Over filtreerbare vormen van het tuberculose virus

OVER FILTREERBARE VORMEN VAN HET TUBERCULOSE VIRUS

J. VAN DER LEE

OVER FILTREERBARE VORMEN VAN HET TUBERCULOSE VIRUS

Diss Utrecht 1928

OVER FILTREERBARE VORMEN VAN HET TUBERCULOSE VIRUS

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS **DR. B. J. H. OVINK**, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP **DINSDAG 19 JUNI 1928**, 'S NAMIDDAGS 4 UUR, DOOR

JAN VAN DER LEE
ARTS, GEBOREN TE UTRECHT

1928
DRUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS, UTRECHT

Aan mijn Ouders

Bij het voltooien van dit proefschrift is het mij een aangename taak U, Hoogleeraren, Oud-Hoogleeraren en Docenten der Medische- en Philosophische Faculteit te Utrecht, mijn dank te betuigen voor het vele, dat ik van U heb mogen leeren.

In het bijzonder, Hooggeleerde ALDERSHOFF, Hooggeachte Promotor, ben ik U zeer veel dank verschuldigd voor de groote bereidwilligheid, waarmede Gij als mijn promotor hebt willen optreden.

De tijd, waarin ik, onder Uwe leiding, dit proefschrift heb mogen bewerken, zal bij mij steeds in aangename herinnering bewaard blijven; niet alleen voor den steun, dien ik van U mocht ondervinden, doch ook voor Uw vriendelijken omgang.

Gaarne maak ik van deze gelegenheid gebruik om mijn oud-leermeesters VAN BARNEVELD, Dr. BESSEM en Dr. SCHOUTEN hartelijk te danken voor hetgeen zij tot mijn vorming hebben bijgedragen.

Mijn vriendelijken dank ook aan Mej. G. H. KROEZE voor de hulp, die zij mij verleende, bij het laboratoriumwerk.

Tenslotte mijn oprechten dank aan allen, die mij bij het bewerken van dit proefschrift op eenige wijze behulpzaam zijn geweest.

INLEIDING

Meende men aanvankelijk na het ontdekken van den tuberkelbacil door *Robert Koch* in 1882, spoedig belangrijke vorderingen bij de bestrijding der tuberculose te zullen maken, nu de aetiologie van deze ziekte bekend was, spoedig bleek dit een ijdele verwachting te zijn geweest. Want al mag niet ontkend, dat sinds dien het inzicht in deze ziekte belangrijk is verbeterd en men daarvan bij de bestrijding de goede vruchten dagelijks zien kan, toch is de tuberculose nog steeds een der ernstigste volksziekten en is ons therapeutisch arsenaal, ondanks de vele pogingen daarin verbetering te brengen, nog zeer poover voorzien. Tot nog toe hebben noch de chemische noch de immunologische therapeutica belangrijke verbetering in de behandeling kunnen brengen, zoodat men nog altijd is aangewezen op die methoden, die de natuurlijke verweerkrachten van het organisme zooveel mogelijk bevorderen.

Voor een deel komt dit door de veranderingen, welke de tuberkelbacil in het lichaam veroorzaakt (tuberkelvorming), die door hun eigenaardigen bouw (gemis aan bloedvaten) het binnendringen van geneesmiddelen op de juiste plaats, verhinderen.

Voor een groot deel echter moet de oorzaak gezocht worden in den tuberkelbacil zelven, die zoowel morphologische als

biologische bijzonderheden vertoont, welke de overtuiging geven, dat de tuberkelbacil, zooals die gewoonlijk gezien wordt en door *Koch* het eerst is beschreven, slechts ten deele de oorzaak is van de bonte verscheidenheid, die de tuberculeuze afwijkingen in de verschillende organen vertoonen.

De typische tuberkelbacil is een slank, al of niet gebogen, staafje. Bij kleuring volgens *Ziehl-Neelsen* blijkt, dat de bacil door zuren niet ontkleurd wordt, z.g. zuurvast is. Andere micro-organismen bezitten dezelfde eigenschap (leprabacil, melk- en boterbacillen, timotheüsbacillen, smegmabacil, actinomycetes), waarmede de tuberkelbacil ook in andere opzichten overeenkomst vertoont.

Toch is deze zuurvastheid niet een steeds voorkomende eigenschap; sommige tuberkelbacillen zijn niet zuurvast, andere hebben soms hun zuurvastheid verloren.

In *Ziehl*-preparaten is de bacil niet altijd een solied staafje. Soms heeft het een gegranuleerden bouw, doordat sommige gedeelten ongekleurd zijn of sterker gekleurd dan de rest van den bacil.

Beter nog kan men dezen gekorrelden bouw waarnemen, wanneer men den bacil volgens *Gram* kleurt. Bij omkleuring van *Ziehl*-preparaten blijkt dikwijls, dat een staafje, dat eerst soliede was, gekleurd volgens *Gram*, gegranuleerd van bouw is.

Het meest bekend is het verschijnsel, dat men in den etter van koude abcessen of andere tuberculeuze producten dikwijls tevergeefs zoekt naar tuberkelbacillen, terwijl inspuiting van deze producten toch tuberculose veroorzaakt.

Much heeft door zijn onderzoekingen waarschijnlijk gemaakt, dat de tuberkelbacil nog andere dan de door *Koch* beschreven

vormen kan vertoonen. Hij nam waar, dat tuberculeuze etter, waarin geen bacillen te vinden waren, *Gram* positieve korrels bevatte, die een meer resistente vorm van den tuberkelbacil zouden zijn en die even goed als de bacillen tuberculose konden verwekken. Sommige onderzoekers hebben uit deze granula typische tuberkelbacillen kunnen kweeken.

Door nauwkeurig onderzoek van jonge vliesjes van glycerinebouillonculturen hebben *Bezançon, Philibert* en *Hauduroy* (12, 35) [1]) waargenomen, dat de typische bacil slechts ten deele en tijdelijk een bestanddeel van deze vliesjes vormt. Het overige van het vlies wordt gevormd door twee elementen: een netwerk, dat zich gemakkelijk kleurt met methyleenblauw, doch niet zuurvast is (cyanophiele substantie) en de z.g. granulations of corpuscules chromophyles. Deze granula liggen in de zuurvaste bacillen of in lange rijen en ongelijk van grootte op het netwerk.

De samenhang zou deze zijn, dat eerst het netwerk ontstaat, dan de zuurvaste bacillen met de granula zich ontwikkelen, terwijl tenslotte de bacillen verdwijnen en alleen de chromophyle granula overblijven.

Om tuberkelbacillen te kweeken, heeft men steeds voedingsbodems gebruikt, die glycerine en stikstof bevatten, omdat men waarnam, dat ze alleen dan zich goed ontwikkelden. Men heeft daarom gemeend, dat deze stoffen noodzakelijk waren om een rijken kweek van tuberkelbacillen te krijgen.

Vaudremer (7) daarentegen kweekte tuberkelbacillen op verschillende voedingsbodems, vaste of vloeibare, maar zonder

---

[1]) Cijfers verwijzen naar de literatuurlijst.

glycerine en arm aan stikstof. De uitzaaiingen geschiedden aan de oppervlakte of in de diepte. Zoodoende zag hij in de culturen allerlei vormen ontstaan, die afweken van den typischen tuberkelbacil en waarvan de granulaire elementen, die stofklein of wat grooter waren, vooral de aandacht trokken. Wanneer hij tuberkelbacillen uitzaaide in de diepte van aardappelwater (afkooksel van 500 gram aardappelen op 1 L. water) of op voedselarme synthetische voedingsbodems (*Gessard* en *Vaudremer* (4)), kon hij deze granula waarnemen, die òf als knoppen op de bacillaire elementen voorkomen, òf afzonderlijk liggen. Door overenten van deze atypische vormen op glycerine-aardappel, kunnen ze zich ook hierop ontwikkelen, doch wanneer een oude cultuur overgeënt wordt, groeien deze vormen niet meer op de gebruikelijke voedingsbodems.

Bekend met de onderzoekingen van *Fontès* (1), die de granula, welke hij in tuberculeuzen etter waarnam, van het overig materiaal scheidde door den etter te filtreeren door *Berkefeld*-filter, heeft *Vaudremer* nagegaan, of de granula, die hij zag, door *Chamberland*-filter L_3 konden gefiltreerd worden. Hij vond, dat zich in de filtraten na 48 uur vertakte elementen vormden, gelijk aan die, welke vóór de filtratie in de culturen gezien waren. Uitzaaiing hiervan in aardappelwater gaf dezelfde elementen. Een maand na de uitzaaiingen ontstaan opnieuw bacillaire vormen, die bestaan uit granula en vertakt zijn. Ze liggen meestal in hoopjes, zijn niet zuurvast en kleuren zich niet volgens *Gram*.

Om de pathogeniteit van deze filtraten na te gaan, heeft *Vaudremer*, evenals *Fontès* dit reeds gedaan had met het

filtraat van tuberculeus materiaal, deze bij caviae ingespoten. Beiden namen waar, dat de ingespoten dieren inderdaad afwijkingen vertoonden.

Het gevolg van deze onderzoekingen zijn talrijke proeven geweest, die ten doel hadden aan te toonen, dat er een vorm van den tuberkelbacil bestaat, die filters kan passeeren en die in staat is bij proefdieren tuberculeuze veranderingen of andere afwijkingen te veroorzaken.

Doel van het onderzoek is geweest: na te gaan, of een filtreerbare vorm van den tuberkelbacil door dierexperimenten kon worden aangetoond en of uit de onderzoekingen van anderen mag worden aangenomen, dat de afwijkingen, die de dieren na inspuiting met filtraten vertoonden, inderdaad veroorzaakt worden door een filtreerbaren vorm van den tuberkelbacil.

HOOFDSTUK I

HISTORISCH OVERZICHT

De eerste onderzoekingen betreffende de filtreerbaarheid van het tuberculosevirus door dierproeven zijn in 1910 verricht door *Fontès* (1). Deze filtreerde door een *Berkefeld*-filter etter uit een verkaasde klier van een cavia, die ingespoten was met tuberculeus materiaal van een patient. Vóór de filtratie werd de etter verdund met physiologische zoutsolutie. In het flltraat waren geen elementen te zien, die zich lieten kleuren volgens *Ziehl-Neelsen*.

Het filtraat werd bij verschillende caviae onderhuids in de dij ingespoten. Eén werd twee weken later gedood en vertoonde een lichte zwelling der liesklieren, waarin noch granula, noch bacillen te vinden waren. Nergens bestonden tuberculeuze veranderingen. Een gedeelte van de milt werd fijngewreven en onderhuids bij twee caviae ingespoten. Eén van deze werd één maand later gedood en vertoonde zwelling van de regionaire lymphklieren, waarin zuurvaste granula te vinden waren, doch geen bacillen. De andere cavia stierf vijf maanden na inspuiting. Er waren geen abnorme klierzwellingen. In de brei van deze klieren, evenals in enkele

gehepatiseerde longhaardjes, werden zuurvaste staafjes gevonden.

Fontès meent, dat deze zuurvaste staafjes zeer weinig pathogene typische tuberkelbacillen zijn, die in het dierenlichaam ontstaan uit de filtreerbare granulaire elementen (granula van *Much*) van het tuberculosevirus.

Eerst veel later zijn deze proeven herhaald. Wel heeft *Philibert* (2) gepoogd de onderzoekingen van *Fontès* te herhalen, doch hij had daarbij met groote moeilijkheden te kampen en kreeg geheel negatieve resultaten. Eenmaal stierf een cavia aan gegeneraliseerde tuberculose. Hij meent, dat hier een lekke filter gebruikt is of dat toevallige besmetting heeft plaats gehad en ontkent dan ook, dat er een filtreerbare vorm van den tuberkelbacil bestaat.

Vaudremer (3, 4, 5, 7, 13) nam waar, dat, wanneer hij tuberkelbacillen kweekte in voedselarme milieux, eigenaardige vormen ontstonden, die in vorm en kleurbaarheid sterk verschilden van den typischen tuberkelbacil.

Allereerst heeft *Vaudremer* nagegaan of deze atypische vormen gefiltreerd konden worden door *Chamberland*-kaarsen en zich dan opnieuw lieten voortkweeken. Inderdaad bleek dit het geval te zijn. De vormen, die zich uit de filtraten ontwikkelden op de verschillende voedingsbodems, (bouillon, aardappelwater) vertoonden dezelfde structuur en eigenschappen als die, welke vóór de filtratie gezien werden.

„L'aspect microscopique des cultures développés dans les deux filtrats étudiés est le même. L'examen des preparations fixées à l'alcool-éther, colorées rapidement (2 minutes) au Ziehl à froid sans décoloration ultérieure, laisse voir un lacis délicat de filaments anastomosés entre eux. Sur ces filaments on voit des grains inégalement distants les uns les autres, fortement colorés.

Le volume de ces grains varie entre la limite de la visibilité et la dimension d'un grain de millet. De place en place on voit en outre des formes bacillaires courtes ou longues, granuleuses, incurvées ou rectilignes. Ces éléments, qui se colorent mal au bleu de méthylène, prennent fortement le violet de gentiane. Les grains sont *Gram*-résistants, les formes filamenteuses ne le sont pas."

Zelfs gelukte het hem, door overenting op verschillende milieux, den granulairen vorm terug te doen keeren tot den zuurvasten vorm (3). Opgemerkt dient, dat dergelijke bevindingen door geen enkelen onderzoeker worden vermeld.

Om de pathogene eigenschappen van deze filtraatculturen na te gaan heeft *Vaudremer* deze bij caviae ingespoten. De resultaten beschrijft hij als volgt (7):

„Les cultures involuées obtenues après filtration produisent des indurations locales *quand elles sont inoculées sous la peau* du cobaye. Ces indurations se développent en huit jours environ, et disparaissent en trois semaines; elles ne déterminent pas de tuberculose généralisée chez l'animal. *L'inoculation intraveineuse* détermine chez le cobaye une polyadénite tardive généralisée et, enceptionnellement, des périarthrites conjonctives. Ces lésions rappellent la micro-polyadénite des enfants et le syndrome de Poncet. Parfois, trois ou quatre mois après l'infection, on trouve chez quelques-uns des animaux d'expérience un ganglion inguinal ou sous-maxillaire en voie de ramollissement. L'ensemencement du pus *caséeux* renfermé dans ce ganglion, fait sur Petroff on sur pomme de terre glycerinée, donne naissance à des cultures discrètes qui se développent en six semaines ou deux mois. Ces cultures sont formées de granules libres, ou disposés en chainettes à trois ou quatre éléments. *Ces granules sont acido-résistants.* Ils semblent être séparés en deux demi-cercles par un axe interpolaire: après une série de répiquages sur Petroff ou sur pomme de terre glycérinée ils récupèrent la forme du bacille de Koch acido-résistant habituel. Quand on connaît les formes granulaires que nous venons de décrire, on 's apercoît qu'elles ne sont pas rares dans les crachats des vieux tuberculeux pulmonaires fibreux. Ces formes granulaires nous semblent être le premier stade du retour à la forme bacillaire acido- résistante; nous n'avons jamais pu l'obtenir en partant d'une culture très involuée, sans passer par l'animal.

Les éléments granulaires ayant récupéré l'acido-résistance à la suite d'un

premier passage par l'animal déterminent une escarre rapide quand ils sont injectés sous la peau du cobaye, mais cette escarre, qui apparaît en quarante-huit heures et disparaît en six semaines environ, ne tuberculise pas l'animal. En revanche, ces éléments tuent parfois les cobayes, quand ils sont injectés par la voie intraveineuse; Sur dix animaux mis en expérience, il est habituel d'en perdre cinq ou six dans les huit jours qui suivent l'injection. Les animaux qui ont survécu présentent, deux mois plus tard, une forme de résistance très particulière à l'infection. En effet, l'inoculation d'une dose massive de bacilles tuberculeux humains virulents détermine, au point ou elle est faite, un nodule qui n'apparaît que trois ou quatre semaines plus tard. Ce nodule grossit lentement, se ramollit, se vide et disparaît sans ulcérer la peau et sans déterminer le chancre d'inoculation habituel chez le cobaye. Les témoins, eux, présentent, le plus souvent, un chancre d'inoculation grand comme une pièce d'un franc. D'ailleurs la résistance locale dont il est question ne confère au cobaye traité aucune immunité générale. Cette résistance est obtenue après une seule injection intraveineuse. Les expériences en cours nous apprendront si des injections répétées sont capables de produire une immunité plus forte."

Durand en *Vaudremer* (14) hebben daarna onderzoekingen gedaan met tuberculeus materiaal. 10 cc. etter uit een koud absces wordt met steriel zand fijngewreven en daarna met een gelijke hoeveelheid physiologische zoutsolutie gemengd, door papier gefiltreerd en vervolgens door *Chamberland*-filter L_3. Het filtraat wordt in het luchtledig teruggebracht tot het eerste volumen. Deze vloeistof wordt bij twee caviae (♂ en ♀) ingespoten in de buikholte. Ze krijgen eenige dagen na elkaar telkens 1 cc.

Het wijfje blijft gezond. Bij het mannetje ontstaat een linkszijdige orchitis en vergroote inguinale klieren. Bij openen van den testikel stroomt rijkelijk etter af, waarin vele typische tuberkelbacillen. Twee caviae worden onderhuids ingespoten met 1 cc. van den etter. Zes dagen later vertoonen zij een typischen tuberculeuzen knobbel op de plaats van inspuiting.

Het mannetje sterft 114 dagen na de laatste inspuiting en vertoont bij de sectie een uitgebreide tuberculose (15). Bij de caviae, die met den etter uit den testikel waren ingespoten, ontstond drie weken na inspuiting een verweekingshaard op de entplaats. Etter uit dezen haard, gemengd met 5 cc. physiologisch water, wordt gefiltreerd door *Chamberland*-filter L_3 en uitgezaaid op voedingsbodem volgens *Dorset*. Na 25 dagen ontstond een cultuur van typische tuberkelbacillen.

Één der caviae, die met etter uit den testikel was ingespoten, sterft 42 dagen na inspuiting aan verkazende tuberculose.

Valtis (8, 9, 10 en 11) heeft, na de eerste mededeeling van *Vaudremer* en ook later, dezelfde proeven gedaan met tuberculeus materiaal (etter, sputum) en met culturen van tuberkelbacillen op glycerine bouillon.

1. **Sputum.** Bacillenhoudend sputum wordt 3 dagen bewaard bij 37°. Van het sediment wordt 5 cc. gemengd met 45 cc. physiologisch water, daarna gefiltreerd door infusoriënaarde en vervolgens door *Chamberland*-filter L_2. Enkele druppels van het filtraat worden uitgezaaid op voedingsbodems. Deze uitzaaiingen bleven steriel.

Het filtraat wordt, met dosis 5 cc., ingespoten bij twee caviae (één subcutaan, één intraperitoneaal). Later met filtraten van andere sputa 2 caviae (5 cc.) en 6 caviae (10 cc.). Sommige dieren vertoonden kort na de inspuiting een lichte zwelling der regionaire lymphklieren. Bij 6 caviae, die 64—110 dagen na de inspuiting stierven of gedood werden, kon *Valtis* een lichte zwelling der regionaire klieren waarnemen; in de longen waren ontstekingshaarden, waarin tuberkelbacillen. Bovendien waren de tracheobronchiale klieren vergroot, waarin

eveneens soms zuurvaste bacillen. Twee van deze caviae waren sterk vermagerd.

2. **Etter.** 2 à 3 cc. etter uit tuberculeuze mesenteriale klier van een aap wordt met de dubbele hoeveelheid physiologisch water gemengd en 3 dagen in gesloten kolfje bij 37° bewaard. Na centrifugeeren wordt 5 cc. van het sediment vermengd met 45 cc. physiologisch water, gefiltreerd door infusoriënaarde en *Chamberland*-kaars L_2.

10 cc. van het filtraat wordt bij 2 caviae ingespoten (één onderhuids, één intraperitoneaal). Eén cavia sterft 37 dagen na de inspuiting. De liesklieren zijn beiderzijds gezwollen, het sterkst aan den kant van de inspuiting. In deze klieren werden tuberkelbacillen gevonden.

De sublumbale- en tracheobronchiale klieren zijn eveneens vergroot. In een long is een kleine ontstekingshaard, die lange en gegranuleerde tuberkelbacillen bevat.

