

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen  
(Direktor: Prof. Dr. E. LETTERER).

## **Das Speicheldrüsenvirus des Menschen.** (Cytomegalia infantum.)

Von

**Dr. FRIEDRICH BURMESTER.**

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juni 1948.)

Der gebräuchlichste Name des Gegenstandes meiner Arbeit war bisher in der deutschen Literatur „protozoenähnliche Zellen“.

Ich wähle als Überschrift jedoch nicht mehr den alten Namen, weil die Kenntnis über diese Zellveränderungen inzwischen so weit vorangetrieben worden ist, daß ich es wage, den Namen und damit den Begriff: „Speicheldrüsenvirus“ anzuwenden. Wenn auch der letzte schlüssige Beweis der Virusnatur als Ursache für diese Zellveränderungen noch nicht gelungen ist — ich meine damit den Übertragungsversuch —, so kann doch kaum mehr ein Zweifel bestehen, daß ein Virus diese rätselhaften Erscheinungen an den Zellen hervorruft. Die nachfolgenden Ausführungen haben die Absicht, diesen Fragenkomplex in die deutsche Klinik zurückzuführen, in der er vergessen wurde, wenn auch die ersten Veröffentlichungen über diese seltsamen Zellveränderungen aus deutschen Instituten vor nahezu 50 Jahren hervorgingen (Literatur <sup>32, 42, 71</sup>).

Bei Frühgeburten, Säuglingen und Kindern findet sich oftmals eine Cytomegalie (GOODPASTURE und TALBOT) mit Kerneinschlüssen, die vorwiegend Epithelien zu ergreifen scheint. In den Parotiden und den Submaxillarisdrüsen hauptsächlich, ferner in den Nieren, der Leber, dem Pankreas, den Lungen und anderen Organen sind einzelne Zellen durch diesen Riesenwuchs verändert. Die Kern-Cytoplasma-Relation ist annähernd proportional der Norm, wenn auch das Volumen der Zelle sich nach meiner Berechnung um das 70fache vergrößert hat. Das Cytoplasma zeigt oftmals Granula, die meist am lumenwärtigen Pol der Zelle lokalisiert sind. Am auffallendsten sind die Kernveränderungen. Der Kern hat einen acidophilen Einschußkörper, der meist zentral gelegen ist und sich durch einen hellen „Hof“ von der Kernmembran distanziert. An dieser Membran haftet in randständiger Lage das zusammengeballte Chromatin in Brocken und meist ein oder zwei Kernkörperchen. Die Form der Zelle ist oval oder rund, sofern

sie durch die Umgebung nicht deformiert ist. Entsprechend weist der Kern eine ovale und der Einschlußkörper ebenfalls eine ovoide, nahezu sphärische oder auch eine nierenförmige Form auf. Die Größe der

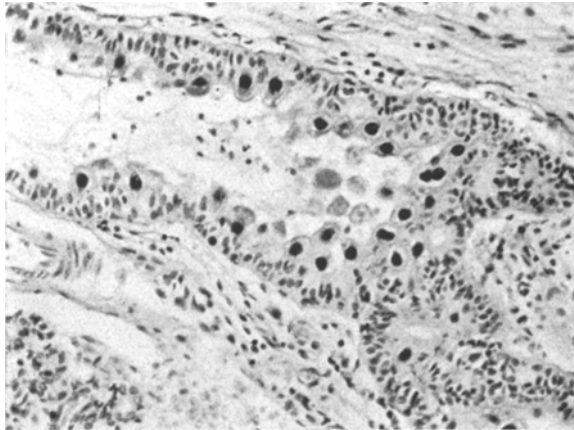


Abb. 1. Ausführungsgang der Parotis, dessen Epithelien viele cytomegal veränderte Zellen zeigen. Angeschnittene Zellen im Lumen des Ganges. 703/45, Formalin, Paraffin, Goldner.

Zellen beträgt 20—30  $\mu$  im Durchmesser. Selten kommen die Zellen frei vor, d. h. ohne daß sie sich mit der Basis an andere Zellen oder Membranen anlehnen (s. Abb. 1, 2 und 3).

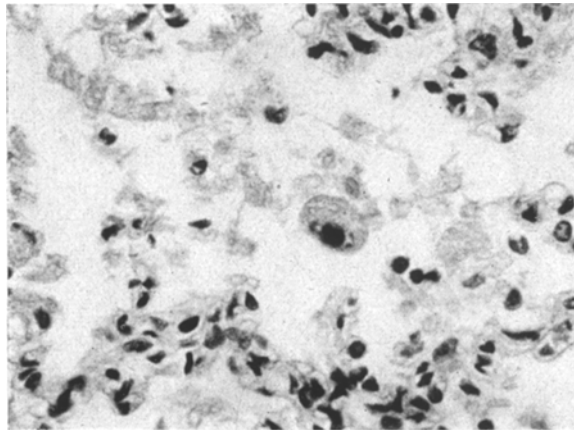


Abb. 2. Freie, virusveränderte Zelle in einer Lungenalveole. 350/47, Formalin, Paraffin, Lunge, Hämatoxylin-Eosin.

Weitere morphologische Angaben mögen aus der bereits reichlich vorhandenen Literatur entnommen werden, da die beschreibende Morphologie nicht mehr die Aufgabe dieser Arbeit sein soll (17, 21, 28, 32, 42, 53, 71, 85, 86).

Ähnliche Zellphänomene wurden bei Tieren (Meerschweinchen, Mäusen, Ratten, Hamstern und Affen) gefunden, worüber noch zu berichten sein wird (8, 12, 31, 36, 80, 81).

Bei Meerschweinchen ist die Virusnatur als Agens durch Übertragungsversuche bewiesen. Wichtige Ergebnisse aus dem Gebiet der Virusforschung haben einen maßgebenden Einfluß auf die Beurteilung dieser Cytomegalien gewonnen.

Den geschichtlichen Verlauf über die Befunde und deren Deutungen zeigt Tabelle 1.

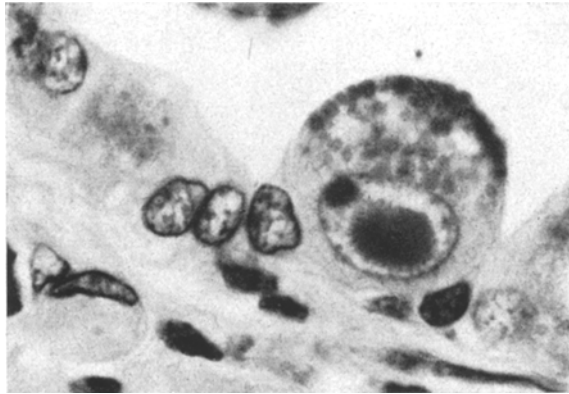


Abb. 3. Cytomegale Zelle in einem Tubulus contortus der Niere. Cytoplasmatische Einschlüsse am lumenwärtigen Pol, marginiertes Chromatin und randständiger Nucleolus, Hof und Kerneinschluß. 703/45, Helly, Paraffin, Hämatoxylin-Eosin.

Die ersten Veröffentlichungen standen unter dem Zeichen der Suche nach dem Erreger der Syphilis. Dadurch wurden offensichtlich bei den Autopsien die kongenital-syphilitischen Kinder besonders genau untersucht und die Cytomegalie vorwiegend bei diesen Fällen gefunden. So taucht mehrmals in der Literatur die Frage auf, ob diese Veränderungen nicht dem Erreger der Syphilis zuzuschreiben seien, ja dieser selbst darin zu suchen sei. Heute wissen wir, daß das nicht der Fall ist.

Nach dem Kriege 1914/18 wendet sich die Forschung in erhöhtem Maße den Viren zu. Seit dieser Zeit verstummen nicht mehr die Stimmen, die diese Cytomegalie und ihre Kerneinschlüsse dem Wirken eines Virus zuschreiben.

Zu mehr als 80% wurden die Befunde bei Frühgeburten, Säuglingen und Kindern unter einem Jahr festgestellt. Die restlichen Prozente zeigten sich meist bei Kindern unter 2 Jahren, während bisher nur 2 Fälle bei Erwachsenen gefunden wurden<sup>21, 91</sup>.

Die am meisten befallenen Organe sind in absteigender Reihenfolge: Parotis, Niere, Lunge, Leber, Thyreoidea, Pankreas. Seltener werden sie gefunden in: Sublingualis, Nebenhoden, Nebennierenrinde<sup>27</sup>, lediglich

Tabelle 1.

Jahr	Autor	Deutung der Cytomegalie
1881	RIBBERT	Hypertrophie der Zellen (zit. nach DE LANGE und nach RIBBERT 1904)
1904	JESIONEK und KIOLEMENOGLOU	Gregarinen (Protozoen)
1904	RIBBERT	Amöben oder Sporozoen
1906	TYZZER	Kerneinschlüsse bei Varicellen
1907	LÖWENSTEIN	Coccidien
1910	MOUCHET	Sporozoen (zit. nach MÜLLER)
1910	PERRANDO	Embryonismen (Entwicklungshemmung gepaart mit Hypertrophie, zit. nach MÜLLER)
1910	PISANO	Embryonale epitheliale Zellen (zit. nach FABER und WOLBACH)
1910	SMITH und WEIDMAN	Entameba mortinatalium
1911	PETTAVEL	Bakterien oder sonstige parasitäre Organismen
1914	SMITH und WEIDMAN	Entameba mortinatalium (zit. nach FINDLAY und LUDFORD)
1920	JACKSON	Protozoen. Gleiche Befunde in den Submaxillarisdrüsen von Meerschweinchen
1921	ASCHOFF	Protozoen
1921	GOODPASTURE und TALBOT	Effekt einer chronischen Entzündung. Verfasser vergleichen die Veränderungen mit den Befunden LELIA JACKSONS in den Speicheldrüsen der Meerschweinchen und denen TYZZERS bei Varicellen
1921	LIPSCHÜTZ	Herpesvirus, Chlamydozoonosen
1922	DE LANGE	Entartung unbekannter Ätiologie
1922	MÜLLER	Hyperplastische Vorgänge (keine Protozoen, da die Placentarschranke von diesen nicht überwunden werden kann)
1923	WILSON und DUBOIS	Keine nähere Stellungnahme
1924	RIVERS und TILLET	Ähnliche Veränderungen beim Kaninchen
1925	V. GLAHN und PAPPENHEIMER	Keine Schlußfolgerung: 1. Kerndegeneration ohne Virus oder 2. Virus (Befund in der Lunge eines Erwachsenen)
1926	WALZ	Protozoen
1926	WAGNER	Keine Protozoen, Degenerationsvorgang
1927	FEYRTER	Virus in einer Keuchhustenlunge
1927	COLE und KUTTNER	Nachweis der Virusnatur dieser Veränderungen beim Meerschweinchen durch Übertragung auf andere Meerschweinchen
1931	FARBER	Virus
1931	CORDOCK	Virus in Relation zum Keuchhusten
1932	COVELL	Ähnliche Zellveränderungen beim Affen
1932	RECTOR und RECTOR	Ähnliche Zellveränderungen beim Maulwurf
1932	THOMPSON	Ähnliche Zellveränderungen bei Ratten und Mäusen
1932	FARBER und WOLBACH	Virus
1934	CORDOCK and SMITH	Virus (vielleicht in Relation zur Keuchhustengenese)

