeitschr. f. Hyg. **56**, 435. 1907; **58**, 401. 1908; **65**, 401. 1910; **69**, 397. 1911. — *Benedek* und *Porsche*, Abh. a. d. Neurol. u. Psych. usw. 1921, H. 14; Wien. klin. Wochenschr. 1921, S. 441. — *Bertarelli*, C. f. B., Orig., **36**, 42. 1904; **39**, 399. 1905; C. f. B., Ref., **37**, 556. 1906. — *Bertarelli* und *Volpino*, C. f. B., Orig., **35**, 221 u. 728. 1903; **37**, 51. 1904. — *Biondi*, Monats-schr. f. Psychiatrie u. Neurol. **30**, 223. 1911. — *Bohne*, Zeitschr. f. Hyg. **52**, 87. 1905. — *Bonfiglio*, Folia neurobiologica **6**. 1912. — *Buongiovanni*, C. f. B. Orig. **41**, 343. 1906. — *Bosc*, Cpt. rend. de la soc. de biol. **55**, 1284. 1903. — *Celli* und *de Blasi*, Dtsch. med. Wochenschr. 1903, S. 945. — *Da Costa*, zit. nach *Segré*. — *Dominicis*, C. f. B., Ref., **36**, 385. 1905. — *Epstein*, C. f. B., Orig., **92**, 71. 1923. — *Feulgen* und *Rossmenbeck*, Zeitschr. f. phys. Chemie **135**, 203. — *Figueira*, Cpt. rend. de la soc. de biol. **90**, 584. 1924. — *Frosch*, Handbuch der pathogenen Mikroorganism. v. Kolle-Wassermann, 1. Aufl., 1. Ergänzungsbd. 1906. — *Frothingham*, C. f. B., Ref., **30**, 471. 1901. — *Furstenko*, C. f. B., Orig., **43**, 360. 1907. — *Gallego-Abelardo*, Zeitschr. f. Infektionskrankh., parasitäre Krankh. u. Hyg. d. Haustiere **28**, 99. 1925. — *Ganslmeyer*, C. f. B., Orig., **55**, 487. 1912. — *Gerlach*, C. f. B., Orig., **91**, 552. 1923. — *Goodpasture*, Amerie. journ. of pathol. **1**. 1926. — *Hoefer*, Therapie d. Gegenw. **54**, 163. 1913. — *Jackson*, Journ. of infect. dis. **29**, 291. 1921. — *Jastremsky*, C. f. B., Orig., **67**, 65. 1913. — *Kelser*, Journ. of the Amerie. vet. med. assoc. **64**, 678. 1924. — *Keysser*, Zeitschr. f. Hyg. **66**, 262. 1910. — *Kleine*, Ebenda **51**, 177. 1905. — *Koch*, J., Ebenda **66**, 443. 1910; Dtsch. med. Wochenschr. 1913, S. 2025; Handbuch der pathogenen Mikro-organism. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl., Bd. VIII. 1913. — *Koch*, J. und *Rüssling*, Zeitschr. f. Hyg. **65**, 85. 1910. — *Königsfeld*, C. f. B., Orig., **70**, 85. 1913. — *Korinsky*, Arch. f. Veterinärwissensch. 1911. — *Koritschoner*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **255**, 172. 1925. — *Kozewaloff*, C. f. B., Orig., **52**, 6. 1909; **73**, 54. 1914; **74**, 654. 1914. — *Kraus* und *Barbara*, Dtsch. med. Wochenschr. 1914, S. 1507. — *Kraus*, *Gerlach* und *Schweinburg*, Lyssa, Verlag Urban und Schwarzenberg, 1926. — *Kraus*, *Keller* und *Clairmont*, Zeitschr. f. Hyg. **41**, 1902. — *Krogh*, C. f. B., Orig., **58**, 95. 1911. — *Lentz*, Ebenda **44**, 374. 1907; Zeitschr. f. Hyg. **62**, 63. 1908; Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1907, H. 8. — *Levaditi*, *Nicolas* und *Schön*, Cpt. rend. de la soc. de biol. **90**, 398 u. 994. 1924; **91**, 56. 1924; Cpt. rend. de l'Acad. des Sc. **170**, 156. 1924. — *Lipschütz*, Handbuch der path. Mikro-organism. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl., Bd. VIII. 1913; C. f. B., Orig., **68**, 323. 