3. **Culturen.** ± 2 maanden oude glycerine-bouillonculturen worden gefiltreerd; 2 cc. cultuur wordt gemengd met 48 cc. physiologisch water, 3 dagen bewaard bij 37° en daarna gefiltreerd door *Chamberland*-filter L_2, na toevoegen van een cultuur van vogelcholera om de dichtheid van de kaars te contrôleeren. De uitzaaiingen van het filtraat op voedingsbodems bleven steriel. Twee caviae worden met 10 cc. van het filtraat onderhuids ingespoten. Bij één van deze, die 144 dagen na de inspuiting sterft, worden ook hier in de rechter long kleine haardjes gevonden met tuberkelbacillen, terwijl eveneens de tracheobronchiale klieren vergroot zijn. Bij één cavia, die met het filtraat van een 3 weken oude cultuur werd ingespoten, worden in de regionaire klieren enkele typische tuberkel-

bacillen gevonden. Zijn lotgenoot had bij de sectie (84 dagen na de inspuiting) een haard in de bovenkwab der rechterlong en vergroote tracheobronchiale klieren.

Valtis concludeert uit de bovengenoemde proeven, dat de filtraten van tuberculeus materiaal, na inspuiting bij caviae, steeds dezelfde afwijkingen veroorzaken, namelijk:

1. kortdurende zwelling der regionaire klieren;
2. hepatisatie van gedeelten van de longen, waarin tuberkelbacillen;
3. vergrooting der tracheobronchiale klieren.

Na deze eerste mededeelingen zijn talrijke proeven genomen, waarvan we de resultaten kort zullen noemen. De meeste onderzoekers deden de onderzoekingen op dezelfde wijze als *Valtis*, met name werd het filtraat steeds uitgezaaid op voedingsbodems, om de dichtheid der kaarsen te contrôleeren. Meestal werd aan het te filtreeren materiaal een cultuur van bacteriën toegevoegd.

Vannucci (18) heeft, met filtraten van tuberculeuzen etter, die te voren met physiologische zoutsolutie was verdund, bij caviae tuberculose kunnen verwekken, waarbij tuberkelbacillen konden worden aangetoond.

In het referaat vond ik niet vermeld of de atypische vorm der tuberculose optrad of dat de gewone verkazende tuberculose werd gevonden.

Arloing en *Dufourt* (21) deden proeven met tuberculeuze produkten en culturen van tuberkelbacillen. De proefdieren werden allen binnen 6 weken gedood. Met tuberculeus materiaal werden 5 series proeven genomen, met culturen 3. Van de eerste waren 4 positief, van de laatste 1, in zooverre, dat in

de verschillende klieren zuurvaste staafjes konden worden aangetoond, zonder dat ergens een tuberculeuze verandering te vinden was.

In de longen en milt werden, in tegenstelling met *Valtis*, nooit bacillen gevonden, wat de schrijvers meenen te moeten toeschrijven aan den korten duur der infectie. Ze besluiten, dat de met filtraat ingespoten caviae lymphklierveranderingen vertoonen zonder verkazing, die progressief vanaf de plaats van inspuiting tot aan de submaxillaire klieren optreden.

Arloing, Dufourt en *Malartre* (22) onderzochten de filtraten van tuberculeuze produkten, afkomstig van kinderen. Verschillende filtraten werden bij 30 caviae ingespoten. Bij 16 caviae was het resultaat geheel negatief. Bij de overige werd een positief resultaat verkregen. De filtraten werden òf direct na de filtratie òf na 48 uur bewaren bij 37° ingespoten. De laatste gaven meer positieve resultaten dan de eerste.

In 12 gevallen werden macroscopisch nergens tuberculeuze afwijkingen gevonden, doch in de lymphklieren en in één geval ook in de milt, werden lange gegranuleerde zuurvaste bacillen gevonden.

In de 2 overige gevallen ontstond een nodulaire tuberculose, die geheel overeenkwam met die, welke ontstaat na inspuiting van ongefiltreerd materiaal; doch ook hier was geen primaire haard op de plaats van inspuiting. De uitzaaiingen der filtraten op voedingsbodems bleven steriel.

Werden de proefdieren niet gedood, dan vermagerden ze 3 à 4 maanden na de infectie, werden suf, liepen waggelend, aten niet meer en stierven ten slotte cachectisch. Bij de sectie

bleken de inwendige organen niet veranderd, doch in de lymphklieren waren soms zuurvaste bacillen.

Durand en *Charchanski* (20) hebben het exsudaat van een pleuritis serofibrinosa tuberculosa gefiltreerd door *Chamberland*-filter L_3 en konden 3 weken na de inspuiting bij caviae in de lymphklieren bij de milt, die gezwollen waren, typische tuberkelbacillen aantoonen. Overigens werden geen afwijkingen gevonden. Eveneens filtreerde *Veber* (25) pleuritisch exsudaat, dat ontstond bij een patient met een kunstmatigen pneumothorax. Hij zag in het exsudaat korte gegranuleerde en zelfs stof-kleine deeltjes en meende, dat deze den filter zouden kunnen passeeren. Het exsudaat bevatte eerst vele bacillen, doch de laatste 4 maanden vóór de proefneming niet meer. 15 cc. van het exsudaat (purulent) wordt met 45 cc. physiologisch water gemengd en 3 dagen bewaard bij 37°; daarna gefiltreerd door *Chamberland*-filter L_2. 15 cc. van het filtraat wordt onderhuids bij twee caviae ingespoten. Ongeveer 4 maanden na de inspuiting werden bij de sectie alleen vergroote tracheobronchiale klieren gevonden, waarin bij de eene cavia enkele zuurvaste granula, bij de andere typische bacillen. In de regionaire klieren en in de longen werden geen afwijkingen waargenomen.

Later vond *Nasta* (50) met pleuritisch exsudaat, waarin geen tuberkelbacillen te vinden waren het volgende: bij sommige dieren was het resultaat geheel negatief; bij andere werden in de regionaire klieren en in de tracheobronchiale klieren vele zuurvaste staafjes gevonden. De tracheobronchiale klieren waren meest sterk vergroot, ook in die gevallen, waarbij geen bacillen aangetoond werden.

Ionesco en *Bonciu* (70) meenen het resultaat van *Nasta* te kunnen bevestigen. Van de 2 caviae, die werden ingespoten met filtraat van sereus exsudaat, gefiltreerd door *Chamberland*-filter L_3 zonder druk, stierf één 60 dagen na de inspuiting zeer cachectisch. Alleen in de mesenteriale- en tracheobronchiale klieren werden enkele weinige zuurvaste bacillen gevonden. Bij de andere cavia was het resultaat negatief.

Titu Vasiliu en *Iriminiou* (27) deden onderzoekingen met filtraten van culturen verkregen van materiaal uit lymphogranulomen of tuberculeuze organen. Ze konden daarbij vaststellen, dat de afwijkingen, die bij de caviae optreden na inspuiten van filtraten lymphogranulomateus materiaal dezelfde waren als die, welke ontstaan met filtraat van tuberculeus materiaal.

Mlle Togounoff (53) onderzocht de filtraten van culturen op glycerinehoudende en glycerinevrije milieux, gemaakt van tuberculeuze producten. Eenmaal ontstond na uitzaaiing van het filtraat van een weinig virulente cultuur (op aardappelbouillon) een cultuur van typische tuberkelbacillen.

Inspuiting van filtraat van weinig virulente stammen op glycerinevrije milieux veroorzaakte geen tuberculose. Bij 3 caviae werden in de klieren enkele zuurvaste staafjes gevonden. Virulente stammen op dezelfde voedingsbodems gaven vrijwel dezelfde resultaten. De inspuiting van filtraat van virulenten stam op glycerinehoudend milieu, veroorzaakte bij één cavia hypertrophie en induratie der mesenteriale- en tracheobronchiale klieren; in de longen waren grijze tuberkels.

Na inspuiting van filtraat van gehomogeniseerd sputum

(dosis 1.5—5 cc. onderhuids) werden (56) slechts éénmaal zuurvaste bacillen en granula in de organen gevonden. Wel waren steeds de tracheobronchiale klieren vergroot. Regionaire lymphklierzwelling werd éénmaal waargenomen. Overigens waren de resultaten geheel negatief, behalve bij één cavia, welke intracardiaal was ingespoten en die in de longen kleine grijze induraties vertoonde, waarin zuurvaste korrels.

In een tweede serie werden 3 caviae in de voorste oogkamer ingespoten, één tevens subconjunctivaal en één intraperitoneaal. De laatste werd $4^1/_2$ maand na de inspuiting gedood en had in de rechter lies een kaashaard en eveneens een verkaasde klier bij de lever. In beide werden vele zuurvaste bacillen gevonden, doch de uitzaaiing van den etter op aardappelglycerine bleef steriel. Inspuiting van deze verkaasde klieren bij een cavia veroorzaakte een primairen haard, waarin zuurvaste bacillen. Vijf maanden later werd het dier gedood en vertoonde zwelling der lumbale klieren aan den kant van inspuiting en sterke vergrooting van de tracheobronchiale klieren. Zuurvaste bacillen werden niet gevonden. Zes maanden na inspuiting van deze klieren bij een cavia konden enkele losliggende zuurvaste bacillen in de klieren gevonden worden. Bij verschillende proefdieren werden afwijkingen in de longen en folliculaire reactie in de milt waargenomen, zonder dat in deze organen zuurvaste bacillen werden aangetoond.

Het filtraat van tuberculeuze organen van een cavia veroorzaakte (57) bij een cavia, die $2^1/_2$ maand na inspuiting gedood werd, een algemeene zwelling der lymphklieren en in de longen grijze tuberkels. Inspuiting van de organen bij 2 caviae veroorzaakte een abces en snel cicatriseerend ulcus

op de plaats van inspuiting. Een andere cavia vertoonde harde gezwollen regionaire lymphklieren met verkazing, vergroote tracheobronchiale klieren, vergroote milt met grove verkaasde tuberkels en harde tuberkels in de longen.

Overal werden in deze afwijkingen zuurvaste bacillen gevonden; $3^1/_2$ week na uitzaaiing van de kaas uit een klier op glycerineaardappel ontstond een cultuur van tuberkelbacillen.

Evenals in de beide gevallen van *Arloing* en *Dufourt* (zie boven), vinden we hier bij de proefdieren duidelijke tuberculeuze veranderingen. Ook *Valtis* (24) had reeds dergelijke resultaten verkregen. Hij spoot 2 caviae intraperitonaal in met 5 cc. filtraat; bij één vond hij 12 dagen na de inspuiting hypertrophie der tracheobronchiale klieren, waarin vele bacillen; bij de andere was het resultaat negatief. Het filtraat was 24 uur in de ijskast bewaard. Bij een cavia, die met filtraat was ingespoten, dat 8 dagen in de ijskast bewaard was, vond hij 13 dagen na de inspuiting tuberkels op het omentum, adenitis onder de milt en zwelling der tracheobronchiale klieren met vele bacillen.

In een andere proefneming (23) verkreeg hij het volgende: 3 konijnen krijgen intraveneus ongeveer 4000 tuberkelbacillen (T.B.); 14 dagen daarna worden de dieren gedood en worden de milten, die macroscopisch geen afwijkingen vertoonen, fijngewreven, met physiologisch water gemengd en daarna gefiltreerd, door *Chamberland*-filter L_2. Twee caviae krijgen 15 Oct. '25 onderhuids 15 cc. van het filtraat en den volgenden dag 10 cc. (filtraat bewaard in ijskast). 23 Januari 1926 sterft een cavia; bij de sectie: milt sterk gezwollen, vertoont haemorrhagische puntjes en verspreide kaashaarden;

tracheobronchiale klieren kersgroot; in de longen typische tuberculeuze granulaties. In de brei overal vele bacillen. 25 Januari 1926 wordt de andere cavia gedood. Milt lijkt goed, op omentum twee kleine kaashaarden, tracheobronchiale klieren vergroot. In beide vele tuberkelbacillen.

Nélis (45, 54) heeft nagegaan of in urine van patienten met urogenitaal-tuberculose ook filtreerbare elementen van den tuberkelbacil voorkwamen. Hij spoot daartoe filtraat van onverdunde urine in bij caviae en kon dezelfde verschijnselen aantoonen als *Valtis*. Eén cavia, die 30 dagen na de inspuiting van 10 cc. filtraat stierf, had in de tracheobronchiale klieren talrijke zuurvaste staafjes, die na inspuiting bij caviae geen tuberculose veroorzaakten; doch bij deze dieren waren wel in de tracheobronchiale klieren enkele zuurvaste staafjes te vinden.

Tenslotte onderzochten *Bonciu* en *Ionesco* (69) het bloed van patienten met miliaire tuberculose en meningitis tuberculosa. Acht caviae werden met bloed ingespoten: twee stierven cachectisch en hadden bacillen in de mesenteriale klieren, één had gegeneraliseerde tuberculose; Acht caviae werden met door *Chamberland*-filters L_2 en L_3 gefiltreerd bloed ingespoten. Twee vertoonden de atypische tuberculose (één cachexie, één alleen enkele zuurvaste staafjes in de klieren) en één gegeneraliseerde tuberculose. Het resultaat met bloed en met filtraat van bloed is dus hetzelfde, zoodat hier geen duidelijk onderscheid is tusschen de pathogeniteit van het filtreerbare virus en de typische bacillen.

Boquet, Nègre en *Valtis* (26) hebben het gedrag van de met filtraten behandelde caviae nagegaan ten opzichte van intradermale inspuiting van tuberculine (0.1 cc. $^1/_{10}$) en ten

opzichte van inspuiting van virulente tuberkelbacillen. Ze komen daarbij tot de slotsom, dat de dieren onregelmatig gevoelig zijn voor de tuberculine (zooals *Valtis* (8) vroeger ook reeds had waargenomen. Bij de onderzoekingen van *Veber* (25) was de tuberculine-reactie steeds negatief en *Mlle Togounoff* zag nu eens, dat deze negatief was (56), dan weer bij sommige dieren zwak positief (57).)

Zij vinden een duidelijken weerstand tegen de inspuiting van 0.0001 mgr. zeer virulente bovine tuberkelbacillen, die gebonden blijkt aan de aanwezigheid van de atypische tuberculose, zooals die beschreven is. Zij meenen dit te kunnen bewijzen door mede te deelen, dat de caviae, die eerst met filtraat waren ingespoten, na 140 en 164 dagen stierven, terwijl de dieren, die alleen met bacillen waren behandeld 50—60 dagen na de inspuiting stierven. Van de caviae, die alleen met filtraat waren geënt, vertoonde één bij de sectie zeer groote tracheobronchiale klieren, waarin tuberkelbacillen, die na inspuiting bij 2 caviae virulent bleken. Er wordt niet vermeld welke afwijkingen deze dieren vertoonden!

Popper en *Raileano* (59) hebben caviae, die met filtraat waren behandeld, ingespoten met 120 tuberkelbacillen, doch konden geen duidelijken weerstand opmerken. De caviae stierven even spoedig, als de dieren, die alleen met 120 bacillen waren ingespoten.

Debré Lelong en *Bonnet* (39) konden bij caviae, die eerst met het filtraat van een cultuur van tuberkelbacillen waren ingespoten, door een tweede inspuiting van een filtraat, dat op dezelfde wijze verkregen was, op de entplaats een ulcus zien ontstaan, dat snel genas.

Er werd geen lymphklierzwelling waargenomen en de algemeene toestand der caviae bleef goed. Eén der dieren werd gedood en vertoonde geen afwijkingen. Ze vergelijken dit met het verschijnsel van *Koch* en het phenomeen van *Arthus*.

Door het gedrag der dieren ten opzichte van tuberculine gedurende den geheelen tijd van waarneming nauwkeurig na te gaan, hebben *Arloing* en *Dufourt* (38) gemeend, behalve de reeds beschreven vormen (*a*. progressieve tuberculose met verkazing zonder primairen haard; *b*. tuberculisatie, welke òf alleen hypertrophie der trachebronchiale klieren veroorzaakt met zuurvaste staafjes in de klieren, òf de dieren doet sterven aan cachexie) een derden vorm te kunnen onderscheiden, den z.g. „goedaardigen vorm", waarbij alleen door de tuberculinereactie kan worden aangetoond, dat zich in het lichaam een tuberculeuze infectie afspeelt. De dieren blijven steeds gezond; bij de sectie vertoonen ze noch macroscopisch, noch microscopisch afwijkingen.

Bij de vormen *a* en *b* verloopt de tuberculinereactie zoo, dat na een antiallergische periode van 20 dagen, een allergie optreedt, die tot aan den dood (60—90 dagen na de infectie) blijft bestaan. Bij den „goedaardigen vorm" duurt de antiallergische periode 24 dagen. Na langzaam duidelijker worden der reactie, verdwijnt deze weer 45 dagen na de eerste positieve reactie. Bij contrôle-caviae, die met ongefiltreerd materiaal waren ingespoten, duurde de antiallergische periode 12—15 dagen en trad de allergie stormachtig op, om tot kort voor den dood te blijven bestaan.

Deze derde vorm nu, meenen *Arloing* en *Dufourt*, wordt veroorzaakt door een zg. „labiel virus". Ze hebben dit „virus"

aan electrischen stroom en ultra-violette stralen blootgesteld en konden het daardoor verzwakken (46). Blootgesteld aan de omgeving van het laboratorium, konden ze waarnemen, dat, wanneer het filtraat bewaard werd in afgesloten fleschjes, beschut tegen zonlicht, dit labiele virus nog na 43 dagen infectieus bleef (47).

Durand, Ouzy en *Benda* (40) gingen het gewichtsverloop na om te zien, of zich een tuberculeuze infectie afspeelde. Ze kwamen daarbij tot gelijke resultaten als *Arloing* en *Dufourt*.

Nadat eerst een periode van belangrijk gewichtsverlies optrad, overeenkomend met de antiallergische periode, nam daarna het gewicht steeds toe (allergische periode).

Daar het filtreerbare virus porceleinfilters kan passeeren, heeft men nagegaan of dit ook natuurlijke filters, met name de placenta, kon passeeren, zoodat dus niet alleen het moederdier, doch ook het foetus de afwijkingen vertoont.

Calmette, Valtis, Nègre en *Boquet* (17) deden daartoe de volgende proeven:

I. Twee caviae worden intraperitoneaal geïnfecteerd met 20 cc. emulsie van: 300 mgr. gedroogde levende tuberkelbacillen (T.B.), 40 cc. physiologisch water, 10 cc. emulsie van broodkruimels en 10 cc. glycerine. Nadat de dieren gestorven zijn, wordt het peritoneaalexsudaat gefiltreerd door *Chamberland*-filter L_2. Bij uitzaaiing op voedingsbodems blijft het filtraat steriel. Na 48 uur bewaren bij 37° worden 11 caviae onderhuids met 1 cc. ingespoten en later nog met 1, 2 en 8 cc.

Drie caviae stierven na 4—6 weken en vertoonden de bovenbeschreven afwijkingen. Brei uit een vergroote tracheo-

bronchiale klier wordt bij een cavia ingespoten, welke na 3 maanden gedood wordt en die behalve vergroote inguinale- en sublumbale klieren ook een verkaasde tracheobronchiale klier vertoonde, waarin vele zuurvaste bacillen.

Een vierde cavia wierp 2 jongen. Men vond bij een van deze, die direct na de geboorte gedood werd, een erwtgroote mesenteriale klier, waarin tuberkelbacillen konden worden aangetoond.

II. Vlies van 20 dagen oude bouilloncultuur, T.B. wordt in 50 cc. physiologisch water geëmulgeerd, 48 uur bij 38° bewaard en daarna gefiltreerd.

Een zwangere cavia krijgt eerst onderhuids 20 cc. van het filtraat, na 3 en 9 dagen nog respectievelijk 15 en 10 cc.

20 dagen na de eerste injectie werpt zij 4 jongen. Eén werd direct gedood. Bij de sectie werd een vergroote klier onder de lever gevonden, waarin men in hoopjes typische tuberkelbacillen vond.

Arloing en *Dufourt* (16) deelen mede de bovengenoemde bevindingen te kunnen bevestigen. Ze konden bij het foetus van een zwangere cavia, die onderhuids met filtraat van den etter van een lymphklier was ingespoten, lange gegranuleerde zuurvaste staafjes in de lumbale klieren aantoonen. Het moederdier vertoonde hypertrophie en verkazing der meeste klieren!

