

(Aus dem I. pathologisch-anatomischen Institut der kgl.-ung. Pázmány Péter-Universität in Budapest. — Direktor: Prof. Dr. Koloman Buday — und aus der Prosektur des St. Stephanusspitals. — Oberarzt: Privatdozent Dr. Josef Baló.)

## Über die spontane Encephalitis der Kaninchen und deren Bedeutung in der ätiologischen Forschung der epidemischen Encephalitis sowie in sonstigen Kaninchenversuchen.

Von

Dr. Josef Baló und Dr. Edmund Gál.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. März 1927.)

### Einleitung.

*Strauß, Hirshfeld* und *Loewe*<sup>27</sup> berichteten im Jahre 1919 über ihre Versuche, in deren Verlaufe es ihnen gelang, den Erreger der epidemischen Encephalitis auf Kaninchen zu übertragen, indem sie das Lumbalpunktat, das Nasensekret und das Filtrat der verriebenen Rachen-schleimhaut der an dieser Krankheit Leidenden bzw. die 50 proz. Glycerinemulsion des Gehirns der an dieser Krankheit Gestorbenen in das Gehirn einimpften. Seitdem wurde zur ursächlichen Forschung der Encephalitis epidemica überall das Kaninchen verwendet; auch die Impfungstechnik wurde ebenso angewendet wie es von *Strauß, Hirshfeld* und *Loewe*<sup>27</sup> empfohlen wurde. Auf diese Art gelang die Über-impfung mehreren Verfassern; besonders *Doerr*<sup>9</sup> und seine Mitarbeiter sowie *Levaditi* und *Harvier* hielten die epidemische Encephalitis für eine auf das Kaninchen übertragbare Krankheit. Nach *Loewe, Hirshfeld* und *Strauß*<sup>17</sup> sowie *Doerr*<sup>9</sup> und *Levaditi*<sup>16</sup> geht das Kaninchen nach erfolgreicher Überimpfung binnen einer Woche zugrunde. Auch von dieser Zeit entfällt der größte Teil auf das Inkubationsstadium, und die Krankheit des Kaninchens führt innerhalb 24 Stunden zum Tode. *Kling, Davide* und *Liljenquist*<sup>14</sup> versuchten ebenfalls die Übertragung der epidemischen Encephalitis auf das Kaninchen, doch gelangten sie während der Beobachtung der Versuchstiere zu ganz anderen Erfahrungen als die vorerwähnten Forscher. An den Kaninchen der schwedischen Verfasser waren nämlich gar keine klinischen Symptome zu beobachten; wurden aber die geimpften Tiere nach Wochen oder Monaten getötet, so waren im Gehirn histologische Veränderungen zu finden, die sie damals für Folgen der epidemischen Encephalitis hielten. Die Be-

urteilung dieser Versuche ist durch die dem Erreger der epidemischen Encephalitis parallel laufende Erforschung des Herpes febris beeinträchtigt worden. Während nach *Doerr*<sup>9</sup> und *Levaditi*<sup>16</sup> der Erreger der epidemischen Encephalitis mit dem des Herpes febris übereinstimmt und ein filtrierbares Virus darstellt, sind die schwedischen Forscher auf Grund ihrer eigenen Ergebnisse der Meinung, daß *Doerr*<sup>9</sup> und *Levaditi*<sup>16</sup> das Virus des Herpes febris isoliert hatten und es irrtümlich für den Erreger der epidemischen Encephalitis hielten. Hingegen gelang es ihnen, das Virus der epidemischen Encephalitis zu isolieren, da die chronische Erkrankung ihrer Kaninchen eher der menschlichen Encephalitis glich. *Doerr* und *Zdansky*<sup>10</sup> fanden, indem sie die Encephalitisstämme von *Davide*, *Kling* und *Liljenquist*<sup>14</sup> überprüften, im Gehirne der geimpften Kaninchen von Rundzellen umgebene nekrotische Herde und beobachteten an diesen Stellen 1,5—3 μ lange ovale Gebilde. Diese hielten sie für Parasiten, welche den Erreger einer von der Encephalitis epidemica unabhängigen Erkrankung darstellten. *Levaditi*, *Nicolau* und *Schoen*<sup>16</sup> bezeichneten die in dem Klingschen Virus vorgefundenen Parasiten als *Encephalitozoon cuniculi*. Ihres Erachtens gehören die Parasiten in die Klasse der Sporozoen und entsprechen den Mikrosporidien. Die Sporen des Mikrosporidiums sind entweder frei oder in Cysten zu finden und von epitheloiden Zellen bzw. Zellen von lymphocytärem Typus umgeben. Das Mikrosporidium ruft im Gehirn und in der Niere Veränderungen hervor. Nach *Levaditi*<sup>16</sup> und seinen Mitarbeitern experimentierten die schwedischen Verfasser mit an spontaner Encephalitis leidenden Tieren; demnach sind die von ihnen beobachteten Veränderungen nicht auf überimpfte epidemische, sondern auf spontane Encephalitis zurückzuführen.

Seitdem *Doerr*<sup>9</sup> und *Levaditi*<sup>16</sup> im Gehirne Parasiten und durch diese verursachte Veränderungen fanden, sind die zur Überimpfung der Encephalitis verwendeten Kaninchen mit allmählich steigender Aufmerksamkeit untersucht worden. Es stellte sich heraus, daß das Kaninchen, von dem es angenommen wurde, daß es zu den Versuchen in gesundem Zustande angewendet worden ist, in den einzelnen Erdteilen — bei verschiedener Häufigkeit — an spontaner Encephalitis bzw. Nephratitis leidet.

Während der Versuche ergab es sich, daß *Bull*<sup>5</sup> schon im Jahre 1917 beschrieben hatte, daß im Gehirn der durch Streptokokken infizierten Kaninchen mit Zellen von lymphocytärem Typus umgebene nekrotische Herde sowie perivaskuläre Infiltrationen zu finden sind und daß ähnliche Veränderungen auch an solchen Kaninchen vorgekommen waren, die zu Versuchen gar nicht verwendet wurden. *Oliver*<sup>20</sup>, der die Wirkungen des Salvarsans an Kaninchen prüfte, konnte ebenfalls die durch *Bull* beobachteten histologischen Veränderungen beobachten. Eine ähnliche Erkrankung der Kaninchen beschrieb *Twort*<sup>28</sup>, der mit Lymphadenom experimentierte; im Verlaufe der Versuche erkrankten mehrere seiner Versuchskaninchen. Das Hauptsymptom bestand in Abmagerung. Im

Gehirn war perivasculäre Infiltration zu beobachten; dabei zeigten sich Nephritis, Hepatitis und Splenitis. *Wright* und *Craighead*<sup>32</sup> fanden im Zentralnervensystem sowie in den Nieren der Kaninchen ähnliche Veränderungen vor und dachten an eine durch Protozoen verursachte Krankheit. Ihrer Meinung nach läßt sich der Erreger durch intracerebrale Verimpfung von einem Kaninchen auf das andere übertragen. Nach *Twort* und *Archer*<sup>29</sup> ist die spontane Encephalomyelitis der Kaninchen eine mit der spontanen Nephritis von *Bell* und *Hartzell*<sup>2</sup> verwandte Erkrankung.