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

Jahr	Autor	Deutung der Cytomegalie
1934	KUTTNER und WANG	Erste, auch bei allen späteren Untersuchern erfolglos gebliebene Übertragungsversuche des menschlichen Speicheldrüsenvirus. Spontanes Vorkommen der Zellveränderungen beim Hamster, weißen Mäusen und wilden Ratten
1935	COWDRY und SCOTT	Kerneinschlüsse beim Affen ( <i>Cebus fatuellus</i> und <i>Macacus rhesus</i> )
1935	HAMPERL	Gequollene Kernkörperchen (Befund im Magen einer Erwachsenen).

einmal im Magen<sup>91</sup> und im interstitiellen Gewebe des Nieren- und Leberparenchyms<sup>53</sup> und in Capillaren<sup>23</sup>.

Etwa 80 Fälle wurden bisher in der gesamten in- und ausländischen Literatur veröffentlicht. Hinzu kommen 5 eigene Befunde.

Alle bisherigen Versuche, die Virusnatur dieser Zellveränderungen durch Übertragung auf Tiere (Meerschweinchen, Hamster, Mäuse, Ratten, Kaninchen, Affen, eigene Versuche am Meerschweinchen) zu beweisen, sind fehlgeschlagen<sup>35, 36</sup>.

Naheliegend für die Erforschung dieser Zellen, deren Virusnatur sich anscheinend wegen der hohen Artspezifität nicht erweisen ließ, ist der Vergleich mit morphologisch sehr ähnlichen Zellen bei anderen Tierarten<sup>31</sup>. Ganz besonders hat sich deshalb die anglo-amerikanische Forschung dem *Speicheldrüsenvirus des Meerschweinchens* zugewandt. Im folgenden bringe ich die bisherigen Ergebnisse.

Der Nachweis der Virusnatur der Kerneinschlüsse wurde beim Meerschweinchen durch Überimpfung von Tier zu Tier erbracht. Es gelangen Tierpassagen über 7 Generationen (<sup>5, 30</sup>).

Bei intracerebralen Inokulationen von virushaltigem Material bei Meerschweinchenfeten (Technik nach WOOLPERT) konnte nachgewiesen werden, daß oftmals die Placentarschranke rückläufig durchbrochen wird und dann das Muttertier ebenfalls, wenn auch nur selten, Reaktionen auf die Inokulation zeigt.

Meistens hat das Muttertier durch eine in der Jugend erlittene Spontaninfektion eine Immunität erworben, die anscheinend für das ganze Leben bestehen bleibt. Die Antikörper des Blutes der Mutter können zwar die Placenta passieren, aber die Immunität des Muttertieres hat doch keinen Einfluß auf die Infektion des Feten<sup>51</sup>.

Das infizierende Agens wird durch Erhitzen auf 54° C über 1 Stunde abgetötet. In 50%igem Glycerin kann es 11 Tage aufbewahrt bleiben, ohne daß es seine Infektiosität einbüßt. Es wird nicht durch BERKEFELD-N-Filter aufgefangen. Tiere aus virusfreien Stämmen waren gegenüber künstlichen Infektionen empfindlicher; in anderen Versuchen zeigten sich alte Tiere wieder empfindlicher als junge<sup>73</sup>. Es traten alle Verläufe auf, von geringster oder auch gar keiner Reaktion bis zum tödlichen Verlauf der Infektion.

In den meisten *Meerschweinchenstämmen* sind nach amerikanischen Angaben die über 4 Wochen alten Tiere bis zu 80% mit dem Virus spontan infiziert.

Urin und Speichel durch gleiche Filter getrieben, ergaben intracerebral inokuliert beim Meerschweinchen keine Infektion<sup>45</sup>, während die Infektion über die Lunge gelang. Auch künstliche Herabsetzung der Resistenz der Tiere konnte die Übertragungsversuche von Art zu Art zu keinem Erfolg führen. Die Infektionen zeigten morphologisch durch das Auftreten der Einschlußkörper in den Zellkernen fast aller Körpergewebe die Höhe der Erkrankung und die Generalisation der Virusinfektion an<sup>30</sup>.

Histologisch wird besonders oft das Auftreten der interstitiellen Bronchopneumonie mit Verdickung der Alveolar- und Bronchialwände erwähnt.

Pilocarpinapplikation vermehrt die Zahl der veränderten Zellen, Gangunterbindung verhindert dagegen die Entwicklung der Zellveränderungen<sup>66</sup>. Die *Entwicklung der Kerneinschlüsse dauert 12—15 Tage* beim Meerschweinchen. Die cytoplasmatischen Einschlüsse werden später entwickelt<sup>57</sup>. Meist sind spontaninfizierte Tiere gegenüber cerebralen Inokulationen refraktär. Eine Immunwirkung des Serums nach Infektionen wurde nicht sicher nachgewiesen<sup>1</sup>. Unregelmäßige Versuchsergebnisse zeigen sehr komplizierte Vorgänge bei dem immunbiologischen Verhalten des Körpers, der experimentell, spontan oder auch latent infizierten Tiere an. Die Untersuchungen von OLITZKY und HARFORD mit Pferdeencephalitisvirus an Mäusen zeigten, daß die Immunität der Tiere am höchsten ist, wenn der Titer des Blutes an Antikörpern noch kaum nachweisbare Werte im Blute erreicht hat. Daraus ist zu ersehen, wie vorsichtig die serologischen Nachweise und die gewonnenen Werte zu beurteilen sind. Andererseits kann bei Viruserkrankungen eine Immunität mit unterschwelligen Infektionsdosen erreicht werden<sup>54</sup>. Immunseren geben oftmals unterschiedliche Schutzkraft bei verschiedenen Infektionswegen<sup>60</sup>. Eine Schwangerschaft kann nicht nur die Entwicklung einer Immunität unterbrechen, sondern sogar eine vorher vorhanden gewesene Immunität herabsetzen<sup>29</sup>.

Die intracerebrale Injektion von virushaltigem Material bei virusfreien Tieren hat meist eine tödliche Wirkung. Junge Meerschweinchen (bis zu 4 Wochen alt) sind durchweg nicht Virusträger. Es gibt aber auch völlig virusfreie Stämme (s. Bericht über eigene Versuche).

Es wird vermutet, daß sich die Kerneinschlüsse aus dichtgepackten Einzelpartikeln zusammensetzen<sup>54</sup>. In *Gewebskulturen* konnte die Bildung von *Einschlußkörpern* in den Kernen *nachgewiesen* werden<sup>1</sup>.

Bei der Entwicklung des Kerneinschlußkörpers, die in Wirklichkeit noch komplizierter ist, als es meine kurze Beschreibung schildert, kommt es zu folgendem Verhalten des Chromatins:

Im Anfangsstadium treten kleine Zusammenballungen des Chromatins auf. Diese wandern auf die Kernmembran zu und legen sich dort an (Margination). Ebenso verhält sich der Nucleolus. Durch diesen Vorgang ist die Schicht des Kernes zwischen Membran und Einschlußkörper chromatinarm geworden. So ist der „Hof“ entstanden. Später wandert das Chromatin unter Zurücklassen von Chromatinbrocken und der Nucleoli von der Kernmembran auf den Einschlußkörper des Kernes zurück und heftet sich hier fest an. Es lassen sich daher folgende Altersstufen aufstellen:

1. Junges Stadium: Geringer Hof, Liniennetzwerk erkennbar, keine Margination des geringen Chromatins.

2. Mittleres Stadium: Ballung des Chromatins, das zu Margination übergeht.

3. Spätes Stadium: Alles Chromatin ist marginiert.

4. Altes Stadium: Das Chromatin wandert auf den Einschußkörper zurück.

Der Zelltod kündigt sich oftmals durch Verflüssigung des Chromatins an; aber das endgültige Schicksal der mit den Einschußkörpern beladenen Zellen ist auch heute noch unbekannt.

Diese Erkenntnisse wurden vorwiegend durch die Ultrazentrifugation frischen Gewebes gewonnen. Hierbei zeigt sich entsprechend dem Alter der Zellveränderungen ein unterschiedliches Verhalten des Basis- und Oxychromatins (= basischen und acidophilen Chromatins). Die spezifische Schwere der beiden Chromatine ist gleich, aber sie ist größer als die des Kernsaftes. Das Oxychromatin trennt sich kaum von Kernmembran und anderen Objekten im Kern. Es scheint eine bestimmte Relation zwischen Kerneinschuß und Chromatin zu bestehen, so daß verschiedene Autoren das Zellbild als „Maßstab der Infektiosität des Virus“ anlegen<sup>38, 39, 65</sup>.

Sowohl die intraplasmatischen wie auch die Kerneinschlüsse ergeben bei Meerschweinchen und Kaninchen auf der Höhe der Entwicklung eine positive Thymonucleinsäurereaktion nach FEULGEN<sup>43, 65</sup>.