Later deelt *Valtis* (55) nog mede, dat een ♀ cavia, die met filtraat van tuberculeus materiaal was ingespoten, ongeveer 1 maand na de inspuiting 3 jongen wierp, waarvan één direct gedood werd; deze vertoonde een erwtgroote klier onder de lever, waarin talrijke tuberkelbacillen. Overenting van deze

klier bij 2 caviae, veroorzaakte bij één gezwollen tracheobronchiale klieren, waarin zuurvaste bacillen.

Rabinowitsch-Kempner (64) vond eenmaal na herhaalde achtereenvolgende overenting van organen van caviae, waarvan de eerste in de reeks met organen van een jong, geboren uit een konijn, dat met filtraat was ingespoten, een typische tuberculose. Het moederdier vertoonde geen afwijkingen.

Van groote beteekenis is het of dergelijke afwijkingen ook bij zuigelingen gezien worden. Immers tot nu toe was men algemeen van meening, dat de kinderen van tuberculeuze moeders bijna steeds gezond geboren worden. Indien het filtreerbare virus de placenta kan passeeren, is het mogelijk, dat deze kinderen ook de atypische tuberculose vertoonen.

Arloing en *Dufourt* (36, 37) konden bij een praematuur (7 maanden) geboren kind van ernstig tuberculeuze moeder, dat 1 maand na de geboorte stierf, zonder tuberculeuze afwijkingen te vertoonen, in de mesenteriale klieren tuberkelbacillen vinden. Het filtraat van deze klieren veroorzaakte na inspuiting bij caviae progressieve cachexie en eveneens werden zuurvaste staafjes in de klieren gevonden. De mesenteriale klieren werden *niet* ongefiltreerd ingespoten!

Arloing [1]) meent, dat vele kinderen (7 %) van tuberculeuze moeders sterven aan deze atypische tuberculose, meestal onder het beeld der „progressieve cachexie".

Calmette, Valtis en *Lacomme* (42) onderzochten 100 kinderen van 99 tuberculeuze moeders. Deze waren direct na de geboorte van de moeders verwijderd. Er stierven 21 kin-

---

[1]) Ned. Tijdschrift v. Geneesk. 1927, II, blz. 309.

deren, waarvan 9 geseceerd werden. Bij drie van deze konden in de klieren enkele bacillen gevonden worden. Inspuiting van organen (milt, lever, klieren) veroorzaakte bij caviae negen maal hypertrophie der klieren, met zuurvaste staafjes.

Om deze transplacentaire besmetting met filtreerbaar virus te imiteeren hebben *Arloing* en *Dufourt* (43) pasgeboren caviae ingespoten met filtraten van tuberculeus materiaal (etter, sputum, lumbaalvocht). De meeste dieren bleven gezond en vertoonden bij de sectie geen afwijkingen, noch bacillen in de klieren. Een cavia, die iets in gewicht was achtergebleven bij een normaal jong uit hetzelfde nest, werd gedood en had enkele bacillen in de tracheobronchiale klieren; een andere vermagerde en stierf cachectisch. In de klieren werden talrijke bacillen gevonden. Macroscopisch geen afwijkingen.

Zij meenen door dit onderzoek aangetoond te hebben, dat de klinische verschijnselen dezelfde zijn als die, welke bij transplacentaire besmetting gezien worden, nl.: 1. normale groei; 2. eerst achterblijven in gewicht, dat later weer ongedaan gemaakt wordt („labiel virus"?); 3. hypotrophie tot cachexie.

Valtis (55) acht het niet waarschijnlijk, dat het filtraat zich gedraagt alsof enkele tuberkelbacillen zijn ingespoten. Om dit na te gaan spoot hij een bepaald aantal bacillen (4, 40, 400) in, die hij verkreeg door verdunning van culturen. Alle proefdieren stierven echter aan gegeneraliseerde tuberculose. De zuurvaste staafjes, die in de klieren van met filtraat behandelde caviae gevonden worden, veroorzaken geen typische tuberculose, doch steeds weer den atypischen vorm.

Inderdaad hebben ook andere onderzoekers dit kunnen be-

vestigen (*Arloing, Dufourt* en *Malartre* (44), *Mlle Togounoff* (56) en *Nélis* (45, 54)).

Zooals we boven (blz. 31) evenwel zagen, verkreeg *Rabinowitsch-Kempner* na herhaalde overenting weer typische tuberculose bij de caviae.

De laatste onderzoekingen van *Valtis, Nègre, Boquet* en *Mlle Certonciny* (60) gaven bij herhaalde overenting ook niet steeds de atypische tuberculose. Intraperitoneale inspuiting van filtraten van tuberkelbacillen-culturen (op *Sauton*) geeft na 2 dagen zuurvaste staafjes in het exsudaat en in de mesenteriale klieren. Overenting dezer zuurvaste staafjes gaf opnieuw hetzelfde beeld, zelfs na vijfmaal overenten. Eenmaal werd echter het volgende waargenomen: 14-12-'26: 10 cc. filtraat intraperitoneaal bij een cavia ingespoten: 20-12-'26 wordt het dier gedood. Peritoneaal vocht en milt worden bij 3 caviae ingespoten; twee worden 10 dagen later gedood: één van deze heeft een gezwollen milt, waarin bacillen. De derde wordt 29-6-'27 gedood. Geen tuberculose, maar vergroote tracheobronchiale- en mesenteriale klieren met vele bacillen. De milt wordt subcutaan bij 2 caviae ingespoten. Een van deze heeft 2 Augustus een abces op de entplaats. De etter, waarin geen bacillen, wordt bij twee caviae subcutaan ingespoten (A en B). A heeft eind September een noot-groote liesklier. 22 Nov. wordt deze uitgesneden en de brei wordt bij 4 caviae ingespoten. Een van deze sterft 13 Dec. en heeft normaal groote klieren, waarin zeer vele bacillen.

Cavia A wordt 13 Dec. gedood. Bij de sectie: harde, niet verkaasde, liesklier; vergroote sublumbale klier; enkele tuberkels in de milt en de longen, waarin tuberkelbacillen. Voor-

namelijk treedt hier dus een langzaam verloopende sclereuze lymphkliertuberculose op met streng gelocaliseerde tuberkels in de organen. Niet vermeld wordt hoe het beloop geweest is bij cavia B.

Tenslotte dient vermeld, dat het filtraat werd gebruikt als diagnostisch hulpmiddel voor het vaststellen van een tuberculose bij proefdieren en menschen, welke door filtreerbaar virus veroorzaakt wordt. Intradermale inspuiting van filtraat geeft soms een positieve reactie, terwijl de tuberculine reactie negatief is; doch ook al wordt de tuberculine reactie positief, dan toch is de reactie met filtraat vroeger positief en sterker.

Gezonde neonati reageerden soms wel op intradermale inspuiting van filtraat en niet op tuberculine. Bij neonati van tuberculeuze moeders kon geen duidelijk verschil tusschen beide reacties worden waargenomen.

Volgens sommige onderzoekers berust het reageeren met filtraat op een besmetting met het filtreerbaar virus van den tuberkelbacil. Toch zijn de medegedeelde proeven nog te weinig in aantal om er een duidelijke conclusie uit te kunnen trekken (*Popper, Slobosiano* en *Raileanu* (51), *Nélis* (58), *Sterling-Okuniewski* (71), *Popper* en *Raileanu* (59).)

Tegenover deze positieve resultaten staan nu de onderzoekingen van anderen, die deze vondsten niet hebben kunnen bevestigen.

Allereerst heeft *Fessler* (33) aan een groot materiaal de bevindingen der Fransche onderzoekers gecontroleerd en kwam daarbij tot geheel afwijkende uitkomsten. Hij onderzocht of het mogelijk was tuberkelbacillen te kweeken op de voedings-

bodems door *Vaudremer* aangegeven en de filtraten van deze culturen en van tuberculeus materiaal voort te kweeken. Hij verkreeg negatieve resultaten. Enkele keeren werd wel een wolkachtige troebeling in de filtraatculturen waargenomen, doch bij contrôle bleek deze te ontstaan door het toevoegen van pepton. Werd zuivere pepton „Roche" gebruikt, dan kon nooit een neerslag worden gezien, zoodat *Fessler* meent, dat de door *Vaudremer* beschreven filtraatculturen berusten op verontreinigingen met pepton en niet op filtreerbaar tuberculeus materiaal.

Gaf dus het kweeken van filtreerbare elementen een negatief resultaat, eveneens verkreeg *Fessler* bij het onderzoek van de pathogeniteit der filtraten geheel negatieve uitkomsten. Hij behandelde 24 dieren (19 caviae en 5 konijnen) met filtraten van verschillende culturen van tuberkelbacillen (typus humanus en typus bovinus) en 2 caviae met filtraat van tuberculeus materiaal; 3 caviae en 1 konijn werden ingespoten met de neerslagen, verkregen in de bovengenoemde proeven. Van deze 26 dieren stierven er 2 (1 cavia en 1 konijn); de overige werden na een waarneming van 10—20 weken gedood. Bij de sectie waren alle vrij van tuberculose.

Het gestorven konijn bleek aan een intercurrente ziekte bezweken te zijn; de cavia, die met 0.5 cc. filtraat van cultuur T.H. was ingespoten, bleek een algemeene, deels verkazende, deels induratieve tuberculose van alle lymphklieren, in 't bijzonder der tracheobronchiale klieren te hebben; bovendien fibreuze haarden in de longen. Geen haard op de plaats van inspuiting. De lotgenoot bleef gezond.

Fessler houdt dit ééne positieve resultaat voor een spontane aërogene infectie, omdat andere exemplaren uit hetzelfde nest, die niet met filtraten waren ingespoten, ook spontaan tuberculose vertoonden.

Montemartini (19) deed onderzoekingen met 86 caviae. Het gelukte hem niet, door inspuiting van filtraten van tuberculeuzen etter en sputum, tuberculose te verwekken. Hij meent de necrotische haarden, die hij in klieren, milt en subcutis vond, te moeten verklaren door de toxische werking der tuberculeuze produkten.

In ons land zijn proeven genomen door Dr. *Ruys* (61, 72), *Bijl* [1]) en *Leusden* (61); doch zij komen eveneens tot een negatief resultaat.

In het Rijks Serologisch Instituut werden door Prof. *Aldershoff* dezelfde resultaten verkregen als door *Fessler*.

Dr. *Ruys* vond eenmaal een typische tuberculose zonder primairen haard. Deze cavia was onderhuids ingespoten met 2 cc. filtraat van een emulsie van organen van een tuberculeuze cavia. Overenting van de organen veroorzaakte bij een cavia typische tuberculose, nu ook met primairen haard.

Overzien we thans nog eens het geen door anderen betreffende de filtreerbaarheid van het tuberculose virus gevonden is, dan blijkt, dat naast de talrijke onderzoekingen der Franschen, die positieve uitkomsten bij de proefdieren verkregen, andere staan, die deze resultaten niet hebben kunnen bevestigen.

---

[1]) Vergadering der Tuberculose-Studie-commissie, October 1927.

De verschijnselen, die de Fransche onderzoekers zagen optreden, zijn niet steeds dezelfde. In enkele gevallen vertoonen de dieren een typische verkazende tuberculose, soms met, doch meestal zonder dat een primaire haard op de entplaats ontstaat. Na korter of langer tijd sterven de dieren aan deze infectie.

In de meerderheid der waarnemingen treedt een atypische tuberculose op, waaraan de dieren meestal niet ten gronde gaan. Soms echter sterven ze onder het beeld van een progressieve cachexie, zonder dat bij de sectie duidelijke veranderingen gevonden worden.

Deze atypische tuberculose is gekenmerkt door een hypertrophie van de lymphklieren, voornamelijk der tracheobronchiale lymphklieren, in welke meestal zuurvaste staafjes gevonden worden, doch typische tuberkels treden maar weinig op en dan nog streng gelocaliseerd in een of ander orgaan, meestal de longen.

Overenting van organen van deze dieren veroorzaakt steeds weer dezelfde atypische tuberculose, hoewel men in enkele gevallen na herhaalde overenting in zekere mate een terugkeeren tot de typische tuberculose heeft waargenomen.

Dezelfde verschijnselen treden op bij de foetus van de dieren, die met filtraten zijn ingespoten, zoodat men daardoor bewezen acht, dat er een filtreerbaar virus transplacentair op het foetus is overgedragen. Men heeft dit ook bij neonati van tuberculeuze moeders nagegaan door directe bezichtiging der lymphklieren en vond daarin zuurvaste staafjes. Bovendien heeft men de organen van deze kinderen bij caviae ingespoten, die de atypische tuberculose vertoonden.

Men meent daardoor bewezen te hebben, dat ook bij den mensch dit filtreerbaar virus een rol speelt bij die kinderen, die, geboren uit tuberculeuze moeders, kort na de geboorte sterven aan hypotrophie, zonder dat afwijkingen in de organen kunnen worden aangetoond.

HOOFDSTUK II

EIGEN ONDERZOEKINGEN

Vóór de beschrijving der proefnemingen enkele opmerkingen.

In de literatuur vond ik niet altijd duidelijk vermeld op welke wijze de proeven gedaan waren. Het meest nauwkeurig zijn de opgaven van *Valtis*. Ik heb me daarom bijna steeds aan zijn mededeelingen gehouden.

Voor de filtratie gebruikte ik nieuwe *Chamberland*-kaarsen L_2 en L_3. De kaars, waarin met een gummiring een glazen trechtertje bevestigd is, is met een doorboorde gummikurk in een zuigkolfje geplaatst.

Het te filtreeren materiaal wordt in het trechtertje geschonken, waarna de filtratie plaats vindt door de lucht uit het kolfje weg te zuigen door middel van een waterstraalluchtpomp. [1]) De duur der filtratie was 15—30 minuten, het drukverschil bedroeg gemiddeld 30—40 cM. kwik.

Om de dichtheid der filters te contrôleeren, wordt aan het te filtreeren materiaal een cultuur van vogelcholera toegevoegd.

---

[1]) Ik filtreerde dus van binnen naar buiten. *Valtis* filtreert van buiten naar binnen en zuigt het filtraat onmiddellijk in een glazen pipet. De laatste methode is beter; toch heeft dit geen invloed gehad, zooals uit de resultaten blijkt.

Een gedeelte van het filtraat (2—5 cc.) wordt op verschillende voedingsbodems uitgezaaid (agar-agar, glucosebouillon, voedingsbodem volgens *Petroff*).

De rest van het filtraat wordt uit het zuigkolfje overgeschonken in wijdmondsche bruine fleschjes, die afgesloten worden met een gummikapje.

Met een recordspuit wordt het filtraat uit de fleschjes opgezogen, nadat de naald door het gummikapje is heengestoken.

De met filtraat ingespoten caviae werden in nieuwe hokken gehouden, in een omgeving waar nog nooit proefnemingen, met name met tuberkelbacillen, gedaan werden en waar geen infectie van buitenaf met tuberkelbacillen kon plaats vinden.

Zij werden vrijwel geregeld gecontrôleerd (gewicht, eventueel optredende zwelling der regionaire klieren, tuberculinereactie).

Afgezien van de caviae 3 en 4, tabel II (waarover later), vertoonden de dieren geen ziekteverschijnselen en namen steeds in gewicht toe.

Sommige stierven aan intercurrente ziekten (dikwijls pneumonie), waaruit het gewichtsverlies verklaard kon worden.

Zwelling der regionaire klieren was meestal onduidelijk en voorbijgaand. Bijzonderheden werden niet opgemerkt.

De intracutane tuberculine-reactie ($^1/_{10}$ cc. A.T. $^1/_{10}$) was bijna steeds negatief. Een enkele keer trad na 24 uur een zwak positeve reactie op, die spoedig weer negatief was. Nooit werd hierbij eenige regelmaat of samenhang met andere verschijnselen (gewichtsverlies) geconstateerd.

Op de plaats van inspuiting ontstond nooit een primaire haard, ook niet bij de caviae 3 en 4, tabel II.

Nadat de caviae gedood of gestorven waren, werden zij nauwkeurig onderzocht op eventueele afwijkingen in de organen. Meestal werden geen afwijkingen gevonden, enkele keeren geringe afwijkingen in verschillende organen, doch nooit werden duidelijke tuberculeuze veranderingen waargenomen.

Waren er veranderingen in de organen, dan werden deze geheel of gedeeltelijk tusschen twee objectglaasjes fijngewreven en van de brei uitstrijkpreparaten gemaakt. Bovendien werden steeds, ook al waren geen afwijkingen aantoonbaar, uitstrijkpreparaten van de klieren (lies-, sublumbale-, mesenteriale-, tracheobronchiale- en submaxillaire klieren) en milt gemaakt.

De preparaten werden gekleurd volgens *Ziehl-Neelsen*.

Van iedere cavia worden zoodoende 12—20 preparaten gemaakt, die nauwkeurig werden nagezien op zuurvaste staafjes.

Wanneer in een preparaat na eenige uren zoeken geen zuurvaste staafjes gevonden waren, werd het preparaat de volgende dagen nog eenige malen doorgekeken, zoodat ik vrijwel zeker was het geheele preparaat nauwkeurig te hebben doorgezocht.

De caviae, die ter contrôle met ongefiltreerd tuberculeus materiaal werden ingespoten, hield ik eveneens op een plaats, waar infectie van buitenaf niet waarschijnlijk was.

Alle caviae gebruikten gemengde voeding. In den zomer van 1927 heb ik de dieren vrijwel uitsluitend gras gegeven.

De proeven werden gedaan met culturen van tuberkelbacillen en met tuberculeus materiaal.

I. CULTUREN

2 culturen werden voor deze proefnemingen gebruikt. Beide ongeveer 2 maanden oude glycerinebouillonculturen.

2 cM³. van de cultuuremulsie, die verkregen wordt door de cultuur gedurende 1 uur in schudmachine te schudden in fleschje met glasparels, wordt met 48 cM³. steriele physiologische zoutoplossing gemengd en gedurende 3×24 uur bewaard bij 37°.

De filtratie geschiedde hier kort (± 10 min.), doch het drukverschil was hooger dan bij de andere proeven (± 50 cM. kwik).

Daar bekend was, dat beide culturen virulent waren, heb ik geen caviae met cultuuremulsie ingespoten.

De resultaten der proefnemingen geeft onderstaande tabel.

TABEL I

Proef	Cavia	Waarnemingstijd	Plaats van inspuiting	Hoeveelheid ingespoten filtraat	Filter kaars	Sectieonderzoek op tuberculose	Microscopisch onderzoek op zuurvaste staafjes
I	1	189 dagen	I.	10 cc.	L_3	—	—
	2	310 dagen	S.	10 „	L_3	—	—
II	3	1 jaar	S.	10 „	L_2	—	niet onderzocht
	4	1 jaar	I.	10 „	L_2	—	niet onderzocht
III	5	86 dagen	S.	10 „	L_3	—	—
	6	86 dagen	I.	10 „	L_3	—	—
IV	7	178 dagen	S.	10 „	L_2	—	—
	8	183 dagen	I.	10 „	L_2	—	—
V	9	1 jaar	S.	10 „	L_2	—	niet onderzocht
	10	1 jaar	I.	10 „	L_2	—	niet onderzocht
VI	11	1 jaar	S.	10 „	L_2	—	niet onderzocht
	12	1 jaar	I.	10 „	L_3	—	niet onderzocht

S. = Subcutaan. I. = Intraperitoneaal.

Opmerkingen.

Bij de proeven II, V en VI zijn de caviae in leven gelaten. Ze hebben jongen geworpen en zijn steeds gezond gebleven. Bij de sectie werden geen tuberculeuze veranderingen gevonden.

Cavia 1 vertoonde in de rechter long enkele gehepatiseerde haardjes, terwijl de longpleura gedeeltelijk met den borstwand vergroeid was.

In de uitstrijkpreparaten werden geen zuurvaste staafjes gevonden.

Een gedeelte van de haardjes wordt fijn gewreven, gemengd met physiol. zoutsolutie en bij een cavia intraperitoneaal ingespoten. 48 dagen na inspuiting sterft deze cavia. Bij de sectie werden geen tuberculeuze veranderingen gevonden, evenmin konden zuurvaste staafjes in de organen worden aangetoond.

Cavia 2 werpt den 199sten dag na de inspuiting 3 jongen, die onmiddellijk gedood worden en geseceerd. Het resultaat bij de sectie en het microscopisch onderzoek was ook hier negatief.

