

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)

Studien zur Ätiologie der Tollwut. (2. Mitteilung.)

Von

Dr. Josef Koch,
Abteilungsleiter.

(Hierzu Taf. XVI.)

Im Verein mit Dr. Rissling habe ich¹ kokkenartige Gebilde beschrieben, die sowohl in der grauen Substanz des Ammonshornes, der Großhirnrinde, als auch in den Ganglienzellen des Gehirns und des Rückenmarkes, sowie in den Gefäßen lyssakranker Tiere vorkommen.

Durch weitere Studien mit meinem Mitarbeiter von Krogh bin ich in der Lage, die bereits publizierten Tatsachen zu ergänzen und zu erweitern, wodurch ihre Nachprüfung erleichtert wird. Wir glaubten in diesen Studien fortfahren zu sollen, da auch bescheidene Befunde bei dem Dunkel, das noch immer über der Ätiologie der Tollwut lagert, verdienen veröffentlicht zu werden.

Nachdem wir in der Färbung nach Heidenhain eine Methode kennen gelernt hatten, mit der es gelingt, die feinen kokkenartigen Formen in den meisten Fällen zur Darstellung zu bringen, war unser Bestreben darauf gerichtet, eine Färbung ausfindig zu machen, sie auch mit einer der gewöhnlichen Bakterienfarben sichtbar zu machen. In einer Reihe von Fällen war mir dies zwar schon sowohl mit der Eosin-Methylenblaufärbung nach Lentz, als auch mit dünner Karbolfuchsinlösung, besonders

¹ *Diese Zeitschrift.* 1910. Bd. LXV. S. 85.

an Schnitten durch Lenden- und Halsmark möglich gewesen. Aber die Resultate waren inkonstant und wenig befriedigend, da nur ein Teil der Formen die Farbe nach der Differenzierung, die bei Rückenmarks- und Gehirnschnitten nicht zu umgehen ist, festhielten.

Inzwischen hat von Krogh eine neue Methode gefunden, die in der Mehrzahl der Fälle bei frischem und in konzentriertem Sublimat-Alkohol gehärtetem Material befriedigende Resultate liefert. Sie besteht darin, daß Schnitte und Ausstriche — am besten eignen sich Schnitte für diese Färbung — mit polychromem Methylenblau gefärbt, nach der Färbung in 2 prozent. Chromsäure gebeizt und zuletzt in 5 prozent. Gerbsäure differenziert werden. Im einzelnen empfiehlt von Krogh folgendes Verfahren:

Die auf dem Objektträger aufgeklebten und vom Paraffin befreiten Schnitte kommen zunächst für 5 Minuten in polychromes Methylenblau. Nach kurzem Abspülen werden sie in 2 prozent. Chromsäurelösung gebeizt, wo sie etwa 2 bis 5 Minuten, event. noch länger, verweilen. Dann werden sie wieder kurz abgespült und in 5 prozent. Gerbsäure differenziert. Nochmaliges gründliches Abspülen. Dann Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Von Krogh benutzt das von Grübler bezogene polychrome Methylenblau, das bis jetzt gleichmäßige Resultate geliefert hat. Dagegen wechseln die verschiedenen Präparate von Gerbsäure erheblich in ihrer differenzierenden Kraft. Deswegen muß die Chromierung der Schnitte für die verschiedenen Präparate von Gerbsäure verschieden bemessen werden. Als Haltepunkt mag dienen, daß die fertigen Schnitte transparent erscheinen sollen, die graue Substanz grünlich blau, die weiße rötlich violett. Werden die Präparate blaßgrün, sind sie zu kurz chromiert; wollen sie dagegen nicht im Laufe einer $\frac{1}{4}$ Stunde den Farbstoff abgeben und bleiben dunkelblau, selbst nach längerem Verweilen in der Gerbsäure, so hat die Chromsäure zu lange eingewirkt.

Abgesehen von der Tatsache, daß die kokkenartigen Gebilde sich nicht nur nach Heidenhain, sondern auch mit Methylenblau, also einer Bakterienfarbe darstellen lassen, ist die Färbung nach von Krogh auch insofern ein Fortschritt, da man mit ihr dem Einwand begegnen kann, als seien die feinen kokkenartigen Formen zerfallene Chromatinmassen oder Kerne der Ganglienzellen, deren Fragmente sich nach Heidenhain bekanntlich in gleicher Weise schwarz färben und dadurch sehr leicht zu Verwechslungen Anlaß geben können.

