

II. Erwiderung auf die Arbeit von Dr. Hübener über das Tizzoni'sche Tetanusantitoxin.

Von Professor G. Tizzoni und Docten G. Cattani.

Im ersten Theil seines in No. 33 dieser Wochenschrift erschienenen Aufsatzes über unser Antitoxin bedauert Herr Dr. Hübener, dass wir für die Bestimmung des Immunisirungsvermögens des Serums nicht weisse Mäuse, sondern Kaninchen benutzt haben; denn dieser Umstand „fällt bei einer Werthprüfung schwer in's Gewicht, da die Kaninchen eine sehr viel geringere Empfindlichkeit gegen das Tetanusgift besitzen als weisse Mäuse.“

Dem gegenüber sind wir genöthigt, hier einiges zu wiederholen, was wir bereits vor kurzer Zeit publicirt haben, und dabei noch manches anzudeuten, was wir in einer demnächst erscheinenden Schrift ausführlicher darlegen werden.

Wir wiederholen also¹⁾, dass das Immunisirungsvermögen eines gegebenen Serums an für das Tetanusgift verschieden empfindlichen Thieren gemessen werden kann, nur muss seine Wirkung gegen solche Tetanusvergiftungen und -Infectionen versucht werden, welche die betreffenden Thiere in der gleichen Zeitfrist tödten; die derart erzielten Resultate sind immer gleich, d. h. der Werth des Serums erscheint von gleichem Grad bei den verschiedenen Thieren.

Wir haben dieses feststellen können mittels vergleichender Untersuchungen an der Ratte und am Kaninchen, welche Thiere nicht für uns allein, sondern auch für die deutsche Schule als ungleich empfindlich gegen Tetanus gelten. Der einzige Unterschied, den wir fanden, besteht darin, dass die Menge von Tetanusgift, welche durch eine Immunisirungseinheit neutralisirt werden kann, im minder empfindlichen Thier grösser ist, was gerade seinen Grund darin hat, dass hier eine grössere Giftmenge nöthig ist, um jenen Grad der Vergiftung hervorzurufen, welcher beim empfindlicheren Thier durch eine geringere Dosis erzielt wird.

Wir fügen hinzu, dass wir in zahlreichen und wiederholten Versuchen mit filtrirten Tetanusculturen oder mit dem aus denselben gewonnenen trockenen Gift immer das Kaninchen viel em-

pfändlicher gefunden haben als die Ratte und, wenn nicht mehr, doch gleich empfindlich wie die weisse Maus.

Damit wollen wir nicht ausschliessen, dass mit nicht filtrirten Culturen ausgeführte Versuche nicht für dieselben Thiere ein anderes Verhältniss im Empfindlichkeitsgrad für Tetanus ergeben dürften. Da wir sogar beobachtet haben, dass gegen nicht filtrirte Tetanusculturen, besonders wenn sie alt sind, die Ratte fast mit gleicher Empfindlichkeit reagirt wie das Kaninchen, so möchten wir nicht entscheiden, ob die ungleichen Resultate, welche wir in Italien und andere Forscher in Deutschland bei vergleichenden Untersuchungen über die Tetanusempfindlichkeit von Kaninchen, Ratte und Maus erzielt haben, nur auf Rassenunterschiede der Versuchsthiere zu beziehen sind, oder aber vom verschiedenen, für die Versuche angewandten Tetanusmaterial abhängen.

In jedem Fall aber steht fest, dass, wenn auch die geringere oder grössere Empfindlichkeit der Thiere, welche zur quantitativen Bestimmung des Immunisirungsvermögens des Serums benutzt werden, wirklich zur Feststellung eines höheren oder niedrigeren Werthes führen könnte, es keinen Unterschied ergeben würde, wenn wir für unsere Bestimmungen statt der Mäuse Kaninchen verwenden, weil, bei uns wenigstens, beide Thierarten gegen filtrirte Tetanusculturen oder das aus ihnen gewonnene trockene Gift (d. h. gegen das zu solchen Versuchen gebräuchliche tetanuserzeugende Material) in gleichem Maasse empfindlich sind.

Es bleibt also ausgeschlossen, dass der Unterschied der Immunisirungswerthe, den wir und Herr Hübener bei unserem Antitoxin gefunden haben, davon abhängig sei, dass letzterer die Bestimmung jenes Werthes an viel empfindlicheren Thieren vorgenommen hat; wir nehmen dagegen an, dass dieser Unterschied seinen Grund darin hat, dass Herr Hübener in seinen Controllversuchen über den Werth unseres Antitoxins das Verfahren Ehrlich's und nicht das Behring'sche benutzt hat; derart sündigte er selber gegen die Mahnung, welche er an uns richtete: „dass es für eine gegenseitige Verständigung werthvoll sei, ein einheitliches Princip für die zahlenmässige Bestimmung der Wirkung des Heilserums zu wählen.“