Cavia 7. Brei van de milt wordt subcutaan bij een cavia ingespoten.

Tijdens de waarneming gedurende 97 dagen vertoonde deze cavia geen ziekteverschijnselen, nam toe in gewicht, de regionaire klieren waren niet gezwollen en de tuberculinereactie bleef negatief. Het dier werd gedood. Bij de sectie konden geen tuberculeuze veranderingen worden aangetoond. Microscopisch onderzoek leverde een negatief resultaat.

Samenvatting.

Bij 12 met filtraat van tuberkelbacillencultuur ingespoten caviae kon geen tuberculose worden aangetoond, evenmin konden in de organen zuurvaste staafjes worden gevonden.

2 caviae (proef III) stierven aan een intercurrente ziekte, de overige bleven steeds gezond en konden langen tijd in leven worden gehouden, zonder dat zich ziekteverschijnselen vertoonden. Ze wierpen jongen, waarvan er 3 onderzocht werden, bij welke evenmin macroscopisch, noch microscopisch iets te vinden was.

Twee maal werd orgaanbrei opnieuw bij caviae ingespoten, eveneens zonder resultaat.

II. SPUTUM

Gebruikt werd sputum mucopurulentum, afkomstig van patienten met ernstige longafwijkingen. Wanneer tuberkelbacillen microscopisch werden gevonden, werd het sputum niet ongefiltreerd bij caviae ter contrôle ingespoten. Ik meen, dat dit overbodig is. Eén maal werd negatief sputum gebruikt (cavia 5, tabel II). De patiente, waarvan dit sputum afkomstig is, vertoont klinisch duidelijke tuberculeuze afwijkingen.

Het sputum wordt 3×24 uur bewaard bij 37°. Daarna gemengd met 5—10 voudige hoeveelheid physiologische zoutsolutie, krachtig geschud en vervolgens gefiltreerd. Ik heb het sputum eenige malen eerst met physiologisch water gemengd en daarna 3×24 uur bij 37° bewaard.

Meestal werd het filtraat direct bij caviae ingespoten. Daar in de literatuur (22) vermeld wordt, dat betere resultaten be-

reikt worden, wanneer het filtraat eerst 2 maal 24 uur bij 37° bewaard is, heb ik dit eenige keeren gedaan.

TABEL II

Proef	Cavia	Waarnemingstijd	Plaats van inspuiting	Hoeveelheid ingespoten filtraat	Filter kaars	Sectieonderzoek op tuberculose	Microscopisch onderzoek op zuurvaste staafjes
I	1	41 dagen	S.	3 cc.	L_3	—	—
	2	113 „	I.	3 „	L_3	—	—
II	3	65 „	S.	9.5 „	L_2	+	+
	4	95 „	I.	7.5 „	L_2	+	+
III	5	118 „	S.	5 „	L_2	—	—
IV	6	71 „	S.	5 „	L_3	—	—
	7	105 „	S.	5 „	L_3	—	—
V	8	22 „	I.	20 „	L_3	—	—
	9	91 „	S.	10 „	L_3	—	—
VI	10	68 „	I.	10 „	L_3	—	—
	11	80 „	S.	10 „	L_3	—	—
VII	12	74 „	S.	10 „	L_2	—	—
	13	74 „	S.	9 „	L_2	—	—
	14	18 „	S.	8 „	L_2	—	—
VIII	15	91 „	S.	5 cc. 4 d. later 4 cc.	L_3	—	—
	16	24 „	S.	3 cc. 4 d. later 5 cc.	L_3	—	—
IX	17	106 „	S.	10 „	L_3	—	—
X	18	27 „	S.	5 „	L_3	—	—
	19	9 „	S.	5 „	L_3	—	—
	20	20 „	S.	5 „	L_3	—	—

Opmerkingen.

Cavia 5. In het sputumpreparaat werden geen tuberkelbacillen gevonden. Daarom werd een cavia subcutaan met

2 cc. sputum ingespoten. Deze stierf na 6 weken. Bij de sectie werden geen tuberculeuze veranderingen gevonden. In de rechter long waren enkele glazige haardjes, waarin veel diplococcen, doch geen tuberkelbacillen gevonden werden, evenmin in de uitstrijkpreparaten van de overige organen.

Cavia 8. Brei van de milt wordt subcutaan bij een cavia ingespoten. 75 dagen later wordt deze gedood. Bij de sectie zijn er geen tuberculeuze veranderingen; in de preparaten worden geen zuurvaste staafjes gevonden.

Caviae 12, 13 en 14 werden ingespoten met filtraat van sputum, afkomstig van den zelfden patient, als het sputum van proef II.

PROEF X. Daar *Murphy* en *Ellis* (Journal of exp. Medicine XX) bij witte muizen een verhoogde vatbaarheid voor bovine tuberkelbacillen na behandeling met X-stralen konden aantoonen en *Morton* (Journal of exp. Medicine XXIV, p. 419), eveneens na behandeling met X-stralen bij caviae reeds 7—10 dagen na inspuiting van tuberkelbacillenhoudende urine uitgebreide verkazing kon waarnemen, heb ik getracht caviae door voorbehandeling met X-stralen gevoeliger te maken voor eventueel aanwezige filtreerbare elementen.

Caviae 19 en 20 heb ik met een tusschenruimte van 6 dagen gedurende 3 minuten bestraald (caviae in een kistje waarin ze zich niet kunnen bewegen, antikathode 25.5 cM. van den bodem van den kist verwijderd, stroomsterkte 5 milliampère, vonklengte 17 cM.), cavia 18 werd niet bestraald.

Na de bestraling werden de caviae met filtraat ingespoten.

Bij sectie gaven alle drie een negatief resultaat. Bij de bestraalde caviae waren de lymphklieren opvallend klein.

PROEF II. Cavia 3 stierf aan gegeneraliseerde tuberculose. Er was geen haard op de plaats van inspuiting ontstaan, overigens week het beeld niet af van de typische experimenteele tuberculose. Microscopisch typische tuberkelbacillen. Zijn lotgenoot werd nog 1 maand in leven gelaten, waarbij bleek, dat de tuberculine-reactie positief was. Daarna werd hij gedood.

Bij de sectie vond ik sterk gezwollen mesenteriale- en tracheobronchiale klieren: in den linker testikel was een abces. De milt was gezwollen, doch vertoonde geen tuberkels. Op het peritoneum waren enkele speldeknopgroote haardjes. In alle afwijkingen konden typische tuberkelbacillen gevonden worden. Ook hier was geen plaatselijke reactie geweest op de plaats van inspuiting. De uitzaaiing van het filtraat bleef steriel.

De miltbrei werd subcutaan ingespoten bij een cavia, die na 46 dagen stierf aan gegeneraliseerde tuberculose (zie verder tabel III, caviae 5 en 6).

Brei van de tracheobronchiale- en mesenteriale klieren en den etter uit het abces wordt met physiologisch water gemengd, daarna gefiltreerd door *Chamberland*-filter L_2. 3 caviae worden elk met 10 cc. van het filtraat subcutaan ingespoten. Deze vertoonden geen tuberculeuze afwijkingen en in de preparaten vond ik geen zuurvaste staafjes (zie tabel III, caviae 9, 10 en 11).

Tot zoover kon bij de contrôle dus geen filtreerbare vorm van den tuberkelbacil worden gevonden. Daar het toch mogelijk was, dat het sputum filtreerbare elementen bevatte, werd dit

sputum opnieuw gefiltreerd (zie tabel II, caviae 12, 13 en 14). Nu echter bleven de caviae gezond en vertoonden ook bij de sectie geen afwijkingen, evenmin was microscopisch iets te vinden.

Een broertje van den patient, waarvan dit sputum afkomstig was, bleek eveneens te lijden aan longtuberculose. Ook dit werd voor onderzoek gebruikt (zie tabel II, caviae 15 en 16). Daar het mogelijk was, dat de filtreerbare elementen zich beter ontwikkelden na bewaren bij 37°, werd bij de proeven VII en VIII het filtraat eerst respectievelijk 2 en 4 dagen bewaard in de broedstoof. Bij proef VIII werd tevens direct na de filtratie ingespoten, doch ook hier was het resultaat geheel negatief.

Samenvatting.

Bij 20 met filtraat van tuberculeus sputum ingespoten caviae, kon in 18 gevallen geen tuberculose worden aangetoond, evenmin konden in de organen zuurvaste staafjes gevonden worden.

In twee gevallen kon wel tuberculose worden aangetoond. Eén van deze caviae stierf aan typische gegeneraliseerde tuberculose; zijn lotgenoot had na 95 dagen een atypische tuberculose. Beide dieren vertoonden geen primairen haard op de plaats van inspuiting.

Bij nadere contrôle konden geen filtreerbare elementen gevonden worden.

Herhaling der proef, opnieuw door L_2-filter, leverde nu een negatief resultaat.

Van de 18 negatieve gevallen stierven er 6 (caviae 6, 10, 12, 16, 18 en 19) aan intercurrente ziekten, de overige bleven in leven en vertoonden geen ziekteverschijnselen.

Eénmaal werd orgaanbrei opnieuw bij een cavia ingespoten, eveneens met negatief resultaat.

Twee caviae werden, vóór de inspuiting met filtraat, bestraald met X-stralen, zonder dat dit invloed had; zij kregen geen tuberculose en in talrijke praeparaten konden geen zuurvaste staafjes gevonden worden.

III. OVERIG TUBERCULEUS MATERIAAL

Zooals in tabel III te zien is, werd hier verschillend materiaal gebruikt. Het etterige exsudaat werd 1 maal verdund met physiologische zoutsolutie, sereus exsudaat en urine werden niet verdund.

Orgaanbrei werd met physiologisch water gemengd.

In deze tabel zijn ook opgenomen de 3 caviae, die met filtraat van orgaanbrei zijn ingespoten, afkomstig van de met sputumfiltraat ingespoten cavia, die een atypische tuberculose vertoonde (tabel II, cavia 4).

Opmerkingen.

Caviae 1 en 4. In het microscopisch preparaat van den etter konden geen tuberkelbacillen gevonden worden. Een cavia met 2 cc. ongefiltreerden etter subcutaan ingespoten, stierf na 50 dagen aan gegeneraliseerde tuberculose.

Cavia 2 en 3. In het exsudaat werden tuberkelbacillen gevonden. Een cavia met 7 cc. exsudaat intraperitoneaal ingespoten, stierf na 30 dagen aan gegeneraliseerde tuberculose.

Cavia 5 en 6. De milt was afkomstig van de cavia, die met miltbrei van cavia 4, tabel II, was ingespoten.

Cavia 7 en 8. In de urine zijn zuurvaste staafjes gevonden.

TABEL III

Proef	Tuberculeus materiaal	Cavia	Waarnemingstijd	Plaats van inspuiting	Hoeveelheid ingespoten filtraat	Filter kaars	Sectieonderzoek op tuberculose	Mikroscopisch onderzoek op zuurvaste staafjes
I	purul. exsudaat post pneumoth. artific.	1	68 dagen	S	4 cc.	L_3	—	—
II	sereus exsudaat uit pleura	2	74 „	S	3 „	L_2	—	—
		3	74 „	S	3 „	L_2	—	—
III	pur. pleuraexsudaat, post pneumoth. artific.	4	56 „	S	4 „	L_3	—	—
IV	Miltbrei t.b.c. cavia	5	20 „	S	10 „	L_3	—	—
		6	20 „	I	10 „	L_3	—	—
V	t.b.c. urine . .	7	78 „	S	10 „	L_3	—	—
		8	78 „	S	10 „	L_3	—	—
VI	tuberculeuze organen van cavia	9	42 „	S	10 „	L_2	—	—
		10	77 „	S	10 „	L_2	—	—
		11	87 „	S	10 „	L_2	—	—

In de portie urine voor de proef gebruikt, konden geen zuurvaste bacillen worden gevonden. Cavia met 10 cc. urine subcutaan ingespoten, vertoonde opstijgende verkazende nog niet gegeneraliseerde tuberculose na 3 maanden (dus blijkbaar zeer weinig bacillen in de urine).

Bij de operatie van den patient, waarvan deze urine afkomstig was, bleek een tuberculeuze nier aanwezig te zijn.

Samenvatting.

Bij 11 met filtraat van tuberculeus materiaal ingespoten

caviae, kon geen tuberculose aangetoond, evenmin konden in de organen zuurvaste staafjes gevonden worden.

6 caviae (2, 3, 4, 5, 6 en 10) stierven aan een intercurrente ziekte, de overige bleven in leven, zonder dat zij ziekteverschijnselen vertoonden.

In 41 gevallen werden geen tuberculeuze veranderingen gevonden. Wel waren sommige klieren (voornamelijk de tracheobronchiale klieren) herhaaldelijk vergroot, doch ook bij normale caviae komen dergelijke vergrootingen dikwijls voor [1]), zoodat ik hieraan geen bijzondere waarde gehecht heb.

In de longen werden meestal geen afwijkingen geconstateerd. Enkele caviae vertoonden kleine witte of gehepatiseerde haardjes, doch nooit konden hierin zuurvaste staafjes gevonden worden.

Steeds werden de klieren en inwendige organen microscopisch onderzocht (uitstrijkpreparaten), doch nooit konden met zekerheid zuurvaste staafjes gevonden worden. In verscheidene preparaten trof ik zuurvaste korrels aan en een enkelen keer vond ik een los liggend zuurvast staafvormig element, doch nooit kon ik dit met zekerheid voor een tuberkelbacil houden.

Aan het vinden van zuurvaste korrels heb ik in 't geheel geen waarde gehecht, daar ik deze ook aantrof in uitstrijkpreparaten van organen van caviae, die niet met filtraat waren ingespoten.

---

[1]) *Kapsenburg* en *Huët*. Verslagen der Tuberculose-Studie-commissie I, pagina 30.

Bijl. Vergadering der Tuberculose-Studie-commissie, October 1927.

Zooals in de literatuur wordt beschreven en uit de preparaten, die ik in het Instituut Pasteur te Parijs zag, blijkt, dat het vinden van zuurvaste staafjes nooit twijfelachtig is, daar ze meestal in groepjes bijeenliggen, soms zelfs dicht opeengehoopt. Het vinden van een enkel zuurvast staafje mag dus niet als een bewijs gelden.

Het ééne atypische geval van tuberculose bij cavia 4 (tabel II) zou er op kunnen wijzen, dat hier een filtreerbare vorm aanwezig was. Zijn lotgenoot stierf echter aan gegeneraliseerde tuberculose.

Wel wordt in de literatuur beschreven, dat dit mogelijk is, doch volgens *Valtis* veroorzaakt inspuiting van filtraat steeds een atypische tuberculose, dikwijls zelfs zonder eenige ontstekingsreactie, die bij overenting op andere caviae steeds weer hetzelfde atypische beeld geeft. Overenten van de milt van cavia 4, op een andere cavia gaf het beeld der gegeneraliseerde tuberculose, met primairen haard op de plaats van inspuiting. Bovendien konden bij herhaling der proef de filtreerbare elementen niet opnieuw worden aangetoond.

Door inspuiten van filtraten der tuberculeuze organen konden geen ziekteverschijnselen bij de dieren worden waargenomen.

Indien inderdaad een filtreerbaar virus aanwezig zou zijn geweest, dan had dit zich ook bij de voortzetting der proef moeten voordoen, tenzij men aanneemt, dat de filtreerbare vorm zich bij de dierproef direct weer omgevormd heeft tot den typischen bacillairen vorm.

Dan waren dus bij de overenting der orgaanfiltraten reeds alle filtreerbare elementen verdwenen.

Dit is echter niet waarschijnlijk daar *Valtis* ook bij overenting steeds atypische tuberculose zag ontstaan.

Het lijkt me daarom meer voor de hand liggen de gevonden verschijnselen te verklaren, door aan te nemen, dat hier eenige tuberkelbacillen den L_2-filter gepasseerd zijn en deze de langzaam verloopende tuberculose gegeven hebben.

Opgemerkt dient nog, dat de uitzaaiing van het filtraat op *Petroff*-voedingsbodem steriel bleef.

Het sputum, dat gebruikt werd bij cavia 5, tabel II, veroorzaakte na subcutane inspuiting bij een cavia geen tuberculose. In dit sputum kwamen dus geen tuberkelbacillen voor. Deze proef dient dus met eenige reserve genoemd te worden. Toch meen ik, dat het gerechtvaardigd is, het resultaat mede te deelen, daar de patiente, van wie dit sputum afkomstig was, ontwijfelbaar bij klinisch onderzoek duidelijke, vrij groote, longafwijkingen vertoonde, die vrij zeker van tuberculeuzen aard waren. Daar de filtreerbare vorm zich vooral ook zou voordoen bij voor den tuberkelbacil ongunstige omstandigheden, heb ik getracht sputum mucopurulentum te krijgen, waarin geen tuberkelbacillen te vinden waren. Dit is me behalve in bovengenoemd geval niet gelukt, daar het sputum dikwijls slechts tijdelijk negatief was of bij dierproef toch tuberkelbacillen bleek te bevatten. Muceus opgeefsel heb ik niet gebruikt, daar dit meestal geen sputum is.

Uit deze proef blijkt, dat in dit sputum geen tuberkelbacillen aanwezig waren, doch evenmin filtreerbare elementen van den tuberkelbacil. Noch bij de met filtraat, noch bij de met sputum ingespoten cavia, waren in de uitstrijkpreparaten zuurvaste staafjes te vinden.

Ik heb dus de resultaten der Fransche onderzoekers niet kunnen bevestigen.

Het is niet waarschijnlijk, dat er een filtreerbaar virus van den tuberkelbacil bestaat, hoewel de mogelijkheid, dat onder omstandigheden tuberkelbacillen of elementen daarvan den filter kunnen passeeren, niet kan ontkend worden.

Toch mag hieraan geen groote waarde gehecht worden, daar het doorgaan van tuberculose verwekkende elementen, blijkbaar niet afhankelijk is van den aard van het tuberculose virus, doch geheel van de dikwijls niet nader bekende omstandigheden en wisselende invloeden der proefneming.

Hieruit meen ik dan ook de zoo sterk uiteenloopende resultaten der verschillende onderzoekers te moeten verklaren.

HOOFDSTUK III

CRITISCHE BESCHOUWINGEN

De sterk uiteenloopende resultaten, die de verschillende onderzoekers verkregen na inspuiting van filtraten van tuberculeus materiaal, maken het noodzakelijk de gevonden verschijnselen aan een nadere bespreking te onderwerpen. Doen we dit, dan zullen hierdoor de dikwijls tegenstrijdige resultaten moeten worden verklaard en dient tegelijk de vraag beantwoord, of uit de onderzoekingen is komen vast te staan, dat er een filtreerbare vorm van den tuberkelbacil bestaat.

§ 1. Het filtraat.

Om bij de proefnemingen zeker te zijn, dat men inderdaad met een filtreerbaar virus werkt en niet met al of niet veranderde tuberkelbacillen, die soms wel eens den filter kunnen passeeren, moet men dus zorgen, dat deze niet in het filtraat voorkomen. Men kan op verschillende wijzen trachten aan te toonen, dat het filtraat deze bacillaire elementen niet bevat. Na langdurig centrifugeeren kan men in het sediment zoeken naar tuberkelbacillen. Het is mogelijk, dat men op die manier eventueel aanwezige bacillen opspoort, doch indien er slechts enkele aanwezig zijn, zullen deze heel gemakkelijk aan de

waarneming kunnen ontsnappen en zal men dus nooit geheel zeker zijn, dat het filtraat geen bacillen bevat.

Nauwkeuriger is het daarom, om, wanneer positieve resultaten met een filtraat verkregen zijn, de proef te herhalen met filtraat, dat verschillende malen door kaarsen gefiltreerd is, daar men, zoodoende, er vrijwel zeker van kan zijn, dat, mochten eventueel bacillen bij de eerste filtratie zijn mee doorgegaan, deze bij de volgende filtraties zullen worden tegengehouden.

Voor zoover mij bekend is, is dit nooit gedaan door de onderzoekers, die positieve resultaten verkregen.

