O. qu.
532

GESCHENK VAN
MEVR. DE WED.
DR. G. P. VAN
TIENHOVEN-
NINCK BLOK.

040582

Bacteriologische Memoranda.

TABELLEN

TEN GEBRUIKE BIJ HET PRACTISCH WERKEN

DOOR

Dr. F. W. VAN HAEFTEN.

1ste Aflevering.



UTRECHT.
G. J. C. SCRINERIUS.
1899.

INHOUDSOPGAAF.

	Bladz
Actinomyces	2
Bacillus anthracis	4
Vibrio cholerae asiaticae	6
Bacillus coli communis	8
Bacillus diphtheriae	10
Diplococcus pneumoniae	12
Gonococcus	14
Bacillus leprae	16
Bacillus mallei	18
Bacillus oedematis maligni	20
Bacterium pestis	22
Bacillus pneumoniae	24
Bacterium pyocyaneum	26
Staphylococcus pyogenes	28
Streptococcus pyogenes erysipelatis	30
Bacillus tetani	32
Bacillus tuberculosis	34
Bacillus typhi abdominalis	36
Malaria parasieten	38
Spirochaete Obermeieri	41

INLEIDING.

Hoewel bewust van de onvolledigheid der in dit geschrift verzamelde herinneringspunten, betrekkelijk de voornaamste eigenschappen en kenmerken van de thans bekende micro-organismen, zullen m. i. deze tabellen als hulpmiddel bij het practisch werken niet misplaatst zijn

Ook van de gebreken, die de gebezigde vergelijkingen kenmerken, ben ik overtuigd; immers zij geven slechts bij benadering de werkelijkheid weer en natuurlijk kon er geen sprake van zijn in deze korte beschrijvingen alle afwijkingen op te nemen. Ik heb echter getracht in beknopten vorm van elke bacterie het typische beeld te kiezen, ontleend aan de meest betrouwbare bronnen. Wordt met de bovenstaande opmerkingen bij voorbaat rekening gehouden, dan kan een scherper geschetst beeld vooral den beginnenden bacterioloog gemak opleveren, zonder aan zijne zelfstandige ontwikkeling schade te doen.

De Schrijver.

Utrecht, Februari 1899

Actinomyces.

I. *Vorm.* Straalschimmel, aanwezig in macroscopisch zichtbare *zwavelgele* korrels, die zoo groot zijn als een *zandkorrel*, of een *mosterdzaadje* en soms verkalkt zijn. Polymorph; kenmerkend is echter de astervorm: de kolonie is vaak *niervormig* en heeft een radiaire bouw, aan de peripherie vindt men straalsgewijs gerangschikte *sterk-lichtbrekende* draden, als *kristaltakken*, waaraan knotsvormige lichamen *(kolven)* zitten, terwijl in het midden een dradennet is. Verder kan de straalschimmel zich voordoen als een minder sterk vertakt dradennet, zonder knotsen; dit zijn jonge vormen, die er macroscopisch als doorschijnende, grijze, slijmerige, soms vastere lichaampjes uitzien.

Eindelijk komt zij in de *anaërobe culturen* voor als staafjes en als groepen van bolletjes, die aan coccen herinneren, maar bij kweeking tot draden uitgroeien.

In de culturen van de *aërobe species* treft men lange draden aan met rechthoekige vertakkingen, die door uitspruiting ontstaan zijn.

De *knotsen* vindt men alleen in het aangetaste organisme, *niet in de reinculturen buiten het lichaam.*

Twee hoofdspecies: de anaërobe van M. Wolff en J. Israel; de aërobe van Boström e. a.

II. *Bewegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.*

In streepcultuur. De groei op gelatine is niet zoo goed als op agar en langzaam.

Hiervan maakt men gebruik voor de reinkweeking, men neemt vóór den 5den dag van die plaatsen der platen, waar schijnbaar niets is opgekomen en ent over op andere voedingsbodems, bijv. op glycerine-agar.

In steekcultuur. ———

Op platen. ———

Op Voedingsagar. Op agar, bij 37 °C en bij afsluiting der dampkringslucht, ontstaan na 2—5 dagen zeer kleine, afzonderlijk liggende, doorschijnende bolletjes, als dauwdroppeltjes; na 8 dagen zijn zij ondoorschijnend,

zoo groot als een speldekop, worden niet grooter. Zelden confloeeren zij tot een wit beslag. Tevens vindt men eenige grootere, witte, rozetvormige knobbels, die in het midden hooger en afgeknot kegelvormig zijn, op regelmatige afstanden gleuven bezitten en met wortelvormige uitloopertjes in de agar dringen.

De *aërobe* species vertoont bijna overeenkomstige kolonies, maar deze groeien betrekkelijk snel.

Glycerine-agar is een goede voedingsbodem.

In bouillon. Bouillon blijft, zoowel bij enting met de aërobe als met de anaërobe species, helder, met gedeeltelijk flotteerende, kleine, witte, korrelige kolonies.

Op aardappelen. De aërobe species van Boström e. a. vormt op aardappel een baksteenrood beslag.

Op andere voedingsbodems. De anaërobe species vertoont de volgende culturen in eieren: 1°. *In rauwe eieren*, bij 37° C.: na 9—28 dagen geen gasontwikkeling, in wit en dojer ondoorschijnende, witte klompjes en puntjes, of men vindt in het vloeibaar blijvende eiwit strepen van een massa, die op *troebel neusslijm* gelijkt. 2°. *In eieren, die 3—4 minuten gekookt zijn*: na 9—28 dagen geen gasontwikkeling, op de grens tusschen wit en dojer: ondoorschijnende, witte klompjes en puntjes; of een vuilkorrelige massa langs het steekkanaal.

IV. *Verhouding tot lucht.* Anaërobe species van M. Wolff en J. Israel; aërobe species van Boström e. a.

V. *Temperatuur.* Optimum 37° C; de aërobe species groeit ook goed bij kamert.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Soms zeer langzame vervloeiïng.

VII. *Verhouding tegenover kleurstoffen.* Kleuring met picrocarmijn; of met carbolfuchsine, onder verwarming; of volgens de methode van *Gram-Günther*.

VIII. *Dierproef.* De aërobe species van Boström e. a. is niet met zekerheid pathogeen.

Daarentegen is het Wolff en Israel gelukt, door intraperitoneale injectie, zoowel van agarculturen, als van culturen in eieren en door injectie van een suspensie van de schimmels in de lever, bij *konijnen, cavias en een schaap* multipele abdominale tumoren te doen ontstaan, die talrijke actinomyces-kolonies bevatten.

Bacillus anthracis. (Pollender; Davaine).

I. *Vorm en sporenvorming.*

Recht en dik staafje, lang 5—6—10 micron, breed 1—1,5 micron, met schotelvormige verdiepingen aan de uiteinden, of rechthoekig afgesneden (Is dikker dan bac. oed. maligni).

In de culturen schijndraden.

Vormt glinsterende, ovale *sporen*, slechts bij aanwezigheid van *vrije zuurstof;* tijdens het leven worden noch in het bloed, noch in de organen, sporen gevonden; ook niet in het ongeopende, versche cadaver van aan miltvuur gestorven dieren.

Het sporenvormend vermogen gaat o. a. verloren bij kweeking *boven 42° C.* en door toevoeging van carbolzuur ($\frac{1}{600}$—$\frac{1}{1000}$), of van Kalbichromat ($\frac{1}{2000}$) aan de voedingsmedia.

Miltvuursporen zijn zeer resistent, sterven eerst bij een hoogere temperatuur en bieden meer weerstand aan uitdroging dan de bacillen.

II. *Bewegelijkheid.*

Geen eigen beweging, (bac. subtilis is wel bewegelijk).

III. *Groei op voedingsgelatine.*

In streepcultuur.

In steekcultuur.

Langs het steekkanaal strekt zich een witachtige streep uit, waarvan rondom draadvormige vertakkingen uitgaan, veel gelijkende op een *omgekeerden denneboom.* Aan de oppervlakte vormt zich een dikke, vlokkige cultuur. De gelatine vervloeit *boven* het eerst.

Op platen.

Karakteristieke plaatcultuur: er ontstaan ronde, *viltachtige* kolonies, die opgebouwd zijn uit sterk dooreengegroeide draden; reeds bij zwakke vergrooting is de draderige structuur te herkennen en zien de kolonies er uit als haarbosjes. In de omgeving der kolonies wordt de gelatine vervloeid.

Op voedingsagar

Groeit ook best op agar, in streepcultuur; niet typisch.

In bouillon.

De bouillon blijft *helder*, maar daarin ontstaan vlokjes of *pluisjes* van dooreengevlochten draden.

Op aardappelen. Snelle groei, in weinige dagen vormt zich een dikke, droge, grijswitte laag.

Op andere voedingsbodems. Melk: gecoäguleerd.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob (groeit ook bij afwezigheid van vrije zuurstof.)

V. *Temperatuur.* Minimum 12° C.; optimum 35° C.; maximum 45° C.

Kweeking bij 42° C.: vermindering van de virulentie der miltvuurbacillen (Vaccins van PASTEUR).

Boven 42° C.: geen sporenvorming meer.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng (meestal langzame).

VII. *Verhouding tegenover kleurstoffen.* Praeparaat van bloed, verkregen door *scarificatie* aan de peripherie der pustula maligna.

„*Gram*": positief.

In weefseldoorsneden: Carbolgentiaanviolet — Gram — Bismarckbruin of eosine als tegenkleur.

VIII. *Dierproef.* *Wilte muis en cavia.*

Wordt 1 c.M³ bloed of sereuse vloeistof uit de Anthrax-puist *onderhuids* ingespoten, dan ontstaat op de plaats van injectie een gelatineus, oedeem en treedt na ongeveer 48 uur de dood in, door septicaemie. Bij de obductie vindt men de milt sterk vergroot en week. In de oedeemvloeistof, in het bloed en in de milt kunnen, zoowel microscopisch als door middel van de cultuur, anthrax-bacillen worden aangetoond. (Vergel. bac. diphteriae).

Het *konijn* is minder gevoelig: hier *intraveneuse* injectie. Het schaap is zeer gevoelig voor de infectie; daarentegen bieden het varken en de hond zeer veel weerstand. Het meest resistent zijn de vogels (beroemde proef van PASTEUR: infectie van de in water afgekoelde kip).

Vibrio cholerae asiaticae. (Koch).

I

I. *Vorm en sporenvorming.* Gekromd, kommavormig staafje; bezit 1—2 ciliën, ook meer en geen trilharen. Hoe meer de cholera bestudeerd is, des te meer verschillende vormen heeft men gevonden. Men heeft de bacil zeer dun en zeer dik gezien, ook, op coccobacillen gelijkende vormen. Vormt, voor zoover bekend, geen sporen; volgens *Hüppe Arthrosporen.*

II. *Bewegelijkheid.* Eigen beweging (ontbreekt soms). In den hangenden druppel, als „*dansende muggen.*"

III. *Groei op voedingsgelatine.* ———————

In streepcultuur. — ———————

In steekcultuur. Napvormige vervloeiing: een platte, breede nap met troebele vloeistof (en een luchtbel) rust op een steel van bacteriën, *als een ouderwetsch champagneglas.* [1]) (Staphylococcus pyogenes aureus: trechtervormige vervloeiïng).

Op platen. Vormt, na ongeveer 24 uur, korrelige, *sterk lichtbrekende* kolonies met onregelmatige omtrekken, gelijkende op *gebroken glas;* later trechtervormige vervloeiïng der gelatine.

Op Voedingsagar. Niet karakteristieke, grijsachtige kolonies.

In bouillon. In bouillon, die troebel wordt, heeft in ongeveer 3 dagen de vorming van een vliesje aan de oppervlakte plaats en riekt de bouillon dikwijls naar *muizeurine.*

Op aardappelen. Groeit alleen bij een temp. boven 21° C., vooral als men den aardappel alkalisch maakt: de cultuur herinnert aan die van bacillus mallei en is een grijsbruin beslag.

———————

1) J. de Haan en Dr. M. Straub: Voordrachten over bacteriologie, blz. 38.

Op andere voedingsbodems. In een *waterige oplossing van pepton Cornélis (1 proc.) en keukenzout (1 proc.),* die met een vlokje cholerafaeces geënt is, vormt zich na ongeveer 12 uur, bij 37° C., een *vliesje aan de oppervlakte.* Geeft krachtige nitrosoindolreactie [1]).

Melk: er zijn er, die haar coäguleeren en andere, die dat niet doen.

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultatief anaëroob (waarschijnlijk is voor den groei toch steeds zuurstof noodig).

V. *Temperatuur.* Minimum 8° C.; optimum 30—40° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Gelatine wordt vervloeid, maar in verschillende epidemieën vertoonden de bacillen verschillen in de vloeibaarmaking van de gelatine.

VII. *Verhouding tegenover kleurstoffen.* Faeces-slijmvlokje kleuren.

„*Gram*": ontkleurt.

Carbolgentiaanviolet — Gram — tegenkleuring met een waterige solutie van fuchsine: cholerabacillen rood, — bacteriën, die door „Gram" gekleurd blijven: violet.

Methode van Strauss *voor het kleuren der „levende" trilharen*: verdunde waterige fuchsineoplossing.

VIII. *Dierproef.* *Cavia.*

Niet constant is de volgende reactie van Pfeiffer: bij intraperitoneale injectie van 1—3 c.M^3 eener jonge cultuur van cholerabacillen sterft de cavia aan *peritonitis cholerica* (een gevaccineerde cavia niet). De virulentie voor Cavia is echter variabel.

Cholerarood- of indolnitreuse reactie berust op de eigenschap, dat cholerabacillen indol vormen en nitraten in nitrieten kunnen omzetten. Voegt men bij culturen, die bijv. gegroeid zijn in peptonhoudende voedingsbodems, eenige droppels verdund *zuiver* zoutzuur (vrij van salpeterigzuur) toe, dan ontstaat een rose-roode of purperroode kleur.

Bacillen van sommige epidemieën hebben de reactie niet gegeven (geen afdoend criterium).

---

1) Zie Ned. T. voor G. 21 Oct. 1893: over de bact. diagnose v. Aziat. cholera door Prof. C. H. H. Spronck.

Bacillus coli communis (Escherich).

I. *Vorm en Sporenvorming*

Kort, dik staafje met eenigszins spitstoeloopende uiteinden, als **lijnzaad** (de pest-bacil heeft meer afgeronde uiteinden); zeer polymorph. Zij kunnen ciliën bezitten, doch meestal in minder aantal dan de typhusbacil. Vormt *geen* sporen.

Het bloedserum van typhuslijders oefent *geen* specifieke agglutineerende werking uit op den coli-bacil.

II. *Bewegelijkheid.*

Bewegelijk (niet constant).

III. *Groei op voedingsgelatine.*

De colibacil groeit nog wel op de buisjes, waarop de typhusbacil eenigen tijd gegroeid is; daarentegen groeit de typhusbacil er niet meer op.

In streepculturen.

Ruimer groei dan de typhusbacil, vormt een ondoorschijnende laag.

In steekculturen

Groeit zoowel in het steekkanaal, alwaar zich kleine, ondoorschijnende, witte kolonies ontwikkelen, als aan de oppervlakte, alwaar òf een melkwitte, òf een bijna doorschijnende laag gevormd wordt.

Op platen.

Aan de oppervlakte der gelatineplaten ontstaan kolonies, die *relatief grooter* zijn dan die van den typhusbacil, meestal *ondoorschijnend* en *bruin* van kleur zijn, met onregelmatige gelobde randen. In de diepere lagen der gelatine groeien kleinere, korrelige, gele kolonies.

Op voedingsagar.

Groeit op agar-agar beter dan in bouillon, vormt een tamelijk dikke cultuur, die minder doorschijnend is dan die van bac typhi abd.

In bouillon.

De bouillon wordt gewoonlijk *troebel* en aan de oppervlakte vormt zich dikwijls een vliesje. Vaak is aan de cultuur **faecaallucht** waar te nemen (Vergel. bac. oedematis mal.). Voegt men bij 10 c.M^3 van een peptonbouilloncultuur 1 c.M^3 van een 0,02 proc. opl. van kaliumnitriet en eenige druppels zwavelzuur, dan wordt de vloeistof rood: *nitroso-indol-reactie.*

Op aardappelen. Groeit op aardappel meestal overvloedig, als een dikke en *bruingele* cultuur (typhusbacil groeit zwak op aardappel.)

Op andere voedingsbodems In *bouillon* plus een mengsel van (gelijke deelen) *lactose en krijt* heeft **gasontwikkeling** plaats (*geen* gasproductie met typhusbacil.)

Melk meestal **wel gecoäguleerd.**

IV *Verhouding tot lucht* Facultatief anaëroob.

V. *Temperatuur.* **Kan zich nog ontwikkelen bij 46° C.!**
(De typhusbacil groeit niet meer boven 45° C.)

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*" ontkleurt.
Löffler's methyleenblauw en Carbolfuchsine zijn voor de kleuring geschikt.
Dikwijls *poolkleuring.*

VIII. *Dierproef.* *Cavia en konijn.*
Er zijn soorten van bacterium coli, die virulent zijn en bij subcutane injectie cavia en konijn dooden onder een vorm van *diarrhoea als bij cholera.* In het cadaver worden echter *geen* typische afwijkingen gevonden.
De muis is immuun.

Bacillus diphtheriae. (Klebs-Löffler).

I. *Vorm en Sporenvorming.* Staafje, waarvan de lengte en dikte in de verschillende culturen verschilt (variëteiten). De bacil kan aan het ééne uiteinde verdikt zijn (trommelstokvorm), of aan beide uiteinden (haltervorm); of, bij tinctie, aan de uiteinden sterker gekleurd zijn. Dikwijls groepeering in haarden, „alsof men een hoop lucifers onverschillig had neergeworpen." Soms draden.