Auch andere Ursachen (wie Fremdkörper und Chemikalien, z. B. Al und Fe) können bei Zellen zur Bildung von Einschlüssen führen. Ich habe die Ergebnisse dieser Arbeiten mit den Befunden beim Menschen verglichen und konnte aber keine Identität morphologischer Art feststellen, denn die Einschußkörper sind dabei hyalinen und nicht granulären Typs<sup>58</sup>.

Bei der menschlichen Cytomegalie sind jahreszeitliche Schwankungen im Vorkommen der Veränderungen als charakteristische Züge einer typischen Infektionserkrankung und Anzeichen für eine Geschlechtsdisposition nicht zu beobachten; aber Krankheitsverläufe mit stark erhöhten Temperaturen, Zeichen von Infektionen mit toxischem Charakter wurden sehr oft festgestellt. Doch es können auch jegliche Zeichen einer Krankheit in der Anamnese fehlen, und dennoch ist ein positiver Zellbefund zu erheben. Auffallend oft, fast regelmäßig sind die Cytomegalien mit Pneumonien, Bronchopneumonien, Bronchitiden und Pertussis und anderen entzündlichen Krankheiten gepaart. Dieses wird von mehreren Untersuchern erwähnt und durch die eigene Übersicht über die Kasuistik der Literatur und die eigenen Fälle bestätigt.

Die histologischen Befunde zeigen die Zellveränderungen in Begleitung von entzündlichen, interstitiellen Prozessen akuter und chronischer Art, selten gesteigert bis zu Gewebnekrosen, meist aber von

Ta-

Nr.	Geschlecht	Alter	Anamnese	Klinische Diagnose
703/45	♀	6 Tage	Mutter: Syphilis	Sepsis, Leukämie
350/47	♂	wenige Stunden	Frühgeburt	Ernährungsstörung, Phlegmone linker Oberschenkel, Anämie-
400/47	♀	2½ Monate	Durchfälle, Krämpfe	Alimentäre Intoxikation
23/48	♀	3½ Monate	Frühgeburt, Rachitis, Durchfälle	Alimentäre Intoxikation Bronchopneumonie
25/48	♀	7 Monate	Keuchhusten, Pneumonie, Krämpfe	Keuchhustenpneumonie und Keuchhustencephalopathie

einem völlig reizlosen, nicht entzündlich veränderten Gewebe umgeben. Dabei ist das scheinbare Fehlen von Entwicklungsstadien bemerkenswert.

Der Grad der Pathogenität der Cytomegalie ist nach den bisherigen Kenntnissen somit noch völlig ungeklärt.

Die obige Tabelle 2 gibt einen Überblick über die von mir beobachteten Fälle. Bei der subtilen Kenntnis der morphologischen Merkmale der „protozoenartigen Zellen“ und der auch aus dieser Tabelle hervorgehenden Tatsache, daß dem Befall des Menschen ein spezifischer, klinischer Befund nicht gegenübersteht, kann auf die Schilderung der klinischen und pathologisch-anatomischen Einzelheiten hier verzichtet werden. Überdies ist der Fall 703/45 in einer Dissertation\* näher beschrieben worden.

Die folgende Tabelle 3 zeigt das färberische Verhalten der cytomegalen Zellen. Diese Zusammenstellung bringt die mir wesentlich erscheinenden Ergebnisse meiner Färbeversuche.

Fluoreszenzmikroskopisch weisen weder die Zellen noch die Kern-einschlüsse ein unterschiedliches Verhalten gegenüber der Umgebung auf.

\* EBERSPÄCHER: Über die protozoenartigen Zellen in Organen von Neugeborenen und Feten. Tübingen 1948.



belle 2.

Anatomische Diagnose	Histologie	Vorkommen der Virusveränderungen
Hämorrhagische Pneumonie, Entzündung rechte Gesichtshälfte	Wie anatomische Diagnose, alle Organe und Gewebe durchsucht	Parotis, Submandibularis, Sublingualis, Leber, Thyreoidea, Pankreas (Acini und Interstitium der Inseln), Niere
Lungenödem, multiple petechiale Blutungen der Haut und serösen Häute, Phlegmone, umschriebene Peritonitis	Pathologische Blutbildungsherde in fast allen Organen, pathologische Zellen im Blut, Folge des Infektes? Bronchopneumonie	Parotis, Submandibularis, Leber, Niere, Pankreas (Acini), Thyreoidea, Lunge. Alle Organe und Gewebe durchsucht
Atrophie, Exsiccatio, Lungenödem	Bronchopneumonien	Parotis. Alle Organe durchsucht
Bronchopneumonie, Lungenödem, Exsiccatio, mäßige Anämie, Leberverfettung	Bronchopneumonien	Parotis. Alle Organe durchsucht
Pneumokokkenmeningitis		Parotis. Durchsucht: Lunge, Niere

Ferner habe ich Verdauungsversuche mit Pepsin und Trypsin durchgeführt. Die Kerneinschlüsse zeigen sich gegenüber diesen proteolytischen Fermenten am stärksten widerstandsfähig (s. Tabelle 4).

Von dem Fall 350/47, der bei der Serienuntersuchung cytomegale Zellen aufwies, wurde eine Parotis unter sterilen Kautelen entnommen, mit einer Schere zerkleinert und in einem Porzellanmörser mit Sand zermahlen. Eine Lösung wurde unter Zugabe von Aqua dest. zum Gewebsbrei im Verhältnis 10 : 1 und eine zweite im gleichen Verhältnis mit physiologischer Kochsalzlösung angesetzt. Nach 5 Min. Zentrifugieren bei niedriger Umdrehungszahl wurde der Überstand subcutan (1,0 cm<sup>3</sup>), intracerebral (0,25 cm<sup>3</sup>) und in die Submaxillaris (1,0 cm<sup>3</sup>) injiziert. Mit jeder Lösung wurden 3 Tiere gespritzt.

Vier Tiere überlebten den Eingriff; ein intracerebral inokuliertes Tier (Brei + Aqua dest.) starb am 4. Tage, ein anderes in die Submaxillaris inokuliertes Tier (Brei + physiologischer NaCl-Lösung) am 8. Tage nach dem Eingriff. Das erste gestorbene Tier wies histologisch eine Meningitis und Ependymitis auf, Kerneinschlüsse waren nicht zu finden. Das andere Tier starb an Bronchopneumonie. Die gesunden Tiere wurden am 12. Tage post inoculationem getötet, alle wiesen weder makroskopisch noch mikroskopisch in der Gegend der Injektion Veränderungen auf. Lediglich das zweite intracerebral inokulierte Tier hatte eine subependymale Plasmaexsudation.

Dabei ist zu erwähnen, daß es mir nicht gelang, spontane Virusveränderungen in Gestalt der Kerneinschlüsse in den Epithelien der Submaxillarisdrüsen bei unserem Meerschweinchenstamm nachzuweisen, ebenso nicht bei den weißen Mäusen. Deshalb konnte ich leider keine vergleichenden morphologischen Studien treiben.

Tabelle 3.

Methode	Cytoplasma und Zellmembran	Cytoplasmatische Einschlüsse	Kern	Kerneinschl
Hämatoxylin- Eosin	rosaviolett	blaurot violett	Membran: blauviolett	homogen, dunkelrot purpurrot
Goldner	grau-grün	grün-grau	Chromatin: blaurot	Rand: purp Zentrum: blau
Lykogen (Best)	—	—	—	—
Fett	—	feinste Granula, schwach +	—	—
Eisen	—	—	—	—
Chrom	—	—	—	—
Silber (Masson)	braun	braun	Hof hell, Nucleo- lus und randstän- diges Chromatin: schwarz	dunkelbraun schwarzen B ken
t an gelben Zellen des Darmes: +				
Silber IELSCHOWSKY) nach Angaben DER-PLASSMANN	braunviolett feinst granuliert, wie gestichelt und wabig	—	Membran: ++ Chromatin tief- schwarz, gebrök- kelt, Silber wie an einer Schale nie- dergeschlagen	dunkelbraun lett, homog
FEYRTER	oftmals Metachromasie	—	—	—
FEULGEN	—	++	Membran: ++	kompakt u homogen, +-

In einem weiteren Fall wurde eine Gewebeskultur von steril entnommenem humanem Parotisdrüsengewebe und einem virushaltigen Parotidbrei, der durch ein Seitzfilter gefiltert wurde, mit Ringerlösung im Verhältnis 1 : 10 angesetzt. Daneben lief ein Kontrollversuch. Auch dieser Versuch mißlang, weil das Gewebe in dem Filtrat wie auch das Kontrollgewebe autolytierte. Die Voraussetzungen für das Gelingen einer Gewebeskultur waren bisher nicht genügend, so daß dieser Versuch als einer der ersten wiederholt werden mußte.

Die Ultrazentrifugation des Gewebes führte weder bei normalen noch bei virusveränderten Fällen zu einem Effekt, um morphologische Studien an dem Verhalten der Zell- und Kernsubstanzen treiben zu können. Zentrifugiert wurde frisches Gewebe in physiologischer Kochsalzlösung und über 24 Stunden in Aqua dest. gequollenes Gewebe. Die Versuche konnte ich dank des Entgegenkommens von Herrn Dr. SCHRAMM vom Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Abteilung Virusforschung, durchführen. Leider erreicht die zur Verfügung stehende Ultrazentrifuge nicht die benötigte 500000fache Erdbeschleunigung, weil die Konstruktion dieser Zentrifuge für andere Versuchszwecke ausgeführt ist.

Tabelle 4.

