

## VI. Einige neuere Arbeiten über Diphtherie.

Referirt von Dr. H. Kossel.

Zur Frage der Beziehungen des Löffler'schen Diphtheriebacillus zum Pseudodiphtheriebacillus sind in neuerer Zeit von Fraenkel<sup>1)</sup> und Escherich Beiträge geliefert worden. Fraenkel untersuchte Bacillen, welche von Uhthoff<sup>2)</sup> bei verschiedenen Erkrankungen der Conjunctiva und sogar auf der normalen Bindehaut gefunden waren. Besonders interessant war der Befund von Bacillen, welche alle Charaktere des Löffler'schen Bacillus zeigten, bei einem Fall von Conjunctivitis crouposa des einen Auges, der, wie die meisten croupösen Conjunctivitiden einen leichten Verlauf nahm. Bei Ueberimpfung der Reinculturen auf die Cornea eines Kaninchens konnte Uhthoff eine schwere diphtherische Augenentzündung hervorrufen. Auch gegenüber Meerschweinchen zeigten dieselben eine erhebliche Virulenz.

Ein Theil der Bacteriologen war bisher geneigt, einen Pseudodiphtheriebacillus als besondere Bacterienart zu unterscheiden wegen einiger (allerdings nicht sehr erheblicher) morphologischer und cultureller Unterschiede und wegen der mangelnden Virulenz. Allerdings hatten schon Roux und Yersin nachgewiesen, dass es gelingt, die Virulenz schwach virulenter Diphtheriebacillen zu steigern, wenn man dieselben mit Streptococcen zusammen auf Thiere verimpft; zwar war es nicht gelungen, avirulente Bacillen in die virulente Form überzuführen, aber dennoch glaubten Roux und Yersin annehmen zu müssen, dass die sogenannten Pseudodiphtheriebacillen nichts anderes seien, als eine abgeschwächte Form der Löffler'schen Bacillen.

Dieser Ansicht schliesst sich Fraenkel an, um so mehr, als einzelne der von Uhthoff bei sicher nicht diphtherischen Affectionen des Auges und sogar die auf der gesunden Conjunctiva gefundenen Bacillen einen gewissen Grad von Virulenz besaßen. Auch die als Xerosebacillen beschriebenen Stäbchen sind nach Fraenkel nichts weiter als abgeschwächte Diphtheriebacillen. Für die Epidemiologie könnten nach Fraenkel diese Verhältnisse insofern von Wichtigkeit sein, als die abgeschwächten Löffler'schen Bacillen möglicherweise unter natürlichen Verhältnissen einmal ihre Virulenz wiedererlangen könnten, ebenso wie in den Versuchen von Roux und Yersin.

Im Gegensatz zu dieser Auffassung Fraenkel's steht

<sup>1)</sup> Versuche an ricinfesten Mäusen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12, p. 183 ff.). Vergl. auch Brieger und Ehrlich, ebenda Bd. 13, 1893.

<sup>2)</sup> Ehrlich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12, 1892, p. 189.

<sup>3)</sup> Ebenda.

<sup>4)</sup> C. Fraenkel, Ueber das Vorkommen der Löffler'schen Diphtheriebacillen. Berl. klin. Wochenschr. 1893 No. 11.

<sup>5)</sup> W. Uhthoff. Ueber einige bemerkenswerthe Fälle von Augenkrankungen I. Berl. klin. Wochenschr. 1893 No. 11.

Escherich<sup>1)</sup>. Er hebt als Unterschiede zwischen beiden Bacterien hervor: die Neigung der Pseudodiphtheriebacillen zur Parallelstellung, eine Farbstoffbildung in alten Agarstichculturen und das Verhalten auf Lakmusbouillon. Während echte Löffler'sche Bacillen nach 48 stündigem Brutschrankaufenthalt die Lakmusbouillon durch Säurebildung roth färben und erst nach Wochen und Monaten Alkali in grösseren Mengen bilden, bleibt die mit Pseudodiphtheriebacillen geimpfte Lakmusbouillon anfangs violett und bläut sich schon nach wenigen Tagen. Meerschweinchen, welche Escherich mit Pseudodiphtheriebacillen der verschiedensten Herkunft impfte, blieben gesund und erwiesen sich bei nachfolgender Impfung mit echten Diphtheriebacillen als nicht immun.