Der Prozentsatz der Infiziertheit der Kaninchen mit Encephalitozoon cuniculi ist in den einzelnen Erdteilen verschieden.

*Oliver*<sup>20</sup> fand in San Franzisko in 20% der Kaninchen spontane Encephalitis. *Twort* und *Archer*<sup>29</sup> beobachteten in England die Krankheit in 10—20% der Kaninchen. *McCartney*<sup>18</sup>, der auf *Flexners*<sup>12</sup> Veranlassung die Züchtung des Rockefellerschen Institutes in New York untersuchte, fand das Encephalitozoon cuniculi unter 372 Kaninchen in 55% vor. *Loewe*, *Hirshfeld* und *Strauss*<sup>17</sup> erhielten im Mount Sinai Hospital in New York bei Überimpfung der epidemischen Encephalitis auf Kaninchen positives Ergebnis in einem Prozentsatze, das dem Vorkommen der spontanen Encephalitis in New York entspricht. *Goodpasture* und *Teague*<sup>13</sup> fanden die spontane Encephalitis unter 30 Kaninchen in 25% vor. *Veratti* und *Sala*<sup>30</sup> beobachteten in Italien unter 200 Kaninchen die spontane Encephalitis nur einmal. *Cowdry* und *Nicholson*<sup>8</sup> sahen unter 141 weißen Mäusen bei 25 der Kaninchen encephalitis ähnliche Encephalitis. Bei 5 Mäusen waren im Gehirn auch die Protozoen anzutreffen. *Anigstein*<sup>1</sup> fand in Polen unter 17 Mäusen bei 11 chronische Encephalitis; bei 5 waren auch die Sporen des Encephalitozoons im Gehirn anzutreffen. In *Anigsteins*<sup>1</sup> Fällen war das Protozoon 10 mal neben den Anzeichen interstitieller Nephritis in der Niere nachweisbar. Mit Recht mißbilligt *Anigstein*<sup>1</sup> die Bezeichnung Encephalitozoon. Übrigens hält er das Encephalitozoon für kein Mikrosporidium, sondern für ein Haplosporidium. Nach *Smith* und *Florence*<sup>36</sup> leben diese Parasiten zumeist in den Epithelzellen der Niere, wohin sie — gleich der Coccidiose — durch Herdinfektion gelangen. Ihrer Ansicht nach können im Zentralnervensystem Sporen ohne jedwede Reaktion vorkommen. Nach *Schuster*<sup>25</sup> läßt sich in Ungarn unter 100 Kaninchen bei 25 spontane Encephalitis beobachten, die hier sogar bei Katzen vorkommt. *Pette*<sup>21</sup> fand bei der Untersuchung des Liquors von 120 Kaninchen bei 5 Pleocytose und Vermehrung der Globuline vor. In 6 Fällen waren für spontane Encephalitis charakteristische histologische Veränderungen nachweisbar. Seiner Ansicht nach gibt also die Untersuchung des Liquor cerebrospinalis der Kaninchen Aufschluß darüber, ob spontane Encephalitis vorliegt. Nach *Bonfiglio*<sup>4</sup> kann hingegen die Möglichkeit der spontanen Encephalitis auf Grund der normalen Beschaffenheit des Kaninchenliquors nicht ausgeschlossen werden. *Cameron* und *Maitland*<sup>6</sup> aus Toronto berichten über die Übertragung der spontanen Encephalitis auf Hunde. Nach *Cowdry*<sup>7</sup> kommt das Encephalitozoon an den verschiedensten Teilen der Welt gleicherweise vor; so ist es neben Europa und den Vereinigten Staaten auch in China und Japan zu finden, doch ist es erwähnenswert, daß unter 26 Kaninchen aus Tokio und 32 aus Onderstepoort (Südafrika) kein krankes Tier vorkam. Der höchste Prozentsatz der spontanen Encephalitis kommt in dem Rockefellerschen Institut in New York vor, woselbst in einzelnen Kolonien 76% der Tiere infiziert ist. *Luger* und *Lauda*<sup>16</sup> in Wien sahen bei der Untersuchung von mehreren 100 Kaninchen nur ein infiziertes Gehirn. *Plaut*, *Mulzer* und *Neubürger*<sup>23</sup> sind gleichfalls der Meinung, daß die Krankheit seltener ist.

*Eigene Untersuchungen.*

Seit September 1925 untersuchten wir in Budapest von verschiedenen Kaninchenzüchtungen herrührende Kaninchen, um dabei die Häufigkeit des Vorkommens des Encephalitozoons festzustellen. Wir ersuchten die Eigentümer der Züchtungen, ihre spontan verendeten Kaninchen uns zur Untersuchung überlassen zu wollen. Wir untersuchten auch getötete Kaninchen öfters. In solcher Weise untersuchten wir die Kaninchen der Prosektur des St. Stephansspitals, des Seruminstutits Phylaxia sowie auch vom Markte herrührende Kaninchen. Im Laufe eines Jahres untersuchten wir 100 Kaninchen und fanden spontane Encephalitis in 9 Fällen vor. Im Verlaufe unserer Untersuchungen beobachteten wir einige Merkmale, die bereits während des Lebens des Kaninchens für spontane Encephalitis sprechen bzw. die Aufmerksamkeit bei der Sektion auf diese Erkrankung lenken.

Es ist auffallend, daß sich die an spontaner Encephalitis leidenden Kaninchen schon in früher Jugend schlecht entwickeln. Erwachsene Kaninchen magern stark ab und werden entschieden kachektisch. Solche Kaninchen fressen wenig, sind apathisch, zeigen Bewegungsarmut und kauern an einer Stelle. Es kommen auch Zwangskopfhaltungen vor. All dies bildet einen starken Gegensatz zum Aufregungsstadium der mit Herpes febrilis geimpften Kaninchen. Den Herpes febrilis erwähnen wir aus dem Grunde, da es uns nicht gelang, die epidemische Encephalitis auf Kaninchen zu übertragen.

Wir sahen öfter, daß die an spontaner Encephalitis leidenden Kaninchen gründig waren, insbesondere an der Nase und dem Kopf evtl. auch an den Füßen oder am ganzen Körper. Dies führt häufig zu Schrunden der Haut und zu Blutungen, wodurch Epitheldefekte entstehen.