Door toevoegen aan het te filtreeren materiaal van culturen van bacteriën, die kleiner zijn dan de tuberkelbacil, heeft men gemeend deze moeilijkheid te kunnen ontgaan. Inderdaad zal men hierdoor gemakkelijk een filter kunnen onderkennen, die niet „bacteriedicht" is, doch of men, wanneer de bijgevoegde bacteriën niet of althans niet merkbaar den filter passeeren, zeker is, dat alle bacillaire elementen worden teruggehouden, is niet aan te nemen. Het doorgaan door den filter is niet alleen afhankelijk van de grootte van de bacteriën en de poriënwijdte, doch ook van verschillende andere factoren, die ten deele nog onbekend zijn [1]).

Daardoor kunnen soms in het filtraat elementen gevonden worden, waarvan men meende, dat deze den filter niet zouden kunnen passeeren.

In het sputum van tuberculeuzen vond ik een enkelen keer eigenaardige tuberkelbacillen, die afwijken van den gewonen

---

[1]) Zie *Dr. W. Aeg. Timmerman.* Diss., Utrecht 1927, blz. 81.

vorm. Ze vertoonen in het midden een enkele granulum, terwijl de rest van den bacil slechts flauw rood gekleurd is.

Laat men een filter, waarin tuberculeus materiaal, eenigen tijd staan, dan ziet men in het filtraat ook dergelijke vormen. Deze groeien er dus blijkbaar het snelst doorheen. Het is heel goed mogelijk, dat deze vorm beter den fiilter passeert, dan de typische vorm, ook al is de filter bacteriedicht.

Om toch zekerheid te krijgen, brengt men het filtraat op verschillende voedingsbodems, om te zien, of inderdaad het filtraat „steriel" is. Ontwikkelt zich geen cultuur, dan acht men het filtraat vrij van bacteriën.

Daar het er hier om gaat enkele bacteriën aan te toonen, is het niet voldoende enkele druppels van het filtraat op de voedingsbodems uit te zaaien, daar er dan al vrij veel bacteriën aanwezig zouden moeten zijn, om een positieven uitslag te kunnen verwachten. Doch ook, al neemt men een grootere hoeveelheid van het filtraat, dan toch blijft de mogelijkheid bestaan, dat enkele bacillen zijn doorgegaan, die op deze manier verborgen blijven.

Dat dit niet denkbeeldig is, moge door enkele voorbeelden uit de literatuur worden aangetoond.

Rabinowitsch-Kempner zag vijf maal typische tuberculose ontstaan bij caviae, die met filtraten van tuberculeus materiaal waren ingespoten, dat door membranen gefiltreerd was en waaraan vóór de filtratie coli- of prodigiosus-bacillen waren toegevoegd. Uitzaaiing van het filtraat bleef echter steeds steriel.

Bonciu en *Ionesco* zagen een cavia, die met gefiltreerd bloed was ingespoten, sterven aan gegeneraliseerde tuber-

culose, hoewel de filters gecontrôleerd waren door aan het te filtreeren materiaal culturen van vogelcholera- of pseudodiphtherie-bacillen toe te voegen.

Mlle Togounoff verkreeg uitgebreide tuberculose bij een jonge cavia, hoewel het filtraat eerst gecontroleerd was door aan het te filtreeren materiaal vogelcholeracultuur toe te voegen.

Het uitzaaien van het filtraat op voedingsbodems heeft dus alleen in zooverre waarde, dat „lekke" filters er door herkend kunnen worden.

De meest nauwkeurige methode om werkelijk een bacterievrij filtraat te krijgen, lijkt mij dus het herhaaldelijk filtreeren van *hetzelfde* materiaal. Zoolang dit niet geschied is, mogen de positieve resultaten niet bewijzend geacht worden voor het bestaan van een filtreerbaren vorm van den tuberkelbacil, daar de mogelijkheid bestaat, dat ander dan „filtreerbaar virus" den filter onder omstandigheden kan passeeren en dit dus verder noch practisch, noch theoretisch van eenige beteekenis is.

§ 2. Het treft ieder, die zich met dit vraagstuk bezig houdt, dat het filtraat bij de proefdieren zulke verschillende verschijnselen kan veroorzaken.

Het minst treedt gegeneraliseerde tuberculose op. Dit beeld wijkt niet af van wat men ziet optreden na inspuiting van niet gefiltreerd materiaal, alleen treedt geen primaire haard op de entplaats op.

Doch dit is niet iets bijzonders. De groote hoeveelheid vloeistof, die wordt ingespoten, kan heel goed de oorzaak zijn, dat de bacillaire elementen meegesleept worden met den lymphstroom, zonder op de plaats van inspuiting reeds ge-

legenheid te hebben gehad, zich te ontwikkelen. Doch ook zonder dit geeft inspuiting van enkele typische tuberkelbacillen geen aanleiding tot een primairen haard, terwijl toch de infectie aanslaat (zie hoofdstuk IV).

Arloing, Dufourt en *Malartre* (22) vonden tweemaal een typische tuberculose. Het filtraat gaf bij uitzaaiing geen cultuur, doch dit mag, zooals boven is aangetoond, niet als bewijs gelden, dat geen bacillen in het filtraat voorkwamen.

Durand en *Vaudremer* (14) kregen eveneens bij hun proefdieren gegeneraliseerde tuberculose, zooals blijkt uit de volledige mededeeling van deze proeven door *Durand* (28). Vier caviae werden met hetzelfde filtraat ingespoten. Twee, die onderhuids waren geënt, kregen beide typische tuberculose met primairen haard. Van de twee, die intraperitoneaal waren geënt, bleef één (♀) gezond; de andere (♂) vertoonde een orchitis tuberculosa en bleek bij de sectie (15) een uitgebreide tuberculose te hebben.

Daar de beide onderhuids ingespoten caviae dezelfde verschijnselen vertoonden als proefdieren, die met ongefiltreerd materiaal zijn ingespoten, ligt het voor de hand aan te nemen, dat enkele bacillen den filter gepasseerd zijn. [1]) De atypisch

---

[1]) *Durand* (28) beschouwt de afwijkingen als veroorzaakt door een filtreerbaar virus, want hij zegt, dat men soms vindt „nodule au point d'inoculation avec ganglions satellites suppurés, parfois chancre d'inoculation ou bien au cas d'inoculation intraperitoneale tuberculose entéro-péritoneale avec orchite chez le mâle et enfin, par voie sanguine tuberculose atypique avec ganglions desseminés et périsplenique par exemple".

Hij besluit als conclusie 4: „ce virus inoculé à l'animal produit des lésions tuberculeuses d'expressions variées, *parfois typiques, parfois atypiques*: dans les lésions typiques nous avons constamment retrouvé un bacille acido-résistant.

verloopende tuberculose dient dus eveneens met eenig voorbehoud beschouwd te worden, daar weinige tuberkelbacillen mogelijk een dergelijk atypisch beeld kunnen veroorzaken.

Dit is te meer waarschijnlijk, daar volgens *Valtis* inspuiting van organen of etter, afkomstig van met filtraat behandelde caviae, steeds opnieuw atypische tuberculose veroorzaakt. Inspuiting van den etter uit den testikel gaf echter gegeneraliseerde tuberculose.

Wel bleef het wijfje gezond, doch in dit gedeelte van het filtraat waren blijkbaar geen of niet voldoende bacillen aanwezig. Er wordt niet vermeld, of hier de atypische, door *Valtis* voor karakteristiek gehouden, vorm optrad.

De proeven van *Durand* en *Vaudremer* zijn in tweërlei opzicht leerzaam. Ten eerste, omdat deze (en misschien ook andere) onderzoekers het niet noodig oordeelen hun proeven precies mede te deelen, doch volstaan met wat zij van belang achten (14), terwijl toch blijkt, dat een nauwkeuriger mededeeling (28) een geheel andere waardeering van de eerst medegedeelde proeven geeft [1]).

Ten andere, omdat blijkt, dat men zeer voorzichtig moet zijn bij het beoordeelen van het bacterie vrij zijn van het

---

[1]) Trouwens er klopt meer niet in deze publicaties:

In 1926 zegt *Durand* (28) „Ce virus (d.i. het filtreerbare virus) échappe également à la culture sur les milieux usuels; car ensemencés largement sur pomme de terre, *Dorset* et *Petroff*, il ne nous a jamais donné avec certitude une culture: en in 1924 (15) kon hij aantoonen een cultuur van zuurvaste bacillen op *Dorset* uit filtraat door *Chamberland* L_3 van tuberculeuzen etter, en concludeert hieruit, dat de gefiltreerde elementen na 25 dagen op *Dorset* weer tot typische bacillen zich kunnen ontwikkelen.

filtraat, daar een gedeelte van het filtraat bij het proefdier geen enkele reactie verwekt.

Ik meen dan ook de proeven, waarbij na inspuiting van filtraat, uitgebreide verkazende tuberculose optreedt, te moeten beschouwen als te zijn veroorzaakt door enkele bacillen, die den filter gepasseerd zijn, ook al treedt geen primaire haard op en al blijven de uitzaaiingen op voedingsbodems steriel.

Zoo geven de resultaten van *Mlle Togounoff* (57) en *Valtis* (23), die, bij sommige dieren uitgebreide tuberculose zagen optreden, te denken. Ik wil hier nog bij opmerken, dat in die gevallen, waarbij *Valtis* duidelijke tuberculose zag optreden, (23 en 24) het filtraat in de ijskast bewaard werd (éénmaal 8 dagen).

§ 3. Eenigszins anders zijn de resultaten, die de meeste Fransche onderzoekers verkregen. Voor zoover mij bekend is, zag alleen *Vaudremer* bij zijn dieren micropolyadenitis en periarthritis (lijkend op de ziekte van *Poncet*). Deze proeven staan, evenals de door *Vaudremer* beschreven culturen van filtraten, geheel alleen en zijn nooit herhaald. Het is niet bewezen, dat de gevonden afwijkingen door een filtreerbaar virus veroorzaakt zijn, daar tuberkelbacillen niet zijn aangetoond in de afwijkingen; althans, hiervan wordt niets medegedeeld. Wel kon *Vaudremer* een enkelen keer een verweekte inguinale- of submaxillaire klier waarnemen, waarvan de etter na herhaalde overenting op voedingsbodems (*Petroff*, aardappelglycerine) een cultuur deed ontstaan van zuurvaste bacillen, doch niet is aangetoond, dat dit inderdaad tuberkelbacillen zijn.

Voor het meerendeel vonden de Fransche onderzoekers de volgende verschijnselen: er ontwikkelt zich na korter of langer tijd een atypische tuberculose, die gekenmerkt is door de volgende symptomen, die al of niet gezamenlijk gevonden worden:

a. geen primaire haard op de entplaats;
b. kortdurende zwelling van regionaire klieren;
c. zuurvaste staafjes in de klieren, milt of andere niet veranderde organen;
d. kleine, streng gelocaliseerde, tuberkels in de longen;
e. vergrooting der klieren, voornamelijk der tracheobronchiale klieren;
f. soms kleine verweekingshaarden in het centrum van organen.

a. Zooals boven reeds is uiteengezet, is het mogelijk, dat de lymphstroom de enkele bacillen, die in de groote hoeveelheid vloeistof aanwezig zijn, meesleept, vóórdat deze op de entplaats gelegenheid gehad hebben zich te ontwikkelen. Doch ook al is geen vloeistof aanwezig, dan toch treedt geen primaire haard op, wanneer enkele bacillen worden ingebracht (zie later). Dit mag dus niet als een bijzonder kenmerk gelden voor de atypische, door het filtreerbare virus veroorzaakte, tuberculose.

Bovendien werd ook geen primaire haard gevonden bij die proeven, waarbij typische tuberculose optrad en die toch wel zeer waarschijnlijk door enkele bacillen wordt veroorzaakt, zooals ook andere onderzoekers meenen *(Ruys)*. *Fessler* spreekt van een aërogene infectie, doch het is meer waar-

schijnlijk, dat ook hier enkele bacillen den filter gepasseerd zijn.

b. Bij onze proeven vonden we dit verschijnsel ook, doch meestal onduidelijk. Het is bij proeven met caviae dikwijls moeilijk aan te geven, of de liesklieren werkelijk vergroot genoemd mogen worden. Ziet men normale caviae na, dan wisselt ook bij deze de grootte der liesklieren dikwijls aanmerkelijk. Alleen dus, wanneer er een duidelijke vergrooting bestaat, mag men van gezwollen lymphklieren spreken. Het is echter mogelijk, dat de waargenomen kortdurende regionaire lymphklierzwelling ontstaat als reactie dezer klieren op de groote hoeveelheid toxische stoffen, die ingebracht worden.

c. Zuurvaste staafjes kon ik in de preparaten nooit met zekerheid aantoonen. Ook anderen *(Ruys, Fessler, Bijl, Leusden)* komen tot hetzelfde resultaat. Zelfs in de proefseries der Franschen vindt men heel dikwijls vermeld, dat geen zuurvaste staafjes gevonden werden.

Dit verschijnsel treedt dus in een groot aantal van de gevallen niet op. Wil men zeker zijn, dat deze zuurvaste staafjes werkelijk door het filtraat worden veroorzaakt, dan dient men er zich van te overtuigen, dat ze bij niet behandelde dieren niet voorkomen.

Terloops zij opgemerkt, dat *Burle de Figueiredo* (49) er op wijst, dat de mogelijkheid bestaat, dat de gevonden staafjes in 't geheel geen bacillen zijn, doch staafvormig gerangschikte granula, afkomstig uit de leucocyten.

Hiertegen komt *Fontès* (48) op.

Wanneer in een groot aantal preparaten enkele staafjes gevonden worden, dan zou deze mogelijkheid te overwegen

zijn, doch meestal worden op een bepaalde plaats in het preparaat massa's bacillen gevonden, die moeilijk te verklaren zijn door de zoo juist genoemde hypothese.

Bijl (in de vergadering van de Tuberculose-Studie-commissie, October 1927) heeft er op gewezen, dat de mogelijkheid bestaat, dat andere zuurvaste bacillen in het lichaam van de caviae aanwezig kunnen zijn, of ingebracht worden (b.v. met het voedsel), die tenslotte in de klieren terecht komen; b.v. grasbacillen.

Hoewel ik mijn proefdieren geregeld gras liet eten, heb ik nooit met zekerheid zuurvaste staafjes kunnen vinden.

De vraag doet zich voor, welke beteekenis deze zuurvaste staafjes bij overenting hebben. Zijn het andere bacillen dan de typische, die niet weer tot den typischen vorm terugkeeren, dan zal overenting van deze bacillen steeds weer hetzelfde beeld der atypische tuberculose moeten vertoonen. *Valtis* is van meening, dat dit inderdaad het geval is, doch de onderzoekingen van *Rabinowitsch-Kempner* en van *Valtis* (60) zelf, maken het zeer waarschijnlijk, dat deze atypische tuberkelbacillen geen constante vorm zijn, doch door herhaalde dierpassage zich weer kunnen omvormen tot de typische tuberkelbacillen, die de bekende ziekelijke veranderingen in het organisme veroorzaken.

Het is dan ook niet bewezen, dat deze uit het filtreerbare virus zich ontwikkelende bacillen bij overenting steeds weer hetzelfde beeld bij de caviae zullen geven, daar de overgang tot den typischen vorm in zekere mate toch is waargenomen en de terugkeer tot dezen vorm dan alleen afhankelijk is van nog onbekende factoren.

Voor de pathologie zal het dan ook van groot belang zijn te weten, of deze zuurvaste staafjes bij herhaalde overenting weer gewone typische tuberkelbacillen kunnen geven.

Indien mocht blijken, dat dit inderdaad het geval is, dan mag het filtreerbare virus niet opgevat worden als een constante vorm van den tuberkelbacil, doch alleen als een modificatie, waaronder de bacil zich onder bepaalde omstandigheden (ongunstige levensvoorwaarden) kan omvormen, doch op een gegeven oogenblik weer den typischen vorm kan geven. Dan zullen ook die proeven, waarbij direct na inspuiting met filtraat typische tuberculose optreedt, niet steeds beschouwd mogen worden als te zijn veroorzaakt door enkele, den filter gepasseerde, typische bacillen, daar dan toch directe overgang van den filtreerbaren vorm in den gewonen bacil zou kunnen hebben plaats gehad.

Toch moet overwogen, of inspuiting van enkele tuberkelbacillen geen atypische tuberculose kan verwekken. Het is immers mogelijk, dat deze geen aanleiding geven tot verkazende tuberculose, doch alleen, dat de bacillen in staat zijn zich in de klieren matig te vermenigvuldigen zonder ontstekingsreactie te geven.

Tenslotte het vinden van zuurvaste staafjes in de milt of in andere niet veranderde organen. In de preparaten van *Valtis* zijn dikwijls (zooals ik zelf gezien heb) massa's bacillen te vinden, die meestal op een hoop liggen, terwijl de rest van het preparaat geen bacillen bevat.

Doch ik heb me steeds afgevraagd of, wanneer in één preparaat zoovele bacillen gevonden worden, de organen macroscopisch werkelijk geheel normaal zijn geweest. Immers

men moet dan aannemen, dat een dergelijk orgaan (b.v. de milt) ontelbaar vele bacillen bevat, die, zonder eenige reactie te geven, in het orgaan aanwezig zijn. Nog moeilijker wordt dit, wanneer men ziet, dat in één preparaat van het omentum talrijke bacillen te vinden zijn. Is het preparaat gemaakt van een willekeurig stukje omentum, dan moet dit dus reusachtig veel van die zuurvaste staafjes bevatten; toch rijst onwillekeurig de vraag, of men dan toch niet iets pathologisch op een bepaalde plaats van het orgaan heeft waargenomen en daarvan het preparaat gemaakt heeft.

d. Evenals de zuurvaste staafjes zich in de klieren kunnen ophoopen, kunnen ze dit doen in eventueel aanwezige longhaardjes. Dergelijke haardjes treft men in verschillende uitbreiding ook aan bij caviae, die niet met filtraat zijn ingespoten en die grootere of kleinere broncho-pneumonische haardjes zijn, welke op zichzelf niet karakteristiek zijn voor dezen vorm der tuberculose.

e. Indien aanwezig, zullen dus deze longhaardjes heel goed een vergrooting der tracheobronchiale klieren kunnen veroorzaken. Daarom mag dit op zichzelf dus niet als een bijzonder kenmerk gelden voor de atypische tuberculose. Bovendien zijn de caviae blootgesteld aan verschillende infecties van de bovenste luchtwegen en ook van beneden het diaphragma uit, zoodat het heel goed te verklaren is, dat bij vele caviae, ook die niet met filtraat zijn ingespoten, de tracheobronchiale klieren vergroot zijn.

Daar de meeste zuurvaste staafjes in de tracheobronchiale klieren gevonden zijn, kunnen we opmerken, dat de mogelijk-

heid, die *Bijl* (zie boven) heeft geopperd, goed het optreden van zuurvaste staafjes in deze klieren kan verklaren, daar met het voedsel ingebrachte zuurvaste bacillen, door den lymphstroom in de tracheobronchiale klieren terecht kunnen komen.

f. Deze verweekingshaarden in het centrum van organen zijn maar in een zeer klein aantal der gevallen waargenomen. Toch moeten deze, wanneer ze bij overenting, hetzij direct of na herhaalde dierpassage, typische tuberculose veroorzaken, beschouwd worden als veroorzaakt door filtreerbare elementen van den tuberkelbacil, zonder dat behoeft aangenomen te worden, dat er een filtreerbaar virus als zoodanig bestaat.

Wanneer deze resultaten bevestigd zouden worden in een groot aantal gevallen, òf indien uit den etter een al of niet zichtbaar virus kon gekweekt, of overgeënt worden, dat steeds dezelfde verschijnselen geeft, dan zou dit pleiten voor het bestaan van een filtreerbaar virus.

De atypische vorm der tuberculose zou bij sommige dieren een progressieve cachexie veroorzaken, waarbij meestal niet, doch soms wel, de bovengenoemde afwijkingen gevonden worden.

Arloing en *Dufourt*, die dezen vorm hebben beschreven, meenen, dat ook de neonati van tuberculeuze moeders dikwijls aan deze progressieve cachexie te gronde gaan.

Men moet dus aannemen, dat onder omstandigheden het filtreerbare virus zoo sterk toxische eigenschappen bezit, dat het in staat is een onherstelbare verwoesting der cellen te veroorzaken, zonder dat pathologische veranderingen in het lichaam kunnen worden aangetoond.

