

DEUTSCHE MEDICINISCHE WOCHENSCHRIFT.

Mit Berücksichtigung des deutschen Medicinalwesens nach amtlichen Mittheilungen, der öffentlichen Gesundheitspflege und der Interessen des ärztlichen Standes.

Begründet von Dr. Paul Börner.

Zwanzigster Jahrgang.

Redaction: Prof. Dr. A. Eulenburg und Dr. Jul. Schwalbe, Berlin. — Verlag: Georg Thieme, Leipzig-Berlin.

Lichtensteinallee 3.

Potsdamerstr. 116.

Postadresse: Leipzig, Seeburgstr. 31.

I. Aus dem Institut für Infectionskrankheiten des Herrn
Geheimrath R. Koch in Berlin.

Ueber Gewinnung und Verwendung des Diphtherieheilserums.

Von P. Ehrlich, H. Kossel und A. Wassermann.

Die Möglichkeit, durch das Serum gegen Diphtherie künstlich immunisirter Thiere andere Individuen gegen diese Affection zu schützen und die bereits ausgebrochene Krankheit günstig zu beeinflussen, hat ihre Grundlage in den aus dem Koch'schen Institut hervorgegangenen Arbeiten Behring's. Ein näheres Eingehen auf die ganze historische Entwicklung dieser Frage halten wir an dieser Stelle für überflüssig, da dieselbe wohl heute als Gemeingut der ärztlichen Welt betrachtet werden darf.

Die folgenden Untersuchungen stellen eine Fortsetzung dar der bisher aus dem Institut hervorgegangenen Arbeiten über diesen Gegenstand, welche allein die Basis für die wissenschaftliche Auffassung und die praktische Anwendung der Antitoxine am Menschen abgaben.

In dem gesammten Verlaufe unserer im Einverständnis mit Behring angestellten und über Jahre sich erstreckenden Untersuchungen haben wir uns des wärmsten Interesses und des maassgebenden Rathes unseres hochverehrten Chefs, des Herrn Geheimrath R. Koch, zu erfreuen gehabt, wofür wir ihm an dieser Stelle unseren ergebensten Dank aussprechen.

Als Versuchsthiere für die Gewinnung der Blutantitoxine haben wir hauptsächlich Ziegen gewählt. Gerade diese Thierart ist nach unseren Erfahrungen besonders zu Immunisierungsversuchen im Laboratorium geeignet. Denn einerseits sind diese Thiere sehr empfänglich für Diphtheriegift und andererseits besitzen sie eine grosse Widerstandsfähigkeit, welche sie selbst sehr starke Immunisierungseingriffe überstehen lässt. Nicht unwichtig ist auch die Gewinnung von Milch, welche nach den Untersuchungen des Einen von uns (Ehrlich) die specifischen Schutzkörper in erheblichen Quantitäten enthält.

Die Art der Immunisirung unserer Versuchsthiere schloss sich im allgemeinen eng den jetzt wohl allseits angewendeten Methoden an, indem wir eine Grundimmunität durch Einverleibung steigender Mengen abgetödteter Diphtherieculturen erzielten und diese Grundimmunität dann durch eine Serie von immer steigenden Mengen lebender höchst virulenter Culturen der Diphtheriebacillen in die Höhe trieben.

Der Zweck unserer experimentellen Thätigkeit war natürlich im Hinblick auf die praktische Verwerthbarkeit am Menschen der, das Blut und die Milch unserer Versuchsthiere im Verlaufe der Immunisirung möglichst gehaltreich an dem specifischen Gegengift der Diphtherie zu gestalten.

Um sich nun über die Höhe des erreichten Immunitätsgrades in jedem Stadium der Immunisierungsperiode Rechenschaft geben zu können, ist eine Methode erforderlich, welche die Bestimmung der Antikörper in Blut und Milch möglichst schnell und quantitativ genau ermöglicht.

Die von uns angewendete Methode beruht auf der schon durch die ersten Untersuchungen von Behring und Kitasato festgestellten Thatsache, dass Gift und spezifisches Gegengift, im Reagensglase ausserhalb des thierischen Organismus gemischt, sich gegenseitig neutralisiren. Wir haben uns davon überzeugt, dass

diese Neutralisirung sofort beim Zusammenmischen entsteht und nach den einfachen Gesetzen der Proportionalität geschieht.