Bei der Sektion zeigt die Niere makroskopisch sichtbare Veränderungen von ständigem Charakter. Der Sektionsbefund sonstiger Organe ist makroskopisch negativ. Selbstverständlich sind bei den Kaninchen oft auch andere Erkrankungen — wie Coccidiose, Cysticercus usw. — zu finden. An der Nierenoberfläche können stecknadelkopfgroße und auch kleinere Einziehungen beobachtet werden (s. Abb. 1). Sie sind am besten nach Abziehung der Capsula fibrosa zu sehen. Zuweilen kommen die Einziehungen in geringer Anzahl vor, doch kann auch die ganze Oberfläche der Niere damit dicht besetzt sein.

In den Untersuchungen über die spontane Encephalitis studierten wir sowohl die verursachten histologischen Veränderungen als auch die

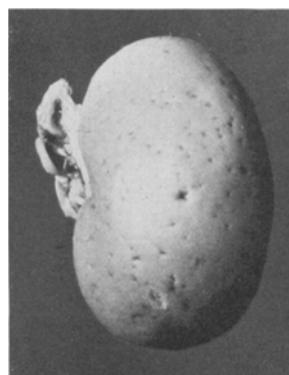


Abb. 1.

Parasiten selbst. Man kann die histologischen Veränderungen sehr gut durch die gleichen Methoden darstellen, die zum Nachweis der Parasiten dienen. Doch waren zum Studium der histologischen Veränderungen des Gehirns auch andere Verfahren erforderlich. Wir färbten unsere Schnitte mit Hämotoxylin-Eosin, nach *van Gieson* und mit Toluidinblau. Außerdem wurde auch Gliafärbung angewendet. Die zum Nachweis des Encephalitozoons dienenden Methoden werden am genauesten von *Levaditi*<sup>16</sup> beschrieben. Er empfiehlt die Färbungen Giemsa, Mann, Orange G.-Eosin-Unnas Polychrom; Twort, Eisenhämatoxylin, Safranin-Pikro-Indigocarmine. Zur Fixierung verwendet *Levaditi*<sup>16</sup> die Bouin-Brazilsche Flüssigkeit. Wir selbst fixierten unser Material meistens in Formalin, da wir sahen, daß der Nachweis des Encephalitozoons auch auf diese Art gut gelingt. Anfangs gebrauchten wir die Giemsa-Mann- und Unnas Polychromfärbung, indem wir jedes Verfahren an demselben Material erprobten. Das Encephalitozoon färbt sich durch die Giemsa-färbung lila und erhält auch durch die Unna-Polychromfärbung dieselbe Farbe, während es durch die Mannsche Färbung rot wird. Da wir viele Gehirne auch in Serienschnitten untersuchten, war eine Vereinfachung der Technik vonnöten, weswegen wir nach Eosinvorfärbung die Toluidin-Rhodaminfärbung verwendeten. Die in Paraffin eingebetteten Schnitte wurden in 1 proz. wäßriger Eosinlösung 1—2 Minuten gefärbt, sodann in Wasser abgespült und danach in einer Farblösung, die auf 100 ccm Wasser je  $\frac{1}{4}$  g Toluidin und Rhodamin enthielt, 1—2 Minuten lang gefärbt, danach in Alkohol differenziert, mit Bergamottöl aufgehellt und in Dammarharz eingeschlossen. Das Encephalitozoon wird durch diese Färbung lilarot gefärbt; die Kerne werden blau und das Protoplasma rot. Falls das Encephalitozoon längere Zeit hindurch mit Toluidin-Rhodamin gefärbt wird, erhält es einen eher rötlichen als lila Stich.

Die am meisten charakteristische Veränderung der Hirnsubstanz ist herdförmig (s. Abb. 2, 3 und 4). Es gesellt sich den Herden eine perivasculäre bzw. meningeale Rundzelleninfiltration bei, doch scheint diese nur eine Folgeerscheinung darzustellen und ist nur in der Nachbarschaft der Herde anzutreffen. Solche Rundzellenansammlungen sind auch im Gehirn der mit Herpesvirus intracerebral oder corneal geimpften oder mit Lyssa verimpften Kaninchen vorzufinden. Bei letzteren sind jedoch keine ähnlichen herdförmigen Veränderungen zu beobachten. Diese Herde sind von chronischem, produktivem Charakter; ihr chronischer Verlauf offenbart sich auch im histologischen Bilde. Die Größe der Herde beläuft sich im allgemeinen auf 200  $\mu$ , doch kommen auch kleinere (150  $\mu$ ) oder noch größere Herde (300  $\mu$ ) vor. Schon *Levaditi*, *Nicolau* und *Schoen*<sup>16</sup> erwähnen bei der Beschreibung der Herde, daß in ihnen um ein nekrotisches Zentrum epitheloide Zellen und um diese herum Lymphocyten anzutreffen sind. Aus unseren eigenen Untersuchungen — hauptsächlich aus den durch die Ramon y Cajalsche Sublimat-Goldimprägnation fertigten Schnitten — ergab es sich, daß die epitheloiden Zellen Gliazellen entsprechen. Die Fortsätze der Gliazellen bilden ein ziemlich dichtes Fasernetz; sie sind grobfaserig, die Gliazellen selbst vergrößert. Außer den Gliazellen und unterhalb derselben kommen auch Zellen vor, die keine Fort-

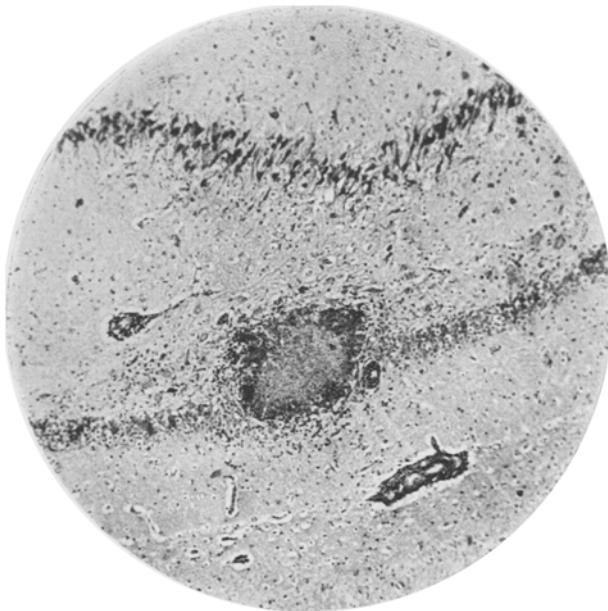


Abb. 2.