	Cytoplasma Zellgrenze	Cytoplasmatische Einschlüsse	Kern und Kernmembran	Kerneinschlüsse
<i>1. Pepsin.</i>				
1 Stunde	weniger scharf	weniger scharf wolkiger	Membran beginnt sich aufzulösen, Hof wird undeutlich	kompakt
2 Stunden	weniger scharf	undeutlicher, diffuser, Cytoplasma homogener	Membran an einzelnen Stellen aufgelöst, Hof undeutlich	kompakt, deutliche Morulaform
3 Stunden	nahezu aufgelöst	feinste Granula	desgl.	desgl.
4 Stunden	aufgelöst	noch als feinste Granula vorhanden	Membran aufgelöst, Hof verschwunden	kompakt, beginnt in einzelne Bestandteile zu zerfallen, wird unregelmäßig begrenzt
5 Stunden	"	desgl.	—	in gröbere Granula aufgelöst
6 Stunden	"	homogenisierte, eosinophile-basophile Masse	—	zerfließen, bis auf wolkige Beschaffenheit nahezu homogen
<i>2. Trypsin.</i>				
1 Stunde	scharf	undeutlich	Hof verwaschen, Membran undeutlich	undeutliche Grenze gegen Hof, kompakt
2 Stunden	gegenüber Lumen scharf, gegenüber Nachbarzellen undeutlich, verschwommen	Desgl.	Hof verschwunden, Membran undeutlich an einzelnen Stellen	verbreitert, zerfließend, granuläre Struktur nicht erkennbar, kompakt
3 Stunden	desgl.	annähernd homogenisiert	Membran nur noch angedeutet durch homogene Plasmastuktur zu erkennen	weiter zerfließend, aber noch kompakt, unscharfe Grenze
4 Stunden		Wie 3 etwa		
5 Stunden	geschrumpft, sonst wie 2	homogenisiert, keinerlei Struktur erkennbar	dunkel nur als stärker dunkle Masse gegenüber Cytoplasma noch erkennbar	
6 Stunden	aufgelöst	Zellen aufgelöst, an ihrer Stelle liegen nur vereinzelte basophile Granula, die unscharf begrenzt sind	Membran als scharfe Grenze erkennbar, homogene Masse ausgelaugt	geschrumpft, liegt jetzt als kompakte längliche Walze klar zwischen Kernmembranresten

Zum Nachweis der granulären Struktur der Kerneinschlüsse wurde von virushaltigem frischem Gewebe mit der Messerschneide ein Abstrich gewonnen. Dieser wird auf einen Objektträger gebracht, auf dem bereits ein Tropfen Aqua dest. deponiert ist. Der Brei des Messerabstrichs und das Aqua dest. werden verrührt. Bevor es zu einer Quellung der Zellen durch das hypotonische Aqua dest., einem Zerplatzen der Zellen und einer Sedimentation der Zelltrümmer kommt, müssen mindestens 6—10 Tropfen Aqua dest. mit einem Glasstab zugeführt werden. Dann bleibt das Präparat liegen, bis es bei Zimmer-

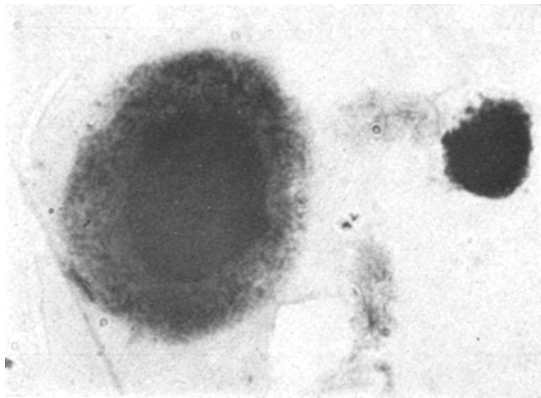


Abb. 4. Gequollene, aber nicht zersprengte cytomegale Zelle. Durch die cytoplasmatischen Einschußkörper ist der große Kern deutlich, der Hof zwischen Kernmembran und Kerneinschuß noch eben zu erkennen. 23/48, Messerabstrich von frischem Parotisdgewebe, Aqua dest. GIEMSA.

temperatur langsam austrocknet. Der Austrocknungsprozeß darf nicht beschleunigt werden, da es sonst nur zu einem Zersprengen des Zelleibes und nicht des Kernes, der Membran und des Kerninhaltes kommt. Die Präparate müssen bis zum Austrocknen ruhig liegen bleiben, damit es nicht zum Durcheinanderwirbeln des Sedimentes der Zelltrümmer kommt. Die Aufquellung im Aqua dest. führt immer zu einem Zersprengen des Zelleibes, aber nicht immer zu einem Freilegen des Kerninhaltes. Diese Quellpräparate wurden nach der Methode GIEMSA gefärbt und nach MOROSOW versilbert (Abb. 4—7).

Von allen Abstrichmethoden führt der einfache Messerabstrich von Gewebsbrei, der in der Schwemmlösung verteilt wird, zu den sichersten Ergebnissen.

Es ist notwendig, mit den Präparaten sehr vorsichtig umzugehen. Sie vertragen nur ein Ablösen des Cedernöls im Standgefäß mit Xylol nach Anwendung der Immersion. Wenn das Öl nicht auf diese Weise gelöst wird, zerfallen insbesondere die empfindlichen Häufchen von Elementarkörperchen bei der MOROSOW-Färbung. Es ist mitunter möglich, diese Zerfallsbereitschaft unter der Immersion zu betrachten, wenn es durch einen Druck des Objektivs zu einem

Zerstreuen der Granula kommt, die dann unter dem Auge über das Blickfeld fortgeschwemmt werden.

Um die virusveränderten Zellen in Abstrichen aus der Wangenschleimhaut von der Papilla salivaria buccalis et sublingualis mit größerer Aussicht auf Erfolg durchführen zu können, mußte eine modifizierte Färbung gefunden werden. Die GIEMSA-Färbung und andere Färbemethoden erwiesen sich als zu unübersichtlich, da sie neben den Zellen auch noch die Bakterien des Mundes mitfärben. Durch meine Färbung wird es möglich sein, nur die Zellen herauszuheben.

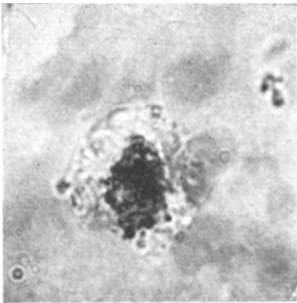


Abb. 5. Das Cytoplasma einer cytomegalen Zelle ist zersprengt, der Kern ist sehr stark gequollen, der Hof deutlich erkennbar. Die Kernmembran ist als Ganzes erhalten. Die granuläre Struktur des Kerneinschlusses tritt zutage. 350/47, Messerabstrich, Parotis, Aqua dest., Kernecht, GIEMSA.

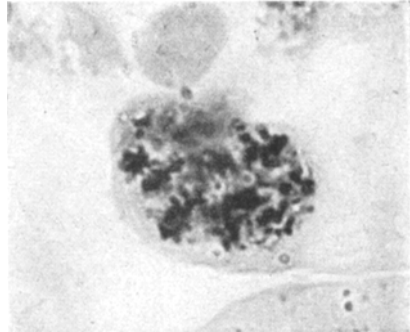


Abb. 6. Zersprengter Zelleib; der Kerneinschluß ist ebenfalls in seinem festen Gefüge gelockert; seine granuläre Struktur wird noch deutlicher. 350/47, Messerabstrich, Parotis, Aqua dest., Kernecht, GIEMSA.

Es kann mit mittlerer Vergrößerung gesucht werden. Die Mundepithelien liegen mit deutlicher Kernfärbung und nahezu plastischen Zellgrenzen in zart-blaurosa-Farbe im Gesichtsfeld. Der Färbevorgang ist folgender:

1. Mundabstrich lufttrocken lassen.
2. Fixieren 15 Min. in absolutem Alkohol oder 5 Min. in Methylalkohol, Aqua dest.
3. 10 Min. Hämatoxylin.
4. 10 Min. Aqua font. *Nicht differenzieren!*
5. 5 Min. Eosin.
6. Spülen in 70- und 96%igem Alkohol.
7. 5 Min. 100%iger Alkohol, lufttrocken lassen, mittlere Vergrößerung, eventuell Ölimmersion.

Zur Beobachtung von Abstrichen auf den Gehalt von virusveränderten Zellen ist auch folgende, von mir ausgearbeitete Methode gut anwendbar. Sie ist jedoch nicht zum Suchen geeignet. Ein Messerabstrich virushaltigen Gewebes wird in einen Tropfen Aqua dest. gebracht, der sich in einem Uhrgläschen befindet. Dann wird ein

Tropfen 0,9%ige NaCl-Lösung und eine Spur einer 0,1%igen Kernechtlösung hinzugebracht. Die Zellen quellen, da sie in etwa 0,45%iger NaCl-Lösung schwimmen, nehmen das Kernechtrot im Cytoplasma und später vermehrt im Kern auf. Die großen Zellen mit den eigenartigen Kernen sind bei mittlerer Vergrößerung gut sichtbar. Die Einschlüsse sind zunächst glashell und sehen, wenn sie viel Farbe an sich gezogen haben, dunkelrot und kompakt aus. Die modifizierte Hämatoxylin-Eosin-Färbung und die Kernechtrot-Supravital-Färbung sind aber von mir lediglich im Modellversuch ausgearbeitet worden.

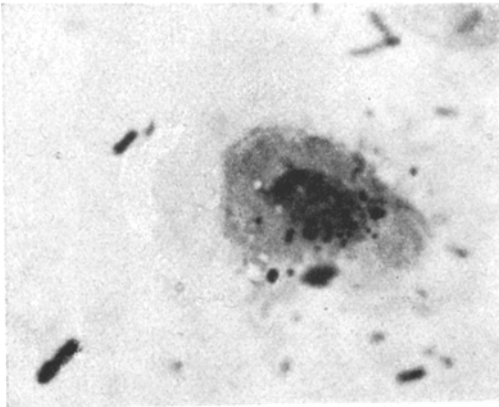


Abb. 7. Zelleib zersprengt; Kern fast aufgebrochen. Die Struktur des Einschlusskörpers stark gelockert; hier liegt ein junges Entwicklungsstadium vor. Vergleichbare Bakterien mit der Größe einzeln erkennbarer Elementarkörperchen. 350/47, Messerabstrich, Parotis, Aqua dest., GIEMSA.

Ein Nachweis von ausgeschwemmten, virusveränderten Zellen aus Mundabstrichen und Sputum ist mir nicht gelungen. LÖWENSTEIN berichtet, daß er diese Zellen bei Sektionen in Mundaustriechennachgewiesen hat.