Escherich ist diesen Bacterien bei 320 Untersuchungen des Rachens nur 13mal begegnet, und zwar in zwei Fällen von Lues pharyngis, je einem Fall von Angina lacunaris, Tonsillitis chronica desquamativa, Angina catarrhalis eines Diphtheriereconvalescenten, bei einem Knaben, dessen Geschwister an Diphtherie litten und welcher selbst disseminirte Auflagerungen auf den Tonsillen ohne Störung des Allgemeinbefindens zeigte, bei zwei Fällen von Larynxeroup, deren einer von Schlundlähmung gefolgt war, und bei vier Masernkranken. Die aus diesen Fällen gewonnenen Culturen änderten die oben erwähnten Eigenschaften während monatelanger Fortzucht nicht. Escherich muss zugeben, dass das Auftreten der Pseudodiphtheriebacillen bei echter Diphtherie des Larynx für die Roux'sche Hypothese spricht, will aber dennoch eine Trennung beider Arten durchführen auf Grund der Unterschiede in der Virulenz und der gleichzeitig mit der Virulenzabnahme auftretenden Aenderung der Wuchsformen.

Escherich suchte nun die Bedingungen festzustellen, unter denen Diphtheriebacillen ihre pathogenen Fähigkeiten am sichersten entwickeln und bewahren.

Die Virulenz der in Bouillon gezüchteten Diphtheriebacillen ist nach Escherich abhängig:

1. Von der Reaction der Bouillon; deutlich alkalische Bouillon liefert stärker wirksame Culturen als neutrale;
2. Von dem Alter der Bouillonculturb; das Maximum der Wirksamkeit wird nach 1—2 Tagen erreicht, nur selten wird bei älteren Culturen die gleiche Wirksamkeit beobachtet. Die stark virulenten bleiben länger wirksam als die schwachen;
3. Von der Grösse der Thiere; deshalb ist die zu injicirende Dosis nach Procenten des Körpergewichts zu berechnen;
4. Von dem Ort, an welchem die Cultur applicirt wird; als am sichersten tödtlich erwies sich die intramuskuläre Injection, welche meist an einem der Hinterläufe vorgenommen wurde.

Dass diese Verhältnisse, wie Escherich meint, bisher noch nirgends eingehend berücksichtigt seien, kann nicht zugegeben werden. In den Arbeiten von Behring und Wernicke (Ztschr. für Hygiene Bd. XI) und Boer (ebendasselbst) wurde schon darauf aufmerksam gemacht, dass man alkalische Bouillon und zweitägige Culturen benutzen muss, wenn man gleichmässige Resultate erhalten will.

In den Angaben Escherich's über diese Punkte finden sich eine Reihe von Unklarheiten, welche daraus entstehen, dass Escherich Intoxication mit Diphtheriegift und Infection mit Diphtheriebacillen nicht streng scheidet. Zum Beispiel führt Escherich an, dass etwas ältere Bouillonculturen infolge Verminderung der Toxine sehr viel schwächer wirksam oder gar unwirksam sind, während die aus derselben Bouillon auf neuen Nährboden überimpften Bacillen sich als vollvirulent erwiesen. Diese Thatsache ist richtig, aber nicht die Deutung.

Bei 1—2 Tage alten Bouillonculturen sind in der Culturflüssigkeit gelöste Toxine nicht vorhanden, die Wirksamkeit einer derartigen Cultur beruht auf ihrem Gehalt an lebenden Bacterien, und daher steht die Wirksamkeit in direktem Verhältniss zu der Zahl der gewachsenen Bacterien. Aus diesem Grunde erweisen sich Culturen auf alkalischer Bouillon in diesem Zeitpunkt wirksamer als solche auf neutralem Nährboden, weil eben die Bacterien auf alkalischer Bouillon üppigeres Wachstum zeigen.