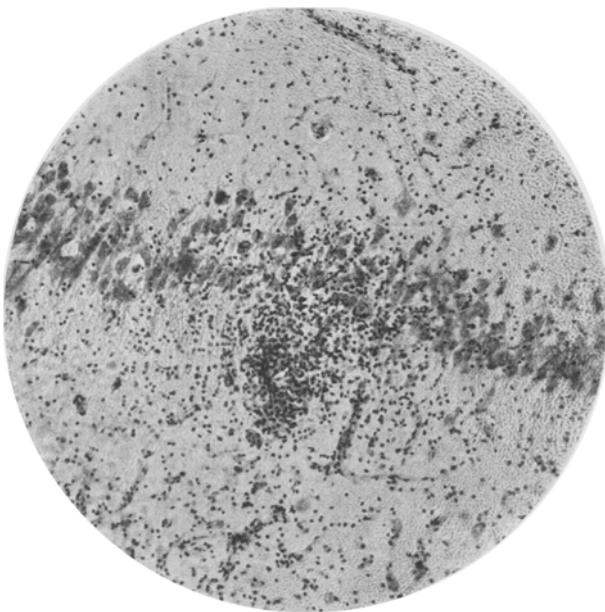


Abb. 3.

sätze haben und die bei der Toluidinfärbung gegenüber den hellen Kernen der Gliazellen sich dunkler färben und auch kleiner sind als diese; sie entsprechen Lymphocyten. Im Zentrum der Gliose ist das Encephalitozoon oft entweder zerstreut oder in einem Haufen zu finden. Im Gebiete der Gliose (Abb. 5) ist häufig ein kleines Gefäß zu erkennen, dessen Adventitialraum mit Zellen von lymphocytärem Typus ausgefüllt ist. Es ist sehr bemerkenswert, daß dort, wo sich diese Herde in der Nähe der Oberfläche der Rinde befinden, sich die Zellansammlung den Gefäßen entlang auch auf die weiche Hirnhaut ausbreiten kann; doch bleibt die Gehirnhautdurchsetzung auch hier gewöhnlich umschrieben und nur falls mehrere Herde vorkommen, ist eine ausgedehntere Infiltration zu beobachten. Die Wand der kleineren Gefäße scheint im allgemeinen dicker zu sein, was durch die Vermehrung der adventitalen Zellen von fibrösem Charakter ver-

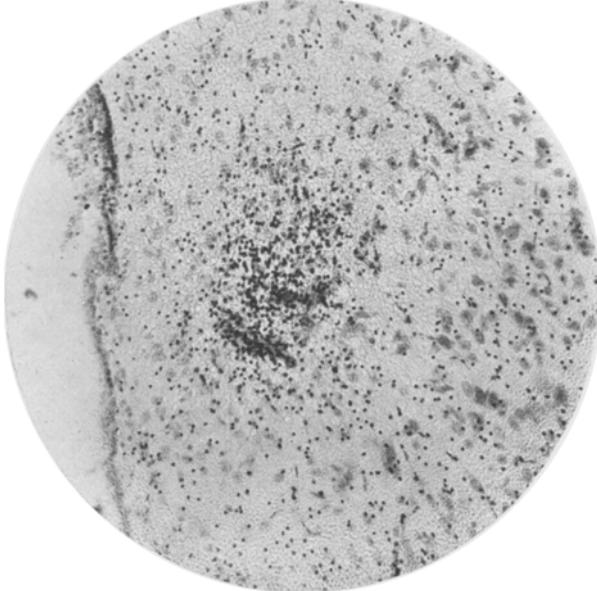


Abb. 4.

ursacht wird. Auch an Reihenschnitten läßt es sich oft schwer entscheiden, ob sich im Zentrum des Herdes stets ein kleines Gefäß vorfindet und ob das Encephalitozoon durch die Gefäße in den Herd gelangt. Unzweifelhaft kommt das Encephalitozoon auch so vor, daß sich in seiner Umgebung keine reaktive Wucherung nachweisen läßt (s. Abb. 6). Doch weisen die Serienschnitte auch darauf hin, daß sich die herdförmige Veränderung — evtl. distalwärts — dem scheinbar freiliegenden Encephalitozoon beigesellt. Es scheint wahrscheinlich zu sein, daß das Encephalitozoon durch den Blutstrom ins Gehirn gelangt; der Herd gesellt sich dem durch das Encephalitozoon verödeten Gefäß bei. Die herdförmigen Veränderungen haben im Gehirn keinen Lieblingssitz. Wir fanden herdförmige Veränderungen, insbesondere in der Brücke, in der Umgebung des 3. Ventrikels (s. Abb. 4), im Ammonshorn (s. Abb. 2 und 3), in den Basalganglien, im Globus pallidus sowie in dem die nasale Commissur der Ammonhörner bildenden Psalterium ventrale; doch kommen die Herde zerstreut auch im Lobus parolfactorius vor und in der Nähe derselben sind auch perivaskuläre Zellansammlungen zu

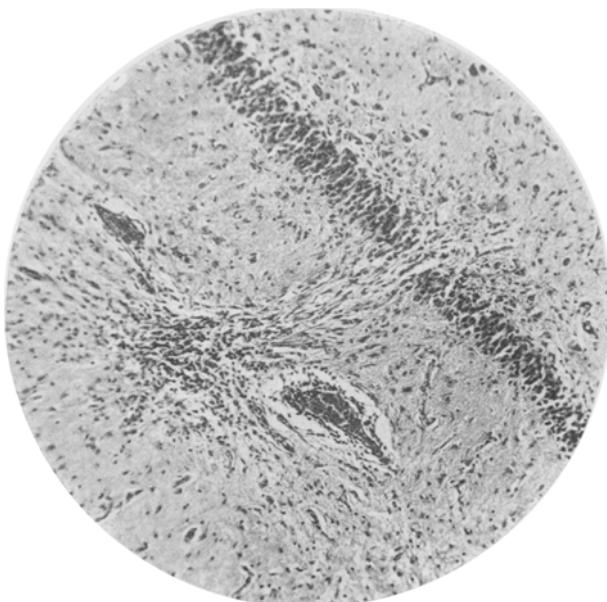


Abb. 5.

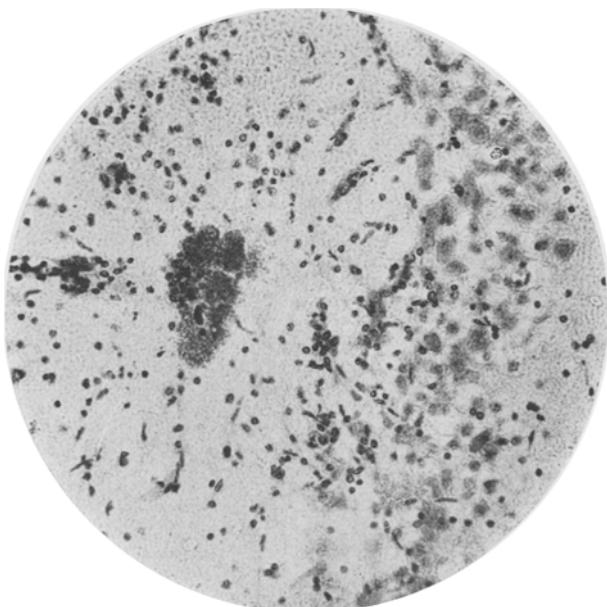


Abb. 6.

beobachten. Die Herde befinden sich hauptsächlich in der grauen Substanz der Halbkugeln, doch ist es zu beachten, daß die weiße Substanz derselben im Vergleich zu der der größeren Tiere auffallend geringfügig ist. Auch die verhältnismäßig große Zahl der im Ammonshorn befindlichen Herde ist durch eine Affinität des Erregers zum Ammonshorne nicht zu erklären. Eher wird die größere Zahl der Herde im Ammonshorne durch den Umstand erklärt, daß das Ammonshorn der Kaninchen relativ viel größer ist als das der höheren Tiere.