Vormt waarschijnlijk geen sporen; (volgen Cornil en Babès wel).

II. *Bewegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.* ———————

In streepculturen. Groeit nauwelijks op gelatine.

In steekculturen. Idem.

Op platen. Idem.

Op voedingsagar. Ronde, witte kolonies.

In bouillon. In bouillon ontstaat na 24 uur een min of meer korrelig bezinksel langs de wanden en op den bodem, en een geringe homogene troebelheid; later vormt zich een dun vliesje aan de oppervlakte (een gesteriliseerd sponsje over de verdachte pharynx strijken en in bouillon brengen — voorloopige cultuur).

Op aardappelen. Een dun beslag.

Op andere voedingsbodems. Op *Löffler's serum* na 24 uur: ronde, bolvormige (papuleuse), geelachtige kolonies, in het midden ondoorschijnend; later platter, vaak met een *navel* in het midden.

Gepeptoniseerd gistdecoct: [1]) reeds na 24 uur, bij 35° C., snelle, krachtige groei; vorming van een zeer dik, wit vlies aan de oppervlakte.

Melk: niet gecoäguleerd.

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultatief anaëroob.

V. *Temperatuur.* Diphtheriebacil kan alleen bij een temp. boven 20° C. groeien, bij 42° C. heeft geen groei meer plaats.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": positief.

Is fraai te kleuren met LÖFFLER's methyleenblauw en verdunde carbolfuchsine. Carbolgentiaanviolet veroorzaakt al licht overkleuring.

Dubbelkleuring volgens M. NEISSER: Azijnzure methyleenblauwopl. — water — waterige Vesuvineopl. Staafjes bruin; aan één of beide uiteinden, soms ook in het midden, blauwe korrels.

VIII. *Dierproef.* *Cavia.*

Bij een cavia wordt 1 c.M³ eener bouilloncultuur, die gedurende 24 uur zich bij 37° C. ontwikkeld heeft, subcutaan in den buikwand gespoten. Na ongeveer 40 uur, of later, sterft het dier. Bij de obductie wordt ter plaatse van de injectie een oedeem aangetroffen. Verder wordt een hyperaemie van de bijnieren geconstateerd en in de pleuraholten (soms ook in de pericardiaalholte en in het abdomen) een sereus of haemorrhagisch exsudaat.

De diphtheriebacil wordt uitsluitend teruggevonden in de oedeemvloeistof ter plaatse van de injectie, niet in het bloed en niet in de organen (vergel. bac. anthracis).

Het *konijn* is minder gevoelig; hier ontstaan bij subcutane infectie niet zelden echte diphth. spierverlammingen.

Bij den *mensch* worden durante vita de bacillen bijna alleen in de pseudomembranen gevonden; post mortem zijn zij vaak ook in het bloed en in de organen te vinden.

---

1) Zie Ned. T. v. G. 23 April 1898 no. 17. Gistdecoct, een nieuwe cultuurvloeistof voor de bereiding van diphtheriegif door Prof. C. H. H. SPRONCK.

Diplococcus pneumoniae. (Fraenkel-Weichselbaum)

of

Streptococcus lanceolatus PASTEUR.

I. *Vorm.* Paarsgewijze naast elkander liggende coccen (dubbelcoccen) met vlamvormig naar buiten spitstoeloopende uiteinden, omgeven door een *kapsel;* soms tot ketens aaneengeschakeld.

In de culturen **meestal geen** kapsel.

II. *Bewegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.* ———

In streepculturen. Schrale groei op gelatine; bij gewone kamertemperatuur geen groei (de diplobacillus van FRIEDLÄNDER groeit goed op gelatine: spijkercultuur).

In steekculturen. ———

Op platen. ———

Op voedingsagar. Op agar groeit de pneumococcus wel beter dan op gelatine, maar de kolonies blijven toch klein; na ongeveer 16 uur zijn bij 35° C., op platen, reeds ronde, doorschijnende, kleine knopjes, gelijkende op *dauwdroppeltjes,* zichtbaar.

Reeds na 5—6 dagen hebben de diplococcen hunne virulentie verloren.

In bouillon. In bouillon heeft de pneumococcus een temp. van 37° C. noodig om te groeien; de groei is dan snel, de vloeistof wordt echter maar *weinig troebel.*

Op aardappelen. Groeit op aardappel niet sterk (de diplobacillus van FRIEDLÄNDER groeit beter op aardappel; met gasontwikkeling.)

Op andere voedingsbodems. Op *konijnenbloedserum* en op LÖFFLER's *serum* vindt bij 35° C. krachtige ontwikkeling plaats: slijmerig beslag.

Melk: door sommige variëteiten gecoäguleerd.

IV. *Verhouding tot lucht.* **Facultatief anaëroob** (bij anaëroben groei behoudt hij zijn virulentie veel langer).

V. *Temperatuur.* **Minimum 24° C.; boven 42° C. geen groei. Optimum 34—39° C.**

VI. *Verhouding tot gelatine.* **Geen vervloeiïng** (de diplobacillus van FRIEDLÄNDER maakt de gelatine ook niet vloeibaar).

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* Dekglaspraeparaat van een zeer dunne laag van het roestkleurige sputum, of van de vloeistof, die men van de doorsnede der geïnfiltreerde long kan afstrijken.

„Gram": positief. (Pneumobacillus. — „Gram": ontkleurt).

Het kleuren van pneumococcen in sputa, exsudaat, pus: Carbolgentiaanviolet-Gram. De kapsel wordt door „Gram" ontkleurd. Tegenkleuring met eosine.

Kapselkleuring: volgens de methoden van FRIEDLÄNDER en RIBBERT.

VIII. *Dierproef.* De *muis* is het gevoeligst voor de infectie. Op de subcutane inspuiting, onder de huid bij de staart, van sputa, exsudaat of slechts geringe doses cultuur (0,1—0,2 c.M³) volgt na 24—48 uur de dood, onder temperatuursverheffing.

Beantwoordend aan de plaats van injectie vindt men meestal niets, soms wat oedeem. De milt is vergroot. Vooral in het bloed en in het beendermerg worden pneumococcen aangetroffen. Het dier krijgt geen croupeuse pneumonie, maar een acute septicaemie.

Na de muis is het *konijn* het gevoeligste proefdier: oedeem, acute septicaemie en maar *geringe* miltzwelling. (De diplobacillus van FRIEDLÄNDER is veel minder pathogeen voor het konijn).

Proef van Gamaleia: Bij schapen worden pneumococcen gebracht 1°. op met tartras emeticus behandelde *trachea* en 2°. op zonder vooraf daarmede behandelde dieren. In het eerste geval vatten de pneumococcen en ontstaat een fibrineuse pneumonie; het slijmvlies is daar beleedigd.

Honden bieden veel weerstand aan de infectie; *vogels* schijnen absoluut resistent te zijn.

Gonococcus. (Neisser).

I. *Vorm.*

Paarsgewijze, met de concave zijde tegen elkander liggende, betrekkelijk groote *niervormige* of *koffieboonvormige* coccen (diplococcen); vooral in ettercellen en in epitheelcellen ingesloten. Vormen nooit ketens. Sporenvorming niet waargenomen.

II. *Bewegelijkheid.*

Geen eigen beweging. Oscillatorische en rotatorische beweging.

III. *Groei.*

Zure *gelatine* (*Turro*), d. i. zure vleeschbouillon $^1/_2$—1 proc. pepton, 10 proc. gelatine.

1°. „Platen: kleine ronde witte kolonies, welke zich soms als een *ivoorkogeltje* een weinig boven de gelatine-oppervlakte verheffeu; de ontwikkeling gaat soms voort tot 15 à 30 dagen.

Wanneer men eene kolonie geheel wegneemt, blijft veelal op de plaats, maar men ze weggenomen heeft een klein kuiltje, dat als ligplaats der kolonie heeft gediend, achter. De kolonie op zich zelf is *slijmachtig*.

2°. Uitstrijkplaten: groeien binnen 48 uren 24° C. langs de streep met een witachtig beslag, dat zich langzamerhand over de oppervlakte der gelatine uitspreidt.

3°. Steekculturen: Groeien langs het geheele steekkanaal, als een witte, korrelige streep, welke van boven meestal wat breeder wordt en aan de oppervlakte der gelatine soms een trechtervormige opening laat, soms een breede kolonie rondom de entingplaats vormt.

4°. Streepculturen: Groeien langs de geheele streepvlakte veelal als een rij kleine kolonies, die soms als een *parelsnoer* naast elkander liggen, soms als een *beslag*, dat zich meestal tot 3 à 4 millimeter breedte uitspreidt en *wallen* vormt.

Urine-*agar* (*Finger* e.a.), d. i. neutrale of zwak alkalische vleeschbouillon, 1 proc. pepton, 2 proc. agar-agar: 2 deelen; versche urine: 1 deel.

1°. Platen (uitstrijkplaten): Groeien binnen 24 uren bij 35—37° C. met een wit beslag, dat soms tot een smal lintvormige streep uitgroeit en soms een vrij groot aantal kleine ronde kolonies vormt. Worden de strepen met een platina haakje gemaakt, dat met zijn punt door den agar snijdt, dan ontwikkelen ze zich ook in deze spleet of groeve tot witte kolonies.

2°. Steekculturen: Groeien langs het geheele steekkanaal en breiden zich aan de oppervlakte soms ver van de entingsplaats uit.

3°. Streepculturen: Idem als bij de uitstrijkplaten.

Pepton-urine. Groeien tamelijk vlug en vormen een vrij dik vlies aan de oppervlakte.

Op aardappelen. Groeien in 36 uren bij 35° C. langs het streepkanaal en breiden zich de volgende dagen tot een 5 à 7 m.m. breed wit beslag uit.

In zure bouillon (Turro). Snelle ontwikkeling in 24 uur bij 35—37° C. zonder vlies-vorming.

In LÖFFLER'S *bouillon.* Vormen een wit *bezinksel*, de bouillon zelf blijft helder."[1])

Op mensshenbloedserum: (Eisenberg 1891). Op menschenbloedserum *(Bumm)*, bij 30—34° C, een zeer dun, dikwijls nauwelijks zichtbaar, bij opvallend licht grijsgeel beslag met een vochtige, gladde oppervlakte, en scherpe niet vervloeiende randen. Er komen overal spitse uitwassen, zoodat de cultuur met hare scherpe randen het voorkomen krijgt van een *bergplateau* of van *een eiland met steilafloopende wanden.*

Plaatcultuur op bloedserum, waaraan agar-agar is toegevoegd (WERTHEIM): kolonies, na 3 dagen, met korrelige oppervlakte, als *braambessen.*

Gecoäguleerd konijnen-bloedserum (CHRISTMAS) is een *electieve* voedingsbodem: na 18 uur zijn bijna alleen de gonococcen opgekomen; dan moeten zij worden overgeënt.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob.

V. *Temperatuur.* Groeien bij 24—37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen groei op gelatine.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": **ontkleurt.**

Het kleuren van gonococcen in uitvloeïing, of in de „draden" bij gon. slijmvliesontsteking:

Carbolgentiaanviolet, daarna methode van „Gram" toepassen en nakleuren met fuchsine; de pyogene coccen zijn dan violet gekleurd, de gonococcen rood.

Voor de enkelvoudige kleuring van gonococcen is KÜHNE'S methyleenblauw een geschikte kleurstof; de gonococcen worden sterker gekleurd dan het protoplasma der cellen, waarin zij liggen.

VIII. *Dierproef.* Bij inspuiting van Gonococcen-culturen in de urethra kunnen menschen wel, dieren geen gonorrhoe krijgen.

---

1) Ontleend aan A. N. VAN PRAAG. Over de Aetiologie en Pathogenese van den zoog. rheumatismus gonorrhoicus. Akad. proefschrift Amsterdam 16 Nov. 1894.

Zie ook Centralbl. f. Bact. u. Parasitenkunde Bd. 16, 2 Juli 1894; Finger: Archiv. f. Dermatol. und Syphil. Bd. 28.

Bacillus leprae. (Armauer Hansen). [1])

I. *Vorm en sporenvorming.*

Dun, eenigszins gebogen staafje, gelijkende op den tuberkelbacil, maar *een weinig kleiner;* soms korrelig.

In de lepreuse nieuwvormingen liggen de bacillen zoowel ingesloten, in de z. g. lepracellen (in vacuolen), als buiten de cellen, in de lymphvaten. Ook in de vloeistof, die men uit lepraknobbels persen kan, zijn zij microscopisch aan te toonen.

In het bloed van den lepralijder zouden de bacillen slechts tijdens de tijdperken van temperatuursverhooging te constateeren zijn. Waar vele bacillen samenliggen, wordt een soort „*kapsel*" gevormd. Echte *sporen* schijnen zij niet te vormen. Prof. Spronck heeft een gemodificeerd leprabacillenras kunstmatig kunnen cultiveeren: de bacillen zijn in het algemeen iets grooter (langer en dikker) dan leprabacillen, worden na voorafgegane, sterke tinctie met anilineolie- of Carbolfuchsine door salpeterzuur (25 proc.) sneller ontkleurd, en worden door inwerking van Flemming's vloeistof niet zwart gekleurd. Het bloedserum van lepralijders oefent op deze bacillen een *specifiek agglutineerende* werking uit.

II. *Bewegelijkheid.*

Geen eigen beweging.

III. *Groei op verschillende voedingsbodems.*

Alleen *op geneutraliseerde glijcerineaardappelen* kunnen uit lepreus weefsel kolonies verkregen worden: de kolonies zijn eerst na 10 dagen (38° C.) voor het bloote oog zichtbaar, van de grootte van een glomerulus, lichtgeel van kleur, als satellieten rondom weefselstukjes gegroepeerd, bij de uitzaaiïng op de aardappelen gedeponeerd.

De kolonies kunnen worden *overgeplant*, o. a. op Löffler's gestold paardenserum, maar **niet op aardappelen** („de bacillen ontleenen *aanvankelijk* de voor hun groei benoodigde voedingsstoffen aan het uitgezaaide, lepreuse weefsel; toch schijnt het kweekbed niet geheel indifferent, want alleen op geneutraliseerde glycerine-aardappelen gelukte het tot dusver kleine kolonies te verkrijgen").

Bij *overplanting* op Löffler's *gestold paarden-serum*, 37° C.: lichtcitroengele culturen.

---

[1]) Zie: de cultuur van den bacil van Hansen en de sero-diagnostiek van Lepra door C. H. H. Spronck: Weekblad van het Ned. T. v. G. 1 Oct. 1898 no. 14.

Op *agar*: Kleurlooze culturen, die talrijke vertakte uitloopers vertoonen en vaak sterker lichtbrekende klompjes bevatten, herinnerende aan die van cholerakolonies in gelatine.

In vischbouillon (tarbot-; kabeljauw-bouillon) en in *gistdecoct* (als voor de bereiding van diphtheriegif): slijmerig bacillenbezinksel, dat aan de wanden van de cultuurflesschen kleeft.

In vleeschbouillon: zwakke of geen vermenigvuldiging der bacillen.

Gelatine, bij 25—26° C.: ontwikkeling merkbaar op en in de gelatine; bij 37° C. groeien de bacillen in gelatine vrij krachtig.

Glycerine (5 proc.) en *glucose* (1—2 proc.) bevorderen den groei in geringe mate.

IV. *Verhouding tot lucht.* Groeien aërobe en anaërobe.

V. *Temperatuur.* Optimum: 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": positief.

Kleuring als de tuberkelbacil; worden bij toepassing van de methode van Koch-Ehrlich **sneller ontkleurd.**

VIII. *Dierproef.* Schijnen voor dieren niet pathogeen te zijn; de door Prof. Spronck gekweekte bacillen zijn voor cavia, konijn, muis, kat en duif onschadelijk.

Bacillus mallei. (Löffler-Schütz).

I. *Vorm en Sporenvorming.* Slank staafje, soms iets gebogen, ongeveer zoo groot als, maar dikker dan de tuberkelbacil, met verdikte uiteinden. Vertoont vaak afwisselend donkere en lichtere gedeelten. Het is niet met zekerheid bekend, of hij sporen vormt.

Is moeielijk te kweeken uit het neusslijm van het aan kwade droes lijdende dier, komt daarentegen nagenoeg in reincultuur voor in de geïnfiltreerde halslymphklieren.

II. *Bewegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.* Zeer schrale groei op gelatine (beneden 22—25° C. geen groei).

In streepculturen. Idem.

In steekculturen. Idem.

Op platen. Idem.

Op voedingsagar. Zie glycerine-agar.

In bouillon. Bouillon wordt zeer troebel (malleine is een glycerine-extract uit zeer virulente bouillonculturen).

Op aardappelen. *De aardappelcultuur van den droesbacil is typisch.*

Bij enting van pus of klierpulpa vormt zich na ongeveer 2 dagen een vochtige, slijmerige, glinsterende, eerst doorschijnende, honiggele, later ondoorschijnende, chocoladekleurige cultuur. Om de cultuur wordt de aardappel blauw groen! (Zie de aardappel-cultuur van bac. pyocyaneus).

Op andere voedingsbodems. *Glycerine-agar* is de beste voedingsbodem; op platen: geelachtige, vochtig-glinsterende, korrelige cultuur.

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultatief anaëroob.

V. *Temperatuur.* Minimum 22—25° C.; Optimum 37—38° C.; maximum 42° C. Bij een vochtige warmte van 15—16° C. zijn de bacillen na 5 dagen

afgestorven; bij een vochtige warmte van 23° C. zijn zij na 20 dagen nog virulent [1]).

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geringe vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": ontkleurt.