Het is merkwaardig dat, terwijl de dieren eerst geen bij-

zonderheden vertoonen, ze pas na 3 à 4 maanden dood gaan. Bovendien blijven in de meeste proeven de dieren gezond. Men zou dus verwachten, dat, indien hier werkelijk een „virus" de oorzaak is, de afloop sneller zou plaats vinden en men meer dan tot nu toe een dergelijke cachexie had waargenomen. Doch ondanks dit is hierdoor nog niet bewezen, dat de cachexie veroorzaakt wordt door een filtreerbaar virus. Immers het filtraat, dat ingespoten wordt, bevat een groote hoeveelheid tuberculotoxinen, die heel goed de oorzaak kunnen zijn, dat de dieren hier niet tegen bestand zijn.

Overenting van organen van deze caviae zou dan hetzelfde beeld moeten geven, doch dit is nooit waargenomen. Ziet men hierover de literatuur na, dan blijkt, dat het resultaat negatief is, of dat nu alleen enkele zuurvaste bacillen in de klieren gevonden worden. Een uitzondering hierop maken de caviae, die met organen van neonati van tuberculeuze moeders zijn geënt. Hier treft men soms deze cachexie aan.

Door de tuberculine-reactie gedurende den geheelen tijd der waarneming na te gaan, meenen *Arloing* en *Dufourt* te hebben aangetoond, dat er een „labiel virus" van den filtreerbaren vorm bestaat. Behalve dat deze infectie zich manifesteert door een tijdelijk positief zijn der tuberculine-reactie, zou ook een tegelijkertijd optredend gewichtsverlies der proefdieren, het bewijs zijn, dat dit „labiele virus" aanwezig is.

Allereerst is het vaak moeilijk een juiste beoordeeling te geven van het resultaat der tuberculine inspuiting, vooral wanneer deze, zooals bij deze proeven toch bijna steeds het geval is, zwak positief genoemd wordt. De subjectieve factor speelt hier een grooten rol.

Doch ook al is de reactie duidelijk positief, dan nog pleit dit niet voor het aanwezig zijn van een filtreerbaar virus.

In 1923 heeft *Spronck* (6) onderzoekingen gepubliceerd over de tuberculine reactie bij caviae, die met filtraten van tuberculeus materiaal waren ingespoten. Nadat het materiaal is fijngewreven wordt het met een viervoudige hoeveelheid physiologisch water gemengd. Na bezinking en toevoegen van 0.5 % carbol, wordt de brei door *Berkefeld*-filter gefiltreerd en gedurende eenige dagen in dichtgesmolten ampullen in de ijskast bewaard. 5—10 cc. van het filtraat wordt onderhuids ingespoten. Op den 7den of 8sten dag na de inspuiting blijkt de huid van het dier overgevoelig voor tuberculine. Intracutane inspuiting van 20 mgr. tuberculine geeft een duidelijke reactie.

Bij geen der dieren trad tuberculose op. *Spronck* concludeert hieruit, dat in tuberculeus weefsel een stof voorkomt (tuberculan), die sterk antigene eigenschappen heeft en aanleiding geeft tot vorming van een antistof (antituberculan). Dit tuberculan zou de moederstof zijn van de tuberculine.

Hieruit blijkt wel heel duidelijk, dat het positief zijn der tuberculine reactie geen bewijs is voor het aanwezig zijn van een „virus", doch hoogstens mag men aannemen, dat *Arloing* en *Dufourt* hebben aangetoond, dat zich in het filtraat een antigeen bevindt, dat met de tuberculine reactie onder omstandigheden kan worden opgespoord.

Dezelfde bezwaren zijn aan te voeren tegen het gebruik van filtraten om als diagnostisch hulpmiddel te dienen bij het opsporen van „filtraat tuberculose" bij neonati. Indien de intracutane inspuiting met filtraat een positieve reactie bij de kinderen geeft, mag daaruit alleen besloten worden, dat het

kind met de geboorte antistoffen in het lichaam heeft. Dat de inspuiting met filtraat soms positief is, maar de tuberculine reactie negatief, kan alleen als argument dienen, dat het filtraat blijkbaar beter reageert met de antistoffen dan de tuberculine; of in de taal van *Spronck*: tuberculan is gevoeliger dan tuberculine voor deze antistoffen (antituberculan). Overigens moet men verwonderd zijn over het feit, dat deze filtraten, die toch door de Fransche onderzoekers beschouwd worden een virus te bevatten, bij kinderen worden ingespoten, daar men toch nog maar zeer weinig weet, omtrent den aard van dit filtreerbare virus en dus niet weet, welke de gevolgen zijn van deze inspuiting.

Tenslotte nog enkele opmerkingen over de hereditaire tuberculose.

Het is bekend, dat tuberkelbacillen de placenta kunnen passeeren en het foetus infecteeren. Tot nu toe heeft men dit slechts zelden waargenomen, zoodat in de geheele literatuur ongeveer 50 gevallen beschreven zijn. Practisch komt het er dus op neer, dat tuberculose niet aangeboren is.

Volgens de opvatting van *Calmette, Arloing* en *Dufourt* kunnen de filtreerbare vormen van den tuberkelbacil de placenta passeeren en bij het foetus een atypische tuberculose verwekken.

Men heeft dit voor de menschelijke pathologie bewezen geacht, omdat bij de neonati soms zuurvaste staafjes gevonden zijn en omdat de inspuiting van organen bij de caviae hypertrophie der klieren gaf, waarin eveneens zuurvaste staafjes waren, of de dieren cachectisch stierven.

Reeds *Baumgarten*[1]) heeft gezegd, dat de tuberculose dikwijls

[1]) D. Med. Wochenschrift 1891 blz. 1168, id. 1909 blz. 1729.

aangeboren is. Het tuberculose virus zou onder een onbekenden vorm de placenta passeeren, in het kinderlichaam gedurende onbepaalden tijd latent blijven, om tenslotte weer in den typischen tuberkelbacil te veranderen, die dan de klinische tuberculose veroorzaakt.

Het eerste gedeelte van deze hypothese schijnt door de onderzoekingen over het filtreerbare virus bevestigd te worden. Het is nog niet aangetoond, dat bij kinderen de gevonden zuurvaste staafjes weer over kunnen gaan in den typischen tuberkelbacil. Wel kon *Rabinowitsch-Kempner* door herhaalde overenting van organen op caviae een typische tuberculose verwekken. Het is dus heel goed mogelijk, dat ook het tweede gedeelte dezer hypotese juist zal blijken te zijn.

Toch moet niet uit het oog verloren worden, dat reeds vroeger zuurvaste staafjes in onveranderde klieren van jonge kinderen gevonden zijn (*Harbitz* (79) en o.a. *Calmette*), die typische tuberkelbacillen bleken te zijn, daar ze na inspuiting bij caviae verkazende tuberculose veroorzaakten.

De zuurvaste staafjes, die bij de neonati van tuberculeuze moeders gevonden zijn, zijn echter andere bacillen, daar deze na inspuiting het beeld der atypische tuberculose geven (progressieve cachexie, zuurvaste staafjes in klieren enz.).

Zoover de feiten tot nog toe hebben aangetoond, is het dus waarschijnlijk, dat de hypothese van *Baumgarten* een zekeren grond van waarheid heeft. Toch is het nog lang niet bewezen, dat een transplacentair overdragen op het foetus van het tuberculose virus dikwijls voorkomt. Het lijkt me daarom ook niet juist te meenen, nu reeds in het filtreerbare

virus een verklaring te hebben gevonden voor de sterfte van neonati van tuberculeuze moeders.

Zooals de ervaring leert, worden deze meestal gezond geboren en blijven dit, indien de levensvoorwaarden voor het kind zoo gunstig mogelijk gemaakt worden („oeuvre Grancher"). Onder deze kinderen is er een aantal, dat korten tijd na de geboorte sterft. Een bepaalde oorzaak kan dan meestal niet gevonden worden. Men spreekt van *morts inexpliqués (Debré* en *Lelong)* of *syndrôme de denutrition progressive (Couvelaire).*

Tegen de meening, dat deze kinderen zouden gestorven zijn tengevolge van een infectie met het filtreerbare virus, heeft vooral *Leon Bernard* (36, 62) bezwaren ingebracht.

Allereerst wijst hij erop, dat, wanneer een besmetting met filtreerbaar virus eenigszins belangrijk zou plaats vinden, men dan na inspuiting van organen van neonati veel meer dan tot nu toe is waargenomen, tuberculose bij de proefdieren zou moeten vinden. Doch dit is niet juist. Zooals boven reeds is gezegd, en vooral door *Valtis* is duidelijk gemaakt, moeten de gevonden zuurvaste staafjes beschouwd worden als een andere vorm van den tuberkelbacil, die geen tuberculose verwekt. Treedt deze dus niet op, dan mag dit niet als bewijs gelden, dat geen transplacentaire besmetting met filtreerbaar virus heeft plaats gehad.

Wel zullen verdere onderzoekingen nog moeten leeren in hoeverre het optreden van zuurvaste staafjes en de cachexie in verband staan met en beteekenis hebben als bewijs, dat een filtreerbaar virus aanwezig is.

Bernard noemt nog twee argumenten, die meer de aandacht verdienen:

1. Bij deze neonati is de reactie van *Von Pirquet* steeds negatief. Wanneer deze kinderen met een filtreerbaar virus besmet waren, zou men meer frequent een positieve reactie verwachten, tenzij bewezen kan worden, dat bij deze besmettingswijze de huidreactie steeds negatief is.

Het is ook mogelijk, dat de verklaring deze is: bij de kinderen, die gezond blijven is de besmetting reeds geheel of bijna geheel overwonnen, zonder dat bij de geboorte een allergie is overgebleven. De kinderen, die kort na de geboorte sterven aan atrophie, zijn reeds bij de geboorte zoodanig besmet, dat geen allergie meer aantoonbaar is (in vergelijking bij wat men ziet in het laatste stadium van tuberculose van volwassenen en bij miliaire t.b.c.).

2. Wanneer de omstandigheden voor de kinderen gunstiger gemaakt worden, na afzondering van de moeders, dan sterven er minder kinderen aan atrophie. Dit lijkt mij inderdaad een vrij sterk argument tegen de opvatting, dat de atrophie uitsluitend het gevolg zou zijn van een infectie met het filtreerbare virus. *Couvelaire* heeft aangetoond, dat, wanneer de kinderen beter verzorgd werden, er veel minder stierven (in 1921 33 %, in 1923—'25 13.2 %, in 1925—'26 7.2 %).

Het is immers niet goed aan te nemen, dat de uitwendige omstandigheden zoo'n belangrijken invloed ten goede zouden doen zien, wanneer men aanneemt, dat reeds bij de geboorte een dergelijk uitsluitend toxisch werkend virus aanwezig was.

Dus ook al wordt nader aangetoond, dat onder bepaalde omstandigheden een filtreerbaar virus het kinderlichaam kan besmetten door de placenta heen, dan toch blijft het zeer waarschijnlijk, dat dit slechts bij uitzondering tot patho-

logische veranderingen aanleiding geeft, zoodat dus bij de praktijk der tuberculosebestrijding met deze besmettingswijze geen rekening behoeft gehouden te worden, zooals trouwens door *Arloing* en *Dufourt* zelf wordt toegegeven.

Wat eindelijk de negatieve resultaten betreft, hiertegen zijn ook bezwaren in te brengen. Het opsporen van de zuurvaste staafjes in de uitstrijkpreparaten, kost veel tijd en geduld. Het is niet voldoende enkele preparaten vluchtig na te zien, doch men dient alle preparaten lang en nauwkeurig te bekijken, vóór dat men kan aannemen, dat er geen zuurvaste staafjes te vinden zijn. Dit maakt het bijkans onmogelijk een groot aantal proefdieren tegelijkertijd te onderzoeken en zal eerst lang na de proefneming kunnen blijken, dat het resultaat werkelijk negatief is. Een groot aantal onderzochte caviae maakt dus het resultaat niet meer van beteekenis dan een klein aantal, daar het er hier niet op aankomt hoeveel dieren onderzocht zijn, maar alleen of elke cavia afzonderlijk nauwkeurig is nagezien. Het lijkt me dan ook zeer juist, dat *Mej. Dr. Ruys* na haar voorloopige mededeeling (59) langen tijd gewacht heeft, voor ze haar resultaten definitief mededeelde (66). Daardoor kunnen we er zeker van zijn, dat de beschreven gevallen nauwkeurig zijn onderzocht.

Een proefserie van 86 caviae, zooals *Montemartini* beschrijft, lijkt mij te groot om binnen afzienbaren tijd behoorlijk te worden onderzocht en daaraan kan dan ook alleen in zooverre waarde worden toegekend, dat macroscopisch geen tuberculose gevonden kon worden.

HOOFDSTUK IV

INFECTIE MET GETELDE TUBERKEL-BACILLEN

Zooals vroeger reeds is uiteengezet, doet zich bij het vraagstuk van de filtreerbaarheid van het tuberculose virus telkens weer de moeilijkheid voor, dat men, om zeker te zijn, dat geen typische bacillaire vormen zijn mede doorgegaan bij de filtratie, geen voldoende contrôle der filtraten bezit en men niet weet of eventueel gepasseerde tuberkelbacillen het atypische beeld der tuberculose kunnen veroorzaken. Indien dit laatste het geval is, dan vervalt daarmede het bewijs, dat deze atypische tuberculose karakteristiek zou zijn voor den filtreerbaren vorm van het tuberculose virus. Het loont daarom de moeite, na te gaan, hoe de proefdieren zich gedragen tegenover de infectie met weinige tuberkelbacillen.

Meestal heeft men enkele bacillen trachten te verkrijgen, door culturen te verdunnen, zooals b.v. *Calmette* [1]) aangeeft.

Over het resultaat, dat men verkrijgt, schrijft *Calmette* [2]): „Avec des cultures très virulentes il faut au minimum 10 ba-

---

[1]) *Calmette*. L'infection bacillaire et la tuberculose, 2e Edit., blz. 247.
[2]) l.c. blz. 248.

cilles et, le plus souvent 50 bacilles pour réaliser l'infection par voie sous-cutanée.

Il n'est pas exact, comme l'ont écrit certains auteurs, qu'un seul bacille suffise à donner la tuberculose. Mais j'ai pu me convaincre . . . ., que si l'on injecte par exemple à des cobayes 4 bacilles par jour sous la peau, en divers points du corps, et cela pendant une dizaine de jours, on provoque sûrement l'infection, alors qu' une seule ou deux injections de 4 bacilles sont absolument inoffensives."

Valtis (55) kon door inspuiting van weinige tuberkelbacilen (4, 40, 400) steeds typische tuberculose verwekken en concludeert hieruit, dat het filtreerbare virus zich niet gedraagt als zouden weinige bacillen zijn ingespoten. Het omgekeerde is echter eveneens mogelijk, nl. dat enkele bacillen zich gedragen als het filtreerbare virus en dus atypische tuberculose verwekt. In ieder geval dient dit evenzeer nagegaan te worden, daar eerst daardoor zal kunnen blijken, of alleen het filtreerbare virus het atypische beeld kan geven.

Bovendien heeft men steeds door verdunning de bacillen afzonderlijk trachten te krijgen. Daar de bacillen meestal tegen elkaar aanliggen en ook door krachtig schudden of op andere wijze dikwijls niet los van elkaar in de vloeistof te krijgen zijn, is het niet zeker, dat men door verdunning steeds het aantal bacillen inbrengt, dat aan den graad van verdunning beantwoordt.

Het is dus beter, om langs microscopischen weg de bacillen te isoleeren en deze voor de proefneming te gebruiken. Men weet dan in ieder geval zeker, dat men niet meer bacillen dan de afgetelde, in het lichaam inbrengt.

Het meest doelmatig leek mij hiervoor de methode, die *Dr. S. L. Schouten* (89) heeft aangegeven. Daar het isoleeren een groote mate van bedrevenheid eischt, was *Dr. Schouten* zoo vriendelijk de bacillen voor mij te isoleeren [1]) en was ik dus zeker, dat werkelijk het verlangde aantal bacillen werd ingebracht.

De moeilijkheid blijft dan nog, hoe deze in het lichaam in te brengen, daar enkele bacillen gemakkelijk bij het overbrengen, onder weg verloren geraken. *Dr. Schouten* heeft deze vraag opgelost, door de afgetelde bacillen in een druppel gelatine te brengen. Deze druppel werd, na stolling, met een platina-schopje onder de huid bij de cavia gebracht. Daartoe wordt een huidsnede gemaakt en de subcutis een eindweegs los geprepareerd. De huid wordt met agraves gehecht en de wond bedekt met verband. De snede werd op den rug aangebracht, om zoo weinig mogelijk kans op secundaire infectie te hebben. Door de lichaamswarmte van het dier smelt de gelatine en komen de bacillen vrij.

Alle dieren vertoonden een ongestoorde wond-genezing. Bij geen van deze trad een primaire haard op de entplaats op.

In het geheel werden 16 caviae behandeld. Zooals uit tabel IV blijkt, werden 2 met 1 tuberkelbacil ingeënt, 2 met 2 bacillen, 3 met 3 bacillen, 2 met 4 bacillen, 1 met 5 bacillen, 2 met 6 bacillen, 1 met 8 bacillen, 1 met 10 bacillen en 2 met 12 bacillen.

Den dieren werd gewoon dieet gegeven en ze werden

---

[1]) Het zij mij vergund, mijn oud-leermeester, *Dr. Schouten* mijn oprechten dank te betuigen voor de hartelijke belangstelling en medewerking bij deze proeven.

op een afzonderlijke plaats gehouden, zoodat infectie van buiten af niet waarschijnlijk was.

TABEL IV

Aantal Bacillen	Datum van Infectie	Gedood of gestorven	Tuberculine reactie	Liesklieren	Sectieonderzoek op Tuberculose	Onderzoek der preparaten op tuberkelbacillen
1	13-10-'27	15-11-'27	±	—	—	—
1	13-10-'27	3- 1-'28	—	—	—	niet onderzocht
2	13-10-'27	6- 2-'28	+	++	+	+
2	13-10-'27	14-12-'28	—	—	—	—
3	13-10-'27	19- 2-'28	—	±	—	—
3	13-10-'27	22- 2-'28	±	±	—	—
3	16-12-'27	2- 2-'28	±	+	—	—
4	13-10-'27	22- 2-'28	—	—	—	—
4	13-10-'27	19- 1-'28	—	—	—	—
5	1-12-'27	2- 2-'28	—	—	—	—
6	1-12-'27	27- 1-'28	—	±	—	—
6	1-12-'27	30- 1-'28	—	—	—	—
8	16-12-'27	31-12-'28	—	—	—	niet onderzocht
10	16-12-'27	27- 1-'28	—+	++	+	+
12	1-12-'27	Eind Dec.	—	—	—	niet onderzocht
12	1-12-'27	13- 2-'28	±	+	—	—

Ze wogen ongeveer 400 gram. Zooals uit de tabel blijkt, zijn sommige dieren te kort na de infectie aan intercurrente ziekten gestorven, dan dat ze voor deze proefneming bijzondere waarde hebben, daar men mag aannemen, dat het eenigen tijd duurt, vóórdat de infectie met de tuberkelbacillen is aangeslagen.

Daar het er om te doen was na te gaan, of deze weinige bacillen in staat waren, de atypische tuberculose te verwekken,

zooals die door de Fransche onderzoekers beschreven is na inspuiting van filtraten van tuberculeus materiaal, werden de dieren, ook al waren er bij macroscopisch onderzoek geen afwijkingen te vinden, die op tuberculose wezen, toch nauwkeurig nagezien op zuurvaste staafjes in de klieren en de milt en bij eventueele veranderingen ook in deze.

Bij de sectie bleek, dat sommige dieren vergroote tracheobronchiale klieren vertoonden, ook al waren geen tuberculose of zuurvaste staafjes te vinden. Kortdurende zwelling der regionaire klieren werd niet waargenomen. Zooals blijkt, was het resultaat op het voorkomen van tuberculeuze afwijkingen 14 maal negatief; het onderzoek naar zuurvaste bacillen was 11 maal negatief. Bij twee dieren, die respectievelijk met 2 en 10 bacillen waren geënt, trad tuberculose op.

Het resultaat van het onderzoek van deze twee dieren was het volgende:

2 bacillen: Liesklieren rechts sterk gezwollen en verkaasd. Rechter sublumbale klieren eveneens. Links geen gezwollen klieren. In het abdomen geen afwijkingen. Milt of lever niet vergroot, vertoonden geen afwijkingen. De mesenteriale klieren zijn niet gezwollen. Okselklieren evenmin. In de longen geen afwijkingen. De tracheobronchiale klieren zijn niet vergroot.