Nun wissen wir durch Roux und Yersin, dass erhebliche Giftmengen erst in der 3. bis 7. Woche in Bouillonculturen gebildet werden, andererseits haben Behring und Boer (Dtsch. med. Wochenschrift 1893 No. 18) neuerdings durch Zählungen festgestellt, dass die Wirksamkeit giftfreier Diphtheriebouillonculturb proportional ist der Menge der lebenden Bacterien, und dass beim Stehen der Bouillonculturen besonders bei niederen Temperaturen die Zahl der lebensfähigen Keime schnell abnimmt. Hieraus erklärt sich, dass vom 3. oder 4. Tage ab die Wirksamkeit der Bouillon geringer wird. Zu dieser Zeit ist eben noch kein Gift gebildet, und

die Zahl der lebenden Bacterien, welche am zweiten Tage am höchsten ist, beginnt schon abzunehmen. Deshalb, aber nicht, wie Escherich meint, wegen Abnahme der Toxicität ist die Wirksamkeit 3—4tägiger Bouillon geringer als die der zweitägigen.

Diese Verminderung der Wirksamkeit muss natürlich anhalten, bis die Giftbildung eintritt. Wenn viel Gift sich angesammelt hat, kann es vorkommen, dass man mit Monate alter Bouillon Thiere tödten kann in denselben Dosen, welche nach zweitägigem Aufenthalt der Cultur im Brutschrank sich tödtlich erwiesen. Der Unterschied ist nur der, dass bei derselben Cultur, wenn man sie nach zwei Tagen injicirt, die lebenden Bacterien wirken, wenn man sie jedoch nach Wochen oder Monaten verwendet, das gelöste Gift wirkt.

Die Giftproduction selbst ist nun in erster Linie abhängig von der ursprünglichen Virulenz der verwendeten Cultur und von dem Alkaligehalt der Bouillon. Deshalb tritt die scheinbare Virulenzverminderung bei der einen Cultur ein, bei der anderen nicht.

Seitdem Escherich bei seinen Virulenzprüfungen die oben angeführten vier Punkte berücksichtigte, hat er bei keiner Cultur, welche die Merkmale der Löffler'schen Bacillen aufwies, die Virulenz vermisst. Alle Culturen, welche in den ersten Tagen Säurebildung auf Lakmusbouillon zeigten, erwiesen sich im Thierversuch als virulent. Im allgemeinen bestätigten die Versuche die Roux'sche Angabe, dass die Virulenz der Bacillen in direktem Verhältniss steht zur Schwere des Falles, bei dem sie gezüchtet wurden; eine geringe Virulenz oder gar Fehlen der Virulenz bei den in Heilung übergehenden Fällen konnte Escherich nicht constatiren.

Aus Rücksicht auf diejenigen Fälle, in denen Diphtheriebacillen bei nicht an Diphtherie leidenden Menschen gefunden sind (auch Escherich konnte bei einem an heftiger Conjunctivitis leidenden Kinde virulente Löffler'sche Bacillen nachweisen), wünscht Escherich die Bezeichnung Diphtherie auf jene Fälle eingeschränkt zu wissen, „bei denen die specifischen localen oder allgemeinen Wirkungen des diphtherischen Virus vorhanden resp. erkennbar sind.“