Das Encephalitozoon selbst ist im Gehirne haufenweise (s. Abb. 6) oder zerstreut zu finden. Der Parasit ist durchschnittlich ein  $1,8-2\ \mu$  langes,  $1\ \mu$  breites, scharf abgegrenztes Gebilde. Es färbt sich durch die genannten Farben nicht gleichmäßig. Es besitzt eine kapselähnliche äußere Schicht. Das Zentrum sowie die Endteile färben sich etwas stärker, wodurch hellere, vakuolenartige Abschnitte erscheinen. Es sind evtl. 1—2 Vakuolen zu sehen; falls 2 Vakuolen vorkommen, so sind sie durch einen dunkleren Teil getrennt, der sich der Kapsel gleich färbt. Wir waren nicht imstande, im Innern der Gebilde eine regelmäßig wechselnde Struktur zu finden, aus der auf das Entwicklungsstadium des Parasiten geschlossen werden könnte. Obwohl die oben beschriebenen Maße in der Mehrzahl der Parasiten zu finden sind, kommen doch auch größere und kleinere Parasiten vor. Auf die Größe der Parasiten scheint auch das Medium einen Einfluß auszuüben. In der Niere sind die Parasiten zuweilen größer als in dem von demselben Falle herrührenden Gehirne. Der Parasit ist öfters im Innern der Zellen sichtbar. Im Protoplasma sind mehrere Parasiten, evtl. in einem Haufen, dicht nebeneinander zu erkennen und in solchen Fällen weist die ursprüngliche Zelle regressive Veränderungen auf. Die Parasitenhäufchen stellen eiförmige oder runde Gebilde von  $15-20-30\ \mu$  Durchmesser dar, worin die Parasiten zuweilen gedrängt voll vorkommen, so daß ihre numerische Schätzung unmöglich ist. Ein andermal lagern sie sich hinwiederum in kleineren Massen mehr zerstreut. Es kommt vor, daß einzelne zerstreut gelagerte Parasiten außerhalb eines Haufens angetroffen werden. Es läßt sich schwer entscheiden, ob die Parasitenhäufchen aus Cysten bestehen; keinesfalls scheinen sie eine selbständige Wand zu besitzen. Die Haufen der Parasiten befinden sich evtl. intracellular, wobei die Abgrenzung durch die Zellgrenze gebildet wird.

Während am Gehirne makroskopisch keine pathologischen Veränderungen zu erkennen sind, wird die Aufmerksamkeit durch die an der Nierenoberfläche befindlichen narbigen Einziehungen auf die durch das Encephalitozoon hervorgerufene Infektion der Kaninchen gelenkt (s. Abb. 1). Unter den 100 untersuchten Fällen konnten wir das Encephalitozoon 7 mal sowohl im Gehirn als auch in der Niere samt den charakteristischen histologischen Veränderungen nachweisen. Doch fanden wir den Parasiten in einem Falle in der Niere, wobei er im Gehirne nicht nachgewiesen werden konnte, obwohl die charakteristischen

histologischen Veränderungen auch hier vorlagen. In einem anderen Falle war der Parasit nur im Gehirn, doch in der Niere nicht nachweisbar. Indes scheint der parallele Nachweis des Parasiten im Gehirn und in der Niere von der Genauigkeit der Untersuchung abzuhängen. In unseren eigenen Fällen waren die histologischen Veränderungen — wie dies aus der Untersuchung des Gehirns und der Niere in Serienschnitten hervor ging — in jedem Schnitte zu finden, doch konnte der Parasit nur in einigen Schnitten nachgewiesen werden. Bloß in einigen Fällen sehr starker Infektion konnten wir in jedem untersuchten Schnitte neben den histologischen Veränderungen auch den Parasiten antreffen.

Die durch das Encephalitozoon verursachte Veränderung der Niere besteht in einer interstitiellen Nephritis. Obwohl die ganze Nierenoberfläche voller Einziehungen ist, scheint diese an der Grenze zwischen der Rinden- und Markschicht sowie in der Pyramide am stärksten zu sein. Während das Encephalitozoon im Gehirne bei herdförmigen histologischen Veränderungen mittels gründlicher Untersuchung — evtl. in Reihenschnitten sich nachweisen läßt, ist in der Niere eine interstitielle Nephritis auch in solchen Fällen vorzufinden, in denen kein Encephalitozoon vorliegt. Dabei können auch örtliche Umstände eine Rolle spielen, da sich das Encephalitozoon aus der Niere durch die Nierenkanälchen entleeren kann, während eine Entleerung im Gehirn viel weniger wahrscheinlich ist. Der Parasit kann im Gehirn nur eine Abkapselung erfahren. Wir fanden unter den 100 untersuchten Fällen 9 mal interstitielle Nephritis samt Encephalitozoon; in weiteren 8 Fällen beobachteten wir interstitielle Nephritis, ohne daß der Parasit nachgewiesen werden konnte. Unter den 8 Fällen waren 3 mal verschiedene banale Bakterien als Ursache der Infiltrationen nachweisbar. Demnach kann die interstitielle Nephritis durch verschiedene Ursachen, so auch durch das Encephalitozoon hervorgerufen werden.

Während im Gehirn die Größe der beschriebenen Herde ziemlich beständig ist, wechselt die Ausdehnung der herdförmigen interstitiellen Veränderungen in der Niere in bedeutendem Maße (vgl. Abb. 7). Auch die Veränderungen der Rinden- und Markschicht sind von verschiedenem Alter. Es kommt vor, daß sich zwischen den verschiedenen Kanälchen Zellen von zumeist lymphocytärem Typus vermehren, die zweifellos frühere Veränderungen darstellen. Darauf folgt die Vermehrung der Bindegewebszellen. Polynukleäre Leukocyten sind nicht vorzufinden. Am meisten ist die gleichzeitige Vermehrung der Zellen von lymphocytärem Typus und der Fibroblasten zu beobachten. Es ist eine insbesondere den narbigen Einbeziehungen der Nierenoberfläche entsprechende stärkere Bindegewebsvermehrung zu ersehen (vgl. Abb. 8), wobei auch die Zahl der Lymphocyten in den Hintergrund gedrängt wird. Sowohl die Rinden- als auch die Pyramideninfiltration folgen oft dem

Verlauf der Kanälchen (s. Abb. 9). Kommen die Herde in größerer Anzahl vor, so können sie ziemlich dicht nebeneinander stehen, doch bleibt der herdförmige Charakter stets bestehen.