Wir wollen gern zugeben, dass das Ehrlich'sche Verfahren dem Behring'schen gegenüber den Vorzug der Bequemlichkeit hat, sowie dass bei Anwendung desselben die individuellen Unterschiede in der Absorption durch das Unterhautbindegewebe weniger bemerkbar werden; es muss uns aber zugegeben werden, dass durch jenes Verfahren alle anderen Ursachen der Inconstanz der Resultate nicht ausgeschlossen werden; z. B. nicht jene, welche aus der Natur des Gegenstandes derartiger Untersuchungen selbst sich ergeben und deshalb unvermeidlich sind, da wir alle zugeben¹⁾, „dass eine absolute Genauigkeit in der Bestimmung des Immunitätswerthes überhaupt nicht zu erreichen ist.“

Ja, einige von jenen störenden Momenten üben bei den Bestimmungen mittels des Ehrlich'schen Verfahrens auf das Endresultat einen viel hochgradigeren Einfluss aus als bei Anwendung der Methode von Behring. So z. B. die Differenz ad minus, die sich bei jeder geringsten Differenz ad plus in der Menge des Tetanusgiftes, welche als minimale tödtliche Dosis gewählt wird, für den Werth des gleichen Serums ergibt. Ist jene Differenz bei den nach dem Behring'schen Verfahren ausgeführten Werthbestimmungen bereits ziemlich bedeutend, so wird sie bei Anwendung des Verfahrens nach Ehrlich noch viel ansehnlicher, weil sie durch die Zahl der injicirten tödtlichen Dosen multiplicirt wird, und dieses um so mehr, je höher der zu controllirende Immunisirungswerth ist.

Wenn man bedenkt, dass „die Bestimmung der tödtlichen Minimaldosis immer etwas willkürliches behalten wird“²⁾, so wird man begreifen, wie leicht es ist, beim Ehrlich'schen Verfahren einem gegebenen Serum einen drei- bis vierfach geringeren Werth zuzuschreiben als derjenige ist, welchen andere Forscher mittels des Behring'schen Verfahrens bestimmt haben.

Wir kommen nun zu den Schlüssen, die Hübener aus seinen Untersuchungen über unser Antitoxin ziehen zu müssen geglaubt hat.

Der erste dieser Schlüsse ist: „Erstens hat Tizzoni nicht ein zehnmal stärkeres, sondern vielmehr ein drei- bis vierfach schwächeres Serum in den Händen gehabt wie Behring.“

Vor allem wäre es wünschenswerth gewesen, dass Herr Hübener, um das Behring'sche Serum mit unserem zu vergleichen, wirklich vergleichende Untersuchungen vorgenommen, d. h. mit Hilfe einer und derselben Methode und unter gleichen Versuchsbedingungen das genaue Werthverhältniss der beiden Serumsorten festgestellt hätte.

¹⁾ Tizzoni e Cattani, Nuove esperienze sulla vaccinazione del cavallo contro il tetano. Gazzetta degli Ospitali und Berliner klinische Wochenschrift 1894.

¹⁾ Behring und Knorr, Ueber den Immunisirungswerth und Heilwerth des Tetanusheilserums bei weissen Mäusen. Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankh. Bd. XIII, 1893.

²⁾ Behring und Knorr, l. c.

Es hätte aber jedenfalls Herrn Hübener nicht entgehen sollen, dass seine Vergleichung des Behring'schen Serums mit unserem in der Weise, wie er sie angegeben hat, wenigstens denjenigen, welcher nur die Endresultate seiner Arbeit liest, zu der irrigen Meinung führen muss, dass der Werth unseres Serums bei der Hübener'schen Bestimmung 30—40 mal niedriger ausgefallen ist als der, welchen wir ihm zugeschrieben hatten. Dagegen ist der von Herrn Hübener für unser Antitoxin mit dem Ehrlich'schen Verfahren gefundene Werth (30 Millionen für das pulverförmige Präparat, 3 Millionen für das Ausgangsserum) nur 3—4 mal niedriger, als wir nach Behring's Verfahren bestimmt haben.

Uebrigens ist es nicht schwer, dem Ursprung dieses Fehlers auf die Spur zu kommen.

Herr Hübener beginnt seinen Aufsatz mit den Worten:

„Nach Behring's Untersuchungen kann man zur Heilung des Tetanus nur von einem Blutserum Erfolg erwarten, welches einen sehr hohen Immunisirungswerth besitzt. Ihm selbst war es gelungen, ein solches im Werthe von 1:10 Millionen zu erreichen. Demgegenüber behaupten Tizzoni und Cattani, dass sie über ein Tetanusheilserum verfügten von 100 Millionen Werth.“

Offenbar bezieht sich Herr Hübener, wenn er schreibt, „Tizzoni hat nicht ein zehnmal stärkeres Serum in den Händen gehabt wie Behring“, auf das Serum, welches wir vom Pferde Capinero in der ersten Serie von Verstärkungs-injectionen bekamen und welches wir gerade (auf Grund zahlreicher Untersuchungen) auf den Werth von 100 Millionen schätzten. Jenes werthvolle Material (welches wir leider zur Heilung des Tetanus am Menschen nicht anwenden konnten) war also zehnmal stärker als das Serum, aus welchem das Merck'sche Präparat gewonnen wird, und auf dieses letztere allein darf sich Herr Hübener beziehen, wenn er fortfährt, „sondern vielmehr ein drei- bis vierfach schwächeres etc.“

Also eine wirkliche und thatsächliche Verwechslung der verglichenen Mengen, wodurch der Unterschied zwischen unseren und Herrn Hübener's Resultaten in der Bestimmung des Heilwerthes unseres Antitoxins um das Zehnfache vergrößert wird.