Der Unterschied dieser Methode von den bisher angewendeten besteht darin, dass bei den letzteren das Gift den Versuchsthiere getrennt von den Antikörpern injicirt wurde, so dass beide Stoffe auf einander erst innerhalb des Thierkörpers einwirkten. Die Schnelligkeit, mit der dies geschah, war natürlich von individuellen Resorptionsverhältnissen in hohem Grade abhängig und man erreichte so keine hinreichend genauen Resultate. Im Gegensatz hierzu ist bei der Mischung beider Substanzen im Reagensglase und nachheriger Injection des Gemisches eine stets gleichmässige Einwirkung beider Körper gewährleistet.

Was die praktische Ausführung dieser Methode anbetrifft, so benutzt man am besten ein schon länger conservirtes und auf seine Constantz geprüftes Testgift, das wir wie Behring aus älteren Bouillonculturen der Diphtheriebacillen durch Zusatz von $\frac{1}{2}$ % Phenol gewannen und von dem man stets ein grösseres Quantum vorrätig haben muss. Für unsere jetzigen Versuche dient ein Gift, von dem 0,3:1000 g Körpergewicht die sicher tödtliche Minimaldosis darstellt. Wir gehen nun in der Weise vor, dass wir (für Thiere von 2—300 g) 0,8 ccm Gift, also das zehnfache Multiplum der Dosis letalis nehmen und dazu die auf ihre antitoxische Kraft zu prüfenden Substanzen resp. Flüssigkeiten in abgestuften Mengenverhältnissen, z. B. 0,4, 0,3, 0,2 g etc., zumischen. Die Mischungen, deren Volumina wir der Gleichmässigkeit halber durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung gewöhnlich auf 4 ccm bringen, werden sofort den Meerschweinchen in der betreffenden Reihenfolge subcutan injicirt. Schon am nächsten Tage lässt sich dann, wenn die Abstufungen richtig bemessen waren, aus dem Fehlen oder Vorhandensein localer Infiltrationen, sowie mit Berücksichtigung des veränderten Körpergewichtes der Thiere ein annäherndes, am zweiten Tage ein definitives Urtheil gewinnen. Je nach dem Grade des Gehaltes an Antikörpern schwanken die zur Neutralisirung der genannten Giftmenge nöthigen Volumina. Während z. B. im Beginne der Immunisirung 5 ccm Milch noch nicht zur Neutralisirung ausreichten, genügten später 0,1 ccm vom Blutserum derselben Thiere natürlich entsprechend weniger, z. B. 0,005 ccm. Wir können dafür einstehen, dass diese Methode auch im weitesten Spielraum stets absolut zuverlässige Prüfungsergebnisse liefert.¹⁾

Was die von uns im Laufe der Immunisirung erreichten Endresultate betrifft, so haben wir Thiere, von deren Serum 1,5 mg und von deren Milch 0,075 g genügen, um 0,8 unseres Giftes zu neutralisiren. In Uebereinstimmung mit Behring²⁾ sagen wir, dass den Werth von einfach Normalantitoxin oder einer Immunisierungseinheit das Serum besitzt, von dem 0,1 ccm genügt, um unsere oben genannte Giftdose von 0,8 (= 1,0 ccm Behring's Normalgift) vollständig zu neutralisiren. Demnach entsprechen diese Serumsorten dem Werthe von 60fachem Normalantitoxin oder enthalten in einem Cubikcentimeter 60 Immunisierungseinheiten (gleich I. E. im weiteren Verlaufe der Arbeit). Es ist das eine Höhe, die sämmtliche bisher auch in der allerjüngsten Zeit über Diphtherie-

¹⁾ Für die Zweckmässigkeit der Methode spricht der Umstand, dass auch Behring sie jetzt ausschliesslich zur Feststellung der Immunitäts-höhe anwendet. Wegen einer unsererseits erfolgten Verzögerung dieser Arbeit ist dieselbe inzwischen bereits von Behring im Einklang mit uns publicirt worden.

