Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut in Wien.
(Vorstand: Prof. Dr. R. Paltauf.)

Die Wertbemessung des Dysenterieserums.

Von Prof. Dr. R. Kraus und Priv.-Doz. Dr. R. Doerr.

In einer Reihe von Arbeiten, welche auf breitester experimenteller Basis aufgebaut waren, haben wir den exakten Nachweis geliefert, daß die typische, durch den Shiga-Kruseschen Bacillus hervorgerufene Form der menschlichen Dysenterie als bakterielle Toxikose aufzufassen sei. Dafür sprach schon zunächst die bekannte Tatsache, daß die Erreger auf den Darmkanal beschränkt bleiben und nie in das Blut oder die inneren Organe eindringen, sodaß die Wirkung auf entfernte Organe wohl nicht anders als durch resorbierte, lösliche Toxine erklärt werden konnte.

Ein reales Fundament erhielt diese Anschauung aber erst, als uns (sowie Rosenthal und Todd) der Nachweis von spezifischen Giften in Bouillonkulturfiltraten gelang. Wir konnten zeigen, daß bei den giftempfindlichen Kaninchen mittels dieser Gifte im Darm Veränderungen hervorgerufen werden können, welche völlig den Prozessen entsprachen, welche die menschliche Ruhrinfektion charakterisieren. Die durch Immunisierung mit diesen Giften von Ziegen und Pferden gewonnenen Sera vermochten das Gift in vitro zu neutralisieren und waren im Organismus prophylaktisch und kurativ wirksam. Die Wirksamkeit dieser Sera, die wir auf den Gehalt an Antitoxinen zurückführen mußten, war nicht nur im Tierexperiment, sondern auch bei Menschen, die an Dysenterie erkrankt waren, nachweisbar, und damit schien die Kette der Beweise geschlossen, daß das wesentliche pathogenetische Agens bei der menschlichen Ruhr in einem spezifischen Gift, welches als Toxin charakterisiert werden kann, zu suchen sei.

Wie bei den anderen antitoxischen, therapeutisch verwendeten Seris ergab sich natürlich auch hier die Notwendigkeit einer genauen Wertbestimmung. Dieser Aufgabe haben wir uns gleichfalls unterzogen. Da die experimentelle Prüfung der Sera ergab, daß die quantitative Bestimmung des Antitoxins in vitro keinen Rückschluß auf die kurativen Fähigkeiten zuließ, und da man ja doch annehmen muß, daß nur der Heilwert für die Therapie von Bedeutung sei, schlugen wir vor, die Prüfungstechnik auf diesen Faktor zu basieren und durch getrennte, gleichzeitige intravenöse Injektion von Gift und Serum bei Kaninchen die kurative Leistung zu ermitteln. Nur Sera, von denen wenigstens 0,1 ccm bei diesem Applikationsmodus die ein- bis zweifache tödliche Giftdosis zu neutralisieren vermochte, wurden als zu therapeutischen Zwecken brauchbar verausgabt. Diese Methode steht seit drei Jahren im Wiener staatlichen serotherapeutischen Institut in Verwendung und hat sich, wie die Erfahrung lehrt, in jeder Richtung bewährt.

Damit war die ganze Frage der antitoxischen Therapie der Shiga-Kruse-Dysenterie in allen wesentlichen Punkten gelöst, und eine im Druck befindliche Publikation (Das Dysenterieserum [10] im Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung von Kraus-Levaditi) sollte in abschließender Darstellung alles zusammenfassen, was teils in früheren Veröffentlichungen zerstreut war, teils als Resultat neuerer Versuche zur Ergänzung der Experimente nötig schien.

Ein in dieser Wochenschrift (No. 19) erschienener Artikel von Kollé, Heller und Mestral zwingt uns jedoch, nochmals zu dieser Angelegenheit das Wort zu ergreifen. In diesem Artikel plädieren die genannten Autoren für eine neue Wertbestimmung des Dysenterieserums, und zwar durch intraperitoneale Injektion der Giftserumsgemische an Mäusen. Nach ihren Versuchen sollen Kaninchen für das spezifische Dysenterietoxin sehr ungleichmäßig empfindlich sein, während sich bei weißen Mäusen viel konstantere Resultate erhalten lassen. Auch soll bei weißen Mäusen der kurative Wert der Sera völlig dem bei der Ehrlichschen Methode bestimmten Antitoxingehalt entsprechen.