In der Zeit von September 1947 bis Ende Januar 1948 habe ich die Leichen von 45 Frühgeburten, Säuglingen und Kindern untersucht. In 4 Fällen ergab sich ein positiver Befund in den Parotiden, also etwa bei jedem 11. Fall.

Zur gleichen Zeit wurden ebensoviel Parotiden von Erwachsenen aller Lebensalter untersucht, ohne daß sich ein positiver Befund ergab.

Zunächst untersuchte ich die Niere bei der serienmäßigen Suche nach den virusveränderten Zellen ebenfalls, weil diese nach den Statistiken dort ebensooft angetroffen werden. Es ist aber besser, mit der Suche an der *Parotis* zu beginnen, wo sich die Veränderungen am stärksten lokalisieren und sich *ausschließlich auf die Ausführungsgänge beschränken*. Diese können mühelos bei mittlerer Vergrößerung durchgesehen werden.

In Ergänzung dieser Untersuchungen auf dem Sektionssaal habe ich Mundabstriche von lebenden Säuglingen mit demselben Ziel untersucht. Von 130 Säuglingen wurden jeweils zwei Abstriche mit der Platinoëse aus der Mundhöhle angefertigt. (Erster Ort des Abstrichs: Papilla salivaria buccalis, zweiter Ort des Abstrichs: Papilla salivaria sublingualis.) Der Nachweis der Zellen am Lebenden konnte aber noch

nicht erbracht werden, wie es LÖWENSTEIN nach seinem Bericht bei toten Kindern aus Mundabstrichen gelang. Jedoch bin ich mir im klaren, daß ich die Wahrscheinlichkeitsgrenze, um einen positiven Befund zu erhalten, mit dieser Abstrichzahl sicher noch nicht erreicht habe.

Verschiedentlich habe ich in den Ausstrichen kleine Gebilde von Walzenform gefunden, die als Überbleibsel der Zellen hätten gedeutet werden können. Der Einschußkörper ist nach den Ergebnissen der Verdauungsversuche am Schnitt sehr widerstandsfähig und wird als letzter Bestandteil von den Zelltrümmern nachzuweisen sein. Aber ich betrachte den Nachweis dieser Zellen in der Mundhöhle des Menschen erst als erbracht, wenn eine intakte Zelle im Abstrich mit ihren untrüglichen morphologischen Kennzeichen gefunden sein wird.

Sputum, in dem ausgehustete virusveränderte Zellen der Lokalisation meines Lungenbefundes nach auch vorkommen müssen, wurde nicht untersucht (s. Abb. 2).

Ich entnahm die Abstriche von Säuglingen aus der Universitäts-Frauen- und Kinderklinik Tübingen zur gleichen Zeit, in der ich in tabula positive Befunde hatte.

Einen breiten Raum meiner Arbeit nahmen die morphologischen Studien ein. Es gelang mir, mit der zuvor beschriebenen Quellmethode Kenntnis über den *Aufbau des Einschußkörpers des Zellkernes* zu gewinnen. Diese Versuche wurden von mir zum erstenmal durchgeführt. Bisher wurde nur im Vergleich zu den Zellveränderungen bei anderen Viruskrankheiten und den Tierbefunden die Vermutung ausgesprochen, daß der Kerneinschuß nicht aus einer homogenen Masse besteht, sondern sich aus dichtgepackten Elementarkörperchen zusammensetzt<sup>42 u. a.</sup> (Abb. 8).

Der Beweis dieser Vermutungen früherer Untersucher konnte nunmehr erbracht werden. Oftmals zeigen sich unter den feinen Granula der Elementarkörperchen gröbere Schollen einer an Krystalltafeln erinnernden, braunen homogenen Masse, die ein Vielfaches der Körnchengröße aufweisen (s. Abb. 9). Die Granula haben etwa eine Größe von  $0,25\mu$  (nach nicht sehr exakter Messung), ihre Färbung ist nach GIEMSA rot, oftmals mit dunkelblauem Farbton und nach MOROSOW tiefschwarz. Oftmals zeigen sich Lichtbeugungserscheinungen, wie sie

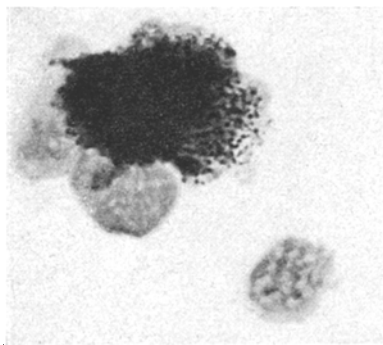


Abb. 8. Zelleib und Kern zersprengt. Der Kerneinschuß freigelegt, seine Zusammensetzung aus einzelnen und granulären Elementarkörperchen sehr gut sichtbar. 400/47, Messerabstrich, Parotis, Aqua dest., GIEMSA.

Teilchen dieser Größenordnung zu eigen sind. Die cytoplasmatischen Granula versilbern sich nach MOROSOW nicht. Aber bei der GIEMSA-Färbung finden sich rote Granula in Größe der Elementarkörperchen auch im Cytoplasma. Der geplatzte Kern hat bei der GIEMSA-Färbung in den Restteilen eine homogene blaue Farbe (Abb. 9 und 10).

Ich habe mich bemüht, nach der Methode BIELSCHOWSKYS (abgewandelt nach den SUNDER-PLOSSMANNschen Angaben) herauszufinden, ob Gebilde, wie sie von STÖHR und SUNDER-PLOSSMANN beobachtet und unter dem Begriff des neuro-vegetativen Terminalretikulums beschrieben wurden, ebenfalls zu diesen

Zellen ziehen. Ich habe keine Verbindung zu einem derartigen Terminalretikulum

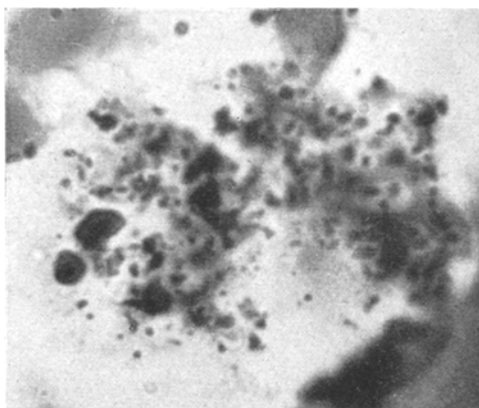


Abb. 9. Völlig zersprengter Kerneinschluß. Zwischen den zum Teil noch zusammengeballten Elementarkörperchen liegen krystallartige Schollen aus Kernmaterial. Diese haben eine homogene Struktur. Matrix des Virus? 400/47, Messerabstrich, Parotis, Aqua dest., MOROSOW-Versilberung.

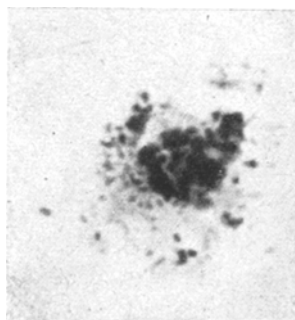


Abb. 10. Im wesentlichen wie Abb. 9, hier fehlen die homogenen, krystallartigen Tafeln. Kerneinschluß mit weniger Elementarkörperchen; jüngeres Entwicklungsstadium. 400/47, Messerabstrich, Parotis, Aqua dest., MOROSOW.

gefunden. LENARD führt aus und begründet, daß über 2000fache Vergrößerungen Vorsicht bei der Beurteilung der Bilder verlangen.

In früheren Beschreibungen über die „protozoenähnlichen Zellen“ finden sich oftmals divergierende Angaben. Es handelt sich jedoch nicht um „Auslaugungsphänomene“ und andere Deutungen, sondern um Beschreibung von Schnittbildern in verschiedener Höhe<sup>65, 53</sup>. Die Zellen haben einen Durchmesser von ungefähr  $25\mu$ ; ich konnte sie also in Serienschnitten gut in verschiedenen Höhen beobachten. Nach dem Schema der Schnittlagen 1, 2, 3 und 4 muß es zu entsprechenden Zellbildern führen (s. Abb. 11).

Mit den normalen Färbemethoden sind keine Entwicklungsstadien der Zellen und Kerneinschlüsse zu finden. Die Zellen scheinen sofort auf der Höhe ihrer vollen Entwicklung zu stehen. Dieser Umstand trug sicher weitgehend zu der früheren Annahme der protozoenähnlichen Natur als Ursache der Cytomegalie bei. Die Quellmethode zeigt



jedoch nach GIEMSA und nach MOROSOW sehr deutliche Entwicklungsstadien von wenigen Elementarkörperchen bis zu den aus vielen Tausenden von Granula zusammengesetzten Einschlußkörperchen des Zellkernes. Jedoch sind die Entwicklungsstadien nur selten zu finden, denn es dürfte anzunehmen sein, daß der Körper zur Zeit der Generalisation von einem ziemlich gleichförmigen Entwicklungsstadium der Cytomegalie befallen sein wird.

Mitosen habe ich nicht gefunden. Oft aber sind polständige Stellungen der Nucleoli an der Kernmembran und ein kompaktes Verlagern der Masse des Einschlußkörpers an die Pole zu beobachten. Dieser Einschlußkörper geht dann von ovoider in nierenförmige Gestalt über. Zwischen den polaren Chromatinmassierungen liegt eine dünne, durchsichtige Brücke von fraglich fädiger Natur. Ganz selten fand ich zweikernige Zellen mit Einschlußkörperchen in beiden Kernen. Ich wage aber nicht, diese Beobachtungen im Sinne frustrierender Teilungsversuche der Zellen zu deuten.

Es ist noch zu erwähnen, daß es nur zu einer Anfärbung einzelner Granula kommt, wenn der Kerneinschluß in seiner Struktur zersprengt ist. Oftmals hat es den Anschein, als ob es den Farben nicht gelingt, die intakte Kernmembran der cytomegalen Zellen zu durchdringen. Das ist insbesondere bei der folgenden Modifikation der GIEMSA-Färbung zu beobachten.