Um den Beweis zu liefern, daß das, was an kokkenartigen Gebilden sich nach Heidenhain schwarz färbt, auch mit der Methode nach von Krogh darstellbar ist, haben wir Schnitte, die zahlreiche extra- und intrazelluläre Formen enthielten, abwechselnd nach beiden Verfahren gefärbt und die Präparate genau miteinander verglichen. Wir konnten

an einem großen Material eine vollkommene Übereinstimmung konstatieren (vgl. Taf. XVI, Zeichn. Nr. 1 und 2 mit Zeichn. Nr. 4).

Mit polychromem Methylenblau gefärbt, erscheinen die kokkenähnlichen Gebilde als rötlich violette bis tiefblau tingierte Gebilde. Sie färben sich genau, wie es Negri bei den Innenformationen seiner Körperchen beschrieben und abgebildet hat¹, metachromatisch, d. h. zwischen rot und blau gefärbten Formen kommen alle Übergänge vor; in der Mehrzahl der Fälle heben sie sich durch ihren rot violetten Farbenton scharf und deutlich vom grünblauen Untergrund des übrigen Gewebes ab; dadurch wird ihre Erkennung und Unterscheidung in den Gewebsschichten wesentlich erleichtert.

Auch bei der Färbung mit polychromem Methylenblau kann man dieselben Einzelheiten an den extrazellulär gelegenen Formen wahrnehmen, wie bei der mit Eisenhämatoxylin. Die eigentliche Form, gewissermaßen der Grundtypus ist die runde kugelförmige Gestalt. Auch hierin besteht eine vollkommene Übereinstimmung mit den von Negri abgebildeten „Sporen“ seiner Körperchen. Was besonders hervorgehoben zu werden verdient, ist die verschiedenartige Größe der Einzelformen, die innerhalb weiter Grenzen schwanken kann. Auch bei der Färbung mit Methylenblau sieht man Diploformen, zuweilen von einem hellen Saum umgeben, öfter liegen eine Anzahl winziger Kügelchen, 3 bis 5 an der Zahl hintereinander, das Bild einer kleinen Kette gebend oder stäbchenförmige Bildungen vortäuschend. Neben den ausgesprochen runden Formen findet man größere Kügelchen, die etwas eckig erscheinen und sich bei der Betrachtung mit starken Okularen aus 2 bis 4 Kügelchen zusammengesetzt erweisen. Verhältnismäßig häufig zeigen die größten Formen Teilungslinien. Eine weitere Eigentümlichkeit dieser Gebilde ist die Neigung, zusammenzubacken, zu verklumpen.

Was das Vorkommen in der Großhirnrinde anbelangt, so hatten Rissling und ich in der ersten Publikation konstatiert, daß die hier oft in großer Anzahl herdweise vorkommenden Gebilde mit den im Ammonshorn nachweisbaren Formen die größte Ähnlichkeit aufwiesen. Da sie aber in der Großhirnrinde im allgemeinen kleiner sind, sich mit Eisenhämatoxylin gewöhnlich schwarz färben, so daß Einzelheiten an dem Einzelindividuum nicht zu erkennen sind, so hatten wir die Frage der Identität, die ja von vornherein sehr wahrscheinlich war, offen gelassen. Die weiteren Untersuchungen der Großhirnrinde sowie der Zentralganglien (Nucleus caudatus) von Hunden, die teils einer experimentellen (Hund 34,

¹ Vgl. Negris Abbildungen, *Diese Zeitschrift*. Bd. LXIII; ebenso die von Luigi d'Amato u. Vincenzo Faggella. *Ebenda*. Bd. XLV.

44, 45, 47, 49, 50, 52, 53 usw.), teils einer natürlichen Straßenwut erlegen waren, haben ergeben, daß es dieselben kokkenartigen Gebilde sind, mögen sie nun in der grauen Substanz des Ammonshornes, der Großhirnrinde oder der Zentralganglien (vgl. Taf. XVI, Zeichn. Nr. 6) vorkommen. Durch ihre differente Farbe heben sich die Gebilde meist deutlich von dem übrigen anders gefärbten Gewebe ab. Nur in der oberflächlichsten Schicht der Großhirnrinde, der sogenannten Molekularschicht, die auf senkrechten Durchschnitten sehr fein punktiert oder retikuliert erscheint, macht ihre Unterscheidung von den normalen Gewebsteilen die größten Schwierigkeiten.