Kollé und seine Mitarbeiter haben von den Versuchsergebnissen früherer Autoren, insbesondere von unseren Re-

sultaten eine vielfach unrichtige und in wesentlichen Momenten unvollständige Darstellung als historische Einleitung gegeben. Doch würde uns dieser Umstand kaum zu der vorliegenden Entgegnung veranlassen haben, da ja die Literatur jedem Interessenten ohnedies bekannt sein muß; uns kommt es hier lediglich darauf an, zu zeigen, daß das von Kolle, Heller und Mestral als Stütze ihrer Behauptungen angeführte Tatsachenmaterial in keiner Weise zu den Schlüssen berechtigt, die daraus nicht nur für die Wertbestimmung des antitoxischen Dysenterieserums, sondern für viele in letzter Zeit scharf diskutierte theoretische Fragen gezogen würden.

Zunächst möchten wir gegenüber Kolle betonen, daß Kaninchen auf die intravenöse Injektion der Bouillonkulturfiltrate in völlig gleichmäßiger Weise reagieren. Allerdings ist es notwendig, dabei die von uns gegebenen Vorschriften und die allgemeinen Grundsätze exakter Toxinauswertungen zu berücksichtigen. Die Tiere müssen gleich schwer sein und ein Gewicht von 800–1000 g haben; jüngere Kaninchen von 500–600 g oder alte Tiere von 2–3 kg sind nicht zu verwenden. Die Injektion muß intravenös erfolgen. Wenn Kolle schreibt, „daß manche Kaninchen überempfindlich sind, während andere Tiere bei subkutaner und intraperitonealer Einverleibung wenig reagieren“, so ist dies keine neue Erkenntnis. Wir haben uns über diesen Punkt schon in einer unserer ersten Arbeiten 1906 wie folgt geäußert:

„Auch bei subkutaner und intraperitonealer Injektion sind die Toxine der Shiga-Kruseschen Bazillen wirksam. Doch sind meist hohe Dosen erforderlich, um die Kaninchen unter typisch-paralytischen Erscheinungen zu töten, und bleibt manchmal jeder Effekt völlig aus bei Giften, die bei intravenöser Applikation nie versagen. Diese geringe und inkonstante Wirkung der Dysenterietoxine bei subkutaner oder intraperitonealer Injektion dürfte auf Zerstörung oder Entgiftung, zum Teil auch auf verzögerte Resorption der Toxine zu beziehen sein.“

Injiziert man das Gift unter den angegebenen Kautelen intravenös, so wird man auf Resultate stoßen, welche in bezug auf genaue Dosierbarkeit des Giftes den Erfahrungen bei Meerschweinchen beim Diphtherieserum kaum nachstehen. Kolle verlangt, daß „durch ganz große Versuchsreihen die individuelle Empfindlichkeit der Kaninchen ausgeschaltet wird“. Das ist aber, wie ein flüchtiger Blick in unsere Arbeiten zeigt, längst geschehen. Weder die Zahl noch der Ausfall unserer in extenso veröffentlichten Experimente lassen in dieser Hinsicht irgend etwas zu wünschen übrig (siehe Zeitschrift für Hygiene 1906, S. 14 u. 15, Doerr, Das Dysenterietoxin S. 21–27). Wir wollen hier nur einige Beispiele anführen.

Versuch V. (25. Januar 1905.) 6)			
Filtrat aus 18 tägiger Bouillonkultur Kruse I.			
Kautelen 281	1,0 ccm intravenös	† 26. Januar	
" 289	0,5 "	† 26. "	
" 41	0,25 "	† 26. "	
" 246	0,1 "	† 28. "	
" 285	0,05 "	† 28. "	

oder Versuch VI. (25. Januar 1905.) 6)			
Filtrat aus 18 tägiger Bouillonkultur Kruse II.			
Kautelen 2,0	1,0 ccm intravenös	† 26. Januar	
" 298	0,5 "	† 26. "	
" 285	0,25 "	† 26. "	
" 26	0,1 "	† 26. "	
" 290	0,05 "	† 27. "	

Ferner aus den Bestimmungsprotokollen des Serum-Instituts (1906):			
Toxin A.	1,0	Kautelen 322	† 16. Dezember früh
(15. Dezember)	0,5	" 332	† 16. "
	0,1	" 368	überlebt

oder			
Toxin B.	1,0	Kautelen 6	† 10. Februar
(9. Februar)	0,5	" 10	10. leichte Paresen, 11. †
	0,1	" 1	überlebt.