Der Parasit ist in der Niere im Kanälchensystem zu finden. Doch kommen Encephalitozoa auch in der Bowmanschen Kapsel der Glomeruli vor. Sie konnten schwerlich auf eine andere Art als durch die Ausscheidung aus dem Glomerulus hierher gelangen. Die Annahme einer aufsteigenden Infektion war viel weniger unterstützt. Im Lumen der Bowmanschen Kapsel lagen die Parasiten frei. Die meisten Encephalitozoa sind an der Grenze der Rinden- und Marksustanz in den



Abb. 7.

Henleschen Schleifen sowie in den geraden Nierenkanälchen zu finden. Am Querschnitt der Kanälchen lässt sich das Encephalitozoon meistens in den Epithelzellen beobachten. Die intracellularen Parasiten vergrößern die Zelle, wodurch diese infolge der Anschwellung von den gesunden Epithelzellen abweicht (s. Abb. 10). Wenn am Quer- oder Längsschnitt eines Knälchens nur eine Epithelzelle voller Parasiten ist, so fällt diese Zelle scharf ins Auge. Die Vermehrung der Parasiten beeinflusst eine Zeitlang die Färbung der Zelle und des Kernes nicht; später zerfällt jedoch die Zelle, wodurch die Encephalitozoa ins Lumen der Kanälchen gelangen. Es kommt vor, daß die die Kanälchen auskleidenden Epithelien auf längere Strecken eine größere Parasitenmenge beherbergen. Dieser Umstand kann auch zur Verengerung der Kanälchen,

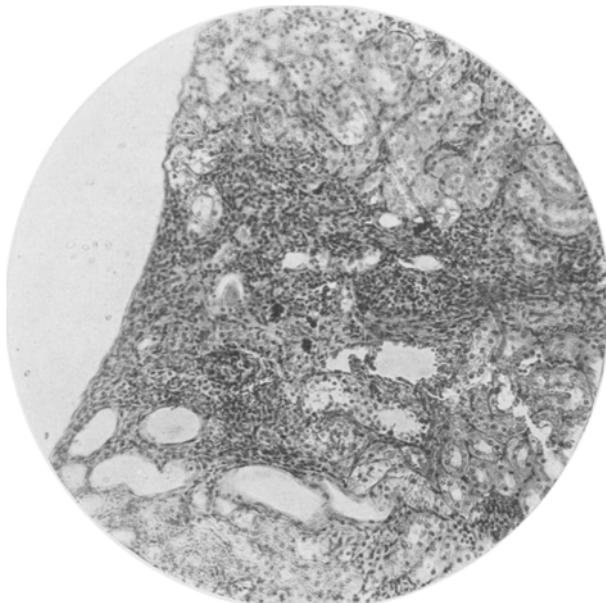


Abb. 8.

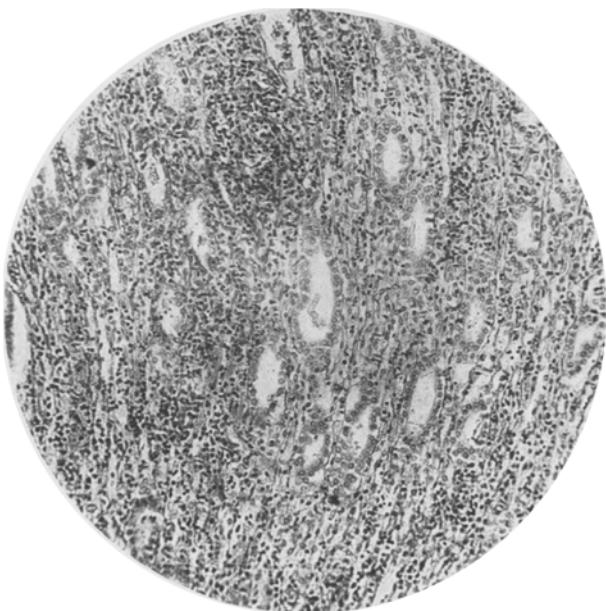


Abb. 9.

zur Stauung sowie evtl. zu einer aufsteigenden Infektion führen. Die ins Lumen der Kanälchen gelangten Parasiten werden durch den Urin ausgeschieden und können dadurch eine Kontaktinfektion hervorrufen. Da die interstitielle Nephritis wahrscheinlich durch örtliche erregende Wirkung der Parasiten verursacht wird, ist es anzunehmen, daß nach der Ausscheidung der Parasiten sich auch die herdförmige Veränderung beruhigt; indes bleibt die entstandene Bindegewebsvermehrung in Form narbiger Einbeziehungen zurück. Obwohl das Encephalitozoon sich nicht immer im Zentrum der herdförmigen Veränderungen befindet, läßt sich der ursächliche Zusammenhang zwischen der interstitiellen Nephritis und dem Encephalitozoon auf Grund unserer Untersuchungen

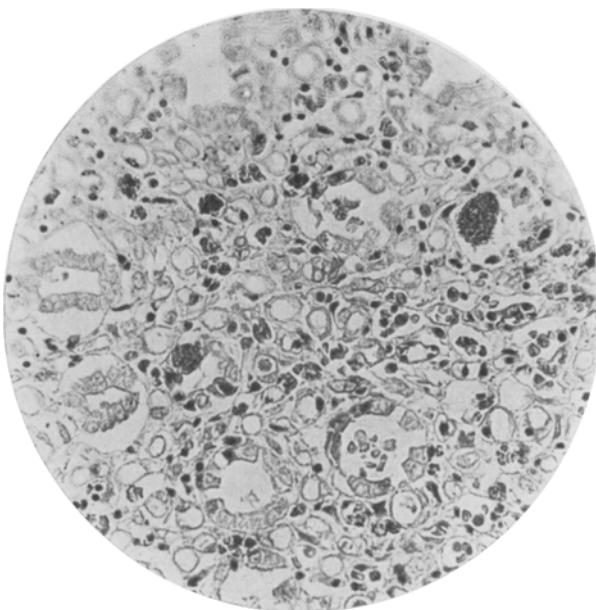


Abb. 10.

durch Serienschnitte annehmen. Die in der Niere vorkommenden degenerativen Veränderungen sind aller Wahrscheinlichkeit nach nicht dem Parasiten zuzuschreiben, da solche Erscheinungen in den durch Encephalitozoa infizierten Nieren durchaus nicht beständig sind.