Geeignet erwies sich die Methylenblaufärbung auch zur Darstellung der in den Ganglienzellen des Gehirns und des Rückenmarks von uns beschriebenen endozellulären Formen, die wir kurz mit dem nichts präjudizierenden Namen „der Einschlüsse“ in der ersten Arbeit bezeichnet haben. Bei der Heidenhainfärbung machte sich der Umstand ganz besonders störend bemerkbar, daß auch noch andere in den Ganglienzellen vorkommende Gebilde, vor allem das schon normalerweise hier anzutreffende Pigment, das Lipochrom, sowie die zerfallenen Chromatinreste der Nisslschen Körperchen sich ebenfalls schwarz färbten, wodurch eine Erkennung der anscheinend parasitären Gebilde außerordentlich erschwert bzw. unmöglich wurde. Bei der Methylenblaufärbung sind die Einschlüsse durch ihre differente Farbe vom übrigen Zellinhalt in vielen Fällen gut zu unterscheiden. Die von Rissling und mir in der ersten Arbeit als anscheinend parasitäre Gebilde genauer charakterisierten intrazellulären Formen färben sich genau wie die extrazellulär vorkommenden metachromatisch; der umgebende helle Hof tritt, wenn er vorhanden, bei dieser Färbung noch deutlicher hervor; in einzelnen Fällen (Hund 17, Kuh 152, vgl. Taf. XVI, Zeichn. Nr. 5) überwogen die runden punktförmigen Formen (die sich bei diesen Fällen auch frei in der grauen Substanz des Lenden- und Halsmarkes in großer Anzahl fanden), in anderen (Hund 16, Knabe Z. aus Thorn, Pferd 9) sieht man Diploformen, die entweder diffus das Protoplasma der Ganglienzellen des Rückenmarks durchsetzen oder auch in kleinen Anhäufungen in den Zellen selbst lagern. Man trifft aber auch zuweilen neben sehr feinen Gebilden in den blau gefärbten Ganglienzellen des Rückenmarks unregelmäßige rötlich gefärbte Körperchen. Sie entstehen offenbar dann, wenn mehrere kleine Kügelchen zusammen verbacken, sie machen dann den Eindruck kleiner Negrischer Körperchen, sind jedoch mit der Eosin-Methylenblau-Methode nicht färbbar.

Auch die in den Gefäßen des Gehirns und Rückenmarks mit der Heidenhainfärbung nachgewiesenen kokkenartigen Gebilde lassen sich

mit der Methylenblaufärbung darstellen. Allerdings ist die Beurteilung der in den Gefäßen vorkommenden Bildung schwierig, da im Inhalt pathologisch veränderter Gefäße Granula verschiedener Art vorkommen können. Während wir in den Frühstadien der Krankheit bei den Hunden 23, 24, 25 einzelne erweiterte Gefäße des Lenden- und Halsmarkes von einer großen Zahl feiner Gebilde von runder und Diploform erfüllt sahen (— auch bei den Hunden 26 und 27 glückte uns der Nachweis, nachdem wir in den ersten Schnitten nichts Pathologisches nachweisen konnten —), fanden wir in anderen Fällen neben diesen Formen kleinere oder größere verklumpte Massen, die bei der Färbung nach von Krogh ebenso wie die Negrischen Körperchen violettrot gefärbt erschienen. Die Entstehung und Deutung dieser unregelmäßigen homogenen Massen, die man auch zuweilen innerhalb des Zentralkanals des Rückenmarkes lyssakranker Tiere antrifft, ist nicht einfach. Während wir anfänglich geneigt waren, sie für zerfallene und verklumpte rote Blutkörperchen zu halten, haben wir bei genauerem Studium dieser Massen Bilder getroffen, wo ihre Entstehung aus einer Anzahl kokkenartiger Gebilde außer Zweifel stand (Hund 293, natürliche Straßenwut).