Diese Beispiele ließen sich durch Zitate aus unseren Arbeiten und aus den Protokollen des Wiener Serum-Instituts beliebig vermehren. Daß hie und da ein Tier sich widerstandsfähiger erweist und später eingeht, mag ja vorkommen; insbesondere werden solche Unregelmäßigkeiten auftreten, wenn man unter die sicher letale Dosis herabgeht; wie allgemein bekannt, begegnen wir derartigen Vorkommnissen auch bei den Auswertungen des Diphtherietoxins.

Das Kaninchen von 800–1000 g reagiert also auf die intravenöse Injektion der Bouillonkulturfiltrate völlig konstant; die Dosierung des Giftes und die Er-

mittlung der sicher letalen Dosis entspricht allen prüfungstechnischen Anforderungen.

Wie verhält es sich nun mit den weißen Mäusen, welche Kolle und seine Mitarbeiter an Stelle des äußerst fein reagierenden Kaninchens für die Prüfung des Serums vorschlagen?

Kolle meint, wir hätten Mäuse für absolut refraktär erklärt. Demgegenüber verweisen wir auf die zitierte Arbeit S. 17, wo es heißt:

„Andere Versuchstiere reagieren auf die Dysenterietoxine wenig oder garnicht. Nur bei weißen Mäusen sind größere Mengen hochtoxischer Filtrate tödlich.“

Aus unseren Arbeiten geht deutlich hervor, daß wir die Mäuse nicht für „völlig refraktär“, sondern für relativ unempfindlich (im Vergleich zu den Kaninchen) erklärt haben. Nebenher bezeichneten wir die Wirkung als inkonstant. An beidem halten wir fest und führen folgende neue Versuche als Beweis an.

10. Mai 1908. 25tägiges Filtrat vom Stamm „Müller“ war für Kaninchen toxisch:

2,0 ccm,	Kaninchen 417,	Intravenös,	† 11. früh,
1,0 "	" 442,	"	11. Paralyse, 12. †,
0,5 "	" 295,	"	11. Paralyse, 12. †.

Dasselbe Filtrat bei weißen Mäusen intraperitoneal			
am 10. Mai	0,5 ccm		
	0,3 "		
	0,1 "		
	0,05 "		
			überleben sämtlich.

Dagegen am 11. Mai			
1,0 ccm intraperitoneal,	12. 0, 13. krank, 14. p. m. †.		
0,7 "	"		
0,5 "	"		† am 12. Mai.
0,3 "	"		
0,1 "	"		überleben.

Ein zweites Filtrat (Stamm „Nepustil“) war für Kaninchen weniger toxisch:

10. Mai, 2,0 ccm intravenös,	Kaninchen 407.	11. krank, 12. Paralyse, 13. †,
1,0 "	" 403.	11. krank, 12. Paralyse, 13. †.

An weißen Mäusen ergab die Bestimmung:

10. Mai,	1,0 ccm intraperitoneal	11. †.
	0,7 "	11. †.
	0,5 "	überlebt.
	0,3 "	11. †.
	0,1 "	11. †.

Die weiße Maus reagiert also nur auf höhere Dosen der Bouillonkulturfiltrate, ist etwa 100–200mal weniger empfindlich als das Kaninchen und zeigt ein derart inkonstantes Verhalten, daß ihre Verwendung als Testobjekt für Bouillongifte und mit diesen ausgeführte Serumbestimmungen ausgeschlossen erscheint.

Anders verhält es sich allerdings mit Agarextrakten oder abgetöteten Kulturen.

Kolle hat außer filtrierten Bouillonkulturen auch Gifte benutzt, „welche durch ganz kurzdauerndes Ausschütteln von frischen Agarkulturen und nachfolgende Filtration hergestellt waren.“ Ueber die Technik macht er folgende Angabe:

„Man verfährt zur Darstellung letzterer Gifte so, daß man 24stündige Agarkulturen mit physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmt, die Bakteriensuspension nach 15 Sek. langem Stehen scharf zentrifugiert, die klare Waschflüssigkeit abpipettiert, um sie alsdann durch Filtration von den Bakterien zu befreien.“

Er nennt diese Gifte Waschwassergifte.