Vooral in coupes moeielijk te kleuren, wordt gemakkelijk ontkleurd; bijtmiddelen zijn noodig om de kleurstof te doen pakken. Is o. a. te kleuren met een combinatie van gentiaanviolet en een gesatureerde oplossing van aniline-olie. Verder, met *alk.* methijleenblauwopl.: methode van Löffler.

VIII. *Dierproef.* *Mannelijke Cavia* (Strauss).

In de buikholte van een mannelijke cavia wordt aardappelcultuur of pulpa van een lymphklier ingespoten; na 2—3 dagen wordt de huid van het scrotum rood en zijn de testikels gezwollen. Ongeveer op den 15den dag sterft het dier en constateert men een heftige purulente ontsteking van de tunica vaginalis propria: de beide bladen zijn door een purulent exsudaat met elkander verkleefd. In de pus vindt men de bacillen; ook zijn deze reeds vóór dat het dier sterft, namelijk, zoodra maar de orchitis te constateeren is, in het door punctie verkregen exsudaat microscopisch aan te toonen en daaruit te kweeken. Bij onzuiver entmateriaal kan het proefdier aan septicaemie en peritonitis bezwijken. Vrouwelijke caviae krijgen o. a. ulceraties aan de labia majora. Voorts worden in inwendige organen op tuberkels gelijkende, doorschijnende knobbeltjes gevonden.

De *Ezel* is zeer gevoelig voor de infectie, krijgt meestal acute malleus na bestrijking van gescarificeerde huidplekken met neusslijm. Vatbaar voor de infectie zijn verder: paarden, geiten en katten; schaap en hond minder; het varken biedt veel weerstand. Runderen schijnen immuun te zijn. Zeer virulent voor veldmuis, minder of niet voor de witte laboratorium-muis. Vogels zijn onvatbaar; de duif is onvolkomen immuun.

Malleine als onderkenningsmiddel bij kwade droes: Spuit men bij paarden, die aan kwaden droes lijden, malleine in, dan ontstaat: *a.* een eigenaardige (?) temperatuursverhooging; *b.* zwelling ter plaatse van de injectie; *c.* algemeene ziekteverschijnselen *(Nocard)*. Geen afdoend bewezen, betrouwbaar diagnosticum. [2])

---

1) Zie Veeartsenijk. bladen voor Ned. Indië. Deel 9. 1895; R. A. Plemper van Balen: Proeven de tenaciteit van den kwaden-droesbacil te bepalen.

2) Idem. L. J. Hoogkamer: malleine.

Bacillus oedematis maligni. (Gaffky, Koch).

(Vibrio septicus. Pasteur).

I. *Vorm en sporenvorming.* Staafje, meestal zoo lang als de miltvuurbacil, maar dunner en met afgeronde uiteinden. Zij bezitten trilharen. Niet alleen in de culturen, maar *ook in het levende organisme* vormen zij lange, dikwijls *gekromde draden.* Zij ontwikkelt zich na den dood in het bloed, niet bij het leven. **Vormt meestal middelstandige Sporen** (evenals bac. anthracis).

Culturen als bij den bacil van het boutvuur („Rauschbrand" of „Charbon symptomatique")-bac. sarcophysematos; echter geen groei in een atmospheer van lichtgas (Heim. 1898).

II. *Bewegelijkheid.* Hebben eigen beweging (bacillus anthracis *niet*).

III. *Groei op voedingsgelatine.* Kweeking bij afsluiting van zuurstof.

Aan de culturen op de gewone voedingsbodems neemt men stank waar.

In steekculturen. Groei alleen in de diepere, O: vrije lagen, met vervloeiïng van de gelatine en onder overvloedige gasontwikkeling (vooral bij toevoeging van reduceerende stoffen). Volgens Liborius *geen* gasontwikkeling bij reinculturen.

Op platen. Ronde kolonies, die er uitzien als *glinsterende, met vocht gevulde kogeltjes.*

Op voedingsagar.

In bouillon. Ruime groei in bouillon, die eerst gelijkmatig troebel wordt; later ontstaat een wit neerslag en ontwikkeling van koolzuur en waterstof. (Vergel. **gasontwikkeling** bij bacillus coli commune).

Op aardappelen en andere voedingsbodems. Druivensuiker-gelatine en druivensuiker-agar zijn geschikte voedingsbodems.

IV. *Verhouding tot lucht.* **Volstrekt anaëroob.** (Bac. tetani is ook anaëroob, maar niet absoluut).

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij 16° C., als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* Kleuring van de afscheiding der geïnfecteerde wond.

„*Gram*": ontkleurt.

Is gemakkelijk met de gewone aniline-kleurstoffen te kleuren, o. a. met gentiaanviolet. Sporenkleuring volgens MÖLLER.

VIII. *Dierproef.* *Cavia.*

Subcutane injectie van oedeemvloeistof of bouilloncultuur in de dij van een cavia veroorzaakt na ongeveer 24—36 uur den dood. Bij de autopsie vindt men ter plaatse van de injectie een *oedeem*: crepiteerende zwelling door een gashoudende, bloederige vloeistof. In deze vloeistof zijn de bacillen in groot aantal aanwezig; daarentegen vindt men bij een onmiddellijk na den dood verrichte autopsie geen bacillen in het bloed en in de inwendige organen.

Tuinaarde, waarin de bacillen dikwijls voorkomen, diep onder de huid geschoven, veroorzaakt hetzelfde (Vergel. bac. tetani.)

Het *schaap* is zeer gevoelig voor de infectie; daarop volgen: de hond, de cavia, *de witte muis* en het konijn. Ook pathogeen voor paarden, geiten, varkens, kippen, duiven en eenden.

Bacterium pestis. (Yersin. Kitasato.)

I. *Vorm en sporenvorming.* Zeer kort en dik staafje (cocco-bacil), als een *cylinder met afgeronde uileinden.* (Vergel. bac. coli commune en bac. typhi abd.) Is overigens polymorph. Bij kleuring blijft het centrum ongekleurd. Vormt geen sporen.

In het bloed komen de bacillen slechts in zware gevallen voor; talrijk vindt men ze in de gezwollen lymphklieren.

II. *Bewegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.*

In streepculturen. Lichtgeel, droog beslag.

In steekculturen.

Op platen. Fijnkorrelige, bruine kolonies.

Op voedingsagar. Op agarplaten ontstaan na 24 uur, kolonies als *dauwdroppels*, na 48 uur als *grijswitte knopjes*, met gekleurde randen.

In bouillon. Bouillon blijft *helder*, met een vlokkig bezinksel (evenals bij streptococcus pyogenes!) Volgens Gladin[1]) alleen als de bouillon alkalisch gemaakt is met $Na^2\ C\ O^3$; in bouillon + Na O H: vliesje en diffuse troebeling.

Geen indolreactie, (Vergel. bac. typhi abd.)

Op aardappelen. Niet-typische cultuur; bij 37° C. een grijswit beslag.

Op andere voedingsbodems. Glycerine-agar en bloedserum zijn geschikte voedingsbodems.
In suikerhoudende media geen gasvorming.
Melk: geringe groei; coägulatie. (?)

IV. *Verhouding tot lucht.* **Aëroob.**

V. *Temperatuur.* Optimum 37° C., groeit ook bij kamertemp. (14—24° C.)

1) Gladin, Ref. van Diss. in Centralbl. f. Bact. Bd. 24, 28 Oct. 1898.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram.*': ontkleurt.

Is fraai te kleuren met methyleenblauw; centrum blijft ongekleurd *(poolkleuring.)*

VIII. *Dierproef.* *Rat*: wordt door inoculatie met cultuur, of met pulpa van bubones, in 40—60 uur gedood. Bij de obductie vindt men ter plaatse van de injectie oedeem; verder zwelling van de regionaire lymphklieren, vergrooting van de milt en van de lever. In de vergroote *milt* zijn vaak *op tuberkels gelijkende knobbeltjes* aangetroffen. Verder zijn haemorrhagieën in den buikwand, hyperaemie van den darm, van de nieren en bijnieren waargenomen. In deze organen (en in het bloed zelfs tijdens het leven, kost vóórdat het dier sterft) zijn talrijke pestbacillen aanwezig. Cavia en konijn zijn minder gevoelig dan de rat. Ook de *grijze aap* (semnopithecus entellus) is zeer vatbaar voor infectie; de *bruine aap* (Makake Macacus radiatus) minder. Pestbacillen zijn gevonden bij vliegen en vlooien van ratten.

Bacillus pneumoniae. (Friedländer).

I. *Vorm.* Ovale bacil, gewoonlijk paarsgewijze naast elkander liggende (diplobacillus) en meestal omgeven door een „kapsel." Polymorph, soms tot *ketens* verbonden (gonococcen niet).

In de culturen geen kapsel.

II. *Beweegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.* Groeit op gelatine goed [en behoudt daarop veel langer zijn virulentie dan de diplococcus pneumoniae (FRAENKEL)].

In streepculturen.

In steekculturen. De steekcultuur in gelatine heeft een *typische spijkervorm*: aan de oppervlakte ontwikkelt zich een slijmerige, porseleinachtige, witgrijze en glinsterende cultuur in den vorm van een spijkerkop; langs het geheele steekkanaal: samenhangende, kleine, ronde *witte korreltjes*.

Op platen. Ronde kolonies, als porseleinachtige, glinsterende, kleine knopjes.

Op voedingsagar. In streepcultuur op agar: melkwitte, porseleinachtige, slijmerige cultuur.

In bouillon. Bouillon wordt troebel; er vormt zich een vliesje op de wanden en een slijmerig bezinksel.

Op aardappelen. Dikke, gele, slijmerige laag en **gasontwikkeling**, (wanneer de temp. hooggenoeg is); de diplococcus pneumoniae groeit op aardappel niet sterk.

Op andere voedingsbodems. Brengt in druivensuikerhoudende media gisting teweeg. Proef met bouillon plus lactose en carbonas calcis.

Melk: niet gecoäguleerd.

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultatief aëroob.

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij gewone kamert., als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng, (ook niet door diplococcus pneumoniae).

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*," **ontkleurt** (Diplococcus pneumoniae, „Gram": positief).
Kapselkleuring volgens de methoden van FRIEDLÄNDER en RIBBERT.

VIII. *Dierproef.* *Rat*: wordt door subcutane injectie met een versche bouilloncultuur gedood door septicaemie; in het bloed zijn de kapselcoccen talrijk aanwezig. Locaal oedeem (zeer slijmerige vloeistof) en groote milt.
Het *konijn* biedt veel meer weerstand aan de infectie met bacillus pneumoniae dan aan die met diplococcus pneumoniae, is echter niet onvatbaar, (konijn infecteeren voor de differentieel-diagnostiek).

Bacterium pyocyaneum. (Gessard).

I. *Vorm en sporenvorming.* Kort staafje, voorzien van een trilhaar.

Polymorph, groeit in de culturen o. a. uit tot korte ketens.

Secerneert verschillende kleurstoffen, o. a. pyocyanine en een fluorescceerende, groene kleurstof. Maar van den voedingsbodem hangt het af, welke kleurstof geproduceerd zal worden; door n.l. den voedingsbodem te wijzigen, kan men verschillende rassen kweeken. Verliest in het levende organisme zijn kleurstof-afscheidende eigenschappen, komt waarschijnlijk meer voor, dan men vroeger gemeend heeft.

Vormt geen Sporen en heeft *weinig* weerstandsvermogen (verschil met staphylococcus pyogenes aureus).

Zie: de bact. cyanogenes van de blauwe melk.

II. *Bewegelijkheid.* Vlugge eigen beweging.

III. *Groei.* Het karakteristieke van de culturen van bact. pyocyaneum is de groene of blauwgroene *verkleuring van den voedingsbodem* door de afgescheiden kleurstof, die in den voedingsbodem diffundeert; de culturen zelf zijn meestal niet groen (verschil met bact. prodigiosum).

Vaak bezitten zij een **faecaloïde lucht** (vergel. met bac. coli communis).

Antagonisme tusschen bacillus pyocyaneus en bac. anthracis; hij belet den miltvuurbacil te groeien.

Op voedingsgelatine. In streepculturen. Vervloeiïng van de gelatine, onder afscheiding van een groene kleurstof.

In steekculturen. Na ongev. 2 dagen kolonies, die een witte streep vormen; gewoonlijk is reeds den 3den dag vervloeiïng van de bovenste lagen der gelatine waar te nemen, als een champagneglas (zie: Vibrio cholerae asiaticae).

Op platen. Na 2 dagen ongev.: geelachtige, korrelige kolonies, die later vervloeien; de gelatine krijgt een groene tint.

Op voedingsagar. Ruime groei op agar: vuilwitte cultuur; de agar zelf krijgt een groene tint.

In bouillon. De bouillon wordt zeer troebel, fraai groen van kleur; in oude culturen verandert de pyocyanine in *pyoxanthose* en wordt de bouillon bruin gekleurd.

De bouilloncultuur vertoont de *karakteristieke pyocyanine-reactie*: „ammonia toevoegen en met chloroform schudden, dan lost de pyocyanine met een hemelsblauwe kleur in de chloroform op. Vervolgens (door zwavelzuur of zoutzuur) aangezuurd water toevoegen: de blauwe kleur verandert in een roode. Met ammonia keert de blauwe kleur weer terug."

Op aardappelen. Ruime groei op aardappel, cultuur van verschillende kleur, vaak *bruin,* (zie de Aardappelcultuur van **bac. mallei**).

Op andere voedingsbodems. *Melk*: gecoäguleerd en gepeptoniseerd.
Helder gestold eiwit[1]): geschikte voedingsbodem.

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultatief anaëroob (kan wel zonder O leven, maar vervaardigt dan *geen* kleurstof).

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij 16° C. als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": ontkleurt; ook positief.

VIII. *Dierproef.* *Cavia* en *konijn* worden bij *intraveneuse injectie* met de cultuur gedood door septicaemie; dikwijls nephritis.

---

1) Zie: Verslag van het Labor. te Weltevreden 1888. Dr. C. Eijkman en van Eecke.

Staphylococcus pyogenes. (Rosenbach)

I. *Vorm; tenaciteit.* In *druiventrosvormige* groepjes bij elkander liggende coccen; ook geïsoleerd en als diplococcen.

Variëteiten: aureus, albus en citreus.

Het weerstandsvermogen tegen schadelijke invloeden is groot (geschiktheid van staphylococcus pyogenes aureus voor desinfectieproeven).

II. *Bewegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.*

In streepculturen. Vormt een dikke streep, die een naar de variëteit verschillende kleur bezit: goudgeel, wit of stroogeel.

In steekculturen. In de gelatine wordt langzamerhand een *kegelvormige vervloeiïng* teweeggebracht; in de punt van den kegel verzamelt zich een geelwitte neerslag van coccen (vergel. de *napvormige* vervloeiïng van vibrio cholerae asiaticae).

Op platen. Kleine, witte (of stroogele, of goudgele) korrelige kolonies, die zuiver rond zijn en waaromheen zich langzamerhand een rond vijvertje van volkomen heldere, vervloeide gelatine vormt.

Op voedingsagar. Welige groei op agar, tot een dikke cultuur, die (naar de variëteit) oranje, wit of citroengeel van kleur is en *een vetachtige glans als olieverf* bezit.

In bouillon. De bouillon wordt zeer troebel; aan de oppervlakte van het cultuurbuisje vormt zich een *vliesje*, langs de wanden een samenhangende neerslag.

Op aardappelen. Een krachtige groei op aardappel, de cultuur is dik en bezit een naar de variëteit verschillende kleur.

Op andere voedingsbodems. Op LÖFFLER's serum langzamer groei dan bac. diphtheriae.
Melk: gecoäguleerd.

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultatief anaëroob (De aureus produceert kleurstof ***alleen*** bij aanwezigheid van *zuurstof*).

V. *Temperatuur.* **Groei mogelijk bij lage temp.:** minimum 6° C.; optimum van 34—38° C. maximum 44° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Meestal langzame, typische vervloeïing (staphylococcus *cereus* albus en flavus maken gelatine *niet* vloeibaar, vormen op gelatine kolonies als *wasdruppels*).

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": positief. (Gonococcus: „ontkleurt").
Kleuren van pus, exsudaat: gentiaanviolet, of LÖFFLER's methyleenblauw, gevolgd door „Gram."

VIII. *Dierproef.* In het algemeen, voor dieren *minder* pathogeen; het konijn is het gevoeligste proefdier.

Konijn: In de randvena van het oor worden 2—10 droppels eener bouilloncultuur, die zich gedurende 24—48 uur bij 37° C. ontwikkeld heeft, geïnjicieerd. Na ongeveer 8 dagen treedt de exitus in. Obductie levert het volgende op: kleine abscessen in de nieren, de spieren, het myocard.

Bij een *jong* konijn is bovendien soms een acute osteomyelitis epiphysaria te constateeren.

Succombeert het dier eerder, dan vindt men gewoonlijk alleen hyperaemie der inwendige organen. Uit het hartbloed, o. a., kunnen reinculturen van staphylococcen worden gekweekt.

Staphylococcus *cereus* albus en flavus zijn niet pathogeen.

Streptococcus pyogenes erysipelatis. (Fehleisen).

I. *Vorm.* In rijen (parelsnoervormig) achter elkander liggende coccen. Korte en lange ketens.

Verschilt zeer waarschijnlijk van de gewone streptococcus pyogenes alleen door de virulentie, die evenwel wisselvallig is.

II. *Beweegelijkheid.* Geen eigen beweging.

II. *Groei op voedingsgelatine.*

In streepculturen. Groeit *slechts matig op gelatine* als kleine, ronde, afzonderlijk liggende kolonies aan weerszijden van de gemaakte streep, die later tot een band met geschulpte randen samengroeien, zoodat het geheel er dan uitziet als een *varenblad* (Fehleisen).