Die mit diesen Gebilden erfüllten Gefäße zeigen vielfach auch noch andere pathologische Veränderungen. Öfter ist nicht nur die Gefäßwandung defekt, rote Blutkörperchen mit den Gebilden in die Umgebung ausgetreten, sondern auch das der Wandung anliegende Gewebe nekrotisch. Sehr interessant waren z. B. die Befunde bei Hund 23, 24, 25, 26, 27. Hier zeigten die Rückenmarksquerschnitte isolierte Erweichungsherde, welche die nächste Umgebung einzelner Gefäße betrafen (z. B. Hund 23, Nekrosen in den Hinterhörnern), während das übrige Gewebe noch keine stärkeren Veränderungen aufwies. Wo die kokkenartigen Gebilde in dieser Anordnung anzutreffen sind, kann man sich des Eindruckes nicht erwehren, daß sie als parasitäre Gebilde Ursache der isolierten Nekrosen sind.

Wir haben versucht, die kokkenartigen Gebilde der Wutgehirne auch im Ausstrichpräparat zur Darstellung zu bringen. Es gelingt zuweilen, wenn man die sehr dünnen Ausstriche in Sublimat-Alkohol feucht fixiert und dann nach von Krogh färbt. Am besten eignet sich zu Ausstrichpräparaten das Gewebe des Ammonshornes, weil hier die Gebilde am konstantesten und zahlreichsten vertreten sind. Die Formen, die man in den Ausstrichpräparaten von den kokkenartigen Gebilden erhält, stimmen mit denen im Schnittpräparat überein. Man sieht kreisrunde und Diploformen. Es kommen auch kleine Verbände vor, in denen die Einzelindividuen zusammenhängen und sehr kleine runde mit größeren Kügelchen, welche die Größe der kleineren um ein mehrfaches überragen, abwechseln. Man könnte hier einwenden, daß diese Formen durch Zerquetschen der

Negrischen Körperchen entstanden sind. Ich halte dies dort, wo Negrische Körperchen in den Ganglienzellen vorhanden, nicht nur für möglich, sondern sogar für sehr wahrscheinlich. Es wäre dieser Umstand eben eine wertvolle Stütze für die von Negri und mir vertretene Behauptung, daß sich das ganze Körperchen aus kleinen kokkenartigen Gebilden zusammensetzt, die dann durch das rohe Zerquetschen frei werden. Dies kann aber doch wohl nur für die Fälle zutreffen, in denen die Körperchen vorhanden sind, wo sie aber fehlen, können es nur die frei in der grauen Substanz vorkommenden kokkenartigen Gebilde sein, die sich im Ausstrichpräparat vorfinden und färben.

Ein Umstand, der sich beim Nachweis der Gebilde im Ausstrichpräparat sehr störend bemerkbar macht, sei noch besonders hervorgehoben, nämlich der, daß ihre Färbbarkeit in den einzelnen Fällen eine sehr verschiedene sein kann. Die Färbung und Differenzierung kommt hier als Ursache wohl nicht in Betracht, da fast alle Präparate, die von einem Fall angefertigt werden, eine fast gleichmäßige gute Färbung zeigen, während die eines anderen Falles gleichmäßig schlecht ausfallen. Auch hier deckt sich das Verhalten des Ausstriches mit dem des Schnittpräparates.

Unsere Erfahrungen mit der neuen Färbemethode, das ganze morphologische und tinktorielle Verhalten im Ausstrich und im Schnittpräparat, die feinere Struktur der größten Formen, ihr Eindringen in die Ganglienzellen und differente Färbung innerhalb derselben mit polychromem Methylenblau, alle diese Momente sprechen dagegen, daß die von mir gefundenen extra- und intrazellulären kokkenartigen Formen als Degenerationsprodukte des Gewebes und der Zellen zu deuten sind. Die angeführten Momente sprechen vielmehr für die von Rissling und mir ausgesprochene Vermutung, daß es sich hier um parasitäre Bildungen handeln dürfte.