Gelegentlich meiner oben erwähnten Methode der Vitalfärbung der Zellen in 0,45%iger NaCl-Lösung oder in Aqua dest. färbte ich eines solcher Präparate nach GIEMSA nach. Dabei zeigte sich der Effekt, daß die sich sonst sehr störend mitgefärbten Bakterien nun nicht mehr nach GIEMSA anfärben. Anscheinend haben sie ihre freien Valenzen mit Farbstoff abgesättigt, so daß es nicht mehr zu ihrer Anfärbung kommt. Im Präparat liegen dann die dunkelbraun, geradezu elektiv gefärbten Kerneinschlüsse. Jedoch ist die Methode, wie spätere Kontrollen ergaben, in ihren Ergebnissen unsicher, weil sich nicht immer eine Anfärbung der Elementarkörperchen erreichen läßt.

Beziehungen zwischen sog. hellen Zellen und den virusveränderten Zellen bestehen nicht; es sind beide Formen oftmals nebeneinander zu finden.

In den Plattenepithelien des Mundes finden sich in gut  $\frac{1}{3}$  aller Fälle basophile, cytoplasmatische Einschlüsse von Kugelform und sehr unterschiedlicher Größe. Sie färben sich besonders stark nach der modifizierten Hämatoxylin-Eosin-Färbung an. Ich bin jedoch der Natur dieser Zelleinschlüsse nicht nachgegangen; vielleicht sind es Körnchen von kerato-hyaliner Natur.

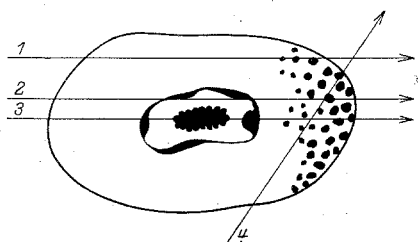


Abb. 11.

Das Ziel meiner Arbeit war natürlich nur der Versuch, den absolut sicheren Nachweis der Virusnatur dieser Zellveränderungen zu erbringen, deren Entstehungsursache lange Zeit überhaupt unbekannt war.

So wollte ich zunächst den Übertragungsversuch wiederholen, der selten mit humanem Speicheldrüsengewebe, das diese cytomegalen Zellen enthielt, unternommen war. Aussicht auf Erfolg war nicht vorhanden, denn bei den tierischen Speicheldrüsenvira ist in den letzten Jahren eine hohe Artspezifität nachgewiesen worden, die wohl nach dem Stand unserer Kenntnis auf die menschlichen Verhältnisse übertragen werden darf.

Auch die Gewebekulturversuche waren von vornherein zum Scheitern verurteilt, denn die Entwicklung der Kerneinschlüsse wird mindestens 14 Tage erfordern, wie wir es von den Plasma- und Kerneinschlüssen beim Meerschweinchen wissen. Über diese Zeit war es unter den gebotenen Versuchsbedingungen unmöglich, ein derart hoch differenziertes Gewebe wie das der Parotis in der Kultur zu erhalten.

Die lange Entwicklungszeit dieser Zellveränderungen ist zugleich ein Beweis, daß Tot- und Frühgeburten, sowie bis zu etwa 3 Wochen alte Säuglinge, die von der Cytomegalie befallen sind, diaplacentar infiziert sein dürften. Zudem zeigten Versuche an Meerschweinchen, daß das Virus des Meerschweinchens imstande ist, die Placentarschranke zu durchbrechen, womit ebenfalls die positiven Befunde bei Tot- und Frühgeburten erklärt werden können.

Die Untersuchungen an Meerschweinchen haben ferner mit großer Wahrscheinlichkeit ergeben, daß die Infektion mit dem Speicheldrüsenvirus eine lebenslängliche Immunität hinterläßt<sup>1</sup>. Es kann zu einer Infektion des Muttertieres kommen, ohne daß dieses irgendeine Reaktion auf das erneute Eindringen des Virus in den Körper zeigt. Die Infektion des Feten aber kann nach den obigen Ausführungen aller Voraussicht nach diaplacentar erfolgen, während die in der Jugend erworbene Immunität das Muttertier vor den Erscheinungen einer Reinfektion schützt. Wie bei anderen Viruserkrankungen ist auch hier die Folge des Kontaktes mit dem Virus und des Überstehens der Infektion eine Immunität des Organismus, die zeitlebens andauert, den Körper nicht vor neuen Infektionen, wohl aber vor neuen Reaktionen schützt.

Gegenüber bestimmten Viren wird die Immunität der Mäuse in der Schwangerschaft herabgesetzt, wie HODES experimentell nachwies. Auch dieses ist ein Befund, der für unsere Fragestellung von Wichtigkeit ist.

Eine Persistenz der Infektion beim Muttertier kann, aber braucht nicht vorzuliegen.

Aus all diesen Gründen ist eine diaplacentare Infektion des Feten möglich, ohne daß es zu irgendwelchen Reaktionen oder Krankheitserscheinungen beim Muttertiere kommt.

Interessant ist der Nachweis, daß bei intracerebralen Inokulationen an Feten von Meerschweinchen diese Feten bis zur normalen Geburt in utero lebend verbleiben, auch wenn sehr schwere Veränderungen am Gehirn (bis zur Verflüssigung) entstanden sind.

Es bleibt ferner die Frage des *Weges der Ausbreitung des Virus* innerhalb und außerhalb des Körpers offen. Verschiedene Autoren berichten über das Vorkommen cytomegalen Zellen im Interstitium und in den Gefäßen oder deren Endothelien<sup>23</sup>. Ich habe letzteres nicht bestätigen können, wohl aber die Zellen im Interstitium des Pankreasinseldgewebes gesehen. Die Bilder in der Arbeit von GOODPASTURE und TALBOT sind für das intravasale Vorkommen der Zellen beweisend (Venen). Damit wäre der Weg der Ausbreitung und der Generalisation innerhalb des Körpers geklärt.

Es wäre somit anzunehmen, daß die gravide Mutter infiziert wird, selbst aber nicht erkrankt, weil sie durch Überstehen der Infektion als Fet, Säugling oder Kleinkind immun geworden ist oder die Resistenz Erwachsener gegenüber Reinfektionen mit diesem Virus erworben hat. Das Kind wird aber über den mütterlichen Organismus diaplacentar in utero infiziert. Für gewöhnlich überwindet dieses die Infektion, und nur in besonderen Fällen erkrankt es tödlich. Bei diesen tödlich ausgehenden Infektionen spielt wahrscheinlich eine Koinzidenz mit anderen Schäden, Vor- und Zweitkrankheiten eine Rolle. Das Kind gibt per vias naturales das Virus wieder ab. Gegen dieses Virus sind Erwachsene entweder resistent oder immun und nur die Gravida vielleicht zu einer bestimmten Zeit für das Virus empfänglich, das der Fet wiederum von der Mutter auffängt. Das ließe aber auf eine sehr große ubiquitäre Ausbreitung des Virus schließen, denn die Zahlen seines Auftretens bei den Kindern sind eigentlich noch sehr groß.

Die Befunde der cytomegalen Zellen in den Parotiden, in der Lunge und in den Nieren lassen sicher die Möglichkeit zu, daß es über den Ductus parotidicus, über den Bronchialbaum und die ableitenden Harnwege zu einer Ausschwemmung der virustragenden Zellen kommen muß. Deshalb möchte ich sehr an die Möglichkeit eines Nachweises dieser Zellen an lebenden Kindern oder Säuglingen in der Mundhöhle oder im Sputum glauben. Bei der Niere muß es dahingestellt bleiben, ob diese riesenhaft geschwollenen Zellen so elastisch sind, daß sie als ganze in die ableitenden Harnwege kommen, zumal sie nur in den Tubuli contorti liegen und niemals in Sammelröhren, geschweige in den engen Schenkeln der HENLESchen Schleife zu finden sind.

Bei dem Virus der Choriomeningitis konnte TRAUB<sup>82</sup> nachweisen, daß in utero infizierte Mäuse eine größere Menge des Virus im Blut haben als kontakt- oder spontaninfizierte säugende Mäuse. Er kommt daher zu dem Schluß, daß der unterschiedliche Reifegrad der Gewebe die Ursache für die Ansiedlung des Virus sei und daß dasselbe im unreifen Gewebe länger verweile.

Das ist ein weiterer Beweis für die Prädispositionen gewisser Gewebe und Altersklassen gegenüber Vira. In unserem Falle sind es fast ausschließlich die Epithelien, die von der Cytomegalie ergriffen werden. Deshalb könnte das Vorkommen der Kerneinschlüsse in den Alveolardeckzellen eigentlich für deren epitheliale Natur sprechen (s. Abb. 2). Indes ist, wie gesagt, das Virus auch in den Endothelien gefunden worden.

Nach FUST rechnet das Speicheldrüsenvirus des Meerschweinchens zu jenen Virusarten, die den Ablauf der Lebensfunktionen des Wirtsorganismus nicht beeinträchtigen und latente oder subklinische Infektionen verursachen. Deshalb werden sie so selten entdeckt. „Bekanntlich können schlummernde Infektionen Wegspuren hinterlassen, zum Teil in Form von chronisch entzündlichen Veränderungen, zum Teil auch in Gestalt von acidophilen Kerneinschlüssen.“ Sicher ist das nur die eine, wenn auch die häufigste Möglichkeit.

Nach näherer Durchsicht der Krankengeschichten kann ich mich nicht des Eindrucks erwehren, als ob in vielen Fällen eine seltsame Koinzidenz verschiedener unbekannter Faktoren als Krankheitsursachen dieser Infektion zugrunde liegt: Das Virus der Cytomegalie allein verläuft sicher nicht zu derart folgenschweren Krankheitsverläufen. Es überschneiden sich hier primäre und sekundäre Krankheitsursachen. Ich halte die Cytomegalie für eine typische Viruserkrankung, die den einen Organismus befällt und ihn kaum oder gar nicht erkranken läßt und bei anderen zu foudroyanten Generalisationen führt, unter der der Organismus schwerstens erkrankt; eine Tatsache, welche sich auch bei anderen Viruserkrankungen beim Menschen aller Voraussicht nach findet (Poliomyelitis). Wie bei dem Virus der Poliomyelitis dürften auch hier Abortivformen, äußere Ursachen und schädliche Einwirkungen auf den Organismus, Vor- und Zweitkrankheiten eine Rolle spielen. Aber selbst bei der soviel studierten Poliomyelitis stehen wir noch vor einem in vielem ungeklärten Krankheitsbild.