Es gelang uns nicht, den Parasiten außer der Niere und dem Gehirn auch an anderen Stellen des Kaninchenorganismus nachzuweisen. Wahrscheinlich gelangt der Parasit in beide Organe durch den Blutstrom. Die Eintrittspforte ist bisher unbekannt. Nach unseren eigenen Erfahrungen leiden die Kaninchen, die durch Encephalitozoon infiziert sind, an verschiedenen Hauterkrankungen. Der Zusammenhang zwischen beiden Umständen läßt 2 Möglichkeiten zu. Entweder wird die

krankhaft veränderte Hautoberfläche — so z. B. das infolge des Grindes aufgesprungene Epithel — durchgängig oder aber wird das zufolge der Infektion weniger widerstandsfähige Kaninchen für diese Hauterkrankungen empfänglicher. Sobald der Parasit in den Organismus eingedrungen ist, gelangt er unzweifelhaft ins Gehirn oder in die Niere, evtl. in beide, da die Lebensbedingungen innerhalb des Organismus für den Parasiten dem Anscheine nach nur an diesen zwei Stellen günstig sind. Auch an diesen Stellen wird er wahrscheinlich in Zellen einverleibt, wo die Vermehrung erfolgt, da die größeren Parasitenhaufen schwerlich auf etwas anderes als auf eine lokale Vermehrung zurückgeführt werden können.

#### *Über die Bedeutung des Encephalitozoon cuniculi.*

Das Encephalitozoon cuniculi ist auch vom Standpunkte der Kaninchenzüchtung von Wichtigkeit; seine Bedeutung kommt der Coccidiose nahe. Im Verlaufe unserer Untersuchungen fanden wir unter 100 Kaninchen 10 Fälle von Coccidiose und 9 von Encephalitozoon. Obwohl das Encephalitozoon unseren Untersuchungen nach in Budapest nicht so häufig vorkommt wie im Auslande — besonders in den Vereinigten Staaten —, kann der Parasit in gegebenem Falle infolge seiner großen Widerstandsfähigkeit für den Mißerfolg der Kaninchenzüchtung verantwortlich gemacht werden. Die durch den Harn ausgeschiedenen Parasiten können alle übrigen Kaninchen infizieren; diese Gefahr ist dort am größten, wo die Kaninchen in einem kleinen Raum zusammengedrängt gezüchtet werden.

Die andere Bedeutung des Encephalitozoon cuniculi liegt darin, daß das Kaninchen zu den am häufigsten verwendeten Versuchstieren gehört. Doch ist der Parasit auch in anderen Versuchstieren vorgefunden worden. Da die Widerstandsfähigkeit der durch Encephalitozoon infizierten Kaninchen entschieden vermindert ist, kann dieser Umstand im Laufe der Versuche als Fehlerquelle dienen. Die größte Bedeutung kommt dem Encephalitozoon cuniculi in solchen Fällen zu, in denen sich die Versuche auf das Zentralnervensystem der Tiere beziehen. Hier beanspruchen in erster Linie die Forschungen über die epidemische Encephalitis den Herpes fibrilis, die Lyssa, evtl. über die Poliomyelitis sowie die experimentelle Paralyse eine gesteigerte Vorsicht. Doch darf die Bedeutung der spontanen Encephalitis in der Erforschung oben genannter Erkrankungen nicht überschätzt werden. Die spontane Encephalitis hat so manchen Forscher irregeführt, da die durch sie verursachten histologischen Veränderungen in den kontrolllos arbeitenden Forschern die Überzeugung erweckten, daß die epidemische Encephalitis auf Kaninchen übertragbar sei. Die Übertragbarkeit der epidemischen Encephalitis auf Kaninchen ist durch zuverlässige Untersuchungen

nicht bekräftigt worden. Die spontane Encephalitis der Kaninchen vermag also den Umstand herbeizuführen, daß negative Versuchsergebnisse in Ermangelung nötiger Vergleichsversuche als positiv erscheinen. Die Entdeckung des Encephalitozoons änderte jedoch nichts an der Lyssaforschung, da der Erreger derselben tatsächlich auf Kaninchen übertragbar ist. Es ist möglich, daß Pasteurs Kaninchen von Encephalitozoon frei waren, doch besteht auch die Möglichkeit ihrer Infektion. Die Versuche über die Lyssa zeigen, daß die latente Encephalitozooninfektion auf die Versuche wohl gar keinen Einfluß ausübt. Obwohl sich das Encephalitozoon nicht im Rückenmark lokalisiert, woraus das Impfmaterial gegen Tollwut verfertigt wird, kann es doch angenommen werden, daß das Encephalitozoon während der Verfertigung desselben am Leben bleibt und durch Impfung auch in den menschlichen Organismus hineingelangt. Seine diesbezügliche Bedeutung dürfte allem Anschein nach nicht allzu groß sein.

Die Übertragung der Lyssa auf Kaninchen gleicht der des Herpes febrilis vollkommen. Die Erkennung des Encephalitozoons hat auch auf die Herpesforschung keinen wesentlichen Einfluß. Sowohl das Lyssa als auch das Herpesvirus verursachen eine Erkrankung der Kaninchen, deren klinischer Verlauf ganz charakteristisch ist. Während die Lyssa den Tod des Kaninchens in 1—3 Wochen nach sich zieht, führt der Herpes febrilis durchschnittlich in einer Woche zum Tode. Die Versuche und Untersuchungen, die einer von uns mit Herpes- und Lyssavirus auszuführen Gelegenheit hatte, zeigten, daß im Gehirn der nach Herpes- bzw. Lyssaimpfung verendeten Tiere die histologischen Veränderungen nicht solcher Art sein können wie nach einer unter natürlichen Umständen monatelang anhaltenden Encephalitozooninfektion. Auf Grund sorgfältiger histologischer Untersuchungen an dem Versuchstiergehirn wird es entschieden werden können, ob eine akute oder chronische Encephalitis vorliegt. Die Entstehung der Gefäßwandwucherung und der Gliose beansprucht nämlich eine gewisse Zeit. Es scheint wahrscheinlich zu sein, daß die Merkmale der akuten und chronischen Encephalitis auch nebeneinander nachweisbar sein können. Wir können jedoch keineswegs Lauretta Benders<sup>3</sup> Meinung teilen, wonach das Zentralnervensystem des Kaninchens infolge der spontanen Schädigungen zu Versuchszwecken völlig ungeeignet ist. Plaut und Mulzer<sup>22</sup> überimpften Gehirnteile an Paralysis progressiva Gestorbener auf Kaninchen und erhielten in deren Liquor Pleocytose und positive kolloidale Goldreaktion. Die histologische Untersuchung der Kaninchenhirne wurde durch Neubürger<sup>19</sup> ausgeführt. Von den durch ihn beschriebenen Veränderungen behauptet Da Fano<sup>11</sup> mit vollem Recht, daß sie mit der spontanen Encephalitis der Kaninchen übereinstimmten, gerade so wie die ähnlichen Versuche Reasoners<sup>24</sup>. Bonfiglio<sup>4</sup> über-

prüfte die Angaben von *Plaut, Mulzer und Neubürger*<sup>23</sup> und fand unter 19 normalen Kaninchen in 7 Fällen die gleichen Veränderungen des Liquors. Er beobachtete im Gehirne von zwei getöteten gesunden Kaninchen die von *Neubürger*<sup>19</sup> beschriebenen Veränderungen. Außer diesen Angaben ist es anzunehmen, daß auch in solchen Versuchen, deren Gegenstand nicht das Zentralnervensystem der Kaninchen war, die Infiziertheit mit Encephalitozoon zu vielen unverständlichen Versuchsergebnissen führen kann.