Die Frage, ob die kokkenartigen Gebilde nur bei der Tollwut vorkommen, also für diese Erkrankung spezifisch sind, hat uns aus naheliegenden Gründen sehr eingehend beschäftigt. Der Nachweis ist aber aus Mangel einer absolut zuverlässigen Färbemethode, welche die oft sehr kleinen Formen in den verschiedenen Bezirken des Gehirns in jedem Fall deutlich gegenüber dem übrigen Gewebe zur Darstellung bringt, nicht leicht zu führen. Bisher haben wir sie jedoch in keinem Falle gefunden, bei dem Tollwut mit Sicherheit auszuschließen war. Die positiven Resultate unserer weiteren Untersuchung geben wir in folgender Übersicht: Die kokkenartigen Gebilde konnten nachgewiesen werden:

1. bei zwei Kindern von 4 bzw. $4\frac{1}{2}$ Jahren. In dem einen Fall (Knabe Z. aus Thorn) wurde sowohl das Rückenmark als auch das Ammonshorn untersucht. Während letzteres neben Negrischen Körperchen die extrazellulären kokkenartigen Gebilde aufwies, fanden sich in den Ganglienzellen des Lendenmarkes die feinen punktförmigen, zuweilen in Diploform mit Hofbildung versehenen Einschlüsse neben kokkenartigen Gebilden.

Bei dem zweiten Fall (Knabe K. $4\frac{1}{2}$ Jahre), der unter dem Bilde der stillen Wut zugrunde gegangen war, waren im Ammonshorn weder extra- noch intrazelluläre Formen noch auch Negrische Körperchen nachzuweisen; dagegen fanden sie sich in großer Zahl in der grauen Substanz der Stirnrinde. Die mit Gehirnteilen des Knaben geimpften Kaninchen und Ratten verendeten an typischer Wut.

2. Bei 11 Rindern, deren Gehirn dem Institut zur Untersuchung auf Tollwut eingeschickt wurden. Bei zwei Kühen (Fall 151, 152) fehlten Negrische Körperchen, dagegen waren in allen Fällen die extrazellulären Gebilde vorhanden. Sie zeichneten sich in einigen Fällen durch ihre Größe aus, die an die wirklicher Kokken heranreichte. Die Ganglienzellen der Medulla oblongata des Rindes 152 zeigten bei der Färbung nach von Krogh zahlreiche, sehr feine intra- und extrazelluläre, intensiv blau gefärbte Formen (vgl. Taf. XVI, Zeichn. Nr. 5).

3. Bei einem Pferd, das an Tollwut verendet war.¹ Die in den Ganglienzellen vorhandenen größeren kokkenartigen Gebilde färbten sich violettrot, die feinen punktförmigen mit Hofbildung versehenen, einfache und Diploformen blau.

4. Bei experimenteller Straßenwut des Hundes. Die Infektion erfolgte in allen Fällen gleichmäßig durch Injektion einer Gehirnemulsion von 2 bis 5 ^{cem} eines an natürlicher Straßenwut verendeten Hundes. Die Hunde Nr. 13, 14 (Gehirn in Acetonalkohol gehärtet), 21, 34, 36, 37, 44, 45, 47, 49, 50, 52, 53, 55, 59, 60, 61, 62, 63, bei denen das Ende der Erkrankung abgewartet wurde, und deren Gehirn in den meisten Fällen unmittelbar nach dem Tode in die Fixierungsflüssigkeit kam, wiesen sämtlich bei Färbung nach von Krogh in der grauen Substanz des Ammonshornes die kokkenartigen Gebilde auf. In einzelnen Fällen zeigte sich die Methylenblaufärbung der Heidenhain-Methode überlegen; fast in allen Fällen dieses frischen Materials waren die Gebilde durch ihre gute Färbung vom intensiven Blau bis zum violetten Rot vom übrigen Gewebe gut zu

¹ Vgl. Mikrophotographie Nr. 3 und s. S. 98 Anm. 1 der ersten Arbeit Josef Koch u. Paul Rissling, Studien zur Ätiologie der Tollwut. *Diese Zeitschrift*. 1910. Bd. LXV.

unterscheiden. Hübsche Bilder kamen in den Fällen Nr. 45, 59, 60, 61, 62 zustande, wo die rotviolett gefärbten Gebilde das zart blau gefärbte Protoplasma der Ganglienzellen in großer Menge durchsetzten. Die Heidenhainfärbung leistete in einzelnen Fällen vorzügliches (Hund Nr. 21, 45, 60, 61, 62), in anderen Fällen versagte sie jedoch, indem die gleichgefärbten zerfallenen Chromatinmassen der Zellen und Achsenzyylinder außerordentlich störten und so leicht zu Irrtümern bei der Beurteilung der Befunde Anlaß gaben.