²⁾ Cfr. Behring, a) Sonderabdruck aus den Berichten der pharmaceutischen Gesellschaft (Sitzung vom 7. December 1893), p. 3 u. 4; b) Infection und Desinfection (Verl. v. Georg Thieme, Leipzig 1894, p. 231 u. 232).

immunisirung publicirten Resultate hinter sich lässt. Durch die Güte des Herrn Professor Dr. Dieckerhoff, dem wir dafür unseren besten Dank sagen, waren wir in die Lage versetzt, in der hiesigen königlichen thierärztlichen Hochschule eine Kuh gegen Diphtherie zu immunisiren. Dieselbe ist ebenfalls zu hohen Immunitätsgraden gelangt.

Mit den besten unserer Serumsorten haben wir nun nach Vereinbarung mit Herrn Prof. Behring Versuche an kranken Kindern angestellt in folgenden Krankenhäusern:

Elisabeth-Krankenhaus (Abtheilung des Herrn Prof. Dr. Rinne), Städtisches Krankenhaus am Friedrichshain (Abtheilung des Herrn Geheimrath Hahn), Lazaruskrankenhaus (Geheimrath Prof. Langenbuch), Städtisches Krankenhaus Moabit (Abtheilung des Herrn Prof. Sonnenburg), Städtisches Krankenhaus am Urban (Abtheilung des Herrn Direktor Dr. Körte) und auf der Krankenabtheilung unseres Instituts.

Allen den genannten Herren Direktoren sagen wir für das bereitwillige Entgegenkommen, sowie ihren Assistenten, Herren DDr. Schubert, Weibgen, Stabel, Canon, Voswinkel, für die mühevollen Behandlung und Beobachtung der Kranken unseren besten Dank.

Die Gesamtzahl der behandelten Fälle beträgt 220; es wurden ausschliesslich Kinder behandelt. Eine Auswahl der Fälle fand nicht statt, sondern es wurden alle in die betreffenden Krankenhäuser eingeliefert, an Diphtherie erkrankten Kinder injicirt.

In Bestätigung der früheren Beobachtungen erwiesen sich die Injectionen von Diphtherieheilserum als völlig unschädlich.

Im Anfange unserer Versuche begnügten wir uns mit der einmaligen Injection einer bestimmten Dose unseres Diphtherieheilserums, welche 130—200 Immunisirungseinheiten repräsentirt, wurden aber dann durch die Erfahrungen mit der Behandlung von schweren Fällen veranlasst, an einzelnen Krankenhäusern wiederholte Injectionen vorzunehmen. In den folgenden Tabellen sind die Gesamtergebnisse übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle 1.

Summa der Behandelten	Geheilt	Gestorben	Heilung in %	Davon waren tracheotomirt			
				Summa	geheilt	gestorben	Heilung in %
220	168	52	76,4	67	37	30	55,1

Es wurde also ein recht günstiges Gesamtergebnis erzielt, indem nur 23,6% überhaupt, und von den Tracheotomirten 44,9% starben.¹⁾

Einen wahren Einblick in den Nutzeffect der Injectionen erhält man aber erst dann, wenn man die Fälle nach den Krankheitstagen gruppirt, an welchen die Behandlung begonnen wurde.

Tabelle 2.²⁾

Krankheitstag	Behandelt	Geheilt	Gestorben	Heilung in %
I.	6	6	0	100 %
II.	66 (9)	64 (7)	2 (2)	97 %
III.	29 (8)	25 (7)	4 (1)	86 %
IV.	39 (14)	30 (10)	9 (4)	77 %
V.	23 (10)	13 (4)	10 (6)	56,5 %

u. s. w.

Man sieht aus dieser Tabelle, dass die Sicherheit des Erfolges der Serumbehandlung wesentlich abhängig ist von dem Zeitpunkt nach der Erkrankung, an dem die Kinder zur Behandlung mit Serum kommen, und dass in den ersten Tagen Resultate erreicht wurden, wie sie bisher noch nicht beobachtet sind.