#### Zusammenfassung.

1. Es gelang uns, das Encephalitozoon cuniculi unter 100 von verschiedenen Budapester Züchtungen herrührenden Kaninchen in 9 Fällen nachzuweisen. In 7 Fällen war der Parasit sowohl im Gehirne als auch in der Niere vorzufinden, in einem Falle kam er nur in der Niere, in einem anderen nur im Gehirn vor.

2. Das Encephalitozoon cuniculi besitzt vom Gesichtspunkte der Kaninchenzüchtung, ferner von dem der experimentellen Verwendung des Kaninchens Wichtigkeit. In letzterem Falle übt es einen großen Einfluß auf Versuche aus, deren Gegenstand das Zentralnervensystem darstellt.

3. Das Encephalitozoon cuniculi verursacht im Gehirne des Kaninchens chronische herdförmige Veränderungen, denen sich perivasculäre Infiltrationen beigesellen. Es scheint wahrscheinlich, daß die verschiedenen Impfencephalitiden — wie die durch Herpes und Lyssa verursachten Veränderungen — infolge ihrer akuten bzw. diffusen Natur histologisch von den durch das Encephalitozoon hervorgerufenen chronischen herdförmigen Veränderungen unterschieden werden bzw. daß diese beiden Veränderungen auch nebeneinander erkannt werden können.

4. Die Erkennung des Encephalitozoon cuniculi und die der dadurch hervorgerufenen histologischen Veränderungen übte somit auf die durch Überimpfung von Herpes febrilis und Lyssa gewonnenen Feststellungen gar keinen Einfluß aus, doch wurden die Angaben über gelungene Übertragung der epidemischen Encephalitis auf Kaninchen durch diese Feststellung zweifelhaft.

---

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> *Anigstein*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **93**, 991, 993. 1925. — <sup>2</sup> *Bell* and *Hartzell*, Journ. of infect. dis. **24**, 628. 1919. — <sup>3</sup> *Bender*, Americ. journ. of pathol. **1**, 653. 1925. — <sup>4</sup> *Bonfiglio*, Policlinico, sez. prat., **30**, 825. 1923; Policlinico, sez. med., **32**, 377. 1925. — <sup>5</sup> *Bull*, Journ. of exp. med. **25**, 557. 1917. — <sup>6</sup> *Cameron* and *Mailland*, Journ. of pathol. a. bacteriol. **27**, 329. 1924. — <sup>7</sup> *Cowdry*, Journ. of exp. med. **63**, 725. 1926. — <sup>8</sup> *Cowdry* and *Nicholson*, Journ. of the Americ. med. assoc. **82**, 545. 1924. — <sup>9</sup> *Doerr*, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk.

65, 104. 1920; *Doerr* und *Berger*, Schweiz. med. Wochenschr. **52**, 863. 1922; *Doerr* und *Schnabel*, Schweiz. med. Wochenschr. **51**, 469, 562. 1921; *Doerr* und *Schnabel*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **94**, 29. 1921; *Doerr* et *Vöchting*, Rev. Gen. D'Ophth. **34**, 409. 1920; *Doerr* und *Zdansky*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **101**, 239. 1923—1924. — <sup>10</sup> *Doerr* und *Zdansky*, Schweiz. med. Wochenschr. **53**, 1189. 1923. — <sup>11</sup> *Da Fano*, Medical science **10**, 355. 1925; Journ. of pathol. a. bacteriol. **27**, 333. 1924. — <sup>12</sup> *Flexner*, Journ. of the Americ. med. assoc. **81**, 1688, 1785. 1923. — <sup>13</sup> *Goodpasture*, Journ. of infect. dis. **34**, 428. 1924; *Goodpasture* and *Teague*, Journ. of med. research **44**, 121, 139. 1923. — <sup>14</sup> *Kling*, *Davide* et *Liljenquist*, Commun. du lab. bact. de l'Etat Suedois **7**. 1923. — <sup>15</sup> *Lauda* und *Luger*, Ergebni. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **30**, 377. 1926. — <sup>16</sup> *Levaditi*, Ectodermoses neurotropes 1922. Monographie de l'Institut Pasteur; *Levaditi*, *Nicolau* et *Schoen*, Ann. de l'inst. Pasteur **38**, 651. 1924. — <sup>17</sup> *Loewe*, *Hirshfeld* and *Strauss*, Journ. of infect. dis. **25**, 378. 1919. — <sup>18</sup> *McCartney*, Journ. of exp. med. **39**, 51. 1924. — <sup>19</sup> *Neubürger*, Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiatrie **84**, 146. 1923. — <sup>20</sup> *Oliver*, Journ. of infect. dis. **30**, 91. 1922. — <sup>21</sup> *Pette*, Klin. Wochenschr. **4**, 257. 1925. — <sup>22</sup> *Plaut* und *Mulczer*, Münch. med. Wochenschr. **69**, 1779. 1922. — <sup>23</sup> *Plaut*, *Mulczer* und *Neubürger*, Münch. med. Wochenschr. **71**, 1781. 1924. — <sup>24</sup> *Reasoner*, Journ. of the Americ. med. assoc. **67**, 1799. 1916. — <sup>25</sup> *Schuster*, Klin. Wochenschr. **4**, 550. 1925. — <sup>26</sup> *Smith* and *Florence*, Journ. of exp. med. **41**, 25. 1925. — <sup>27</sup> *Strauss*, *Hirshfeld* and *Loewe*, New York med. journ. **109**, 772. 1919. — <sup>28</sup> *Twort*, Vet. Journ. **78**, 194. 1922. — <sup>29</sup> *Twort* and *Archer*, Vet. Journ. **78**, 367. 1922; Lancet **1**, 1102. 1923. — <sup>30</sup> *Veratti e Sala*, Boll. d. soc. med.-chir. di Pavia **35**, 266, 709. 1923; **36**, 45. 1924. — <sup>31</sup> *Woodcock*, Journ. of the roy. army med. corps **44**, 401; **45**, 1. 1925. — <sup>32</sup> *Wright* and *Craighead*, Journ. of exp. med. **36**, 136. 1922.