Alleen in de liesklieren en de sublumbale klieren aan den kant van de inbrenging werden tuberkelbacillen gevonden. In de milt, de mesenteriale- en tracheobronchiale klieren werden geen bacillen gevonden. Het dier was weinig vermagerd. Gewicht 393 gram.

10 bacillen: Deze cavia vertoonde gegeneraliseerde tuberculose. Het dier was sterk vermagerd; gewicht 296 gram.

Voornamelijk hadden de tuberculeuze afwijkingen zich in de klieren en de milt gelocaliseerd. Op het peritoneum en in de longen waren geen tuberkels te vinden. In alle preparaten van de klieren en de milt werden tuberkelbacillen gevonden.

De overige dieren stierven aan een intercurrente ziekte of werden gedood. Bijzonderheden werden niet opgemerkt. Uit de medegeelde feiten blijkt dus, dat het mogelijk is, bij een cavia met twee tuberkelbacillen tuberculose te verwekken. Wel is het hier nog slechts een beginnende tuberculose, die zich nog zeer weinig heeft verbreid, doch het is ook te verwachten, dat een infectie met zoo weinig bacillen langeren tijd noodig heeft, om aan te slaan.

Kortgeleden hebben andere onderzoekers (*Wamoscher* (65) en *Levinthal* (66)) hun proeven medegedeeld. Zij konden bij caviae met één tuberkelbacil tuberculose verwekken.

Het blijkt dus, dat het optreden van een langzaam verloopende tuberculose na inspuiting van filtraten van tuberculeus materiaal kan berusten op het doorgaan van één enkelen tuberkelbacil. Daar onder de zeer vele proeven met filtraten dit beeld slechts zelden gezien werd, moet men aannemen, dat hier een fout in de filtratie heeft plaats gehad.

Zooals boven reeds gezegd is, heb ik mij de vraag gesteld, of enkele bacillen het atypische beeld der tuberculose (voornl. het voorkomen van zuurvaste staafjes in de klieren) zouden kunnen veroorzaken, daar de mogelijkheid bestaat, dat enkele bacillen in het dierenlichaam zich wel kunnen vermeerderen, doch door de verweerkrachten van het organisme zoodanig worden veranderd, dat geen tuberculose optreedt. Ik heb de verschillende organen en klieren op dezelfde wijze behandeld,

als dit met de organen van de met filtraten ingespoten caviae gedaan is. Ook bij zeer nauwkeurig en herhaaldelijk doorzoeken der uitstrijkpreparaten, is het mij niet gelukt zuurvaste staafjes te vinden bij die dieren, waarbij geen infectie optrad.

Het optreden van atypische tuberculose wordt dus waarschijnlijk niet veroorzaakt door enkele tuberkelbacillen.

Het blijkt dus, dat de meening van *Valtis*, dat, na inspuiting van weinige bacillen, steeds typische tuberculose optreedt, juist is.

Overigens blijkt uit de bovengenoemde proeven de mogelijkheid dat, wanneer enkele bacillen den filter passeeren, deze bij de proefneming geheel onopgemerkt kunnen blijven en geen oorzaak behoeven te zijn, dat tuberculose optreedt.

HOOFDSTUK V

CONCLUSIE

Daar de gevonden afwijkingen bij de proefdieren, die met filtraten van tuberculeus materiaal en culturen van tuberkelbacillen waren ingespoten, dikwijls zeer verschillend zijn, terwijl andere onderzoekers in het geheel geen ziekelijke veranderingen konden waarnemen, na inspuiting van filtraat, dient men zeer voorzichtig te zijn met de beoordeeling van wat tot nu toe over dit onderwerp is gepubliceerd.

Zooals we in hoofdstuk III besproken hebben, zijn de medegedeelde resultaten niet bewijzend voor het bestaan van een filtreerbaren vorm van den tuberkelbacil. Vooral de uitingen in de literatuur, die het bestaan van een ultravirus bewezen achten, zijn voorbarig, daar men nog in 't geheel niet weet, welke verschijningsvorm van den tuberkelbacil de beschreven afwijkingen veroorzaakt.

Zoolang er nog zoovele factoren onbekend zijn, die het resultaat der proefnemingen kunnen beïnvloeden, kan slechts een voorloopige conclusie betreffende de filtreerbaarheid van het tuberculose virus gemaakt worden.

Het bestaan van een filtreerbaren vorm van den tuberkelbacil is, zooals Dr. *Ruys* opmerkt, op tweeërlei wijze denkbaar: 1. een, die weer overgaat in den typischen bacil en dus typische tuberculose veroorzaakt; en 2. een, die niet overgaat

in den typischen vorm en dus de atypische tuberculose geeft.

De tot nog toe gevonden afwijkingen bij de proefdieren maken het niet waarschijnlijk, dat een dergelijke strenge scheiding tusschen de beide vormen van het filtreerbare virus van den tuberkelbacil bestaat. Het is meer aannemelijk, dat tusschen beide een zekere overgang kan plaats vinden, daar men toch mag aannemen, dat slechts de omstandigheden, waaronder de tuberkelbacil verkeert, dezen doen overgaan in den filtreerbaren vorm.

Men moet dus nog een derde mogelijkheid noemen, nl., dat het „qualitatief andere virus" onder bepaalde omstandigheden over kan gaan in een typischen bacil. Oppervlakkig beschouwd, zou men kunnen zeggen, dat dit in de eerste mogelijkheid ligt opgesloten, doch dan behoeft deze overgang niet met een zekeren regelmaat gezien te worden. Het overgaan van den vorm, die de atypische tuberculose veroorzaakt, in dien, waarbij typische tuberculose optreedt, zal van verschillende meestal niet bekende factoren afhangen, die zoo nu en dan, doch niet regelmatig, een dergelijken overgang te zien geven. De filtreerbare vorm behoeft niet een geregeld voorkomende te zijn, maar slechts een facultatieve verschijningsvorm.

Het is daarom beter denkbaar, dat de vorm, die eerst steeds de atypische tuberculose veroorzaakt, tenslotte in het dierenlichaam overgaat in den typischen vorm, waarvoor het betreffende dier niet of wel gevoelig is, doch die bij overenting dan wel typische tuberculose veroorzaakt.

Dit kan niet veroorzaakt worden door fouten in het filtratieproces, daar, wanneer enkele bacillen zijn meegegaan, deze

bij herhaalde overenting wel niet de oorzaak zullen zijn van de typische tuberculose bij deze overentingen.

De onderzoekingen van *Rabinowitsch-Kempner* en *Valtis* (60), die na herhaalde overentingen een dergelijken overgang zagen optreden, pleiten sterk voor deze derde mogelijkheid. Het is bovendien heel goed denkbaar, dat dit filtreerbare virus niet eerst na herhaalde overenting, doch in het dierenlichaam zelf zich tot den typischen bacil kan ontwikkelen, hoewel dit tot nog toe niet is aangetoond.

Het „qualitatief andere virus" kan alleen dan voor de pathologie beteekenis hebben, wanneer blijkt, dat òf de veroorzaakte atypische tuberculose ziekteverschijnselen kan geven, òf bij den gastheer langen tijd latent aanwezig is, zonder dat ziekteverschijnselen zich voordoen, maar, die tenslotte toch overgaat in een dusdanigen vorm, dat klinische tuberculose optreedt.

Daar men bij de proefdieren atypische tuberculose, die tot algemeene ziekteverschijnselen aanleiding gaf, zonder dat plaatselijke reacties optraden (behoudens de beschreven progressieve cachexie) niet heeft waargenomen, zullen verdere onderzoekingen moeten leeren, in hoeverre deze atypische tuberculose voor de pathologie van beteekenis is.

De mogelijkheid, dat het filtreerbare virus bij denzelfden persoon tenslotte overgaat in een vorm, die tuberculose veroorzaakt, verdient meerdere belangstelling. Immers tot nu heeft men zich voorgesteld, dat het optreden van klinische tuberculose veroorzaakt werd òf door infectie van buiten af (exogene infectie) òf doordat in het lichaam aanwezige bacillen virulent werden (endogene reïnfectie). Blijkt dus, dat er een

filtreerbaar virus bestaat, dan is de hypothese *Baumgarten* omtrent de herediteit der tuberculose, zij het dan sporadisch voorkomend, zeker juist.

Is dus het „qualitatief andere virus" practisch alleen dan van beteekenis, indien blijkt, dat het òf als zoodanig òf na overgang tot de min of meer typische bacillen bij den mensch ziekteverschijnselen kan veroorzaken, toch moet sterk betwijfeld of een dergelijk virus bestaat. De oorspronkelijke onderzoekingen van *Fontès* hadden met de filtratie alleen ten doel, de door hem waargenomen granula uit het tuberculeus materiaal te verwijderen. Het bleek, dat het filtraat zich in het dierenlichaam weer tot zuurvaste staafjes kon ontwikkelen en *Valtis* zag, dat dezelfde verschijnselen optraden, wanneer caviae met de organen van deze dieren werden ingespoten.

Dus: filtreerbare elementen ontwikkelen zich weer tot typische bacillaire vormen, die een andere pathogeniteit bezitten dan de bacil van *Koch*. Sommige Fransche schrijvers spreken al van een „invisible" virus, doch dan is dit slechts een zeer tijdelijke vorm, daar deze na inspuiting direct weer overgaat in een zuurvasten bacillairen vorm. Bestaat er echter een constant voorkomend filtreerbaar virus, dan zullen ook de filtraten van organen van de caviae, die met filtraat zijn ingespoten, de atypische tuberculose moeten veroorzaken. Dit is bij de proefdieren, voor zoover mij bekend is, nooit gedaan. Het is ook niet waarschijnlijk, dat men zoo doende atypische tuberculose zal kunnen zien optreden.

Als men de in de klieren gevonden zuurvaste staafjes beschouwt als te zijn veranderde bacillen, die zich uit het filtreerbare virus hebben ontwikkeld, dan zullen deze den

filter niet passeeren. Het filtraat zal dan geen atypische tuberculose bij de proefdieren verwekken.

Indien dus blijken mocht, dat de tuberkelbacil een filtreerbare vorm heeft, dan zal deze als zoodanig bepaalde klinische verschijnselen kunnen veroorzaken. Hoewel denkbaar is boven uiteengezet, dat dit uit de gevonden verschijnselen bij de proefdieren niet waarschijnlijk is. De beschreven cachexie is nog te weinig waargenomen, om deze te kunnen beschouwen als veroorzaakt door dit filtreerbaar virus. Bovendien komt dit verschijnsel bij de meeste proefdieren niet voor, niettegenstaande ze allen op gelijke wijze met filtraat zijn ingespoten.

Eveneens denkbaar, doch niet waarschijnlijk is het, dat deze filtreerbare vorm zich in het dierenlichaam snel tot de typische tuberkelbacil kan ontwikkelen, daar de gevonden typische tuberculose na inspuiting van filtraat zeer waarschijnlijk berust op een infectie met enkele tuberkelbacillen, die bij de filtratie zijn mee doorgegaan, gelet op de resultaten na inspuiting van enkele bacillen.

De gevonden verschijnselen maken het waarschijnlijk, dat de tuberkelbacil onder omstandigheden kan overgaan in een vorm, die filtreerbaar is, welke bepaalde atypische veranderingen in het lichaam kan veroorzaken, doch die ten slotte *òf* verdwijnt of blijft, maar dan verder geen beteekenis heeft, *òf* kan overgaan in den typischen bacil van *Koch*, die dan de typische tuberculose veroorzaakt.

Men mag uit de beschreven resultaten dus alleen opmaken, dat de tuberkelbacil in filtreerbare elementen kan overgaan, doch men mag geenszins aannemen, dat er een filtreerbaar „virus" als zoodanig bestaat.

SLOTOPMERKING

Zooals we gezien hebben, zijn de resultaten, die men verkrijgt na inspuiting van filtraten van tuberculeus materiaal, zeer verschillend en dikwijls tegenstrijdig. De onderzoekingen der Franschen hebben niet onomstootelijk aangetoond, dat een filtreerbaar virus van den tuberkelbacil bestaat. Nadere onderzoekingen zullen nog moeten leeren, in hoeverre de verkregen positieve resultaten veroorzaakt worden door fouten bij de filtratie. Daar de tuberkelbacil onder ongunstige omstandigheden over kan gaan in granulaire vormen en men heeft waargenomen, dat op de gebruikelijke voedingsbodems gekweekte culturen eveneens, behalve den typischen vorm, vele granulaire elementen bevatten, is het waarschijnlijk, dat deze soms den filter kunnen passeeren. Welke de afwijkingen zijn, die door deze granula veroorzaakt worden en welk verband er bestaat tusschen de beschreven atypische tuberculose en deze misschien filtreerbare elementen, zal nog nader onderzocht dienen te worden.

Het is duidelijk, dat men, zoolang er nog zooveel onbekende factoren aanwezig zijn, niet gerechtigd is, het bestaan van een filtreerbaar virus van den tuberkelbacil aan te nemen.

Zeer terecht merkt *Hauduroy* (31) op, dat het gevaarlijk zou zijn, om de experimenteele resultaten tegenover de gevestigde klinische waarnemingen te plaatsen, en nog vele

contrôles, rectificaties en nieuwe proeven dienen genomen te worden.

Het is dan ook niet juist, deze onderzoekingen aan te halen als bewijsgrond alsof reeds was komen vast te staan, dat ' etgeen men na inspuiting van filtraten ziet optreden, ve is oorzaakt wordt door een filtreerbaar virus. Hetzelfde gelo voor de hereditaire tuberculose.

Bij de bespreking van de resultaten van het B.C.G.-vaccin maakt *Calmette* [1]) de volgende opmerking (blz. 22): „Il pourrait arriver que les décès qui surviennent malheuresement avec une assez grande fréquence parmi les enfants nés de mères tuberculeuses, dans les premiers jours ou les premières semaines après leur venue au monde *(et qui, nous le savons aujourd'hui résultent le plus souvent d'une infection intra-utérine par le virus ou par l'ultravirus tuberculeux, sans lésion placentaire)* soient attribués par la famille à la vaccination lorsqu' il a été procédé à celle-ci alors que l'enfant paraissait sain."

Al mag het nu juist zijn, dat deze sterfgevallen niet op de debetzijde gesteld moeten worden van het B.C.G.-vaccin, evenmin is het mijns inziens geoorloofd, te zeggen, dat deze kinderen gestorven zijn tengevolge van een infectie met het filtreerbare virus. Immers, het staat nog geenszins vast, dat deze sterfgevallen daarop berusten.

In een artikel „Ueber die Lokalisations-gesetze bei der Tuberculose" zegt *Blumenberg* [2]) aan het einde van een bespreking van „de wet van *Cornet*" het volgende (blz. 135):

---

[1]) La Prémunition au vaccination préventive des nouveau-nés contre la tuberculose par le B.C.G.: Parijs 1928.

[2]) Zentralbl. f. d. Ges. Tub. forschung. Bd. 26, blz. 129.

„Die der Impfstelle regionären Lymphdrüsen sind also nicht immer, wie *Cornet* fordert, Filter, in denen die Erreger zunächst zurückgehalten werden und ihre krankmachende Wirkung entfalten. Das zeigt auch ein vor kurzem von *Durand* und *Charchanski* veröffentlicher Fall. Ein Meerschweinchen wurde met 1 cc. *Chamberland*-L_3-Filtrat von tuberculösem serofibrinösen Pleuraexsudat subcutan geimpft. Nach 3 wochen fanden sich weder an der Impfstelle noch in den inneren Organen tuberculöse Manifestationen; als einziger pathologischer Befund wurden verkäste Drüsen in der Nachbarschaft der Milz ermittelt, die morphologisch und tinctoriell typische Tuberkelbacillen enthielten . . . ."

De schrijver is blijkbaar niet bekend met de onderzoekingen over de filtreerbaarheid. De proeven van *Cornet* en anderen zijn gedaan met typische tuberkelbacillen, terwijl juist de eigenaardigheid van het filtreerbare virus zou zijn, dat de afwijkingen optreden vèr van de plaats van inspuiting. Zonder meer kunnen dus deze onderzoekingen niet met elkaar vergeleken worden.

De genoemde voorbeelden zijn voldoende, om te laten zien, dat men zoolang het vraagstuk van het bestaan van een filtreerbaren vorm van den tuberkelbacil nog zooveel heeft, dat onopgelost is, de beschreven resultaten niet mag gebruiken als bewijs voor zaken, die geheel buiten deze questie staan of waarvan de samenhang met het filtreerbare virus nog lang niet vaststaat.

Voorloopig moet men dus eischen, dat de onderzoekingen herhaald en gecontrôleerd worden. De resultaten kunnen het terrein van het laboratorium nog niet verlaten.

RÉSUMÉ [1])

Les résultats obtenus par des injections avec des filtrats de cultures de bacilles de la tuberculose et avec des produits tuberculeux, sont très différents. Certains expérimentateurs ont obtenu des résultats négatifs *(Fessler, Montemartini, Ruys)*. Ce sont surtout les expérimentateurs français *(Arloing, Dufourt, Durand, Vaudremer, Hauduroy, Calmette, Valtis, Nélis, Nasta, Mlle Togounoff* et d'autres) qui ont pu enregistrer des résultats positifs, c. à d. qu'ils pouvaient constater la présence ou bien de la tuberculose typique avec ou sans chancre d'inoculation, ou bien de la tuberculose atypique, se signalant par des bacilles acido-résistants dans les ganglions hypertrophiés, principalement dans les ganglions trachéo-bronchiques; parfois ils trouvaient des modifications tuberculeuses, strictement localisées dans différents organes. Les mêmes modifications atypiques ont été constatées chez des nourrissons de mères tuberculeuses; en injectant ensuite des cobayes avec des organes de ces

---

[1]) C'est un grand plaisir de pouvoir témoigner ici ma reconnaissance à Monsieur le Professeur *Calmette* pour l'hospitalité dont j'ai joui à l'Institut Pasteur. Je remercie très vivement aussi Monsieur le Docteur *Valtis* de la grande bienveillance qu'il m'a montrée en me fournissant tous les renseignements, et de la peine et du temps qu'il a bien voulu me consacrer pour me mettre au courant de sa méthode et des résultats de ses expériences opérées avec tant d'exactitude. Je regrette beaucoup de ne pas avoir en le bonheur de pouvoir confirmer ses résultats.

enfants on a pu provoquer la tuberculose atypique chez ces animaux.

On pense avoir prouvé par là qu'il existe une forme filtrante du bacille tuberculeux pouvant passer non seulement les filtres de porcelaine, mais aussi les filtres naturels, notamment le placenta, de sorte que la conception actuelle, savoir que la tuberculose ne se présente presque jamais comme héréditaire, est considérée comme inexacte. Par inoculation d'organes de cobayes injectés de filtrat, on a constaté qu'il se présente toujours de nouveau la même tuberculose atypique *(Valtis, Arloing, Dufourt* et *Malartre)* qui cependant, par inoculation réitérée, peut de nouveau se transformer eu tuberculose typique *(Valtis, Nègre, Boquet, Mlle Certonciny* et *Rabinowitsch-Kempner).*

J'ai essayé de vérifier ces expériences en injectant des cobayes avec des filtrats de cultures de bacilles glycérinées (tableau I) et avec des materiaux tuberculeux (tableaux II et III), suivant la technique de *Valtis.*

On peut constater un résultat négatif sur un nombre de 41 cobayes. Nullepart des symptômes de tuberculose ne pouvaient être trouvés et dans aucun cas un examen microscopique des ganglions et des organes n'a démontré avec certitude la présence de bacilles acido-résistants. Il n'y a eu qu'un seul animal (cobaye 3, tableau II), qui, ayant été injecté avec 9.5 cc. de filtrat de crachat contenant des bacilles, mourut de tuberculose généralisée.

L'ensemencement du filtrat sur *Petroff* resta stérile. Il ne se produisit aucune nodule au point d'inoculation. Son compagnon (cobaye 4, tableau II) ayant été injecté avec 7.5 cc.

du même filtrat, ne montrait non plus aucune nodule au point d'inoculation; tué 118 jours après l'injection on put constater de la tuberculose atypique. Les ganglions mésenteriques et trachéo-bronchiques, étaient fortement hypertrophiés et dans le testicule gauche se trouvait un abcès. Dans toutes ces lésions se trouvaient des bacilles de la tuberculose. La rate, qui avait grossi, mais qui ne présentait pas de tuberculose, fut broyée et introduite sous la peau d'un cobaye, qui mourut après 46 jours de tuberculose généralisée avec chancre d'inoculation.