5. Bei natürlicher Straßenwut des Hundes. Wir haben eine große Zahl (ca. 80) der Gehirne, die dem Institut zur Diagnosenstellung auf Tollwut zugehen, systematisch auf das Vorhandensein der kokkenartigen Gebilde untersucht und haben sie auch in den meisten Fällen gefunden.

An dieser Stelle möchte ich noch auf eine bemerkenswerte Tatsache hinweisen, die sich im Verlauf der experimentellen Infektion meiner Versuchshunde mit Straßenwut ergeben hat. Fast alle intramuskulär infizierten Tiere, 20 an der Zahl, gingen bis auf eines unter dem Bilde der stillen Wut zugrunde. Die Negrischen Körperchen fehlten bei 15 Hunden, 4 mal waren sie außerordentlich spärlich vorhanden und nur in einem Falle (Hund Nr. 14), der sich während der Erkrankung geradezu wie rasend gebärdete, bot das Schnittpräparat des Ammonshornes mit zahlreichen Negrischen Körperchen dasjenige Bild, wie wir es bei der natürlichen Straßenwut zu sehen gewohnt sind. Die extrazellulären kokkenförmigen Gebilde waren aber in jedem Fall vorhanden, in einer Reihe von Fällen zum Teil auch in großer Anzahl innerhalb des Protoplasmas der Ganglienzellen des Ammonshornes.

Der gänzliche Mangel bzw. die spärliche Bildung der Negrischen Körperchen bei der experimentellen stillen Wut der Hunde hängt nach meiner Ansicht damit zusammen, daß die Art der Infektion hier eine andere ist, als bei der natürlichen Infektion durch den Biß eines kranken Hundes. Bei der intramuskulären Infektion ist die Menge des infizierenden Materials wesentlich größer, die Virulenz des Erregers durch die vorausgegangene Passage in den meisten Fällen eine gesteigerte. Der Erreger ist daher imstande, sofort in großer Anzahl die graue Substanz und die in ihr gelegenen Ganglienzellen zu überfallen. Die auf diese Weise infizierten Ganglienzellen sind nicht mehr imstande, das Negrische Körperchen, zu dessen Entwicklung eine gewisse Zeit erforderlich ist, zu bilden; eine Reaktion der Zellen, den Erreger durch eine hyaline Entartung des Zellprotoplasmas gewissermaßen einzukapseln, bleibt aus.

Der Fundort der kokkenartigen Gebilde ist die graue Substanz und die in ihr gelegenen Ganglienzellen des Gehirns und

Rückenmarks. Jedoch eignet sich zum Nachweis wegen des konstanten Vorkommens, der Größe der Formen, vor allem aber auch wegen seiner übersichtlichen histologischen Verhältnisse das Ammonshorn, derjenige Hirnteil, der ja auch für den Nachweis der Negrischen Körperchen in erster Linie in Frage kommt. Es finden sich aber die extrazellulären Gebilde nicht über das ganze Gewebe des Ammonshorns gleichmäßig verteilt, sondern auch hier gibt es wieder einen Prädilektionsort, und zwar ist es vor allem das dem Plexus choriodeus unmittelbar anliegende und der Fimbrie benachbarte Gewebe. Von hier aus dringen sie scheinbar gegen die an der Konvexität des Ammonshornes liegenden großen Ganglienzellen vor, die sie mit ihrer Umgebung durchsetzen (vgl. Taf. XVI, Zeichn. Nr. 1, 2, 4), so daß man dann intra- und extrazellulär gelegene Formen nebeneinander finden kann. Hier treten die Formen außerdem auf dem gleichmäßigen Untergrund, zumal wenn mit der Heidenhain-Methode eine Gegenfärbung mit Eosin verbunden wird, sehr scharf und deutlich hervor (vgl. Taf. XVI, Zeichn. Nr. 4).