Beiträge zur Pathologie und Therapie der Diphtherie liefert Oertel<sup>1)</sup> in seiner Arbeit über die Bedeutung der diphtherischen Membranen in Bezug auf die Therapie. In knapper Form hat Oertel die Anschauungen zusammengefasst, welche er auf Grund seiner langjährigen Forschungen über die Pathogenese der Diphtherie gewonnen und welche er auch schon in einer 1887 erschienenen werthvollen Monographie niedergelegt hat. Oertel unterscheidet zwei Bildungsweisen diphtherischer Membranen:

a) Beim Beginn der Erkrankung bemerkt man auf der gerötheten Schleimhaut der Tonsillen kleine stecknadelknopfgrosse, grauweissliche oder gelbliche Auflagerungen, welche anfangs scharf gegen die Schleimhaut abgegrenzt sind, während sie später unter einander confluiren und in 1—2 Tagen die ganze Mandel mit Membranen überziehen können. Von den Tonsillen greift der Process auf die benachbarte Schleimhaut über, indem er an der Oberfläche fortkriecht, während erst später die tiefer liegenden Theile des Gewebes in Mitleidenschaft gezogen werden.

b) Die zweite Art der Membranbildung nimmt folgenden Entwicklungsgang. Neben den stecknadelknopf- bis linsengrossen eben beschriebenen Auflagerungen auf der Mandel findet sich eine ödematöse Durchtränkung der benachbarten Gaumenbögen und oft auch schon der Uvula. In wenigen Stunden zeigen sich in der Tiefe der ödematösen Schleimhaut Trübungen, welche ohne scharfe Abgrenzung in die Umgebung übergehen. Dabei ist die Oberfläche der Schleimhaut an diesen Stellen glatt, ohne Auflagerung oder Lockerung des Epithels. Schnell gewinnen die Trübungen in der Tiefe an Ausdehnung, und schliesslich nimmt auch das Epithel die gleiche grauweissliche Färbung an. Nun beginnen die opaken Stellen sich über die Schleimhaut zu erheben, und in wenigen Stunden kann der ganz weiche Gaumen mit einer anfangs speckigen gelblichen Pseudomembran bedeckt sein.

Diese letzteren Membranen charakterisiren die bösartigen Diphtherieen, welche rasch entweder zur Sepsis oder zur Trachealstenose führen.

Die ersteren Membranen können ohne Blutung von der Schleimhaut entfernt werden; die letzteren im ersten Stadium unter Zurücklassung eines blutenden Geschwürs, später aber auch unter Ablösung der Epithelschicht ohne Beschädigung der tieferen Schleimhautpartien.

Charakteristische Stäbchen sollen sich bei diesen letzteren Membranen nur an der Oberfläche finden, nie in einiger Tiefe, während sie bei den ersteren weite Ketten in die Membran hinein bilden.

<sup>1)</sup> M. J. Oertel, Ueber die Bedeutung der diphtherischen Membranen in Bezug auf die Therapie. Berl. klin. Wochenschrift 1893 No. 13, 14.

<sup>1)</sup> Th. Escherich, Zur Frage des Pseudodiphtheriebacillus und der diagnostischen Bedeutung des Löffler'schen Bacillus. Berl. klin. Wochenschr. 1893 No. 21, 22, 23.

So lässt sich auch anatomisch verfolgen, dass bei der ersten Art der Membranbildung sich im Epithel die ersten Veränderungen finden, bestehend in Leukocytenwanderung, Vordringen „charakteristischer Stäbchen“ in das Epithel und Bildung nekrobiotischer Heerde durch Zerfall der Leukocyten mit nachfolgender Exsudation von fibrinogener Lymphe. Dagegen sammeln sich die Leukocyten bei den an zweiter Stelle beschriebenen Pseudomembranen in der Tiefe der Schleimhaut an und führen hier zur Bildung von nekrobiotischen Herden. Durch Erguss von Lymphe kommt es dann zur Abhebung und zum Bersten der Epitheldecke und Erguss von gerinnungsfähigen Massen an die Oberfläche. Die gleichen nekrobiotischen Heerde finden sich in den Lymphdrüsen, im Tonsillengewebe, Bronchialdrüsen, Milz etc. Weil nach Oertel Bakterien bei dieser letzten Form fast gänzlich fehlen, so betrachtet er die Erscheinungen im Rachen und in den Organen als Ausdruck einer allgemeinen Erkrankung durch Resorption des auf der Oberfläche der Schleimhaut gebildeten Diphtheriegiftes.