Das sprunghafte Vorkommen der Cytomegalie, das Fehlen jeglichen Befundes zu gewissen Zeiten und in gewissen Gegenden lassen weiterhin auf ein Virus als Ursache dieser Zellveränderungen schließen.

Die Verbindung von Virus- und Bakterienwirkung ist beschrieben worden. Bei der Schweineinfluenza verursacht der „Haemophilic influenzae suis“-Bacillus allein keine Influenza, wenn nicht ein filtrierbares Virus hinzutritt<sup>76</sup>. Auch kann eine Zelle verschiedene Virusinfektionen in sich tragen<sup>78</sup>. So könnte z. B. ein gemeinsames Wirken des Bacillus Bordet-Gengou und des Virus der Cytomegalie vorliegen.

COWDRY und SCOTT vermuten, daß alle Speicheldrüsenvira blande Infektionen hervorrufen und stellen folgende interessante Tabelle auf:

Tabelle 5.

Speicheldrüsenvirus	Pathogenetische Vira
1. Keine erkennbaren Symptome	1. Schwere Symptome
2. Ansteckend für Kinder	2. Befällt ältere Individuen
3. Beachtliche celluläre Hypertrophie	3. Keine oder wenig Hypertrophie
4. Größere Einschlüsse	4. Kleinere Einschlüsse
5. Basophile Zelleinschlüsse in Begleitung	5. Keine basophilen Zelleinschlüsse
6. Zellen mit Einschlüssen bestehen über Monate	6. Zellen mit Einschlüssen werden schnell beseitigt
7. Aktive Vira bleiben latent, solange Einschlüsse bestehen	7. Verschwinden bald oder verlieren Infektiosität. Übertragung muß schnell vorgenommen werden, wenn sie erfolgreich sein soll
8. Nur auf gleiche Art übertragbar	8. Kann in vielen Fällen auf einen weiten Kreis von Tierarten übertragen werden
9. Übertragung nur auf junge Individuen (unter 1 Monat), solange sie nicht spontaninfiziert worden sind	9. Erwachsene — wenn nicht früher infiziert — empfänglich für Übertragung
10. Vorkommen hoch, oftmals 100%	10. Vorkommen vergleichsweise seltener

Nach Durchsicht der in der Literatur beschriebenen Fälle, die fast alle mit schweren Infektionserscheinungen gekoppelt sind, und dem einen von mir beobachteten Fall (703/45), in dem es förmlich zu einer Überschwemmung des Körpers mit cytomegalen Zellen gekommen ist, glaube ich, daß dieser Virusinfekt für den kindlichen Organismus folgenschwer, ja sogar letal sein kann.

Die Statistik ergibt keine Anhaltspunkte für ein gleichgesichtiges Krankheitsbild; die Klinik kennt diese Zellen nicht; viele Untersucher sprechen diesem fraglichen Virus in Analogie zu den Tierbefunden jede Pathogenität ab; die biologischen Methoden des Nachweises der Virusnatur sind bisher gescheitert. Aus diesen Gründen bleibt vorerst bei dem Versagen dieser Wege zur Klärung der Ursache der Cytomegalie nur der Weg über die Morphologie offen.

Wir wissen heute, daß die bei vielen Viruskrankheiten beobachteten intra- und extranucleären Zelleinschlüsse nicht noch wandelbare Formen darstellen, sondern daß aller Wahrscheinlichkeit nach ein Einschlußkörper stets ein Einschlußkörper und eine „Kolonie solcher Einschlußkörper“ stets eine Kolonie von diesen bleibt<sup>26</sup>. HAAGEN stellt fest: „Bei den Einschlußkörpern handelt es sich vielmehr um Reaktionsprodukte der Zelle, die diese auf den Reiz des Virus vielleicht als Abwehrvorgang und zur Erhaltung ihrer Existenz bildet!“ Er

meint, daß „Einschlußkörper“ ein schlecht gewähltes Wort sei, es sollte besser von „Zellveränderungen“ gesprochen werden.

Bislang stand nun auch noch der Beweis offen, ob sich der Einschlußkörper des Kernes aus multiplen, dichtgepackten, kleineren Einschlußkörperchen zusammensetzt.

Mit dem Nachweis der zusammengesetzten granulären Struktur des Einschlußkörpers sehe ich einen weiteren Beweis für die Virusnatur der Cytomegalie erbracht.

Es war fernerhin die Frage der Entwicklungsstadien zu klären. Ich konnte solche ebenfalls nachweisen und damit eine weitere Lücke im Analogieschluß gegenüber den Zellveränderungen sicher bewiesener Virusnatur schließen.

Bei der Quelltechnik stützte ich mich weitgehend auf die Arbeit von WOODRUFF und GOODPASTURE über die Zelleinschlüsse bei Geflügelpocken. Dabei möchte ich die Frage unentschieden lassen, ob es die Wirkung der Oberflächenspannung des Films des verdunstenden Wassers oder eine einfache Zersprengung von Zelle und Kern durch die Quellung in dem hypotonischen Aqua dest. ist.

Die Frage, ob die virustragenden Zellen leben oder bereits abgestorben sind, ob es sich um progressive oder regressive Veränderungen handelt, ob die Einschlußkörper Vira enthalten oder nicht, soll hier nicht besprochen werden. Die sehr breit angelegten Untersuchungen der Amerikaner haben durch Ultrazentrifugation dieser Zellen bei verschiedenen Tier- und Virusarten bewiesen, daß in den Einschlußkörpern des Kernes Produkte aus Kernmaterial vorliegen. Die Herkunft der protoplasmatischen Einschlußkörper ist dagegen noch völlig ungeklärt; es kann sich um Bildungen aus dem Cytoplasma an Ort und Stelle oder auch um ausgestoßene Chromatinsubstanzen handeln. Ihre Reaktion nach FEULGEN ist positiv.

Leider ist mir bisher der Nachweis cytomegaler Zellen in der Mundhöhle nicht gelungen. Die Chance, eine ausgeschwemmte Zelle dieser Art auf den Ausstrich zu bekommen, ist der Wahrscheinlichkeit nach sehr gering, denn die Kernveränderungen bestehen vielleicht nur kurze Zeit oder entwickeln sich erst längere Zeit nach einer krankhaften Reaktion des Körpers auf das Virus. Für weitere Untersuchungen wäre es nur möglich, über einen lebenden Virusträger zu geeignetem Material zu gelangen. Die Aussicht, an den Charakter dieser seltsamen Cytomegalie und deren Krankheitsbild beim Menschen mit Erfolg heranzukommen, besteht nur, wenn die Suche auf breiterer Basis durchgeführt wird, als es einem einzigen Untersucher möglich ist. Daher sollte die Klinik sich dieses Problems annehmen. Es ergeben sich für sie, aus vorstehenden Ausführungen begründet, folgende Aufgaben:

1. Durchsicht von Abstrichen von der Papilla salivaria buccalis et sublingualis als systematische Serienuntersuchung (nach der von mir angeführten modifizierten Hämatoxylin-Eosin-Methode gefärbt). Eine Zusammenarbeit mit dem pathologischen Anatomen um festzustellen, ob dieses Virus in der betreffenden Gegend oder Zeit überhaupt vorkommt. Entsprechend dem sprunghaften Auftreten der Viruserkrankungen sollte diese Frage als erste geklärt werden.

2. Sputumuntersuchungen besonders bei Keuchhustenkindern. (Abstrich, eventuell Uhrglas-Quellmethode.)

3. Durchsicht von Abstrichen bei Kindern mit schweren Infektionen und Intoxikationen ungeklärter Art.

Durch die von mir angegebene Technik glaube ich den Weg für erfolgreiche weitere Untersuchungen geebnet zu haben. Sie sind ohne kostspielige Apparatur durchzuführen. Die Arbeit ist mühselig, aber es lockt die Aufdeckung des Verlaufs einer völlig unerforschten Viruserkrankung.

#### *Zusammenfassung.*

Es werden 5 Fälle von Cytomegalia infantum (früherer Name: „protozoenähnliche Zellen“ bei Kindern) beschrieben.

Die Natur dieser Zellveränderungen ist bisher ungeklärt. In Analogie zu dem Vorkommen ähnlicher Zellen mit Kerneinschlüssen bei anderen Tierarten, deren Virusnatur durch Übertragungsversuche bewiesen ist, wird auch beim Menschen von neueren Untersuchern das Wirken eines Virus (Speicheldrüsenvirus) vermutet. Nach meinen Erhebungen handelt es sich um ein typisches Viruskrankheitsbild von unterschiedlicher Pathogenität.

Ich glaube, den Beweis der Virusnatur durch folgende neue Befunde erbracht zu haben:

1. Der Einschlußkörper des Zellkernes setzt sich aus multiplen, dichtgepackten Elementarkörperchen zusammen.

2. Im Cytoplasma befinden sich ebenfalls Elementarkörperchen gleicher Größenordnung.

Die Quellmethode durch Zersprengen der Zelle und des Kernes ermöglicht obige Befunde und zeigt Entwicklungsstadien, die sich bisher dem Nachweis entzogen hatten.

Es wurde weiter versucht, durch den Nachweis der Cytomegalie am Lebenden näher an das noch völlig unbekannte Krankheitsbild heranzukommen. Die Untersuchungen waren nicht erfolgreich.

Da die morphologischen und biologischen Untersuchungen vorerst nicht weiter zur Klärung führen werden, sollte sich die Klinik des Fragenkomplexes durch die Suche nach lebenden Virusträgern annehmen. Die hierzu notwendige Untersuchungstechnik, die Methodik und die Folgerungen werden besprochen.