1913. — *Luzzani*, Zeitschr. f. Hyg. **49**, 305. 1905; C. f. B., Orig., **36**, 540. 1904. — *Manouélian*, Ann. de l'inst. Pasteur **26**, 973. 1912; **27**, 233. 1913; **28**. 1914. — *Manouélian* und *Viala*, Ann. de l'inst. Pasteur **36**, 830. 1922; **38**, 258. 1924; Cpt. rend. de l'Acad. des Sc. **178**, 344. 1924. — *Maresch*, Wien. klin. Wochenschr. 1905, S. 659; Handbuch der path. Protozoen v. Prowazek Bd. I, S. 196. 1912. — *Maziarsky*, Arch. f. exp. Zellforsch. **4**. 1910. — *Marinesco*, Journ. f. Psychol. u. Neurol. **5**. 1905. — *Martini*, Pathologica **5**, 280. 1913. — *Moon*,

Journ. of the Americ. med. assoc. **57**, 735. 1911. — *Negri*, Zeitschr. f. Hyg. **43**, 507. 1903; **44**, 519. 1903; **63**, 421. 1909. — *Negri-Luzzani*, Ann. de l'inst. Pasteur **27**, 907 u. 1030. 1913; Pathologica **5**, 253. 1913. — *Neri*, C. f. B., Orig., **50**, 409. 1909. — *Nicolle* und *Burnet*, Cpt. rend. de la soc. de biol. **91**, 366. 1924. — *Nissl*, Allg. Zeitschr. f. Psych. **48**, 197 u. 675. 1892; **54**, 1. 1898; *Histol. u. histopathol. Arb. Nissl-Alzheimer* **1**. — *Noguchi*, Journ. of exp. med. **18**, 314; Berl. klin. Wochenschr. 1913, S. 193; Presse méd. 1913, S. 729. — *Pace*, Zeitschr. f. Hyg. **60**, 62. 1908. — *Pianese*, zit. nach *Pace*. — *Pinzani*, C. f. B., Orig., **51**. 1910. — *Pirone*, Pathologica **3**. 1911; **5**, 384. 1913; C. f. B., Orig., **51**, 581. 1910; **56**, 674. 1912; **57**, 173 u. 392. 1912; **58**, 101. 1912; Arch. de méd. expér. et d' anatom. pathol. **24**, 93. — *Poor* und *Steinhart*, Journ. of infect. dis. **12**, 202. 1913. — *Pröscher*, New York med. journ. 1911, S. 783; 1913, S. 15; Berl. klin. Wochenschr. 1913, S. 633. — *San Felice*, Zeitschr. f. Hyg. **76**, 251. 1914; **79**, 452. 1915; C. f. B., Orig., **70**, 345. 1913. — *Schiffmann*, Zeitschr. f. Hyg. **52**, 199. 1906; Wien. klin. Wochenschr. 1905, S. 657. — *Schüder*, Dtsch. med. Wochenschr. 1903, S. 700. — *Schütz*, Zeitschr. f. Hyg. **105**, 1. 1925. — *Schweinburg*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **42**, 552. 1925. — *Segré*, C. f. B., Ref., **53**, 505. 1910. — *Spielmeyer*, Histopathologie des Zentralnervensystems. Verlag Springer 1922. — *Stefanescu*, Cpt. rend. de la soc. de biol. **62**, 886. 1907. — *Standfuss*, Arch. f. Tierheilk. **34**, 1908. — *Steinhart*, *Poor* und *Lembert*, Journ. of infect. dis. **11**, 459. 1912. — *Stutzer*, Zeitschr. f. Hyg. **69**, 25. 1911; C. f. B., Ref., **51**, 389. 1910. — *Tanakanaru*, C. f. B., Ref., **60**, 266. 1914. — *Timofeev*, Internat. Monatszeitschr. f. Anat. u. Physiol. **15**. 1898. — *De Vasseur*, C. f. B., Ref., **55**, 489. 1913. — *Volpino*, C. f. B., Ref., **37**, 459. 1906; **36**, 385. 1905. — *Volpino* und *Bertarelli*, C. f. B., Orig., **35**, 729. 1904. — *Volpius*, Zeitschr. f. Hyg. **63**, 113. 1910. — *Watson*, Journ. of exp. med. **17**, 27. 1913. — *Williams* und *Lowden*, Journ. of infect. dis. **3**, 452. 1906.