An einer Vergleichsstatistik von Diphtheriefällen ohne Behandlung mit Serum haben wir uns überzeugt, dass eine gleiche Abhängigkeit des Erfolges von der Dauer der Erkrankung bei der gewöhnlichen Krankenhausbehandlung nicht existirt. Von solchen Kindern stirbt ein immerhin hoher Procentsatz, gleichgültig ob sie am ersten Tage in ärztliche Behandlung genommen werden oder nicht, eine Thatsache, welche trotz der sorgfältigsten äusseren oder inneren symptomatischen Behandlung nicht aus der Welt zu schaffen ist. Während bei unserer Behandlung von 72 an den ersten beiden Tagen eingelieferten Kindern nur 2 starben, so verliefen von 72 Fällen ohne Serumbehandlung nach einer über 7 Jahre sich erstreckenden Statistik durchschnittlich 25 = 34,7 % tödtlich.

¹⁾ Gelegentlich des XI. internationalen Congresses in Rom hat Herr Professor Heubner eine den Werth der Serumtherapie noch nicht beweisende Statistik mitgetheilt. Es ist vielleicht nicht überflüssig, darauf aufmerksam zu machen, dass die Beobachtungen des Herrn Professor Heubner aus einer Zeit stammen, wo die Antitoxinlösungen noch sehr viel schwächer waren als die jetzt benutzten. Uebrigens sind die Heubnerschen Resultate schon durch die vor einem Jahr durch Kossel aus dem Institut für Infektionskrankheiten mitgetheilten Beobachtungen überholt.

²⁾ Die Zahlen in Klammern geben die, in der Gesamtzahl enthaltenen Tracheotomien an.

Diese Erscheinung, dass bei der Serumbehandlung mit der Zahl der Krankheitstage ein Anschwellen der Mortalität stattfindet, lässt sich in besten Einklang bringen mit den experimentellen Thatsachen. Je länger das Diphtheriegift auf den Körper eingewirkt hat, je weiter die mechanische Behinderung der Athmung ausgebildet und je schwerer die Mischinfection ist, desto weniger können wir hoffen, durch die Zerstörung des frei kreisenden Diphtheriegiftes und durch Aufhalten der Membranbildung den kranken Körper günstig zu beeinflussen.

Aus der Schwere der zu spät eingelieferten Fälle ist es aber auch gestattet, einen Rückschluss zu ziehen auf die Schwere der Gesamtepidemie, und da ist uns die hohe Mortalität dieser in den späteren Krankheitstagen eingelieferten Fälle der beste Beweis dafür, dass wir es nicht mit einer leichten Epidemie zu thun hatten und demgemäss die hohe Heilungsziffer in den ersten Krankheitstagen dem Serum zuzuschreiben ist; ganz abgesehen davon, dass sich unsere Beobachtungen über einen Zeitraum von fast sechs Monaten erstrecken.

Was nun die Todesfälle angeht, so starben von den Kindern

mit Rachendiphtherie	22	von Tracheotomirten	30
und zwar an Sepsis	8		4
an Pneumonie	7		23
an Nachkrankheiten	6		2
an Miliartuberkulose	1		1
	22		30

Wenn man die Zeit nach Beginn der Behandlung in Betracht zieht, in welcher die Kinder starben, so gewinnt man die Ueberzeugung, dass bei der Hälfte der gestorbenen Kinder die Krankheit schon soweit vorgeschritten war, dass eine Heilung auch mit Serum kaum noch erhofft werden konnte. Es starben nämlich:

noch an dem Tage der Einlieferung	6
am 1. Tage nach der Einlieferung	12
2.	8

Von den übrigen 26 Kindern hätten wir wahrscheinlich noch eine bedeutende Zahl retten können, wenn uns genug Serum zur Verfügung gestanden hätte, um bei jedem einigermaassen zweifelhaften Verlauf nicht eine einmalige Dosis Heilserum, sondern deren mehrere zu injiciren. Wenn man auch durch eine einmalige Injection (v. 160—200 I. E.) bei einer grossen Zahl der früh eingelieferten Fälle auskommen dürfte, so haben uns die folgenden Beobachtungen bestimmt, doch eine mehrmalige Injection von Serum für wünschenswerth zu halten.