In steekculturen. De steekcultuur bestaat uit kleine, ronde, afzonderlijk liggende kolonies.

Op platen. Er ontstaan zeer kleine, witte, korrelige kolonies, die de gelatine niet vloeibaar maken.

Op voedingsagar. Er ontwikkelt zich een uit afzonderlijk liggende kleine kolonies bestaande cultuur, als *fijne puntjes.*

In bouillon. *Bouillon* is een uitstekende voedingsbodem; blijft echter meestal *helder*, maar vlokjes, bestaande uit in elkander gevlochten fijne draden, verzamelen zich op den bodem van het cultuurbuisje. (Zie de bouilloncultuur van den *Pest-bacil).*

Op aardappelen. Schrale, niet karakteristieke groei op aardappel, slechts een aanwijzing van een cultuur.

Op andere voedingsbodems. Löffler's serum is een geschikte voedingsbodem (maar de groei is toch meestal langzamer dan bijv. van bac. diphtheriae).

Melk: gecoäguleerd.

IV *Verhouding tot lucht.* Facultatief anaëroob.

V. *Temperatuur* Optimum 30—37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Meestal **geen** vervloeiïng. (Staphylococcus pyogenes aureus: *vervloeiïng*).

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* Exsudaat, verkregen door incisie aan den **rand** der ontstoken plaats, onderzoeken.

„*Gram*": positief. (Gonococcus, „Gram": ontkleurt).

Is te kleuren met de gebruikelijke aniline-kleurstoffen; o. a. met LÖFFLER's methyleenblauw.

VIII. *Dierproef.* *Konijn.*

Uit een bouilloncultuur, die zich gedurende 24 uur bij 37° C. heeft ontwikkeld, wordt 0,1—0,2 c.M³ van het **bezinksel subcutaan in het oor** geïnjicieerd.

Na pl. m. 48 uur is het geïnfecteerde *oor sterk ontstoken* (sereuse, vervolgens purulente ontsteking): rood, dik, *hangend oor* met lymphangitis.

Is de cultuur virulenter, (o. a., na passage van konijn op konijn), dan sterft het dier eerder, aan **septicaemie**; bij de obductie vindt men algemeene hyperaemie der inwendige organen, — soms **pyaemie**, (nierabscessen, osteomyelitis enz.). Uit het hartbloed worden bij enting reinculturen verkregen.

Volgens HEIM is de vatbaarheid van het konijn onzeker en is de *witte muis* het beste proefdier (intraperitoneale of subcutane injectie).

Cavia is **nagenoeg onvatbaar** (dit is van groote waarde voor het aantoonen van *tuberkelbacillen* in sputum of van *Kwadedroesbacillen* in neusslijm door de dierproef).

Bacillus tetani (Nicolaier.)

I. *Vorm en sporenvorming.* Slank, borstelig-stijf staafje, gemiddeld 3—5 micron lang. Meestal ontwikkelt zich aan één uiteinde een endogene spore, zoodat de bacil dan gelijkt op een *speld* of een *muzieknoot*.

Groeit in de culturen dikwijls uit tot *draden*.

II. *Bewegelijkheid.* Geringe bewegelijkheid, die bij aanwezigheid van zuurstof ophoudt. De sporenhoudende bacillen zijn onbewegelijk.

III. *Groei op voedingsgelatine.*

In streepculturen. Reincultuur volgens de methode van KITASATO.

Groeit op alle gebruikelijke voedingsbodems, waaraan *druivensuiker* (2 proc.) is toegevoegd en bij afsluiting van de dampkringslucht.

Aan de culturen is een eigenaardige onaangename *lucht van gebrande hoorn* waar te nemen.

In steekculturen. Na een week is alleen in het onderste deel van het steekkanaal groei te constateeren, als een grijswitte streep, waarvan dikwijls tal van kleine uitloopers uitgaan, gelijkende op een *dennenboom*, of op een *lampeglas-borsteltje* (evenals de cultuur van bac. anthracis).

De gelatine wordt vervloeid.

Op platen. Bij kamertemp. ontstaan op den 5^{den} dag kleine kolonies, die uit een geel centrum bestaan, met straalsgewijs verloopende, vedervormige uitloopertjes en er dus als *distels* uitzien.

Op voedingsagar. De steekcultuur gelijkt op die in gelatine.

In bouillon. De bouillon wordt troebel.

Op aardappelen. Vormt slechts een dun, bijna onzichtbaar, vochtig beslag (evenals de *typhusbacil*-VAILLARD en VINCENT).

Op andere voedingsbodems. In *druivensuiker-houdende bouillon* vindt bij 37° C. krachtige groei plaats, onder overvloedige **gasontwikkeling**

De bouillon wordt troebel; later helder, met een grijswitten neerslag.

Druivensuiker-gelatine, plaatcultuur: kolonies als *distels.*

Melk is een goede voedingsbodem, maar wordt niet gecoäguleerd.

IV. *Verhouding tot lucht.* **Anaëroob** (niet absoluut.)

V. *Temperatuur.* Groeit niet beneden een temp. van 14—16° C; de sporen verdragen een verhitting tot 80° C. (op deze eigenschap is de *methode voor reincultuur van* KITASATO gebaseerd).

VI. *Verhouding tot gelatine.* Langzame vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* Pus uit de wond kleuren.

„*Gram*": positief.

Gemakkelijk te kleuren met de gewone aniline-kleurstoffen.

VIII. *Dierproef.* *Cavia.*

Cultuur, wondsecreet, aarde of een splinter uit de wond wordt in de dij subtucaan ingebracht. Na 24—48 uur sterft het dier, onder de typische verschijnselen van tetanus; in de inwendige organen geen tetanusbacillen en ook niet in het bloed, dat echter *specifiek giftig* is.

Na de Cavia is de *muis* het gevoeligste proefdier (typisch ziektebeeld, karakteristieke houding, met uitgestrekte pooten, *als van een zeehond);* vatbaar voor infectie zijn verder geiten, schapen, paarden, varkens, honden en katten; bijna immuun zijn duiven, terwijl kippen geheel immuun zijn.

De cavia is zeer veel gevoeliger dan het konijn.

Bacillus tuberculosis. (Koch).

I. *Vorm en Sporenvorming.*

Dun, eenigszins gebogen staafje, gemiddeld 3—4 micron lang, in de culturen in groepjes, als een gedraaide snor. Vaak vertoont de gekleurde bacil donkerder en ongekleurde gedeelten (vacuolen; valsche sporen?) en doet zich dan voor als een keten van coccen (coccothrixvorm. Unna.); daarentegen wordt de smegmabacil, die er veel op gelijkt, homogeen gekleurd. Ook de *leprabacil* gelijkt op den tuberkelbacil; komt in de organen evenwel talrijker en in groepen, als *pakjes sigaren* voor.

Tuberkelbacillen zijn vethoudend; een cultuur wordt door Flemming's vloeistof zwart gekleurd (de leprabacillen van Spronck: bruin).

II. *Bewegelijkheid.*

Geen eigen beweging.

III. *Groei op verschillende voedingsbodems.*

Op de gewone voedingsbodems is de tuberkelbacil moeielijk te kweeken; wel groeit hij goed op bloedserum, glycerine-agar, glycerine-bouillon en glycerine-aardappel. Uit sputum is hij moeielijk direct te kweeken, omdat hij langzaam groeit en dus door kolonies van andere bacteriën overwoekerd wordt. Men gaat daartoe aldus te werk: van een (met tuberkelbacillen-houdende sputa) geïnfecteerde cavia wordt een stukje van de (tuberkels-bevattende) milt aan de oppervlakte van gecoaguleerd bloedserum gebracht. Pas na ongeveer 14 dagen vormen zich om dat stukje kolonies in den vorm van kleine, grijze, droge velletjes; na 4—6 weken wordt hiervan overgeënt op serum en van de 5de serumgeneratie ent men glycerine-houdende voedingsbodems in.

Kalfsvleeschbouillon met 6 proc. glycerine: blijft helder, maar over de oppervlakte vormt zich een dik, droog vlies (*actinomyces*, bouillon blijft *helder*, met kolonies als doorschijnende korrels).

Op *glycerine-agar*, d. i. agar, waaraan 5—7 proc. glycerine is toegevoegd, vormt zich een droog, grijs beslag.

Op *glycerine-aardappel* (5 proc. glycerine, 0,6 proc. keukenzout) ontwikkelt zich een dikke, wratachtige cultuur (zie de cultuur van *bac. leprae*).

In steekculturen: groei slechts aan de oppervlakte.

IV. *Verhouding tot lucht.* **Aëroob.**

V. *Temperatuur.* Minimum 28—29° C.; optimum 37—38° C.; maximum 41° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Brengt geen vervloeiïng teweeg.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": positief. (bac. leprae ook).

Bijzondere kleurmethoden zijn noodig om den bacil te kleuren, (dezelfde methoden als voor leprabacillen, die echter *sneller ontkleurd* worden) die hierop berusten, dat tbcbacillen de kleurstof door hun vetgehalte moeielijk opnemen, maar ééns gekleurd, de kleurstof vasthouden, en deze zelfs bij inwerking van verdunde zuren niet meer loslaten.

Het kleuren van tuberkelbacillen in sputa:

1) op dekglas drogen enz.; 2) Ziehl's carbolfuchsine daarop droppelen, verwarmen tot dampen opstijgen, afgieten, 2 maal herhalen; 3) in water afspoelen; 4) in acid nitricumopl. (1 op 2 water), ongeveer $^3/_4$ min.; 5) in water afspoelen; 6) Kühne's blauw — ongeveer 2 minuten; 7) in water afspoelen, drogen tusschen filtreerpapier, Canadabalsem.

Kleuring van tuberkelbacillen in coupes:

1) paraffinesnede brengen in benzine, ongev. 5 minuten, daarna in alcohol 96 proc., 2 min., in water, 2 min.; 2) in Ziehl's carbolfuchsine, 25—60 min. (in de broedstoof); 3) in water afspoelen; 4) in waterige opl. van hydrochloras anilini 1 : 500, 6 seconden; 5) in alcohol 96 proc. tot het praep. bleek ziet; 6) in water afspoelen; 7) Kühne's blauw ongeveer 3 min.; 8) water; daarna alcohol absol. en Canadabalsem.

Onderzoek van urine op tuberkelbacillen: de urine „per catheter" ontlasten (smegmabacillen), *centrifugeeren* en van het bezinksel dekglaspraeparaten maken

VIII. *Dierproef.* *Cavia* is zeer gevoelig; (denken aan de mogelijkheid, dat het dier reeds vóór de proef tuberculeus is); orgaanstukje (milt bijv., zie hiervoren) met bouillon tot een emulsie fijnwrijven en hiervan ongeveer 0,2 c.M^3 onder de huid aan de binnenvlakte der dij inspuiten.

Op de plaats van injectie ontstaat een ulcus, na 12—14 dagen is zwelling van lymphklieren in de lies waar te nemen; na 6 weken—2 maanden dood aan algemeene tuberculose.

Het *konijn*: is veel minder gevoelig, kan dus dienen om den virulentiegraad te bepalen; „animal de prognostic."

Bacillus typhi abdominalis. (Eberth; Gaffky).

I. *Vorm en sporenvorming.* Kort, dik staafje, in het midden breeder, met afgeronde uiteinden; zeer polymorph. (De vorm komt overeen met dien van bac. coli commune en o. a. ook met den gele-koortsbacil van SANARELLI). Zij bezitten aan hunne uiteinden en over hunne lengte trilharen.

Sporenvorming niet zeker bewezen (de typhusbacil *zonder sporen* bezit een zeer groot weerstandsvermogen tegen uitdrogen. [1])

II. *Bewegelijkheid.* Hebben een levendige beweging door ciliën.

III. *Groei op voedingsgelatine.*

In streepculturen. Groeit langzaam, vormt vaak slechts een dun beslag.

In steekculturen. Groeit niet alleen langs den steek, maar ook aan de oppervlakte rondom de entplaats, alwaar hij een dun doorschijnend laagje, of soms een dikkere, ondoorschijnende cultuur vormt.

Op platen. De gelatineplaten vertoonen aan de oppervlakte, na 4 dagen bij 22° C. in de broedstoof gestaan te hebben, gewoonlijk een aantal kleine, ongev. speldeknopgroote, doorschijnende vlekjes, glanzend als *paarlemoer*, met onregelmatig ingesneden randen, geaccidenteerde oppervlakte en een blauwachtige tint, gelijkende op „*ijsbergen*" (de kolonies van bact. coli commune zijn dan *grooter*).

In de diepere lagen der gelatine komen de kolonies maar weinig tot ontwikkeling.

Op voedingsagar. Gewoonlijk is de groei van den typhusbacil op gewone agar-agar *schraler* dan die van bacterium coli commune.

In bouillon. Maakt bouillon troebel*), later ontstaat een grijs sediment. (* met een droppel bloed uit de milt enten).

Op aardappelen. Maakt op aardappel gewoonlijk slechts schrale, bijna onzichtbare, eenigszins vochtige, glinsterende culturen, die de kleur van den aardappel meestal niet veranderen. (Zie de aardappelcultuur van *bac. tetani*).

1) Zie: CH. H. ALI COHEN. De typhusbacil. Akad. Proefschrift. Groningen, 25 Januari 1888.

Op andere voedingsbodems. Op *glycerine-agar* ontwikkelt zich na eenige dagen een tamelijk dikke, witte cultuur.

In bouillon plus een mengsel van (gelijke deelen) lactose en krijt: geen gasproductie (vergel. bac. coli commune).

Melk **nooit** gecoäguleerd (bacillus coli commune: meestal *wel*).

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultatief anaëroob.

V. *Temperatuur.* Groeit het krachtigst bij een temp. van 25—35° C. **Boven de 45° C. geen groei.**

VI. *Verhouding tot gelatine.* Maakt gelatine niet vloeibaar. (Coli ook niet; *proteus vulgaris* wel).

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": ontkleurt.

Meestal moeielijker te kleuren met de gebruikelijke aniline-kleurstoffen dan de meeste andere soorten. Kleurt goed door langdurige inwerking, (tot 24 uur), van Ziehl's carbolfuchsine en Löffler's methyleenblauwopl. of volgens de methode van Nicolle (tannineoplossing om het methyleenblauw op de praeparaten te fixeeren en onoplosbaar in alcohol te maken; dubbelkleuring met tannine-eosine-solutie).

VIII. *Dierproef.* *Cavia en muis.*

De resultaten der infectieproeven zijn onstandvastig. Cavia en muis kunnen gedood worden door een vorm van septicaemie. Bij de obductie zijn wel eens de kenmerkende pathol. anatom. afwijkingen (miltvergrooting, zwelling van de solitaire follikels en van de Peyersche plâques) en typhusbacillen, o.a. in de milt, gevonden.

Het *konijn* biedt zeer veel weerstand aan de infectie.

Agglutinatie-reactie. (Grüber-Widal). Het bloedserum van lijders aan typhus abdominalis oefent een specifieke agglutineerende werking uit op een cultuur van typhusbacillen, die onbewegelijk, misvormd en aan elkander vastgekleefd worden. De te voren geïsoleerd liggende bacillen worden tot groepjes vereenigd, als *de eilanden van een archipel.* Het is wenschelijk voor de proef een *jonge* cultuur te nemen, daar in oude culturen de bacillen soms reeds tot groepen vereenigd kunnen zijn en *midden uit het cultuurbuisje*, niet van den bodem te nemen. Ten overvloede overtuige men zich vóóraf van de geïsoleerde ligging der bacillen. De reactie wordt dikwijls het eerst waargenomen op den 5^{den}—8sten dag der ziekte, valt dus al in het begin der ziekte positief uit (bij uitzondering pas op den 15^{den}—20sten dag); zij is negatief in het reconvalescentie-tijdperk (1—22 dagen na de apyrexie), berust dus *niet* op immuniteit.

Malaria-parasieten. (Laveran e. a.)

Haemosporidium malariae s. *plasmodium malariae.*

I. *Vorm.*

Eencellige organismen, in het bloed van malarialijders parasitairlevende protozoën, van verschillende grootte (1—10 micron).

Verschillende vormen: Groote en kleine vormen; de *kleine* parasieten zouden vooral voorkomen bij tropische malaria.

Verder: 1°. *Homogene protoplasmaklompjes*, die amaeboïde bewegingen maken en dus van veranderlijke gedaante; met een relatief groote kern, die echter alleen in het gekleurde praeparaat duidelijk zichtbaar wordt: *jonge parasieten.*

2°. *Ronde lichamen (corps sphériques)*, die niet bewegelijk zijn, gewoonlijk een pigmenthoudend protoplasma en een betrekkelijk kleine kern bezitten. Meestal zonder membraan.

Het pigment, waarschijnlijk een haemoglobinederivaat *(malariapigment* of *melanine)*, is geelbruin of zwart van kleur, fijn- of grofkorrelig, soms als kleine naalden (tot 1 micron) en vertoont dikwijls een eigenaardige, dansende beweging, die veel gelijkt op de Brown'sche moleculairbeweging.

3°. *Ronde lichamen met zeer bewegelijke uitloopers* of zweepdraden *(flagella)*: zweepdraadcellen. In het bloedplasma komen ook *vrije zweepdraden* voor, blijkbaar van de ronde lichamen losgelaten, die ook een zeer levendige beweging kunnen vertoonen.

4°. *Halvemaanvormige lichamen (corps en croissant)*, ongeveer 8—10 micron lang, in het midden 2—3 micron dik, steeds pigmenthoudend. Zij hebben een membraan (niet constant), een dubbele contour; maken geen amaeboïde bewegingen, maar kunnen langzamerhand van vorm veranderen: *spoelvorming*, *ovaal* en *rond* worden.