Ein zweiter Fundort ist die graue Substanz des Nucleus caudatus; von Krogh, der auf meine Veranlassung diese Partie bei ca. 20 Hunden, die dem Institut zur Diagnose zugesandt waren, mit seiner Färbung systematisch untersucht hat, vermißte sie hier nur in vereinzelten Fällen, während sie im Ammonshorn dieser Fälle mit seiner Färbung öfter nicht zur Darstellung gebracht werden konnten. Ich möchte jedoch hier bemerken, daß dieses von auswärts eingehende Untersuchungsmaterial von natürlicher Straßenwut in einer Reihe von Fällen wegen mangelnder Konservierung zur Untersuchung weniger geeignet war, als unser sofort nach dem Tode des Tieres fixiertes Material von experimenteller Lyssa. Hier fanden sie sich fast ausnahmslos im Ammonshorn. Als weiterer Fundort kommt die graue Substanz der Großhirnrinde und die des Lenden- und Halsmarkes in Betracht.

Zum Nachweis der kokkenartigen Gebilde hat sich folgendes Verfahren uns am besten bewährt. In Fällen von experimenteller Tollwut wird Gehirn und Rückenmark sofort nach dem Verenden des Tieres herausgenommen und dann die in konzentrierter Sublimatlösung zu fixierenden Teile des Ammonshornes, des Nucleus caudatus, des Stirnhirnes, des Lenden- und Halsmarkes herauspräpariert. Zum Zweck guter Durchhärtung empfiehlt es sich, die einzelnen Teile in kleine Scheiben zu zerlegen und beim Ammonshorn mehrere Teile aus verschiedenen Gegenden einzulegen, da die Verteilung der Gebilde in diesem Hirnteil sehr wechseln kann. Parallelfärbungen desselben Materials nach Heidenhain und von Krogh sind dringend anzuraten, da wir in zahlreichen Fällen die Er-

fahrung gemacht haben, daß die Gebilde mit polychromem Methylenblau gut dargestellt werden konnten, während sie mit Eisenhämatoxylin, zumal wenn sie sehr klein und in großer Menge vorhanden sind, sich wenig von dem übrigen, gleichmäßig dunklen Grunde, besonders den zerfallenen Chromatinmassen abheben. Diesem Übelstande kann jedoch durch die Kontrastfärbung mit Eosin (Eosin extra B Höchst 0.5, 60 prozentiger Äthyl-Alkohol 100.0) einigermaßen begegnet werden. Der Grad der Differenzierung wird am besten unter dem Mikroskop kontrolliert. Die Durchmusterung geschieht mit starken Okularen (Komp. Oc. 4, 8, 12) bei künstlicher Beleuchtung. Sämtliche Zeichnungen sind mit Zeiss, Apochrom. (Komp. Oc. 8) bei künstlichem Licht gezeichnet worden.

Zum Schluß noch einige Worte über die Beziehungen der extrazellulären Formen zu den Negrischen Körperchen. Bereits in der ersten Mitteilung haben Rissling und ich uns über die Natur des Körperchens dahin geäußert, daß wir es weder als ein spezifisches Produkt einer Zellentartung deuten, noch für ein Protozoen, dem Calkins den Namen *Neuroryctes hydrophobiae* gegeben hat, halten können. Die Befunde, die Negri in seiner letzten Arbeit über die feinere Struktur mitgeteilt und durch eine große Anzahl instruktiver Abbildungen erläutert hat, erkennen wir bis auf die wohl allzu schematisch gehaltene Darstellung der hellen Höfe als richtig an. Auch wir konnten bei langer fortgesetzter Differenzierung der Negrischen Körperchen den Nachweis führen, daß das Körperchen in den meisten Fällen aus feinsten kokkenartigen Gebilden zusammengesetzt ist, die dann untereinander verklumpen, bei der Heidenhain-Methode gleichmäßig schwarz und bei der Färbung nach von Krogh blau bis rotviolett erscheinen. Durch eine hyaline Entartung des umgebenden Zellprotoplasmas wird das Körperchen dann gewissermaßen eingekapselt und sequestriert. Die extrazellulären in der grauen Substanz und in den Ganglienzellen vorkommenden kokkenähnlichen Gebilde halten wir auf Grund unserer Untersuchungen mit den Innenformationen des Körperchens, die Negri als Sporen deutet, für identisch. Daß diese oft in ungeheurer Anzahl in der grauen Substanz und in den Zellen von uns nachgewiesenen feinen Gebilde nicht durch einen Zerfall des Negrischen Körperchen frei geworden sein können, bedarf wohl keiner weiteren Ausführung.