La rate de cet animal-ci fut broyée, mélangée d'eau physiologique, ensuite filtrée par le filtre de *Chamberland* L_3, après y avoir ajouté une cultures de choléra de poules.

Les ensemencements restèrent stériles. Les deux cobayes (5 et 6, tableau III) injectés avec 10 cc. du filtrat, moururent d'une pneumonie 20 jours après l'injection et on ne trouvait aucune lésion tuberculeuse et aucun bacille acido-résistant dans les différents ganglions.

Les ganglions mésenteriques et trachéo-bronchiques, ainsi que le pus de l'abcès du cobaye 4, tableau II, ont été broyés, mélangés d'eau physiologique et filtrés par *Chamberland* L_2. On a injecté 10 cc. du filtrat sous la peau de trois animaux (cobayes 9, 10 et 11, tableau III). A l'autopsie il ne se trouvait pas de lésions tuberculeuses et nullepart de bacilles acido-résistants ne furent trouvés.

Quoique les ensemencements soient restés stériles, je crois que ces deux cas positifs doivent être attribués au passage de quelques bacilles à travers la bougie. Ceci est d'autant plus probable que *Valtis* a démontré que l'injection d'organes de cobayes, injectés de filtrat, présente de nouveau la tuber-

culose atypique, tandis que l'animal injecté avec une emulsion de rate eut la tuberculose typique expérimentale.

En outre, une répétition de la même expérience au moyen de crachats du même malade, passés également par le filtre *Chamberland* L_2, donna un résultat négatif.

J'ai injecté de nouveau 3× des cobayes avec des organes des 41 animaux qui avaient un résultat négatif, également avec résultat négatif.

Je n'ai donc pu confirmer les expériences faites par les auteurs français.

La question se pose de savoir si les anomalies décrites sont probantes pour l'existence d'une forme filtrante du bacille de la tuberculose.

Il faudrait avant tout avoir la certitute que le filtrat ne contienne pas de bacilles. Les méthodes en usage (observation directe du filtrat après centrifugation, l'ensemencement du filtrat sur des milieux de culture, après avoir ajouté aux materiaux à filtrer des cultures de très petits micro-organismes) ne permettent pas d'acquérir cette certitude. C'est la raison pour la quelle la nécessité s'impose de filtrer le filtrat à plusieurs reprises, afin que les rares bacilles qui pourraient avoir passé à la première filtration soient retenus aux filtrations suivantes.

Les anomalies trouvées (hypertrophie des ganglions trachéo-bronchiques, foyers pulmonaires) ne caractérisent pas un virus filtrant, vu qu'elles se présentent aussi chez des cobayes qui n'ont pas été injectés avec un filtrat et qu' elles proviennent d'une infection des voies respiratoires d'orgine vulgaire. L'hypertrophie momentanée et régionale des ganglions lymphatiques peut se produire comme réaction de la matière toxique

inoculée. Le fait que la réaction de la tuberculine est temporairement positive, n'est d'aucune preuve pour l'existence d'un virus filtrant et ne démontre que l'introduction d'un antigène.

Quant aux bacilles acido-résistants, les expériences françaises n'ont pas toujours prouvé leur présence et il s'agit de savoir jusqu'à quel point il y a rapport avec le virus filtrant. Il faudra démontrer que les cobayes sains n'en présentent pas (ce pourraient être des bacilles acido-résistants qui n'ont rien à faire avec les bacilles de la tuberculose) et que les cobayes injectés avec un filtrat en présentent régulièrement. Comme d'autres n'ont pas su démontrer ces bacilles, ni moi non plus, il n'est pas encore prouvé qu'ils se rattachent à un virus filtrant; sans cela j'aurais dû les trouver. Le plus probable est, me semble-'t-il, que des éléments granulaires, dans certaines circonstances peuvent traverser la bougie et provoquer par exception les anomalies décrites. Il n'est pas permis, toutefois, de parler d'un ultravirus tuberculeux, vu que la tuberculose atypique devrait se produire alors aussi chez des animaux injectés avec des filtrats d'organes de cobayes injectés de filtrat.

La question était de savoir si quelques bacilles pourraient provoquer la tuberculose atypique.

Valtis, il est vrai, a su engendrer sur des cobayes une tuberculose typique au moyen de 4 bacilles (et il croit avoir prouvé par là que le virus filtrant se conduit autrement que quelques bacilles), mais ces expériences ont été faites à l'aide de délayages de cultures, de sorte qu'il n'est pas certain qu'en réalité le nombre voulu des bacilles, que le niveau du délayage pourrait faire admettre, fut injecté.

C'est pour cela que j'ai inoculé des cobayes avec des

bacilles de tuberculose que j'ai obtenu suivant la méthode inventèe par le Dr. *S. L. Schouten* [1]), par isolement sous le microscope. On introduit les bacilles dans une goutte de gelatine, qui, après figement, est inoculée au moyen d'une petite pelle de platine sous la peau des cobayes, après avoir fait une incision et détaché le sub-cutis.

Tous les animaux présentèrent une guérison normale de la blessure, et aucune nodule au point d'inoculation ne se produisit.

Comme il résulte du tableau IV, 2 cobayes furent atteints de la tuberculose; les autres cobayes moururent ou furent tués sans qu'il ne se produisit de la tuberculose.

Les organes et les ganglions ont été soumis de la même façon à un examen par rapport aux bacilles acido-résistants. On ne trouva pas de bacilles acido-résistants parmi un seul des animaux non atteints de la tuberculose. Un cobaye inoculé avec 2 bacilles présenta un commencement de tuberculose. Les ganglions inguinales et les ganglions souslombaires du côté de l'inoculation étaient hypertrophiés et partiellement caséeux.

Le cobaye inoculé avec 10 bacilles révéla une tuberculose généralisée.

Il résulte que quelques rares bacilles typiques ne provoquent pas de tuberculose atypique; mais il résulte aussi qu'on peut introduire quelques rares bacilles, sans qu'il ne se produise de la tuberculose, un fait, connu du reste depuis longtemps.

---

[1]) Zeitschr. für Wiss. Mikrosc. und für Mikrosc. Technik, Bd. XXII, blz. 10; 1905.

LITERATUUR

1. *Fontès:* Studiën über Tuberculose.Memor. do Inst. Oswaldo Cruz. 1910 T. 2, blz. 186.
2. *Philibert.* Bullet. de la Soc. d'Etudes de la Tuberculose 2e Serie T. 2, No. 1.
3. C. R. de la Soc. de Biol. T. 89, blz. 80.
4. C. R. de la Soc. de Biol. T. 87, blz. 1012.
5. C. R. de la Soc. de Biol. T. 84, blz. 775; id. T. 85 blz. 1055.
6. *Spronck.* Experimenteele onderzoekingen over immuniteit tegen tuberculose. Ned. Tijdschrift voor Geneesk. II, blz. 1505, 1923.
7. *Vaudremer.* Le Bacille de la Tuberculose. Paris Méd. I blz. 26, 1924.
8. *Valtis.* Sur la filtrabilité du bacille tuberculeux à travers des bougies *Chamberland.* Ann. de l'Institut Pasteur T. 38 blz. 453.
9. —— Sur la filtration du bacille tuberculeux à travers les bougies *Chamberland* L². C. R. de la Soc. de Biol. T. 90, blz. 19.
10. —— Sur la filtration à travers la bougie *Chamberland* L². du bacille de *Koch* provenant d'un pus tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 90, blz. 74.
11. —— Formes filtrables dans les cultures du bacille tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 90, blz. 1130.
12. *Bezançon, Philibert* et *Hauduroy.* Sur la structure des voiles jeunes des cultures de bacilles tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 90, blz. 475.
13. *Gessard* et *Vaudremer.* Recherches sur la culture du bacille tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 90, blz. 732.
14. *Durand* et *Vaudremer.* Retour au type classique du bacille tuberculeux après passage par le péritoine du cobaye. C. R. de la Soc. de Biol. T. 90, blz. 916.
15. *Durand.* Pouvoir pathogène du bacille tuberculeux filtré. C. R. de la Soc. de Biol. T. 91, blz. 11.
16. *Arloing* et *Dufourt:* Transmission du virus tuberculeux par voie trans placentaire chez la famelle de cobaye tuberculisée avec un filtrat de produits tuberculeux humains. C. R. Acad. des Sciences T. 181, blz. 826.

17. *Calmette, Valtis, Nègre* et *Boquet*. Infection expérimentale transplacentaire par les éléments filtrables du virus tuberculeux. C. R. Acad. des Sciences. T. 181, blz. 491.

18. *Vannucci*. Zie Ref. Centralbl. f. d. Ges. Tubercul. forschung Bd. 23, 1925.

19. *Montemartini*. Zie Ref. Centralbl. f. Bact. Bd. 80, blz. 297.

20. *Durand* et *Charchanski*. Tuberculose expérimentale après inoculation de filtrats tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 93, blz. 499.

21. *Arloing* et *Dufourt*. Contribution à l'étude des formes filtrantes du bacille tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 93, blz. 165.

22. *Arloing, Dufourt* et *Malartre*. Caractères anatomiques et cliniques de la tuberculose expérimentale du cobaye, provoquée par l'inoculation des formes filtrantes du bacille tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 94, blz. 46.

23. *Valtis*. Sur l'apparition rapide d'éléments virulents filtrables dans les organes des animaux expérimentalement infectés par le bacille tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 94, blz. 376.

24. —— Rapidité de l'infection tuberculeuse chez le cobaye par inoculation intrapéritoneale de produits tuberculeux filtrés sur bougie *Chamberland* L_2. C. R. de la Soc. de Biol. T. 94, blz. 237.

25. *Veber*. Sur la filtration du bacille tuberculeux du liquide de pneumothorax artificiel sur bougie *Chamberland* L_2. C. R. de la Soc. de Biol. T. 94, blz. 8.

26. *Boquet, Nègre* et *Valtis*. Sur l'action sensibilisante et immunisante des filtrats d'exsudats tuberculeux bacillifères. C. R. de la Soc. de Biol. T. 94, blz. 235.

27. *Titu Vasiliu* et *Iriminiou*. Sur la filtrabilité des bacilles tuberculeux des produits lymphogranulomateux C. R. de la Soc. de Biol. T. 94, blz. 1311.

28. *Durand*, Les formes filtrantes du virus tuberculeux. Bullet. de l' Acad. de Méd. T. 95. blz. 75 1926.

29. *Hauduroy*. Les formes filtrantes du bacille tuberculeux. Revue de Path. comp. et d' Hyg. génér. T. 26, blz. 765 1926.

30. *Calmette* et *Valtis*. Les éléments virulents filtrables du bacille tuberculeux. Annales de Méd. T. 19, blz. 553 1926.

31. *Hauduroy*. Etat actuel de la question des formes filtrantes du bacille tuberculeux. Presse Méd., 20 Febr. 1926.

32. *Thérasse*. Le parasite de la Tuberculose en 1926. Revue belge de la Tuberculose Jg. 17, blz. 219.

33. *Fessler*. Filtrationsversuche an Tuberkelbacillen. Centralblatt f. Bact. Bd. 98, blz. 148.

34. *Fontès*. Filtrierbare Formen der Tuberkelbacillen. Wien. Klin. Wochenschr. Jg. 76, blz. 1050.

35. *Bezançon* et *Philibert*. Le bacille acido-résistant n'est qu' une des formes du parasite de la tuberculose. Presse Méd. Jg. 34, blz. 33.

36. *Arloing* et *Dufourt*. Rôle présumé du virus tuberculeux filtrant dans la pathogénie de certaines hypotrophies et atrophies des nouveau-nés des mères tuberculeuses. Bullet. de l'Acad. de Méd., Bd. 95, blz. 318.

37. —— A propos du virus tuberculeux filtrant et du problème de l' hérédité tuberculeuse. Bullet. de l'Acad. de Méd., Bd. 95, blz. 416.

38. —— Sur la variabilité de la virulence et des effets pathogènes du virus tuberculeux filtrant. Ses conséquences dans le problème de l'hérédité tuberculeuse. Bullet. de l'Acad. de Méd., Bd. 96, blz. 301.

39. *Debré, Lelong* et *Bonnet*. Phénomène cutané allergique du type nécrotique obtenu chez le cobaye par inoculations de filtrats de cultures de bacilles tuberculeux humains. C. R. de la Soc. de Biol. T. 95, blz. 1425.

40. *Durand, Ouzy* et *Benda*. Forme éphémère curable de la Tuberculose chez le cobaye après inoculation de virus filtrant. C. R. de la Soc. de Biol. T. 95, blz. 1545.

41. *Arloing* et *Dufourt*. Intradermoréaction à la tuberculine chez le cobaye infecté avec le virus tuberculeux filtrant. C. R. de la Soc. de Biol. T. 95, blz. 1363.

42. *Calmette, Valtis* et *Lacomme*. Transmission intrautérine du virus tuberculeux de la mère à l'enfant. Presse Méd. 1926, blz. 1409.

43. *Arloing* et *Dufourt*. Résultats obtenus par l'inoculation de virus tuberculeux filtrant aux cobayes nouveau-nés. C. R. de la Soc. de Biol. T. 95, blz. 1414.

44. *Arloing, Dufourt* et *Malartre*. Etudes sur les variations morphologiques et pathogènes du bacille de la Tuberculose. Paris Méd. Jg. 16, blz. 22, '26.

45. *Nélis*. Les éléments filtrables de l'ultravirus tuberculeux dans les urines de sujets atteints de tuberculose rénale. C. R. de la Soc. de Biol. T. 96, blz. 21.

46. *Arloing* et *Dufourt*, Atténuation du virus filtrant tuberculeux labile par les courants électriques et les rayons ultraviolets. C. R. de la Soc. Biol. T. 96, blz. 41.

47. —— Temps de conservation du virus filtrant tuberculeux dans les produits pathologiques. C. R. de la Soc. de Biol. T. 96, blz. 453.

48. *Fontès.* Sur les granulations amphophiles des leucocytes du cobaye et leur confusion possible avec le bacille de la Tuberculose. C. R. de la Soc. de Biol. T. 96, blz. 458.

49. *Burle de Figueiredo.* Les granulations amphophiles des leucocytes du cobaye et leur confusion possible avec le bacille de la Tuberculose. C. R. de la Soc. de Biol. T. 96, blz. 499.

50. *Nasta.* Présence des formes filtrables du Bacille tuberculeux dans les épanchements de pleurésie sérofibrineuse. C. R. de la Soc. de Biol. T. 96, blz. 591.

51. *Popper, Slobosiano et Raileanu.* Intradermo-réaction avec un filtrat tuberculeux chauffé chez les enfants nouveau-nés. C. R. de la Soc. de Biol. T. 96, blz. 1235.

52. *Popper* et *Raileanu.* L'intradermo-réaction avec un filtrat chauffé chez les cobayes inoculés avec des produits tuberculeux filtrés. C. R. de la Soc. de Biol. T. 96, blz. 1237

53. *Mlle A. Togounoff.* Sur les éléments filtrables du virus tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 97, blz. 349.

54. *Nélis.* L'ultravirus tuberculeux dans les urines de sujets atteints de tuberculose rénale. C. R. de la Soc. de Biol. T. 97, blz. 475.

55. *Valtis.* Sur les propriétés pathogènes des bacilles acido-résistants issus de l'ultravirus tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 97, blz. 477.

56. *Mlle. A. Togounoff.* Recherches des éléments filtrables du virus tuberculeux dans les crachats. C. R. de la Soc. de Biol. T. 97, blz. 547.

57. —— Les éléments tuberculeux filtrables dans les organes tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 97 blz. 625.

58. *Nélis.* L'intradermo-réaction au filtrat d'une culture de bacilles de *Koch* chez l'enfant issu de parents tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 97 blz. 681.

59. *Popper* et *Raileanu.* La réinfection tuberculeuse chez les cobayes infectés auparavant par le virus filtrant tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 97, blz. 986.

60. *Valtis, Nègre, Boquet* et *Mlle Certonciny.* Sur la virulence des bacilles acido-résistants provenant des éléments filtrables du Bacille de *Koch.* C. R. de la Soc. de Biol. T. 97, blz. 1667.

61. *Dr. A. Charlotte Ruys.* Filtrabiliteit van den Tuberkelbacil. Ned. Tijdschrift v. Geneesk. Jg. 71, I, blz. 3190.

62. *Bernard* et *Nélis.* Les travaux français sur la filtrabilité du virus tuberculeux et le problème de l'hérédité tuberculeuse. Presse Méd. T. 96 blz. 1490.

63. *Arloing* et *Dufourt*. 6e Congrès Nat. de la Tuberculose 1927, blz. 276.

64. *Rabinowitsch-Kempner*. Uebertragung der Tuberculose durch filtrierbare Erreger. Deutsche Mediz. Wochenschrift 1927, blz. 1982.

65. *Wamoscher*. Centralblatt. f. Bact. etc. Bd. 104, blz. 86.

66. *Levinthal*. Zeitschrift f. Hyg. und. Infect. Krankh. Bd. 107, blz. 387.

67. Verslagen der Tuberculose studiecommissie I, 1927.

68. *Arloing* et *Dufourt*. Essai de culture du Bacille Tuberculeux en eau ordinaire et en eau distillée. C. R. de la Soc. de Biol. T. 98, blz. 37, 1928.

69. *Bonciu* et *Ionesco*. Présence des formes filtrables du Bacille de *Koch* dans le sang de certains tuberculeux. C. R. de la Soc. de Biol. T. 98, blz. 464, 1928.

70. —— Présence des formes filtrables du Bacille de *Koch* dans les épanchements de pleurésie sérofibrineuse C. R. de la Soc. de Biol. T. 98 blz. 466.

71. *Sterling-Okuniewski*. Réaction cutanée au filtrat tuberculeux chez les sujets atteints de tuberculose. C. R. de la Soc. de Biol. T. 98, blz. 71.

72. *Dr. A. Charlotte Ruys*. Het vraagstuk van het bestaan van een filtreerbaren vorm van den tuberkelbacil. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. Jg. 72, I, blz. 795.

73. *Calmette*. L'infection bacillaire et la Tuberculose 2e Edit., 1922.

74. *Brauer, Schröder u. Blumenfeld*. Handbuch der Tuberculose.

75. *Moreau*. Techniques de Laboratoire pour le diagnostic de la Tuberculose, Paris 1926.

76. *Calmette, Nègre et Boquet*. Manuel technique de Microbiologie et Serologie 2e Edit. 1926.

77. *Leon Bernard*. La Tuberculose Pulmonaire 2e Edit. 1925.

78. *Th. J. v. Stockum*. Morphologische studie van den tuberkelbacil. Dissertatie, Leiden 1922.

79. *Harbitz*. Untersuchungen über die Haüfigkeit, Lokalisation und Ausbreitungswege der Tuberculose, insbesondere mit Berücksichtigung ihres Sitzes in dem Lymphdrüsen und ihres Vorkommens im Kindesalter: Cristiania 1905.

80. *S. L. Schouten*. Een methode voor het maken van reinculturen, uitgaande van één onder het microscoop geïsoleerde cel. Diss. Utrecht 1901.

INHOUD

STELLINGEN

I.

Het bestaan van een „ultravirus tuberculeux" is niet bewezen.

II.

De meening van *Bezançon* en *Philibert*, dat de typische tuberkelbacil slechts één der vormen is, waaronder het tuberculose virus zich voordoet, is juist.

III.

Bij het verschijnsel „haemoptoë" denke men ook aan de spirochaetosis bronchialis.

IV.

Het vroeg optreden van de menstruatie bij tuberculeuze meisjes is een prognostisch ongunstig teeken.

V.

Een spontane pneumothorax berust niet op tuberculose.

VI.

In ieder sanatorium voor longlijders behoort doeltreffende arbeidstherapie gedreven te worden.

VII.

Bij de behandeling van geesteszieken houde men rekening met het veelvuldig voorkomen van tuberculose bij deze ziekten.

VIII.

Zonder uitzondering make men bij de extractio lentis een snede met flinke conjunctiva-lap.

IX.

De resultaten verkregen met het B.C.G.-vaccin, wettigen nadere toepassing.