Het pigment is meestal in het centrum van het halvemaanvormige lichaampje opgehoopt en ligt dan stil, of het is onregelmatig verspreid en in beweging. Het lichaam van de parasiet schijnt op een restant van een r. bl. l. te zitten.

5°. *Ronde lichamen, ontstaan uit halvemaanvormige lichamen.* Het pigment ligt hier meestal *in kransvorm* tegen de peripherie; zij vertoonen vaak een *membraan* (dubbele contour). Ook deze ronde lichamen kunnen uitloopers verkrijgen: de membraan barst dan open en rolt zich op tot

een *„mutsje"*, dat op de parasiet blijft vastzitten, en waaraan zij van de eigenlijke corps sphériques te onderkennen zijn.

6°. *Zegelringvormige lichaampjes*: gesloten of geopend; zeer kleine lichaampjes.

7°. *Sporulatievormen*: lichamen met een eigenaardigen roset-vorm, als een „madelietje" *(corps en rosace)*.

Het pigment ligt opgehoopt in het centrum, van waar stralen uitgaan naar de peripherie; segmenten *(sporen)* die daardoor ontstaan, geraken uit het openbarstende roode bloedlichaampje vrij in het bloedplasma, vormen zich tot jonge plasmodiën, welke later in roode bloedlichaampjes binnendringen en daar, volgens Laveran, verschillende ontwikkelingsstadia doormaken.

De sporen bevatten geen pigment; dit wordt door leukocyten opgenomen.

Volgens Golgi heeft men niet met één parasiet in verschillende stadia van ontwikkeling, maar met verschillende rassen van parasieten te doen.

II. *Cultuur.* Is nog niet gelukt.

III. *Verhouding tot kleurstoffen.* Bloed nemen, 3—4 uur vóór den koortsaanval!, en vóórdat patient chinine genomen heeft. Liefst ook ongekleurd bezichten.

Kleuring met de oplossing van Plehn:[1]) Vingertop met aether reinigen; dekglas en objectglas met absolute alcohol. Met gedesinfecteerde naald in den vingertop een prik maken, zoodat een kleine bloeddroppel verkregen wordt (een geringe hoeveelheid bloed is een vereischte, de roode bloedlichaampjes mogen in het praeparaat niet in geldrollen, maar moeten voor het grootste gedeelte vrij liggen). Dekglaasje even in aanraking brengen met den bloeddruppel en vervolgens snel op het objectglas leggen (snel werken is een vereischte om de r. bl. l. in ongeschonden toestand te behouden. Druk op het dekglas moet zorgvuldig vermeden worden). 1) Het dekglaasje met den kleinen bloeddroppel (niet te weinig bloed, want dan kleven de dekglaasjes aaneen en is kracht noodig om ze van elkander te schuiven, waardoor de r. bl. l. geschonden worden) op een tweede leggen, van elkander schuiven, zonder druk uit te oefenen, aan de lucht drogen. 2) Vervolgens ongev. 10 min. in absolute alcohol om te fixeeren, niet in de vlam. 3) Aan de lucht drogen. 4) Kleuren in

1) Ontleend aan het Akad. Proefschrift van A. Bonebakker „het Plasmodium malariae." Amsterdam 1891.

PLEHN'SCHE alkalische oplossing van methyleenblauw-eosine (geconc. waterige opl. van methyleenblauw: 60; $^1/_2$ proc. eosineopl. in 75 proc. alcohol: 20; gedest. water: 40; 20 proc. kaliloog: 12 droppels) — gedurende één uur. 5) Afspoelen in water, totdat geen kleurstof meer wordt afgegeven. 6) Drogen tusschen filtreerpapier. 7) Praeparaat even door de vlam halen. 8) Conserveeren in xylol-Canadabalsem.

De kleurstofoplossing moet steeds versch bereid worden.

Snelmethode van A. VAN DER SCHEER: een dunne methyleenblauw-op-(lossing $\frac{1}{3000}$—$\frac{1}{4000}$) laten vloeien in de capillaire ruimte, die overblijft, wanneer het dekglas, op de gewone wijze met bloed bedekt en geflambeerd, met behulp van een paar stukjes paraffine op het objectglas is vastgehecht.

Ook fraaie *kleuring met hoematoxyline.*

V. *Dierproef.*

Inentingen met malariaparasieten-bevattend bloed op dieren hebben tot dusver negatieve resultaten opgeleverd.

Spirochaete Obermeieri (Recurrens-spiril).

I. *Vorm en sporenvorming.*

Dunne, kurketrekkervormig-gekromde bacil met talrijke schroefwindingen en spitstoeloopende uiteinden, 16—40 micron lang. Bezitten trilharen.

Zij zijn in het bloed van lijders aan febris recurrens tijdens den aanval, vooral 12—24 uur na de temp.-stijging, talrijk aanwezig. Vier uur na de defervescentie zijn zij gewoonlijk daaruit verdwenen. Een paar uur vóór den volgenden koortsaanval keeren zij daarin terug.

Ontbreken in de secreta der lijders.

Sporenvorming niet zeker bekend.

II. *Bewegelijkheid.*

Snelle eigen beweging.

III. *Cultuur.*

Tot dusver is het nog niet gelukt den recurrens-spiril buiten het dierlijk lichaam te kweeken.

IV. *Verhouding tot kleurstoffen.*

„*Gram*": ontkleurt.

Kleurmethode van Günther toepassen, om de spirillen in het bloed te kleuren.

Voor coupes: methode van Kühne-Soudakewitz.

V. *Dierproef.*

Aap (langstaartige macaco.)

Koch en Carter hebben apen met gedefibrineerd bloed van lijders aan febris recurrens subcutaan ingespoten: in het bloed van de geïnfecteerde dieren werden spirillen aangetoond. Wel kregen de dieren een koortsaanval, maar geen febris recurrens.

Bacteriologische Memoranda.

TABELLEN

TEN GEBRUIKE BIJ HET PRACTISCH WERKEN

DOOR

DR. F. W. VAN HAEFTEN.

2de en 3de Aflevering.

UTRECHT.
G. J. C. SCRINERIUS.
1899.

INHOUDSOPGAAF.

Bladz.

Achorion favosa 68
Aspergillus fumigatus 63
Boutvuur 85
B. Cholerae gallinarum 79
Gele koorts 42
Gist-zwammen 67
B. Icteroides 42
B. Influenzae 46
Kippencholera 79
B. Mesentericus 48
Microsporon furfur 72
Mucor Mucedo 60
Oïdium albicans 65
Oïdium lactis 61
Penicillum glaucum 62
B. Prodigiosum 50
B Proteus fluorescens 52
B. Proteus vulgare 54
B. Rhusiopathiae suis 82
Saccharomycetes 67
Sarcina ventriculi 56
B. Sarcophysematos bovis 85
B. Septicaemiae haemorrhagicae 88
B. Subtilis 58
Trychophyton tonsurans 74
Varkensvlekziekte 82

BIJLAGEN.

Bladz.

I. **Kleuren van bacteriën** I

a) *Kleurstoffen.*

Aniline-kleurstoffen I
Anilinewatergentiaanvioletopl. I
Carbol-gentiaanvioletopl II
Eosine-alcohol II
Gram's oplossing II
Kühne's methyleenblauwopl II
Löffler's methyleenblauwopl. II
Lugol's oplossing II
Nicolle's Carbolthionineopl. II
Ziehl's Carbolfuchsineopl. II

b) *Kleurwijzen.*

Enkelvoudige kleuring van coupes III
Enkelvoudige kleuring van culturen . . . III
Kleuring volgens **Gram** . . . . . IV-V
Kapsel-kleuring . . . . . XI-XII
Sporen-kleuring . . . . . VI-VII
Zweepdraden-kleuring . . . . . VII-X

II. **Microscopisch onderzoek van schimmels.** . . . . . XIII-XVII

III. **Onderzoek van de schimmels der dermato-mycosen.** . . . . XVIII-XXII

Bacillus icteroides. (Sanarelli). *)

I. *Vorm en sporenvorming.* Staafje met afgeronde uiteinden, lang 2—4 micron, gewoonlijk paarsgewijze naast elkander liggende. Bezit lange trilharen (4—8); (bac. coli communis ook).

Sporenvorming is niet waargenomen.

Wordt aangetroffen in het bloed en de organen (milt, lever, nieren) van lijders aan **gele koorts** (febris flava), — gedurende de ziekte in relatief gering aantal, (steeds vindt men naast den bacil, andere microben: bac. coli communis, streptococcus, staphylococcus, proteus; *secundaire infecties)* maar talrijk, op den 7den—8st dag, dus tegen het einde van een normaal verloopen ziektegeval.

Voornaamste ziekteverschijnselen. 1ste tijdperk: Incubatietijd 2—4 d.; koude rilling, gevolgd door snelle stijging van de temp. (tot 41° C.); de koorts duurt 2—5 dagen. Den 3den dag worden de conjunctivae geel (haematogene icterus); in de urine is eiwit aan te toonen (albuminurie); hardnekkig braken.

2de tijdperk: den 5den dag wordt de temp. normaal of subnormaal en blijft dit eenige uren tot 2 dagen.

3de tijdperk: de temp. stijgt weer; er wordt *bloed gebraakt*, ook bloedingen uit mond, neus, oor, blaas, uterus en darmbloeding. Dood op den 5den—7den dag.

II. *Bewegelijkheid.* Eigen beweging.

Groei op voedingsgelatine. ———————————

In streepcultuur. Typische streepcultuur (als men n.l. slechts een *spoortje* bloed of miltsap van een geïnfecteerd dier uitzaait).

Na eenige dagen ontstaan geïsoleerde, melkwitte kolonies, als „*parels*"; deze kunnen even groot blijven, of zij groeien aan en druipen dan naar de laagste deelen van het buisje af, zoodat een aantal kronkelende strepen ontstaan, die er uitzien als „*beekjes van schitterende, witte was*". In deze strepen ziet men later doorschijnende aderen.

In steekcultuur. Aan de oppervlakte geen of geringe groei; rondom de entplaats kan zich een halfdoorschijnend schijfje vormen, gelijkende op een droppel slijm; vooral in de diepste deelen van het steekkanaal ontstaan afzonderlijk liggende, kleine, ondoorschijnende, ronde kolonies.

*) Zie: Annales de l'Institut Pasteur. No. 6 en 8 1897.

Op platen.

Bij ± 20° C. zijn reeds na 24 uur puntvormige kolonies zichtbaar, die er, bij zwakke vergrooting, fijnkorrelig en sterk glinsterend uitzien, op *witte bloedlichaampjes* gelijken, maar geen kern bevatten.

Langzamerhand vormt zich bijna altijd een centraal of peripherisch gelegen, min of meer donkergekleurde kern, (soms 2 kernen). die steeds door een lichten hof omgeven is en waarvan straalsgewijze fijne korrels naar de peripherie der kolonie uitgaan. Dikwijls zijn de kolonies niet rond, maar niervormig en ligt de kern aan den hilus. Met het bloote oog zien zij er als melk of als grijze was uit.

Den 5^{den} of 6^{den} dag (de kolonies, die zich in de *diepere* lagen der gelatine ontwikkelen, meestal vroeger) worden de kolonies zwart, behalve een ronde zone, waarin de kern zich steeds scherp blijft afteekenen; zij zien er bij zwakke vergrooting uit als *„druppels inkt"*.

Soms ontstaan atypische vormen (polymorphe kolonies), o. a. in oude culturen, die geel of bruin van kleur kunnen zijn (verwisseling met bac. coli communis; *jonge* kolonies van bac. icteroides zijn steeds *ongekleurd*, die van bac. cali communis worden meestal eerder *bruin* van kleur.)

Op voedingsagar.

De streepcultuur op agar is een voortreffelijk diagnosticum voor bac. icteroides.

Bloed, lever- of milt-sap van een lijder aan gele koorts, liefst wanneer er maar weinig secundaire infecties bestaan, *sterk verdund* op scheefgestolden agar uitstrijken.

Plaatst men het cultuurbuisje eerst in de broedstoof *bij 37° C.*, dan neemt men na 12—24 uur een aantal niet-karakteristieke, doorschijnende, grijsachtige, ronde kolonies waar; doch, wanneer men daarna het buisje in de stoof van *20—22° C.* overbrengt, is 6—10 uur later om ieder der kolonies (ten minste als er weinige opgekomen zijn) een ondoorschijnende, witte, paarlemoerachtig-glinsterende, ringvormige wal ontstaan, die boven het centrale, doorschijnende gedeelte uitsteekt.

Laat men de cultuur bij dezelfde temp. van 20—22° C. staan, dan wordt de wal steeds grooter en krijgt de kolonie het voorkomen van een *„lak stempel"*. Zijn vele kolonies opgekomen, dan vloeien de ringen samen en is het, alsof men op den agar een dikke laag parafine gegoten en daarin met een ronden stempel zóóveel diepe indruksels gemaakt had, als het aantal doorschijnende kolonies bedraagt, die zich het eerst, in de broedstoof van 37° C., ontwikkeld hebben. Allengs groeit de wal benedenwaarts over den agar aan en vloeit eindelijk, als een straal terpentijn naar den bodem van het cultuurbuisje: op zijn weg vereenigt

Bacillus icteroides (Sanarelli).

(Vervolg van pag. 43.)

deze zich met de stralen van naburige kolonies en ontstaat dus een netwerk. De kolonies, die zich bij 37° C. ontwikkeld hebben, blijven echter als diepe indruksels op hun plaats.

Den 10^den^ dag ongev., zijn de ringen en daarvan uitgaande stralen platter en doorschijnend geworden: de cultuur is *veranderd* in een *dun*, *doorschijnend vliesje* en, daar de kolonies, die bij 37° C. gegroeid zijn, *on*doorschijnend worden, worden deze in de membraan langzamerhand duidelijk zichtbaar, als de eilanden van een archipel.

Een tegenovergestelde groeiwijze neemt men waar, als men het geëntte agarbuisje eerst in de stoof van 20—22° C. brengt, want dan vormen zich: boven de oppervlakte der agar verheven kolonies, als *„droppels melk"*. Wanneer men het buisje daarna in de broedstoof van 37° C. overbrengt, dan ontwikkelt zich om iedere knopvormige, witte kolonie een platte re, doorschijnende cultuurmassa.

In Bouillon. De bacil groeit slecht in Löffler's bouillon, namelijk wanneer hij direct uit het cadaver daarin uitgezaaid wordt, of van een oude agarcultuur afkomstig is; beter, wanneer hij reeds aan kunstmatige voedingsbodems geaccomodeerd is: de bouillon wordt *troebel*, geen vliesvorming of neerslag.

Op aardappelen. Spaarzame groei; dun, doorschijnend, nauwelijks zichtbaar vliesje (verschil met bac. coli communis.)

Op andere voedingsbodems. *Melk*: wel groei, geen coägulatie.

Gecoäguleerd serum: snelle, doch spaarzame groei; een nauwelijks zichtbaar, doorschijnend, glinsterend laagje, of, geïsoleerde kolonies als *dauwdruppeltjes*.

Vleesch-Bouillon plus een mengsel van lactose 2 pct. en krijt: welige groei; **beste voedingsbodem.** (Het krijt dient om den voedingsbodem neutraal te houden en om infectie met bac. coli, staphylococcus en streptococcus te herkennen.) Geen bezinksel, geen vliesvorming en geen zichtbare suiker-gisting (gasproductie bij bac. coli communis.)

Agar met lakmoestinctuur: den 2^{den} tot 3^{den} dag verandert de blauwe kleur in een roode, ten bewijze, dat melksuiker door bac. icteroides toch wel wordt ontleed.

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultatief anaëroob.

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij 20° C., als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": ontkleurt. (bac. coli communis ook.) Is gemakkelijk te kleuren met de gewone aniline-kleurstoffen.

Kleuring der zwermdraden volgens Nicolle en Morax. (zie bac. subtilis.)

VIII. *Dierproef.* Entmateriaal van Sanarelli: een cultuur, die zich gedurende 24 uur ontwikkeld heeft in bouillon + lactose 2% + Carbonas calcis.

Bac. icteroides is pathogeen voor de meeste huisdieren.

Witte muis, *cavia* en *konijn* worden gedood respect. na ongev. 5, 6—8, en 5 dagen door septicaemie; de bacteriën worden echter pas 24—48 uur vóór den dood in het bloed gevonden.

Het *konijn* is een zeer geschikt proefdier; vettige degeneratie van de lever.

Bij *cavia* en *konijn* kan de ziekte teweeggebracht worden door infectie van de luchtwegen.

Bij den *hond* ontstaan de typische verschijnselen der gele koorts van den mensch: bloedbraken (vomito negro), icterus, vettige degeneratie van de lever, gastro-enteritis haemorrhag., haematurie, albuminurie, nephritis, uraemie; voorts, post mortem te constateeren gelijktijdige infectie met andere bacteriën.

Bij den *aap* kan ook de cyclische ziekte worden veroorzaakt, voorts een sterke graad van degeneratio adiposa hepatis enz.

Bij de *geit* en het *schaap* worden de nieren sterk aangetast. Bacillus icteroides heeft, behalve steatogene, haemolytische en emetische, ook toxische eigenschappen.

Bacterium influenzae. (R. Pfeiffer.) *)

I. *Vorm en sporenvorming.* Kort, dun staafje, 0,2 : 0,5 micron (bereikt nauwelijks de dikte van den bekenden fijnen bacil van de vlekziekte der varkens en van dien der muizen-septicaemie).

Heeft afgeronde uiteinden (zie bact. pestis).