Wir möchten Kolle denn doch in Erinnerung bringen, daß wir die ersten waren, welche diese Darstellungsmethoden beschrieben. In einer 1905 erschienenen Mitteilung (2) heißt es:

„Ein ganz gleich wirkendes Gift läßt sich auch aus 24stündigen Agarkulturen gewinnen. Eine Autolyse nach Conradi oder Neisser-Shiga, um das Toxin aus dem Bakterienleibe zu gewinnen, ist nicht notwendig. Man schüttelt einige Minuten die junge Agarkultur mit Kochsalzlösung, filtriert durch Reichefilter und gewinnt auf diese einfache Weise ebenso starke, wirksame Toxine wie aus Bouillonkulturen. Diese Gifte wirken genau so wie Bouillonkulturgifte und lassen sich, wie wir sehen werden, ebenso durch Antitoxin neutralisieren wie die ersteren.“

Ganz gleichlautende Angaben finden sich in 6, S. 17 ff., wo wir auch zeigen konnten, daß sich dieses Gift bei intravenöser Injektion von Kaninchen ebenfalls exakt dosieren läßt (siehe auch 7, S. 29 f.)

Wir haben die Identität dieser Gifte mit den Bouillongiften ausdrücklich festgestellt.

serums nach Ehrlich als Mass für den Heilwert des Serums angezweifelt. Wir haben die Versuche von Roux, Cruveilhier einer Nachprüfung unterzogen und sind, wie eine demnächst erscheinende Arbeit (im Zentralblatt für Bakteriologie, Kraus und Schwoner) zeigen wird, auch für das Diphtherieserum zu gleichen Ergebnissen gelangt wie beim Cholera- und Dysenterieantitoxin. Es dürfte danach die in den Vordergrund gestellte Avidität der Antitoxine von prinzipieller Bedeutung für den Heilwert der antitoxischen Sera überhaupt sein und sollte bei therapeutischen Seris eigens bestimmt werden.

Es ist, wie wir sehen, unsere Wertbestimmung des Dysenterieserums wohl begründet und erfüllt die Anforderungen, die wir an die therapeutisch anwendbaren Sera zu stellen haben, vollkommen.

Nach alledem sind wir berechtigt, die von uns geforderte getrennte Prüfung des Dysenterieserums als die bisher einzig richtige anzusehen. Als das geeignetste Prüfungstier zur Auswertung der Dysenterietoxine und -Antitoxine ist nach unseren jahrelangen Erfahrungen das Kaninchen anzusehen. Das Kaninchen reagiert sowohl auf die aus Bouillonkulturen gewonnenen Gifte als auch auf die aus Agar extrahierten gleichmäßig. Dagegen erweisen sich weiße Mäuse den Bouillonkulturgiften gegenüber viel weniger empfindlich als Kaninchen und reagieren gleichmäßig nur auf Agarextraktgifte. Da das Kaninchen ein für beiderlei Dysenterietoxine giftempfindliches Tier ist, ziehen wir auch aus diesem Grunde dasselbe für die Auswertung auch in Zukunft der Maus vor.

Literatur: 1. Kraus, Monatsschrift für Gesundheitspflege 1904, No. 11. — 2. Kraus und Doerr, Wiener klinische Wochenschrift 1905, No. 42. — 3. Kraus und Doerr, Wiener klinische Wochenschrift 1905, No. 7. — 4. Doerr, Wiener klinische Wochenschrift 1906, No. 41. — 5. Kraus und Doerr, Wiener klinische Wochenschrift 1906, No. 30. — 6. Kraus und Doerr, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 1906, Bd. 55. — 7. Doerr, Das Dysenterietoxin, Jena 1907. — 8. Doerr, Wiener klinische Wochenschrift 1907, No. 1. — 9. Doerr, Das Dysenterietoxin, Handbuch von Kraus und Levaditi. — 10. Doerr, Das Dysenterieantitoxin, Handbuch von Kraus und Levaditi.