Zuletzt schreibt Herr Hübener:

„Zweitens aber — und das ist die Hauptsache — genügt ein solches Serum bei weitem nicht zur Heilung schwerer oder erst spät zur Behandlung gekommener Fälle, da für solche nicht einmal das weit stärkere Behring'sche Serum selbst in den grossen Quantitäten von 200—400 ccm auszureichen vermocht hat.“

Zur Bestätigung dieser Beurtheilung führt Herr Hübener einige von Dr. Beck mit dem Merck'schen Präparate ausgeführte Splitterversuche an, in welchen nicht nur jede heilende Wirkung, sondern sogar jede Verspätung des Todes der mit unserem Mittel behandelten Thiere ausblieb. — Aber was für ein Werth kann solchen Experimenten zugemessen werden, welche, wie die von Beck, unter Bedingungen ausgeführt wurden, deren absolut negativer Ausgang mit Sicherheit vorausgesehen werden konnte?

Ein gleichfalls total negatives Resultat erzielte in der That neuerdings bei ähnlichen Experimenten Brieger selbst¹⁾, indem er sein eigenes Antitoxin anwendete, das er durch Concentrirung der Milch von gegen Tetanus vaccinirten Ziegen gewonnen hatte.

Es sei noch bemerkt, dass Beck unter noch ungünstigeren Verhältnissen experimentirte, denn er operirte an empfindlicheren Thieren (Meerschweinchen) und wartete, um unser Antitoxin zu injiciren, genau 24 Stunden nach Einführung des Splitters, während Brieger minder empfindliche Thiere (Mäuse) benutzt und das Antitoxin nicht später als 20—22 Stunden nach Einführung des Splitters injicirt hatte.

Und jene ungünstigeren Verhältnisse sind nicht etwa in Beck's Versuchen dadurch ausgeglichen, dass er eine grössere Menge der antitetanischen Substanz anwendete. In der That erhielten von den vier mit dem Merck'schen Präparat behandelten Meerschweinchen von einem Gewicht von 460—670 g, das erste 0,10 g, das zweite 0,25 g, das dritte 0,50 g, das vierte 0,70 g.

Brieger hat bei fünf von den acht zu seinen Splitterversuchen benutzten Mäusen, deren Gewicht 14,5—19 g betrug, von seinem, nach dem Ehrlich'schen Verfahren, 20 Millionen werthigen Antitoxin nicht weniger als 0,10 g per Individuum injicirt, d. h. 1 g des Mittels für 145—190 g Körpergewicht.

Wenn wir dem Merck'schen Antitoxin, unserer Schätzung entsprechend, den Werth von 100 Millionen zuschreiben, so konnte Beck davon bis zu 0,20 g für je 140—190 g des Körpergewichtes (d. h. bis zu 0,80 g für jedes Meerschweinchen) injiciren, ohne berechtigt zu sein, „die geringste Andeutung einer den Tod hinausschiebenden, geschweige denn heilenden Wirkung“ davon zu

erwarten, wie in den oben angeführten Versuchen Brieger's keine Heilwirkung und keine Verzögerung des Todes eingetreten war.

Wenn zuletzt, wie Herr Hübener angiebt, 200—400 ccm des Behring'schen Serums zur Heilung schwerer und vorgerückter Fälle von Tetanus nie ausreichten, so können wir für unser Antitoxin, in Bezug auf die Heilung des Tetanus am Menschen, zweifellos günstigere Resultate verzeichnen (unter den geheilten Fällen, gewiss schweren oder spät zur Behandlung gekommenen, können wir, abgesehen von mehreren, einen Kopftetanus¹⁾ und einen Tetanus neonatorum²⁾ erwähnen, welchem letzteren allein vielfach ein höherer Beweiswerth zugeschrieben wird, als zehn Heilungen von Erwachsenen). Genügt nun diese Thatsache nicht schon an und für sich, zu beweisen, dass das von Herrn Hübener gefällte Urtheil der Minderwerthigkeit und Unzuverlässigkeit unseres Tetanusantitoxins ein unrichtiges ist?

¹⁾ Brieger und Georg Cohn, Beiträge zur Concentrirung der gegen Wundstarrkrampf schützenden Substanz aus der Milch. Zeitschrift für Hygiene und Infectiouskrankheiten Bd. XV.