Vaak liggen zij paarsgewijze aan elkaar, — deelingsvormen —, een kapsel is echter nooit waargenomen. (vergel. bac. pneumoniae-Friedländer.)

Soms vormen zij in het sputum korte schijndraden; in culturen, die 3—4 dagen oud zijn, dikwijls lange schijndraden.

Sporen schijnt de influenza-bacil niet te vormen; het weerstandsvermogen, tegen uitdroging vooral, is gering (verschil met staphylococcus pyogenes aureus.)

De bacillen worden zelden en spaarzaam in het bloed aangetroffen; komen echter talrijk voor in de sputa, bijna in reincultuur vindt men ze in het secretum der kleine bronchi van aan influenza bezweken lijders.

In het sputum liggen zij in hoopjes bij elkaar, zoowel tusschen, als in de leukocyten (rondom, nooit in de kern).

In het *reconvalescentie-tijdperk* zijn de bacillen vaak zeer klein en brokkelig en liggen de meeste *in* leukocyten (beteekenis voor de leer der phagocytose.)

II. *Bewegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei.* Kenmerkend voor den influenza-bacil is, dat hij niet groeit op de gewone, maar *uitsluitend op haemoglobine-houdende voedingsbodems.*

Wel heeft men op gewone voedings-agar, uit sputa, culturen verkregen, maar deze konden niet meer op agar worden voortgekweekt; de bacillen hadden hier de voor hun groei noodige haemoglobine ontleend aan het bloed-bevattende sputum (roestkleurige sputa vindt men bij influenza betrekkelijk zelden.)

Methode van reincultuur volgens Pfeiffer. Als *entingsmateriaal* gebruiken: sputum (herhaalde malen wasschen met gedest. water en, midden uit het klompje, een stukje nemen), of pulpa uit lobulair-pneumonische

---

*) Zie, o. a. R. Pfeiffer. Deutsche Med. Wochenschrift. No. 2. 1892 en Levy-Klemperer. Klin. Bakteriologie. Berlin 1898.

haarden van aan influenza bezweken lijders. Hiervan een kleine hoeveelheid **verdunnen** met 1—2 c.M³. bouillon en tot een homogene emulsie fijn wrijven. Enten op bloed-agar (en, ter contrôle, ook op gewone glycerine-agar).

De meest geschikte voedingsbodem is **duivenbloed-agar** (duivenbloed is zeer rijk aan haemoglobine): van gewone agar een plaat gieten; na stolling der agar, een groote droppel, aseptisch verkregen duivenbloed daarop brengen en het, tot een dnnne laag, daarover doen uitspreiden. Men kan het bloed, ook vóórdat de plaat gegoten wordt, bij de gesmolten agar voegen.

Over deze platen wordt de sputum-emulsie met behulp van een platinalis eenige malen, zonder nieuwe belading, uitgestreken, — of, men strijkt de platinanaald snel achtereenvolgens in een zeker getal buisjes scheefgestolde bloed-agar af, ook, zonder haar opnieuw te beladen.

Op **bloed-agar.** *In streepcultuur.* Na 24 uur, bij 37° C.: dicht op elkaar staande, zeer kleine, macroscopisch nauwelijks zichtbare kolonies, als *„glasheldere dauwdroppeltjes"*, die meestal geïsoleerd blijven; in het condensatiewater ontstaan witte cultuur-vlokjes, wanneer van de oppervlakte der agar wat bloed daarin geloopen is.

In bouillon + **bloed.** Niet karakteristieke, witte vlokjes.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob.

V. *Temperatuur.* Minimum 26—27° C.; optimum 37° C.; maximum 42° C. Groeit niet bij gewone kamertemp.

VI. *Verhouding tot kleurstoffen.* Sputum-onderzoek: het versch opgehoeste sputum op een bord met zwarten bodem brengen en hiervan de *groenachtig-gele*, meest samenhangende klompjes uitzoeken voor het dekglas-praep.

„Gram": negatief.

Kleuren met verdunde carbolfuchsine, of met Loefflersche alc. methyl eenblauwopl.

Dikwijls, sterkere tinctie der uiteinden: *poolkleuring* (vergel. bac. cholerae gallinar.; bac. coli communis; bac. diphtheriae; in acht nemen voor verwisseling met diplococcen.)

VII. *Dierproef.* Bij den *aap* bracht Pfeiffer een „op influenza gelijkende(?)" ziekte (koorts en hoest) teweeg, door inspuiting van een reincultuur

door den borstwand direct in het longweefsel; ook, door het inbrengen van een cultuur op het ongelaedeerde neusslijmvlies.

Het *konijn* kon door intraveneuse injectie van een groote dosis cultuur gedood worden, onder verschijnselen van *spierzwakte* en *praemortale daling van de lichaamstemp.* (tot 32,2° C)

Voor cavia, muis, rat, varken, hond en kat schijnen de door PFEIFFER geïsoleerde bacillen onschadelijk te zijn.

De influenza-bacil produceert toxinen: door chloroform gedoode culturen zijn voor proefdieren, o. a. konijn, pathogeen, veroorzaken dyspnoe, — verlammingsverschijnselen enz.

Bacillus mesentericus. (FLÜGGE; GLOBIG.)

(Aardappel-bacil.)

I. *Vorm en sporenvorming.* Staafje, van verschillende dikte, dikwijls tot draden vereenigd en voorzien van lange trilharen (evenals b. subtilis), — na kleuring volgens LÖFFLER, gelijkt de bacil met zijn ciliën wel wat op een „*spin*".[1])

Vormt endogene, middelstandige sporen (bac. tetani: *eindstandige* sporen.)

De bacil komt o. a., aan tuinaarde klevend, op *de schil van den aardappel* (voornl. in de zoog. „*oogen*") voor; ook op *zemelen* (brood-bederf door bac. mes. vulgatus.)[2])

De *sporen* zijn **zeer resistent tegen hooge temperaturen,** (noodzakelijkheid der gefractionneerde (afgebrokene) sterilisatie op hooge temp., 120° C., van aardappelen, die tot voedingsbodem moeten dienen; zie ook bac. subtilis).

Variëteiten: B. m. vulgatus; B. m. fuscus; B. m. ruber.

II. *Bewegelijkheid.* Eigen beweging; *slinger-beweging* (verg. bac. subtilis.)

III. *Groei op voedingsgelatine.* Er vormt zich een huidje; de gelatine wordt vervloeïd.

---

1) Dr. G. ITZEROTT u. F. NIEMANN. Mikrophotograph. Atlas der Bakterienkunde 1895.

2) Zie KRATSCHMER en NIEMITOWICZ: Wiener Klin. Wochenschr. 1889 en A. P. DE GROOT: onderzoekingen over het voorkomen van bacteriën in brood Proefschrift. Groningen 1890.

In bouillon. Aan de oppervlakte vormt zich een vliesje.

Op aardappelen. Er ontwikkelt zich een geelwit of geelbruin, slijmerig vliesje; bac. mes. ruber vormt een roodachtig-geel, later rozerood huidje (bac. coli communis: *bruingele* cultuur.)

Het vlies krijgt langzamerhand plooien en rimpels (overeenkomst met de agar-streepcultuur van bac. subtilis. *Eisenberg.*) en doet dan denken aan een „*mesenterium*" (darmscheil).

Op andere voedingsbodems. *Melk*: gecoäguleerd en **gepeptoniseerd.**

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob (evenals bac. subtilis.)

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij gewone kamert., als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* Neemt gemakkelijk anilinekleurstoffen op.
Kleuring der zwermdraden: zie Bac. subtilis.

VIII. *Pathogeniteit.* Van pathogeniteit voor mensch of dier is niets met zekerheid bekend.

Wel secerneert de bacil verschillende fermenten;

1) een *peptoniseerend* ferment, dat eiwitlichamen in peptonen verandert, en waardoor de gelatine vervloeïd wordt;

2) een *diastatisch* ferment, waardoor zetmeel in glucose omgezet wordt;

3) een *lebferment*, dat uit melk de caseïne neerslaat.

Bacterum prodigiosum (Ehrenberg.)

I. *Vorm en sporenvorming.*

Meestal zeer kort staafje; na deeling, als een coccus, — *coccobacil* (vroeger micrococcus prodigiosus of monas prodigiosa, *wonder-monade* genaamd.)

Is veranderlijk van vorm, nu eens cylindrisch, dan weder elliptisch; lange vormen bij kweeking in bouillon met wijnsteenzuur (proeven van *Wasserzug).*

Zeer verbreid: komt voor in de lucht, op brood, (gekookte) aardappelen en andere (gekookte) zetmeelhoudende stoffen, op (gekookt) vleesch, in melk, soms in water.

Vormt een *helder-roode* kleurstof: pigment-, of chromogene bacterie; veroorzaakt roode vlekken op meel, brood enz. (*sarcina rubra* brengt ook een roode kleurstof voort, heeft echter een pakketvorm; zie ook: saccharomyces rosaceus).

De *kleurstof* vindt men vooral in oude culturen duidelijk als korrels *tusschen* de staafjes*) diffundeert niet in de voedingsbodems (verschil met bacterium pyocyaneum); lost niet op in water, is wel, maar moeielijk oplosbaar in alcohol. Door toevoeging van *kaliloog* verandert de roode kleur in een gele; door *zoutzuur* in een violette (overeenkomst met zekere aniline-kleurstoffen, heeft echter een ander spectrum dan fuchsine, waarmede de kleurstof wel eens geïdentificeerd is.)

Van invloed op de kleurstof-productie is de aard van den voedingsbodem: krachtige pigmentvorming treedt o. a. op, bij kweeking op aardappelen.

Het kleurstofvormend vermogen gaat verloren: 1. bij hooge temperaturen, (dus *niet* kweeken bij 37° C.!); 2. bij afsluiting der dampkringslucht.

Behalve de roode kleurstof, kan bact. prodigiosum, bijv. op aardappel, *trimethylamine* vormen.

Indeeling der „chromogene" (kleurstof-vervaardigende) bacteriën:

I. *Gekleurde:* de kleurstof blijft *in* de cellen;

a. *Chromophore:* de kleurstof heeft een bepaalde physiolog. functie.

b. *Parachromophore:* de kleurstof schijnt slechts een passief stofw.-product te zijn.

II. *Kleurende (Chromopare,* Beijerinck): cellen zelve kleurloos, een gekleurd stofw.-product wordt uitgescheiden.

---

*) Zie: C. Günther. Bakteriologie, V Aufl. 1898.

II. *Bewegelijkheid.* Meestal geen eigen beweging; volgens SCHOTTELIUS vertoont hij, bij kweeking in vloeibare voedingsbodems, levendige eigene beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.* *Op platen.* Aan de oppervlakte ontstaan vervloeiende, roode, kolonies, met onregelmatige randen; in de *diepere* lagen der gelatine zijn zij *wit* van kleur (geen kleurstof wordt voortgebracht bij afsluiting van de dampkringslucht.)

Op voedingsagar. Roode cultuur; de agar zelve wordt niet rood gekleurd, het pigment dringt er niet door heen.

In Bouillon. ———

Op aardappelen. *Fraaie pigmentvorming op aardappel;* meestal bloedrood, slijmerig beslag. Vorming van trimethylamine: reuk naar haringpekel.

Op andere voedingsbodems. *Melk*: gecoäguleerd.
Veroorzaakt gisting van suikerhoudende voedingsbodems.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob. (kan, evenals bact. pyocyaneum, wel zonder O leven, maar vormt dan *geen* kleurstof.)

V. *Temperatuur.* Optimum 25° C.; bij 37° C. gaat, na eenige overentingen, het kleurstofvormend vermogen verloren.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": ontkleurt.

VIII. *Pathogeniteit.* Niet pathogeen.

———

Bacterium proteus fluorescens. (H. Jäger). *)

I. *Vorm en sporenvorming.* Zeer polymorphe microbe, voorzien van trilharen (zie ook bact. proteus vulgare); bezit, in het menschelijk lichaam, vaak een kapsel.

Produceert een groene, fluoresceerende kleurstof.

Is door H. Jäger gevonden in de urine en in de organen van aan **Morbus Weilii** bezweken lijders.

(Epidemie te *Söflingen*, een dorp, gelegen aan een zijtak van de Donau. Door bewoners van dit plaatsje was dood gevogelte, uit Italië geïmporteerd, tot bemesting gebezigd. Onder de kippen ter plaatse brak een epidemische ziekte uit, veroorzaakt door bact. proteus fluorescens; bij militairen, die stroomafwaarts in de door het dorp stroomende rivier gebaad hadden, kwamen gevallen van *Weil'sche ziekte* (*koorts; icterus; milttumor; nephritis*) voor. Heim. 1898.

Sporenvorming is niet waargenomen.

II. *Bewegelijkheid.* Eigen beweging. (evenals Vibrio cholerae asiaticae).

III. *Groei op voedingsgelatine.* (Kweeken uit *urine* van lijders aan Morbus Weilii).

In steekcultuur. Nap- of kratervormige vervloeiïng bij langzame groei (evenals vibrio cholerae asiaticae); anders -- als een omgekeerde slaapmuts.

Op platen. Kolonies als die van bact. proteus vulgare; soms als die van bac. anthracis (haarbosjes), als van bac. typhi abdominalis, of van vibrio cholerae.

Op voedingsagar. Reeds na 48 uur een dik, geelwit beslag; de agar zelf wordt groen, **fluoresceerend.** (Vergel. bact. pyocyaneum). *fluoresceeren:* het uitstralen van eigen licht onder den invloed van bestraling, zooals wordt waargenomen bij vloeisplaat (*fluor-calcium*), petroleum enz.; *iriseeren:* het schitteren van lichamen met de kleuren van den regenboog).

In bouillon. De bouillon wordt troebel.

*) Zie: Jäger. Zeitschrift f. Hygiene u. Infectionskrankh. 1892 Bd. 12, blz. 525.

Op aardappelen. Bij kamert. geelwitte, later donkerbruin gekleurde cultuur; (evenals bac. mallei); **de aardappel zelf wordt meestal loodgrijs of grijsblauw van kleur.**

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultief anaëroob.

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij kamert. als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng (**niet constant**, volgens JÄGER een belangrijk kenmerk).

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „Gram": ontkleurt.

Kleuren met carbolfuchsine. In coupes: Carbolfuchsine 3—5 min.; daarna ontkleuren in azijnzuuropl. (1 dr. op 30 c.M³. water); eindelijk in alcohol absol.

VIII. *Dierproef.* (Zie ook: bact. proteus vulgare).

De beste dierproef voor de diagnose van bact. proteus fluorescens is die op de *muis*: door intraperitoneale injectie van 0.1 c.M³. eener bouilloncultuur sterft het dier gewoonlijk binnen 24 uur. Bij de sectie vindt men, o. a milt-vergrooting, vettige degeneratie van de lever en de nieren en in de organen zijn de bacillen, zoowel microscopisch, als door de cultuur aan te toonen.

Verder is de bacterie zeer virulent voor kippen en duiven.

Bacterium proteus vulgare. (Hauser). *)

I. *Vorm en sporenvorming.* Zeer polymorphe microbe, (wegens de groote *veranderlijkheid in vorm* „Proteus" genaamd), korte staafjes, lange draden, schroefdraden (spirulinen), spermatozoid-achtige en andere vreemde vormen.

Bezit zeer vele trilharen; na kleuring (volgens Löffler) ziet de bacterie er uit, als een *„veder-baard"*.

Sporenvorming is niet waargenomen.

De bacterie komt zeer verspreid voor en **verwekt rotting** (omzetting van eiwitachtige stoffen, onder vorming van stinkende gassoorten).

Proteus vulgaris, P. mirabilis en P. Zenkeri zijn geen verschillende soorten, maar gemodificeerde rassen, die o.a. verschillen in vorm en t. o. van gelatine aanbieden.

II. *Bewegelijkheid.* **Zeer bewegelijk.**

III. *Groei.* (Kweeken o.a. uit etter van een „putride" phlegmone).

De culturen verspreiden een eigenaardige stank naar *„rotte kaas"*,— Heim. Lehrb. der bakteriol. 1898. (Vergel. bac. coli commusis en bac. tetani).

Op voedingsgelatine. In steekcultuur. Snelle groei; vervloeiïng langs het geheele steekkanaal.

Op platen. *Karakteristieke gelatine-plaatcultuur.*

Geelachtige kolonies, met franjevormige randen; deze uitloopers dringen hier en daar verder door de vervloeiïde gelatine heen, terwijl de bacteriën zich levendig blijven voortbewegen, zoodat eigenaardige figuren, *„als haarkrullen"* ontstaan: b. figurans. Vaak snoeren zij zich van de moeder-kolonie af en liggen dan geïsoleerd als eilandjes daaromheen. (Zie de plaatcultuur van bac. anthracis: *haarbosjes*).

Wil men het *„zwermen"* der bacillen tegengaan, dan moet het gelatine-percentage van den voedingsbodem op 10 % gebracht worden.

Op voedingsagar. Vochtig, grijswit beslag.

---

*) Zie: Hauser. Ueber das Vorkommen von Proteus vulgaris bei einer jauchig-phlegmonösen Eiterung nebst einigen Bemerkungen zur Biologie des Proteus. Müchen, med. Wochenschrift, 1892 No. 7.

Op aardappelen. Vuilgrijs beslag. (bac. coli communis: *bruingele* cultuur.)

In bouillon. De bouillon wordt troebel en er ontstaat een bezinksel.

Op andere voedingsbodems. ***Melk***: gecoäguleerd.

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultief anaëroob.