Der Nachweis und das Studium der kokkenartigen Gebilde ist keine leichte Aufgabe. Abgesehen von der Kleinheit der Formen, der schwierigen Färbbarkeit innerhalb des eigenartig gebauten und für Bakterienfärbungen überhaupt wenig geeigneten Hirngewebes ist auch die wechselnde herdförmige Lokalisation ein sehr störendes Moment, schnell über die Ver-

hältnisse ins Klare zu kommen. Um nur ein Beispiel anzuführen, ist in einigen Fällen die graue Substanz des Ammonshornes mit den Ganglienzellen geradezu übersät, in anderen Fällen muß man mühsam nach den Gebilden suchen, um sie zu finden. Die Untersuchung eines verschiedenartigen großen Materials ist daher durchaus notwendig.

Vor der Gefahr der Verwechslung mit Degenerationsprodukten oder anderen Gewebsbestandteilen bleibt man bewahrt, wenn man sie nur dort diagnostiziert, wo sie zahlreich vorhanden, wo intra- und extrazelluläre Formen vorkommen, wo Teilungslinien an den größten Formen sichtbar sind und wenn gelungene Färbungen nach von Krogh und Heidenhain sich deckende Befunde ergeben.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. XVI.)

Sämtliche Zeichnungen sind mit Zeiss homogene Immersion (Komp. Oc. Nr. 8) bei künstlichem Licht von Frl. Alice Schneider angefertigt.

Zeichnung Nr. 1.

Ganglienzelle aus dem Ammonshorne des Hundes Nr. 45 (experimentelle Straßenwut; infiziert am 7. VIII. mit Gehirn des Hundes Lauterecken; Negri positiv; tot am 28. VIII. 09); Färbung nach von Krogh; Ganglienzelle mit zahlreichen intrazellulär gelegenen sich metachromatisch färbenden kokkenförmigen Gebilden von wechselnder Größe; dieselben Formen auch extrazellulär.

Zeichnung Nr. 2.

Ganglienzelle des Ammonshornes des Hundes Nr. 55 (experimentelle Straßenwut, intramuskuläre Infektion mit 3^{cem} Gehirnemulsion von Hund aus Neuwied; Negri positiv, am 13. XI. 09; tot am 11. XII. 09). Das Bild zeigt zahlreiche intra- und extrazellulär gelegene Formen.

Zeichnung Nr. 3.

Ganglienzelle aus dem Ammonshorne eines an natürlicher Straßenwut verendeten Hundes. Färbung nach von Krogh; Protoplasma der Zelle zartblau, Negrische Körperchen violettrot.

Zeichnung Nr. 4.

Partie aus der grauen Substanz des Ammonshornes des Hundes Nr. 60 (experimentelle Straßenwut, intramuskulär infiziert am 2. IV. mit 5^{cem} Gehirnemulsion des Hundes Eupen; tot am 19. IV. 10). Präparat nach Heidenhain gefärbt, Kontrastfärbung mit Eosin. Ganglienzellen und das angrenzende graue Gewebe zeigen intensiv schwarz gefärbte kokkenartige Gebilde, während das Gewebe durch Eosin rot erscheint.

Zeichnung Nr. 5.

Ganglienzelle aus der Medulla oblongata einer an Tollwut verendeten Kuh Nr. 152 (Münchhausen). Zellen und graue Substanz waren überschwemmt mit den feinen in der Zelle blau gefärbten Gebilden von punkt- und doppelpunktförmiger Gestalt.

Zeichnung Nr. 6.

Partie aus der grauen Substanz des Nucleus caudatus des Hundes Nr. 47 (experimentelle Straßenwut, infiziert am 4. IX. 09 mit 3^{cem} einer Gehirnemulsion des Hundes aus Kirn; Negri positiv; tot am 26. X.). Die graue Substanz nebst den in ihr gelegenen Ganglienzellen, die zum Teil zerstört waren, mit zahlreichen kokkenförmigen Gebilden, die in diesem Fall durch ihre gute Färbung sich besonders scharf und deutlich vom übrigen Gewebe abhoben.