Die Therapie hat nach Oertel diesen beiden Erkrankungsformen Rechnung zu tragen. Sind oberflächliche Membranbildungen vorhanden, so ist die Ueberrieselung der Tonsillen mit 2–5% Carbollösungen durch den Dampfzerstäubungsapparat (alle zwei Stunden drei bis fünf Minuten lang) indicirt. Bei der Behandlung der secundären Membranen kann man dagegen von Antiseptics nicht den gleichen Nutzen erwarten, weil der Process in der Tiefe der Schleimhaut unerreichbar ist. Vor allen Dingen soll man hier überflüssige Aetzungen mit Argentum nitricum, Chromsäure, Eisenchlorid oder gar Galvanokaustik vermeiden und sich darauf beschränken, einer gefährlichen Zersetzung der Membranen durch Fäulnisbakterien nach Möglichkeit vorzubeugen durch Pinselungen der Schleimhaut mit Carbollösungen nach Entfernung der Membranen. Die innerliche Darreichung von chloresäurem Kali verwirft Oertel, allenfalls könnte man Quecksilberpräparate versuchen. Aber diese Mittel haben keine spezifische Wirkung gegen den diphtherischen Process. Umsomehr ist es nach Oertel zu wünschen, dass wir nach spezifischen Mitteln gegen die Diphtherie suchen.

Klebs<sup>1)</sup> ist bemüht gewesen, eine spezifische Behandlungsmethode der menschlichen Diphtherie zu schaffen, welche die der Behring'schen Blutserumtherapie seiner Ansicht nach anhaftenden Mängel vermeidet.

Das Blutserum ist zwar imstande, antitoxische Wirkungen zu entfalten, aber es beeinflusst nicht die Lebensfähigkeit der Bakterien. Gegen die letzteren richtet sich die „causale antibacterielle“ Methode von Klebs.

Die Thatsache, dass Bacterienculturen auf geeigneten Nährböden stets nach einiger Zeit absterben, ist nach Klebs dadurch zu erklären, dass durch das Wachsthum der Bakterien toxische Substanzen gebildet werden, welche den Nährboden für dieselbe Art unbrauchbar machen (Autotoxine). Ein solches Autotoxin ist das Tuberculocidin und jetzt das Antidiphtherin.

Das Antidiphtherin wird gewonnen aus 14–15 Tage alten Culturen der Diphtheriebacillen auf Glycerinpeptonbouillon. Dieselben werden mit 0,6% Orthokresol (in Glycerin gelöst) abgetödtet, durch bacteriendichte Filter klar filtrirt und dann einer weiteren Behandlung unterworfen, welche geheim gehalten wird.

Das Resultat dieser Behandlung sind zwei Flüssigkeiten, welche eine zweifache und eine vierfache Concentration der in dem ursprünglichen Culturfiltrat vorhandenen bactericiden Substanzen darstellen und als einfach resp. doppelt concentrirtes Antidiphtherin bezeichnet werden. Dasselbe erhält als Zusatz 0,2% Orthokresol. Wenn man diese Substanz mit Diphtheriebacillen, welche auf schrägen Agarflächen cultivirt sind, in Berührung bringt, so findet innerhalb von 24 Stunden eine Abtödtung der Bakterien statt.

Ob diese bactericide Fähigkeit von den Autotoxinen oder nicht vielmehr von dem Gehalt an Orthokresol herrührt, darüber erhalten wir keinen Aufschluss. Auch die Frage, ob diese Substanz ihre Eigenschaften auch im Thierkörper entfaltet, bleibt unbeantwortet. Thierexperimente verwirft Klebs, „weil der Thierversuch nur sehr unvollkommen die bei diphtheriekranken Menschen zu beobachtenden Erscheinungen reproducirt.“ Thierversuche wären aber gerade hier sehr erwünscht; denn wir kennen viele Substanzen, welche im Reagensglase Diphtheriebacillen abtödteten, aber darum noch kein Heilmittel sind, weder für die Diphtherie der Versuchsthiere, noch für die des Menschen.