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij gewone kamert. als bij 37° C.
Optimum 20—24° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng, (niet constante intensiteit; *proteus Zenkeri* vervloeit de gelatine *niet;* **bac. coli communis geen vervloeiïng).**

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* *„Gram"*: positief (bac. coli communis: „Gram" ontkleurt).
Is moeielijk te kleuren met waterige oplossingen van aniline-kleurstoffen. Kleurt goed door Ziehl's carbolfuchsine.
Kleuring der zwermdraden volgens Löffler (zie bac. subtilis).

VIII. *Dierproef.* [1]) Proteusbacillen bleken pathogeen te zijn voor muizen, konijnen, caviae en honden; post mortem waren de bacillen bij *muizen in het bloed*, bij de andere dieren, in verschillende organen, abscessen en exsudaten, constant en in groote menigte te vinden.
Zij hebben behalve infectieuse, ook „toxische" eigenschappen.
Bij den *mensch* kunnen zij cystitis veroorzaken, — voorts, in **symbiose** met pyogene bacteriën optreden en tot rotting van den etter van phlegmonen aanleiding geven, ook met diphtheriebacillen. [2])

---

[1]) Zie: Dr. Max. Meijerhof. Centralbl. f. Bakteriol. 1898. no. 4|5.

[2]) Dr. W. Kühnau. Über Mischinfection mit Proteus bei Diphtherie der Halsorgane. Zeitschr. f. Klin. Medicin Bd. 31 1897.

Sarcina ventriculi (J. Goodsir). [1])

I. *Vorm en sporenvorming.*

Kogelronde of eenigszins ovale, kleurlooze of geelachtig-bruin gekleurde cellen (micrococcen), die zich in drie loodrecht op elkâar staande richtingen deelen en na de deeling in kuboïdische groepen met elkander verbonden blijven, — die aan *„wol-balen"* doen denken. *Sarcina* = pak; is, wegens eene verwijderde overeenkomst in vorm, wel eens gehouden voor gebroken primitiefbundels van spieren. Zie: SURINGAR.

Iedere cel heeft een diameter van ongev. 1,5 micron; de buitenste wand der Sarcina-cel vertoont *celluose-reactie*: Lugol'sche oplossing, daarna zwavelzuur (blauw).

Kenmerkend voor Sarcina is het uit acht coccen samengestelde pakket, maar in culturen vindt men bij microsc. onderzoek, vaak slechts coccen, diplococcen en tetraden (d.z. vlakke groepen van vier micrococcen).

Sporenvorming is niet waargenomen (wel is dit door HAUSER geconstateerd bij *Sarcina pulmonum*). Wordt aangetroffen in braaksel van menschen en dieren, vooral in gistenden maag-inhoud, o.a. bij *gastritis chronica* — meestal te zamen met gistcellen en bacteriën; is ook gevonden in faeces, in de *mondholte* [2]) (S. flava, S. lutea, S. aurantiaca).

Volgens FLÜGGE [3]) is S. ventriculi geen bepaalde species.

Sarcina-soorten. Hieronder vindt men vele *kleurstofvormende* soorten: S. alba; S. lutea; S. erythroxoma; S. aurantiaca; S. viridis flavescens; S. rubra; S. pulmonum (VIRCHOW).

II. *Bewegelijkheid.*

Geen eigen beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.*

Entingsmateriaal v. FALKENHEIM: van het bezinksel van maaginhoud een druppel op een voorwerpglaasje brengen, *met den microscoop* een sarcina-rijk plekje opzoeken en hiervan met een naald overbrengen.

Op gelatine-platen, na 36—48 uur: ronde, eenigszins verheven, geelachtige kolonies (FALKENHEIM) [4]).

In Bouillon.

De bouillon blijft meestal helder; er ontstaat een neerslag. Bij microsc. onderzoek vindt men in bouillonculturen vaak: typische cubi.

---

[1]) De Sarcine door DR. W. F. R. SURINGAR, Leeuwarden 1865, en GOODSIR, Edinb. med. and surg. Journal 1842.

[2]) FREUND in Baumgartens Jahresbericht 1894, pag. 608.

[3]) FLÜGGE. Die Mikro-organismen, 1896, pag. 184.

[4]) DR. H. FALKENHEIM. Ueber Sarcine Archiv. f. Exper. pathol. u. pharmakologie. Bd. 19, 1885, pg. 339.

Op andere voedingsbodems. **Geneutral. Hooi-infuus:** *plus 2* % **riet- of druivesuiker.** (FALKENHEIM). Aan de oppervlakte vormt zich, na 2 dagen een vliesje, dat uit kleine, **bruinachtige schubjes** bestaat en er ontstaat een bruinachtig gekleurd, vlokkig bezinksel.

Bij microsc. onderzoek: *typische cubi!*

Bloedserum: Kleine, ronde, een weinig verheven, lichtgele kolonies.

IV. *Verhouding tot lucht.* Facultief anaëroob. (Volgens PFEFFER kunnen S. lutea en S. rosea zuurstof in zich ophoopen en deze in een zuurstof-vrije omgeving weder afgeven. [1])

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij gewone kamert. als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

De gelatine wordt o. a. vervloeid door: S. viridis flavescens; S. aurantiaca en S. rubra; niet vloeibaar gemaakt door: S. alba; S. lutea; S. erythroxoma; S. pulmonum.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": positief.

Kleuren met waterige methyleenblauwopl. of verdunde fuchsineopl.; waken tegen *overkleuring*, om de afzonderlijke celgrenzen duidelijk te kunnen zien.

Ook ongekleurd bezichtigen in den hangenden druppel.

VIII. *Pathogeniteit.* Kan volgens EHRET [2]) gisting van maaginhoud veroorzaken; virulent wordt Sarcina alleen onder bepaalde, praedisponeerende omstandigheden, — 1. bij motorische insufficientie in belangrijken graad, 2. door symbiose met spruitzwammen.

In gistenden maaginhoud met **veel sarcina** en niet meer spruitzwammen en bacteriën dan gewoonlijk voorkomt, vindt soms **meer gasvorming** plaats, dan wanneer alleen spruitzwammen, ook al zijn deze nog zoo talrijk, aanwezig zijn.

Dat de gisting hier inderdaad van Sarcina afhankelijk is, leidt EHRET verder af uit het feit, dat het verminderen en ophouden der gisting samengaat met veranderingen in den groei dezer organismen.

---

[1]) Zie PFEFFER: Jahresbericht u. d. Fortschritte v. d. Gährungsorganismen, 1896, pg. 51.

[2]) DR. H. EHRET. Ueber das Verhältnis der Sarcinen zu den Magengärungen Mitteilungen aus den Grenzgebieten der Medizin u. Chirurgie. Bd. II. 1897.

Bacillus subtilis. (Ehrenberg).

Hooi-bacil.

I. *Vorm en sporenvorming.*

Recht staafje met afgeronde uiteinden, ongev. even lang als de miltvuur-bacil, gem. 5—6 micron, maar dunner („subtilis" = dun). Bezit vele trilharen (zie bac. mesentericus).

Polymorph, zijn dikwijls tot schijndraden vereenigd; in culturen,— bijv. het vlies op gelatine-steekculturen, liggen zij in groepen te midden van een slijmerige massa: *zoogloea* (de voedingsbodem is van invloed op den vorm. H Büchner.).

Vormt endogene, middelstandige of eindstandige *sporen* (verschil van endogene sporen met *arthrosporen*, d. z. sporen, die uit een geleding van een bacteriëndraad zijn afgesplitst

De *sporen* zijn opvallend groote, glinsterende, eivormige lichaampjes met een dikken celwand; zeer talrijk vindt men ze in oude culturen.

Onder daartoe gunstige voorwaarden kunnen zij tot een nieuw staafje ontkiemen: aan den aequator komt aan één zijde een scheur in de spore-membraan, waaruit, loodrecht op de lengteas der spore, het jonge staafje groeit.

Het *ontkiemen van sporen* kan op 3 wijzen geschieden: 1. de spore verliest haar glans, zwelt meer en meer op en bereikt eindelijk de grootte van het vegatieve bacterielichaam, dat zich verder door deeling vermenigvuldigt, terwijl onder bepaalde omstandigheden weder sporenvorming optreedt, bijv. bij *bac. anthracis*, 2. de spore verliest haar glans, wordt grooter en haar *inhoud* verandert in een staafje, dat een eigen, dunne membraan krijgt: de spore differentieert zich dus in een endosporium en een exosporium; in een volgend stadium neemt men waar, dat de spore-membraan *aan een der polen* gescheurd en daaruit een staafje is uitgetreden; de membraan blijft vaak nog eenigen tijd als een mutsje op de jonge bacterie zitten, maar verdwijnt ten slotte; 3. als 2, behalve dat de spore-membraan aan den aequator inscheurt.

De sporen bieden een **grooten weerstand aan hooge temperaturen** (Tyndall), (zie bac. mesentiricus).

(Noodzakelijkheid van de *gefractionneerde sterilisatie*, het kiemvrij maken der voedingsbodems door deze drie dagen achtereen, telkens gedurende 1/4 u.—20 min. te brengen in stroomenden waterdamp onder hoogere spanning, bij 115—120° C.)

II. *Bewegelijkheid.*

Onderzoek in den hangenden droppel.

Eigenaardige, „schommelende" eigene beweging: *slingerbeweging*, (bac. anthracis is *niet* bewegelijk; bac. oedematis maligni vertoont eigen beweging.)

III. *Groei op voedingsgelatine.*

In streepcultuur.

In steekcultuur.

Vervloeiïng langs het steekkanaal: aan de oppervlakte vormt zich een droog, schubbig, wit vlies, als *„kaamsel"* (zoogloea-vorming); de

vervloeide gelatine is eerst troebel, maar wordt daarna helder, terwijl onder in het steekanaal een neerslag van witte vlokjes ontstaat.

Op platen. Kleine, witte, puntvormige kolonies, die naar alle richtingen even sterk voortgroeien en dus een zuiver ronden omtrek behouden.

Later worden ze schotelvormig en vindt men de oorspronkelijke cultuur als: *a.* een wit puntje in het ingezonken centrum, *b.* daaromheen een grijswitte zone en eindelijk *c.* een scherp begrensden witten rand, die de door de cultuur vervloeide gelatine van de nog vaste scheidt.

Typisch is het *microscopische beeld der gelatine-plaatcultuur* [1]): Bij zwakke vergrooting ziet men in het midden een grijsgele kern, waaromheen een ring, uit een vlechtwerk van schijndraden en bewegelijke staafjes samengesteld, en eindelijk een **stralenkrans-vormige rand**, waarvan de het meest naar buiten gelegen bacillen, *„als een rij lansen"*, loodrecht op de nog vaste gelatinelaag gericht zijn. (C. Fraenkel).

Op voedingsagar.

In streepcultuur. Wit, gemakkelijk loslatend beslag met regelmatige *„plooien"*, (zie de aardappelcultuur van *bac mesentericus)* als de tot een lint vereenigde geledingen van een taenia.

In bouillon. Aan de oppervlakte vormt zich een wit, geplooid vlies, als *„kaamsel"*.

Op aardappelen. Welige groei, wit (soms wijnkleurig), roomachtig beslag.

Op andere voedingsbodems. Op **bloedserum**: wit, geplooid vlies; het serum wordt vervloeid.

IV. *Verhouding tot lucht.* **Aëroob.** (bac. mesentericus is ook streng aëroob; bac. anthracis voornl. aëroob; bac. oedematis maligni: anaëroob); op de **gretigheid waarmede bac. subtilis zuurstof absorbeert**, is o. a. de raad van Liborius gebaseerd om voor de cultuur van anaërobe bacteriën bac. subtilis mede in den voedinsbodem te enten. [2])

V. *Temperatuur.* Minimum 10° C.; optimum 30° C.; maximum 45° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng. (bac. anthracis ook).

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* *„Gram"*: positief.

VIII. *Pathogeniteit.* Niet pathogeen.

---

[1]) C. Fraenkel. Grundriss d. Bakterienkunde. Berlin 1890.

[2]) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 1. 1886.

Mucor Mucedo.

I. *Vorm en sporenvorming.*

Mucor Mucedo (de knop- of vruchten-schimmel) is een zeer verbreide schimmelsoort, die o. a. op brood, aardappelen, vooral ook op paardemest gevonden wordt. (Mucor = schimmel; mucedo = id.) *1)

Bestaat uit een „*boomachtig*" vertakt mycelium, waaruit sporangiëndragers groeien.

Kenmerkend is, dat, tot aan het intreden der sporangiënvorming, het **mycelium ééncellig** is, nergens tusschenschotten vertoont (verschil met Penicillium glaucum.)

De *sporangiëndragers* groeien loodrecht uit het mycelium naar boven, zijn ééncellig en niet vertakt, worden in het licht 2—3 c.M., in het donker 10 c.M. lang *2), zijn meestal dikker dan de takken van het mycelium.

Aan het bovenste einde van den sporangiëndrager vormt zich een geelbruin of zwart, kogelrond, vaak reeds met het bloote oog zichtbaar lichaampje — *het sporangium (sporenhulsel)*, van den drager gescheiden door een tusschenschot, dat zich in het sporangium instulpt tot een zuilvormig lichaampje, — de *columella.*

Elk sporangium bevat in rijpen toestand een groot aantal ovale *sporen* (dit zijn endosporen; conidiën = exosporen.)

Steeds vindt men aan de oppervlakte der sporangiën — dicht op elkander staande kristalnaaldjes van oxalas calcis.

Uit de sporen, die door het barsten van het sporangium naar buiten treden, ontwikkelt zich een nieuw mycelium.

De *voortplanting* geschiedt voorts 1° door de vorming van *juksporen* (zygosporen): twee naast elkander gelegen myceliumdraden zenden zijdelings een takje uit, dat aan het einde een knotsvormige verdikking krijgt, door een tusschenschot van het verdere takje gescheiden; de takjes groeien zóó lang voort, tot zij elkander aanraken, terwijl de inhouden van beide einden samensmelten.

2°) Door de vorming van *Chlamydosporen* of *Gemmen.*

(In een draad ziet men een of meer naast elkaar gelegen, meestal eivormige lichaampjes, met een dikkeren wand, door tusschenschotten van het overige gedeelte der draad gescheiden, — chlamydo- of mantelsporen; zij zijn de onontwikkelde aanleg van een sporangiën-drager, waaruit, bij andere levenscondities, een sporangiën-drager met sporangium kan groeien.)

Andere Mucorineën: Mucor corymbifer; M. rhizopodiformis; M. racemosus; M. stolonifer.

---

*1) Zie Oudemans: Révision des Champignons enz. Amsterdam 1897.

*2) Hugo de Vries. Leerboek der plantenphysiologie 1885, blz. 238.

II. *Groei.* Op *gesteril. brood*: vormt zich een op „watten" gelijkende schimmelzode.

III. *Temperatuur.* Groeit goed bij gewone kamert.; niet bij 37° C. (onderscheid met pathogene schimmels.)

IV. *Microscopisch onderzoek.* Zie: Bijlagen.

V. *Pathogeniteit.* Schijnt voor den *mensch* niet pathogeen te zijn. (Mucor corymbifer en M. rhizopodiformis zijn, o. a. voor konijnen, pathogeen.)

Oïdium lactis.

I. *Vorm en conidiën vorming.* Oïdium lactis (melk-, ei- of lidschimmel) is een zeer verbreide schimmelsoort, die vooral in zure melk en boter voorkomt.

Bestaat uit een mycelium van rechte, of eenigszins gebogen, lange draden, die vorksgewijs vertakt zijn.

Voorts vindt men ronde, eivormig-ovale, peervormige, meestal echter cylindervormige lichaampjes, *conidiën* of exosporen (grooter dan de conidiën van Penicillium glaucum en de sporen van Mucor Mucedo.)

De conidiën worden, na elkaar, aan den top van een hyphe afgesnoerd, zoodat de onderste van een keten de jongste is.

Sporangiën zijn niet gevonden.

II. *Groei op verschillende voedingsbodems.* Vormt op gesteril. broodschijfjes, aardappel, koolraap e. a. voedingsbodems: witte of gele schimmelculturen.

III. *Temperatuur.* Groeit goed bij gewone kamertemp.

IV. *Microscopisch onderzoek.* Afdrukpraeparaat (Klatsch of contact-praeparaat): een dekglaasje even in aanraking brengen met boven melk drijvende cultuur van Oïdium lactis. In een droppel verdunde glycerine (33 %) bezichtigen.

Zie ook: Bijlagen.

V. *Pathogeniteit.* Niet pathogeen. (Zie: Oïdium albicans.)

Penicillium glaucum (crustaceum).

I. *Vorm en conidiënvorming.* Penicillium glaucum (de groene penseelschimmel) is een zeer verbreide schimmelsoort, die o. a. als een groen beslag op zure vruchten voorkomt; vormt soms op ingemaakte vruchten en inkt: dikke, lederachtige vliezen.

Bestaat uit een mycelium, waarvan de draden gekenmerkt zijn door vele tusschenschotten (de draden van het mycelium van Mucor Mucedo hebben geen tusschenschotten.)

Van dit mycelium stijgen de *conidiëndragers* op: deze zijn eveneens voorzien van vele septa; aan hun uiteinde vertakken zij zich penseelvormig (kenmerk tegenover Aspergillus en Mucor.)

De zijtakken verdeelen zich in dunne spits-toeloopende, fleschvormige cellen, sterigmata. Aan de toppen der sterigmata worden de conidiën afgesnoerd.

De *conidiën* (Exosporen) zijn rond, glad, „blauwgroen" van kleur en vormen rozenkransvormige ketens.

Zelden ontstaan in het substraat kleine pseudoparenchymatische lichaampjes — sclerotiën; — hierin ontwikkelen zich, uit een gedraaide hyphe, sporebuizen (asci), waarin 8 sporen gevormd worden. Ten slotte wordt op deze wijze het geheele *perithecium* met *sporen* gevuld.