## Literatur.

- <sup>1</sup> ANDREWES: Brit. J. exper. Path. 1930, 11, 23. — <sup>2</sup> ASCHOFF: Path. Anat. 2, 500 (1921). — <sup>3</sup> BLACK: Phytopathology (1939) 24, 321. Zit. nach Stud. Inst. med. Res. 112, 571 (1939). — <sup>4</sup> BURNET u. ANDREWES: Zbl. Bakter. usw. Orig. 130, 161 (1933). — <sup>5</sup> COLE and KUTTNER: J. exper. Med. (Am.) 44, 855 (1926). — <sup>6</sup> CORDOCK: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) 29, 1288 (1931). — <sup>7</sup> CORDOCK and SMITH: Amer. J. Dis. Childr. 47, 771 (1934). — <sup>8</sup> COVELL: Amer. J. Path. 8, 151 (1932). — <sup>9</sup> COVELL and DANKS: Amer. J. Path. 8, 557 (1932). — <sup>10</sup> COWDRY: Science (N.Y.) 68, 40 (1928). — <sup>11</sup> COWDRY, LUCAS and FOX: Amer. J. Path. 11, 237 (1935). — <sup>12</sup> COWDRY and SCOTT: Amer. J. Path. 11, 647 (1935). — <sup>13</sup> COWDRY and SCOTT: Amer. J. Path. 11, 659 (1935). — <sup>14</sup> DOERR: Handbuch der Virusforschung, Erg.-Bd. 1, S. 102. 1944. — <sup>15</sup> DURAN-REYNALS: J. exper. Med. (Am.) 50, 327 (1929). — <sup>16</sup> FARBER: Amer. J. Path. 7, 557 (1931). — <sup>17</sup> FARBER and WOLBACH: Amer. J. Path. 8, 123 (1932). — <sup>18</sup> FEYRTER: Frankf. Z. Path. 25, 246 (1927). — <sup>19</sup> FINDLAY and LUDFORD: Brit. J. exper. Path. 7, 223 (1926). — <sup>20</sup> FUST: Handbuch der Virusforschung Erg.-Bd. 1, S. 190, 203, 255. — <sup>21</sup> GLAHN v. and PAPPENHEIMER: Amer. J. Path. 1, 445 (1925). — <sup>22</sup> GILMOUR: Lancet 1937, 232, 373. — <sup>23</sup> GOODPASTURE and TALBOT: Amer. J. Dis. Childr. 21, 415 (1921). — <sup>24</sup> GOODPASTURE and WOODRUFF: Amer. J. Path. 6, 699 (1930); 7, 1 (1931). — <sup>25</sup> GORDON and OXON: Lancet 1913, 275. — <sup>26</sup> HAAGEN: Arch. Zellforsch. 12, 465 (1932). — Zbl. Bakter. usw. Ref. 125, 489 (1937). — <sup>27</sup> HAAS: Amer. J. Path. 11, 127 (1935). — <sup>28</sup> HENKE-LUBARSCH: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. VI/1, Niere S. 513. — <sup>29</sup> HODES: J. exper. Med. (Am.) 69, 533 (1939). — <sup>30</sup> HUDSON and MARKHAM: J. exper. Med. (Am.) 55, 405 (1932). — <sup>31</sup> JACKSON: J. infect. Dis. (Am.) 26, 347 (1920). Zit. nach Zbl. Bakter. usw. Ref. 73, 465 (1922). — <sup>32</sup> JESIONEK u. KIOLEMENOGLOU: Münch. med. Wschr. 1904, 1905. — <sup>33</sup> KLIGLER, MUCKENFUSS and RIVERS: J. exper. Med. (Am.) 49, 649 (1929). Zit. nach Stud. Rockefeller Inst. med. Res. — 70, 581 (1930). — <sup>34</sup> KUTTNER: J. exper. Med. (Am.) 46, 935 (1927). — <sup>35</sup> KUTTNER and T'ANG: J. exper. Med. (Am.) 62, 805 (1935). — <sup>36</sup> KUTTNER and WANG: J. exper. Med. (Am.) 60, 773 (1934). — <sup>37</sup> DE LANGE: Virchows Arch. 237, 277 (1922). — <sup>38</sup> LAUDA: Zbl. Bakter. usw. Orig. 91, 159 (1924). — <sup>39</sup> LENARD: Deutsche Physik, Optik, Bd. 3, S. 52/53. 1937. — <sup>40</sup> LIPSCHÜTZ: (1) Arch. Derm. 136, 428 (1921). — (2) Wien. med. Wschr. 1914, 851, 1127. — (3) Zbl. Bakter. usw. Orig. 87, 703 (1922). — <sup>41</sup> LONG and OLITZKY: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) 27, 380 (1930). Zit. nach Stud. Rockefeller Inst. med. Res. 74, 11 (1931). — <sup>42</sup> LÖWENSTEIN: Zbl. Path. 18, 513 (1907). — <sup>43</sup> LUCAS: Amer. J. Path. 12, 933 (1936). — <sup>44</sup> LUCAS: Amer. J. Path. 16, 739 (1940). — <sup>45</sup> LUCAS and HEREMANN: Amer. J. Path. 11, 969 (1935). — <sup>46</sup> LUGAR u. LAUDA: Med. Klin. 22, 415 (1926). — Erg. inn. Med. 30, 377 (1926). — <sup>47</sup> MAITLAND: Lancet 1928, 215, 596. — <sup>48</sup> MAITLAND and LAING: Brit. J. exper. Path. 11, 119 (1930). — <sup>49</sup> MARKHAM: Amer. J. Path. 12, 773 (1936). — <sup>50</sup> MARKHAM: Amer. J. Path. 14, 311 (1938). — <sup>51</sup> MARKHAM and HUDSON: Amer. J. Path. 12, 175 (1936). — <sup>52</sup> MOROSOW: Zbl. Bakter. usw. Orig. 100, 385 (1926). — <sup>53</sup> MÜLLER: Virchows Arch. 238, 481 (1922). — <sup>54</sup> NELSON: J. exper. Med. 68, 401 (1930). — <sup>55</sup> NICOLAU et KOPCOWSKA: Ann. Inst. Pasteur, Par. 60, 401 (1938). — <sup>56</sup> NICOLAU, KOPCOWSKA et MATHIS: Ann. Inst. Pasteur, Par. 53, 455 (1934). — <sup>57</sup> NONIDEZ: Anat. Anz. 84, 315. — <sup>58</sup> OLITZKY and HARFORD: Amer. J. Path. 13, 729 (1937). — <sup>59</sup> OLITZKY and HARFORD: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) 38, 92 (1938). Zit. nach Stud. Rockefeller Inst. med. Res. 81, 107 (1935). — <sup>60</sup> OLITZKY and HARFORD: J. exper. Med. (Am.) 68, 173 (1938). — <sup>61</sup> OLITZKY, RHOADS and LONG: J. exper. Med. (Am.) 50, 273 (1929). — <sup>62</sup> PAPPENHEIMER and MÄCHLING: Amer.



- J. Path. **10**, 577 (1934). — <sup>63</sup> PASCHEN: Handbuch pathogener Path. Mikroorganismen, Bd. 8, Teil 2, S. 821. 1930. — <sup>64</sup> PEARSON: Amer. J. Path. **6**, 261 (1930). — <sup>65</sup> PETTAVEL: Virchows Arch. **206**, 1 (1911). — <sup>66</sup> PICKELS and SMADEL: J. exper. Med. (Am.) **68**, 583 (1938). — <sup>67</sup> PUTSCHAR: Z. Kinderhk. **48**, 269 (1929). — <sup>68</sup> RECTOR and RECTOR: Amer. J. Path. **10**, 629 (1934). — <sup>69</sup> RHOADS: Stud. Rockefeller Inst. Med. Res. **70**, 85 (1930). — <sup>70</sup> RIBBERT: Bericht in der Niederrhein. Ges. Nat.- u. Heilk. 1881. — Zit. nach DE LANGE. — <sup>71</sup> RIBBERT: Zbl. Path. **15**, 945 (1904). — <sup>72</sup> RIVERS and TILLET: J. exper. Med. (Am.) **40**, 281 (1924). — <sup>73</sup> ROSENBUSCH and LUCAS: Amer. J. Path. **15**, 303 (1939). — <sup>74</sup> SCOTT: Amer. J. Path. **49**, 229 (1929). — <sup>75</sup> SCOTT and PRUETT: Amer. J. Path. **6**, 53 (1930). — <sup>76</sup> SHOPE: J. exper. Med. (Am.) **54**, 373 (1931). — <sup>77</sup> SMITH and WEIDMAN: (1) Univ. Penn. Med. Bull. **23**, 285 (1914). — (2) Amer. J. trop. Dis. a. Pres. Med. **2**, 256. Zit. nach FINDLAY u. LUDFORD. — <sup>78</sup> SYVERTON and BERRY: Amer. J. Path. **14**, 633 (1938). — <sup>79</sup> SUNDER-PLESSMANN: (1) Basedow-Studien. Berlin: Springer 1941. — (2) Nervensystem und Schilddrüse und andere Veröffentlichungen in Deutsche Chirurgie. — <sup>80</sup> THOMPSON: J. infect. Dis. (Am.) **50**, 162 (1932). — <sup>81</sup> THOMPSON: Amer. J. Path. **10**, 676 (1934). — <sup>82</sup> TRAUB: J. exper. Med. (Am.) **68**, 229 (1938). Zit. nach Stud. Rockefeller Inst. med. Res. **109**, 545 (1938). — <sup>83</sup> TYZZER: Philippine J. Sci. **1**, 4 (1906). Zit. nach GOODPASTURE u. TALBOT. — <sup>84</sup> VIDARI: Zbl. Path. **46**, 161 (1941). — <sup>85</sup> WAGNER: Beitr. path. Anat. **85**, 145 (1930). — <sup>86</sup> WALZ: Verh. dtsh. path. Ges., 21. Tgg, **1926**, 236. — <sup>87</sup> WILSON and DUBOIS: Amer. J. Dis. Childr. **26**, 431 (1923). — <sup>88</sup> WOODRUFF and GOODPASTURE: Amer. J. Path. **6**, 713 (1930). — <sup>89</sup> WOODRUFF and GOODPASTURE: Amer. J. Path. **7**, 209 (1931). — <sup>90</sup> WOOLFERT: Zit. nach MARKHAM u. HUDSON. Amer. J. Path. **12**, 175 (1936). — <sup>91</sup> HAMPERL: Virchows Arch. **296**, 104 (1936).