Die Anwendung des Antidiphtherin beim kranken Menschen geschieht nun in folgender Weise. Die erkrankten Theile des Rachens und ihre scheinbar noch freie Umgebung werden mittels eines Wattebauschs mit vierfach concentrirter Lösung betupft, so dass die oberflächliche Schicht der Membranen gründlich durchtränkt wird. In den diphtherisch erkrankten Kehlkopf soll das Anti-

diphtherin ebenfalls mit einem Wattebausch eingebracht werden. Bei tracheotomirten Patienten wird die schwächere Lösung durch die Canüle eingeträufelt. Mit Rücksicht auf etwaige Membranbildung im Magen kann die Antidiphtherinlösung in Dosen von einigen cem innerlich verabreicht werden. Bei intubirten Fällen soll die Lösung mit einer Spritze in den Kehlkopf injicirt werden.

Als sichtbare Wirkungen dieser Pinselungen will Klebs Temperaturabfall, Linderung der Halsschmerzen und Ablösung der Membranen mit Hinterlassung einer intacten Epitheldecke beobachtet haben. In der Erwartung, dass das Antidiphtherin antitoxische Wirkungen zu entfalten vermag, was Klebs nach Versuchen an Meerschweinchen, die nicht beschrieben werden, für wahrscheinlich hält, wäre auch an eine subcutane Application beim Menschen zu denken in Dosen von 0,25–2 g der schwächeren Lösung. Nach der Anleitung von Klebs sind 13 Patienten mit Pinselungen von Antidiphtherin behandelt worden. Sie wurden sämmtlich geheilt. Diese 13 Fälle sollen den Beweis liefern für die Behauptung von Klebs, „dass wir in dem Antidiphtherin ein Mittel besitzen, welches der Weiterentwicklung und pathogenen Leistung der Diphtheriebacillen im menschlichen Körper wirksamen Widerstand entgegensetzt.“

Bei dem Fehlen von Thierexperimenten ist es nun doppelt geboten, sich die von Klebs kurz beschriebenen Fälle einmal genauer anzusehen. Dabei gewinnt man jedoch die Ueberzeugung, dass es sich in der Hälfte der Fälle gar nicht um Diphtherie gehandelt hat. Der bacteriologische Nachweis der Diphtheriebacillen gelang nur in sechs Fällen (bei einem zehnjährigen Knaben, einem 13jährigen Mädchen, drei kräftigen Männern und einer 50jährigen Dame). Unter den 13 Patienten befand sich nur ein einziges tracheotomirtes Kind von 4½ Jahren, welches genas. In Fall No. 2 (vierjähriger Knabe) und No. 3 (8½ jähriges Mädchen) waren Beläge von nur Erbsen- und Hirsekorngrosse vorhanden; Diphtheriebacillen sind in beiden Fällen nicht nachgewiesen. In Fall 5 handelt es sich um Scarlatina. Unter den sieben Fällen, in welchen augenscheinlich echte Diphtherie bestanden hat, waren vier Erwachsene und nur drei Kinder, von welchen das jüngste im Alter von 4½ Jahren stand.

Mir scheinen diese mitgetheilten Fälle auch nicht den geringsten Beweis für die oben citirte Behauptung von Klebs zu erbringen. Das mindeste, was man bei der Prüfung von neuen Heilmitteln gegen Diphtherie verlangen kann, ist doch wohl einmal, dass an kranken Kindern, nicht an „kräftigen Männern“ der Werth des Heilmittels festgestellt wird, und zweitens, dass in jedem einzelnen Falle durch den Nachweis der Diphtheriebacillen der Beweis erbracht wird, dass es sich um echte Diphtherie gehandelt hat.

<sup>1)</sup> E. Klebs, Die causale Behandlung der Diphtherie. Wiener med. Wochenschrift 1893 No. 25, 26, 27, 28.