Der Zustand einzelner Kinder, welche in den ersten Tagen nach der Injection eine auffallende Besserung zeigten, verschlechterte sich zuweilen langsam, und die Kinder starben noch nach 10—14 Tagen unter Erscheinungen von Nephritis und besonders von Herzschwäche. Es sind dies die Fälle, welche in den vorstehenden Tabellen als an Nachkrankheiten gestorben in Rechnung gebracht sind.

Ferner konnten wir meist nur bei stärkerer Serumzufuhr (bis zu 4 Injectionen von je 160—200 I. E. am ersten Tage) eine Beeinflussung der Körpertemperatur und des Pulses beobachten. Dass ein sofortiger Temperaturabfall nach den Injectionen für gewöhnlich nicht stattfindet, mag seinen Grund darin haben, dass wir nur bei den im allerersten Stadium der Diphtherie eingelieferten Kindern und auch bei diesen nur verhältnissmässig selten reine Diphtherieen vor uns haben. In späteren Tagen und Krankheitsstadien haben sich schon andere febrilerregende Bacterien den Diphtheriebacillen zugesellt, deren Stoffwechselproducte durch das allein gegen das Diphtheriegift gerichtete Antitoxin nicht neutralisirt werden können. In einzelnen ganz frischen Fällen aber haben wir in der That ein fast kritisches Sinken der Körpertemperatur und der sehr erhöhten Pulsfrequenz am Tage nach einer reichlichen Serumzufuhr beobachten können.

Wir hoffen nun nach den Erfahrungen im Elisabethhospital und auf der Krankenabtheilung unseres Instituts, wo wir diese wiederholten Injectionen durchgeführt haben, dass die Zahl der Nephritiden und Lähmungen, sowie die oben genannten Todesfälle durch Herzschwäche bei frisch in Behandlung genommenen Fällen sich noch wird reduciren lassen. In den beiden genannten Krankenhäusern gelangten bisher von 30 Fällen, von denen 16 tracheotomirt wurden, nur 4 zum Exitus, und zwar innerhalb der ersten 36 Stunden. Bei diesen Kindern, welche sämmtlich tracheotomirt waren, hatte die Operation keine oder nur vorübergehende Erleichterung der Athmungsbeschwerden zur Folge gehabt. In drei dieser Fälle fanden sich bei der Obduction ausgedehnte Verstopfungen der tieferen Bronchen mit diphtherischen Membranen, in dem vierten multiple durch Streptococcen bedingte Hepatisationsherde in den Lungen mit Infection des Blutes durch Streptococcen.

Dagegen ist der Verlauf bei den anderen 26 Fällen ein ausserordentlich günstiger gewesen, trotzdem sich unter ihnen eine Anzahl sehr schwerer Fälle mit infauster Prognose befanden.

Wir wollen daher als Cardinalpunkte für die Behandlung von diphtheriekranken Kindern mit Heilserum folgende aufstellen:

1. Das Schicksal der zu behandelnden Kinder wird entschieden durch das Vorgehen in den ersten drei Tagen der Krankheit. Daher ist das Serum so bald als möglich nach dem Beginn der Krankheit zu injiciren.

2. Da ein Ueberschuss von Antitoxinen im Körper des kranken Kindes erzielt werden soll, so muss nach unseren Erfahrungen die Anfangsdosis betragen bei leichten Fällen mindestens 200 Immunitätseinheiten, bei schwereren Fällen und bei allen tracheotomirten 400 Immunitätseinheiten.

3. Die Behandlung mit Serum ist noch an demselben oder am nächsten Tage fortzusetzen, entsprechend dem Verlauf des Fiebers, Pulses und der lokalen Erscheinungen. Die Gesamtmengen können je nach der Schwere des Falles 500—1000—1500 Immunitätseinheiten betragen.

Wir heben hier ausdrücklich hervor, dass sich diese Zahlenangaben nur auf unser Serum beziehen und dass Heilungsversuche mit anderen Antitoxinlösungen mit den unsrigen nur dann verglichen werden können, wenn ihr Werth den unserer Lösungen erreicht.

Die ausführliche Publication der experimentellen Ergebnisse und der klinischen Beobachtungen wird in der Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten unsererseits demnächst erfolgen.