II. *Groei op verschillende voedingsbodems.* Vormt op gesteril schijfjes brood, aardappel, koolraap e. a. voedingsbodems aanvankelijk witte culturen, die, als zich conidiën vormen, (het eerst in het midden) groen worden.

III. *Temperatuur.* Groeit bij kamert.; niet bij 37° C.

IV. *Microscopisch onderzoek.* Droog op het voorwerpglas brengen, een droppel alcohol, laten drogen en eindelijk in water onderzoeken.

Zie: Bijlagen.

V. *Pathogeniteit.* Niet pathogeen.

Aspergillus fumigatus. *1)

I. *Vorm en conidiënvorming.*

Aspergillus fumigatus (rookkleurige kwastschimmel), — een zeer verbreide schimmelsoort, die o. a. op tarwe, rogge, gierst, mais, meel, tuinaarde, vooral brood gevonden is. (Aspergillum = de wijkwast.)

Bestaat uit een mycelium van draden met tusschenschotten, waaruit rechte, *niet vertakte* draden, — conidiëndragers, opstijgen; deze zijn aan den top kolfvormig verdikt. Op dit verdikte uiteinde staan, *„straalsgewijze"*, — korte, fleschvormige of kegelvormige cellen, de sterigmata; hiervan snoeren zich in rijen opeengestapelde conidiën af.

Uit de conidiën kan een nieuw mycelium ontstaan.

Aspergillussoorten: I niet-pathogene (A. glaucus en A. niger); II pathogene (A. flavescens en A. *fumigatus*)

Aspergillus fumigatus heeft dunner myceliumdraden, korter conidiëndragers en kleiner conidiën dan A. glaucus.

II. *Cultuur.*

Groeit bij voorkeur op **zure** voedingsbodems, op pruimen-afkooksel, broodpap enz.

III. *Groei op voedingsgelatine.*

Op gelatine, langzame groei (invloed der kweek-temperatuur.)

Op voedings-agar.

Bij 37° C., ontstaat reeds den 2^den^ dag een witte cultuur, die later blauwgroen, eindelijk bruin- of „asch-grijs" van kleur wordt.

In bouillon.

Er ontstaan myceliumvlokjes in de bouillon, die *helder* blijft.

Op aardappelen.

Bij 37° C., snelle groei; in weinige dagen vormt zich een dikke cultuur, die eene donkergroene kleur aanneemt.

In **vloeistof van Raulin**, *d. i. een vloeistof, van zure reactie, die geen eiwitstoffen bevat, uit water, kandijsuiker en een aantal zouten is samengesteld.*

In *vloeistof van Raulin* (de klassieke voedingsbodem voor Aspergillus niger) welige groei; reeds na ongev. 15 uur ontwikkelen zich talrijke vlokjes.

IV. *Verhouding tot lucht.*

Aëroob.

---

*1) Zie o. a. Lichtheim. Berl. Klin. W. 1882, No. 9 en 10.

V. *Temperatuur.* Optimum 37° C. (verschil met de *niet*-pathogene Aspergillus glaucus.)

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng (in geringe mate.)

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": positief.

VIII. *Pathogeniteit.*[*1]) Bij *vogels* (duiven o. a.) wordt de schimmel op het *mondslijmvlies* aangetroffen, waar een ulcus ontstaat; voorts op de mucosa der luchtwegen en veroorzaakt zij een pneumonie; in de alveolen vindt men dan een kaasachtig exsudaat, met schimmel bedekt, die, waar het tot conidiënvorming gekomen is, een *grijsbruin beslag* vormt.

Bij den *mensch* zijn ook gevallen van *pneumonomycosis arpergillina* waargenomen en wel bij duivenfokkers, die de duiven met den mond voerden (*gaveurs de pigeons.*)

De *duif* (ook ganzen en kleine vogels, o. a. de musch) kan men infecteeren door haar stof van gedroogde conidiënhoudende schimmelcultuur te laten inademen, — inhalatie-infectie [de duif gedurende 10—20 min. opsluiten in een kleine kooi, waarin men een oude cultuur (op brood) uitklopt.] Na 3—5 dagen sterft het dier; bij de obductie vindt men een „pneumonomycosis aspergillina": de longen zijn gedeeltelijk gehepatiseerd, het parenchym met schimmeldraden doorwoekerd.

Intraveneuse injectie van 1 c.M³. eener cultuur in vloeistof van Raulin in de vena axillaris doodt de duif na ongev. 15 dagen; bij de obductie vindt men in verschillende organen, long en milt, maar vooral in lever en nieren tal van grijswitte, miliaire knobbeltjes, die bij microsc. onderzoek een kluwen van myceliumdraden blijken te bevatten: *pseudo-tuberculosis.* Fructificatie-organen worden niet aangetroffen en het aantal ziektehaarden is evenredig met de hoeveelheid sporen, die men heeft geïnjicieerd.

Vatbaar voor infectie zijn voorts — ganzen en eenden, het konijn, de aap; paarden (zelden) en runderen.

Katten schijnen immuun te zijn; Rivolta heeft één geval bij een hond waargenomen.[*2])

[*1]) Zie o. a. Kitt. Bakteriënkunde, 1899.

[*2]) Rivolta, Giorn. di anat. fysiol. e. pat. degli animali. 1885, pag. 127.

Oïdium albicans (Robin.)

Saccharomyces albicans (Audry).*[1])

I. *Vorm.*

Een schimmel, die voorkomt bij **spruw** (*stomato-mycosis oïdica*) in de melkwitte, kaasachtige vlekken op het mondslijmvlies (bij zuigelingen, zuigkalveren en kippen), verder op het slijmvlies van den oesophagus, bij uitzondering op het maagslijmvlies, — soms op de epiglottis, de ware stembanden, in broncho-pneumonische haarden, — voorts op de vaginaalwanden, kolpitis s. Mycosis vaginae, vooral bij zwangeren (Treub-Leerb. der Gynaecologie.)

Polymorph.

In het exsudaat, dat, behalve de parasiet, voornl. plaatepitheelcellen, leucocyten en meestal ook de leptothrix buccalis bevat, bestaat zij uit:

1.) een mycelium van lange, vertakte *draden*, met tusschenschotten, of als uit cellen samengesteld.

2.) talrijke ronde of *ei*vormige *cellen*, gelegen tusschen en aan de uiteinden van draden.

In culturen treft men zeer uiteenloopende vormen aan; 2 hoofdvormen:

a. draad-vormen, die bijna uitsluitend uit myceliumdraden bestaan met weinig of geen cellen;

b. op gistcellen gelijkende vormen.

Volgens Grawitz is de parasiet een gist- of spruitzwam, die, onder bepaalde voedingscondities, draden (hyphen) vormt.

Volgens H. C. Plaut is zij identisch met Monilia Candida, een zeer verbreide saprophytische spruitzwam.

II. *Cultuur.*

Groeit zoowel op **zure**, als op neutrale of zwak alkalische voedingsbodems (Audry)!

De uitzaaiïng geschiedt als volgt: een klein stukje van het kaasachtige exsudaat wordt in steriel water verdeeld en met één druppel van dit water een plaatcultuur gemaakt.

III. *Groei.*

Op voedingsgelatine.

In steekculturen.

Typische gelatine-steekcultuur. Witte, of geelachtig-witte kolonies met vertakte, „straalswijze" in de gelatine dringende uitloopers.*[2])

---

*[1]) Audry. Revue de médecine. 1887.

*[2]) A. Baginsky. Über Soorculturen. Deutsche med. W. 1885. S. 866.

Op platen. Ronde, witte kolonies die meestal klein blijven.

Op voedingsagar. Bij 37° C. sneller groei dan op gelatine (invloed van de temperatuur!); witte cultuur.

Op aardappel. Dik, wit beslag.

Op peen. Op stukken gesteriliseerde wortel, in buisjes van Roux, ontwikkelt zich na ongev. 2 dagen: een welige, *helderwitte* cultuur.

In bouillon, gesteril. wijn, **vloeistof van Naegeli.** Witte pluisjes, op den bodem van het cultuurbuisje, terwijl de vloeistof helder blijft.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob.

V. *Temperatuur.* Optimum: 37° C. (Levy-Klemperer.)

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

VII. *Microscopisch onderzoek.* Dekglaspraeparaat van materiaal, verkregen door een stukje gester. spons langs het mondslijmvlies te strijken.

„Gram": positief.

Kleuring der weefseldoorsneden: met Carbolthionin (Th. Kitt).

Zie: Bijlagen.

VIII. *Inentingsproeven.* *Jonge duif.*

Door herhaalde penseeling van het keelslijmvlies met reinculturen en inbrengen daarvan in den opengesneden krop zijn positieve infectie-resultaten verkregen.

Oudere duiven en kippen bieden dikwijls weerstand aan de infectie.

Konijn.

Injectie van cultuur in de randvena van het oor kan **algemeene mycosis** en den dood veroorzaken. *[1])

Bij hooge uitzondering is ook bij den *mensch* een metastatische verspreiding van de schimmel waargenomen en vond men haar o. a. in de lever, de milt en de nieren.

---

*[1]) Zie: Levy u. Klemperer. Grundriss der Klin. Bakt. 1898. S. 360.

Saccharomyceles. *[1])

Spruit-, knop-, of gistzwammen.

I. *Vorm.* Ronde of ovale cellen, zonder bladgroen, met een dunnen wand, een korreligen inhoud, (met celvocht gevulde) vacuolen, olie-druppels en waarin glycogeen is aan te toonen.

Vermenigvuldiging, — 1.) door **knopvorming**: aan een moedercel ontstaan één of meer knopvormige uitstulpingen of spruiten, die tot nieuwe cellen (dochtercellen) aangroeien. De dochtercellen kunnen zich door afsnoering geheel vrij maken, of blijven met de moedercellen samenhangen, vormen uitstulpingen, zoodat *„vertakte groepen van gistcellen"* ontstaan; 2.) door **endogene sporenvorming**: de cellen veranderen in sporeblazen, waarin 4 of 8 sporen worden voortgebracht.

Eenige spruitzwammen kunnen, onder bepaalde voedingscondities, myceliumdraden vormen.

Verschillende gist-soorten en rassen: S. *cerevisiae*, — biergist; S. *ellipsoideus*, — wijngist; S. *Pastorianus*, — in bedorven, bitter bier; S. *mycoderma*, — de zoog. »kim" aan de oppervlakte van verschalenden wijn, azijn en op ingelegde augurken.

Chromogene soorten: *Rosa-gist* (S. rosaceus), S. *niger*, — zwarte gist. Het kleurstofvormend vermogen gaat bij kweeking op hooge temp. verloren.

II. *Cultuur.* Plaatculturen op *gelatine* + 5 % *glucose* + $\frac{1}{2}$ % *pepton*, of op *biermoutgelatine.*

III. *Microscopisch onderzoek.* Zie: Bijlagen.

IV. *Pathogeniteit.* Veroorzaken gisting, kunnen koolhydraten omzetten in alcohol, koolzuur e. a. ontledingsproducten en bij toediening per os, maagdarmcatarrh teweegbrengen.

De meeste spruitzwammen zijn bij subcutane injectie voor dieren onschadelijk.

Pathogeen is de S. **farciminosus**, *[2]) de oorzaak van de **Lymphangitis farcinoides** van het paard en het rund, **„pseudo-droes"**.

---

*[1]) Zie: Leerb. d. Plantkunde d. OUDEMANS en DE VRIES. 1896.

*[2]) Zie: KITT. Bakteriënkunde. 1899. S. 377.

Achorion favosa (Schoenlein.) *1)

I. *Vormen conidiënvorming.*

Een draadschimmel (hyphomyceet), constant voorkomende bij **favus**. Vele variëteiten (Quincke, Neebe, Unna).

Het *mycelium* bestaat uit breede, niet recht doorloopende, maar eenigermate gebogen draden die uit langwerpige leden bestaan (in *jonge* culturen vindt men gewoonlijk *geen* septa). De draden zijn enkelvoudig, of vorksgewijs vertakt; eenige vertoonen knopvormig opgezwollen uiteinden, andere loopen in een conidiënketen uit.

Een eigenaardige vertakking van myceliumdraden vindt men in de favuskorsten: een draad verdeelt zich aan den top in 3—4 takken, die gerangschikt zijn, als de middenvoetsbeenderen ten opzichte van den voetwortel, „*tarse favique*".

De *conidiën* zijn verschillend in grootte en vorm, rond, ovaal of hoekig; men kan daaraan een membraan en een korrelige inhoud onderscheiden. Zij zijn tot ketens vereenigd, en liggen ook onregelmatig verdeeld tusschen de draden.

In culturen heeft Kral, zoowel aan de uiteinden van draden als zijdelings daarvan, eigenaardige lichaampjes waargenomen, — uitwasjes, waaruit, wanneer zij openbarsten, gele korrels te voorschijn treden.

De schimmel woekert in de opperhuid, soms in de oppervlakkige lagen der lederhuid, dringt slechts bij uitzondering in het onderhuidsche bindweefsel; groeit voorts in de haarwortelscheeden en in het haar (zoowel *intra-* als *extra*-folliculair.)

In de follikelopeningen ontwikkelen zich de, centraal door een haar doorboorde, *favus-lichaampjes*, d. z. droge korsten van een zwavelgele of vuilbruine kleur, met een convexe ondervlakte en een schotel- of napvormige bovenvlakte. Zij worden ook *scutula*, *schoteltjes* of *schildjes* genoemd en bevatten epidermiscellen, leukocyten, myceliumdraden, conidiën, — voorts bacteriën en coccen.

II. *Cultuur.*

Methode van Kral. Brokjes van een geïsoleerd, typisch scutulum, — of een favushaar, in een gesterili. mortier langdurig wrijven met het versch gegloeide (steriele) en indifferente poeder van *amorph kiezelzuur* (acid. silic. praec.) Hierdoor worden korstjes en haren, — met parasieten, zeer fijn verdeeld (zonder, dat, zooals dit bij proeven met glaspoeder gebleken is, een groot aantal schimmelsporen door de scherpe kanten van het poeder vernietigd worden.)

---

*1) Zie Archiv f. Dermatologie u. Syphilis. Bd. 37. 1891. F. Kral. Untersn. über Favus.

Met den platinadraad neemt men een oog vol van dit poedermengsel en brengt het in een buisje met, vóóraf op het waterbad gesmolten en bij 42° C. vloeibaar gehouden agar.

Hiervan worden nog 2—3 verdunningen gemaakt en platen gegoten.

Van de opgekomen kolonies worden die van Achorion favosa afzonderlijk op gunstige voedingsbodems (*glycerine-bouillon* of *glycerine-agar*) overgeënt.

III. *Groei.*

Volgens Duclaux en Verujski is een zure voedingsbodem ongunstig voor de ontwikkeling van Achorion Schoenleinii.

Gunstig zijn voedingsbodems, die **veel pepton** bevatten.

De culturen, verkregen op de meeste vaste voedingsbodems, vormen, als zij (gedurende 3—4 dagen in den exsiccator) gedroogd zijn, een *mortelachtige, brokkelige, gele* massa, die macro- en microscopische overeenkomst met een favus-scutulum vertoonen (Kral).

Op voedingsgelatine.
(+ 10 % *pepton.*)

In steekcultuur.

Langzame groei; aan de oppervlakte ontstaat een witte schimmelcultuur, met slechts korte, mosachtige uitloopertjes aan de ondervlakte; in de naaste omgeving wordt de gelatine, pas na ongev. een maand, wat verweekt en „*chroomgeel*" van kleur.

Op platen.

(in de zoog. *doozen van* Kral).

Na 48 uur zijn kolonies van ± 0,5—0,75 m.M. middellijn waar te nemen; na 14 dagen is de diameter gem. 2—2,5 m.M., — de kolonies zijn dan onregelmatig van vorm, grijsgeel van kleur en liggen niet op, maar in de gelatine.

Pas na 3—4 weken beginnen zij zich meer naar de oppervlakte te ontwikkelen en vormen zij langzamerhand: boven het niveau der gelatine uitstekende, grijsgele schimmel-culturen, nagenoeg zonder luchtmycelium. Dan ook eerst begint de gelatine te verweeken en krijgt zij een gele kleur.

Op voedings-agar.
(+ 2 % *pepton.*)

2 % **Pepton-Agar** is een gunstige voedingsbodem.

In streepcultuur.

Bij 37° C., snelle en welige groei: schimmelvegetatie met bizonder duidelijke, karakteristieke, „*mosachtige uitloopertjes*".

Op platen. Bij 37° C., snelle groei: ontwikkeling van grijsgele kolonies, vooral in de diepere lagen der agar, met lange „*mosachtige uitloopertjes*" aan den omtrek.

In bouillon. (+ *pepton.*) Bij 37° C. ontwikkelt zich langzamerhand een, door mosachtige uitloopertjes begrensde, cultuur; er ontstaan geen luchthyphen aan de oppervlakte. De bouillon blijft helder.

Op aardappelen. Bij gewone kamertemp. slechts spaarzame groei; ontwikkelt zich daarentegen goed bij 37° C.: hooge grijsgeelachtige culturen, met nauwelijks zichtbaar luchtmycelium.

Op andere voedingsbodems. *Beetwortel*: bij 37° C., cultuur als op aardappelen, maar weliger.
Melk: bij 37° C., eerst sneeuwwitte, later „mais-geel" gekleurde schimmel-vegetatie.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob.

V. *Temperatuur.* Optimum: 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng; wel verweeking na ongev. 30 dagen.

VII. *Microscopisch onderzoek.* Zie: Bijlagen.

VIII. *Inoculatieproeven.* Inentingen bij den *mensch* hebben niet altijd positieve resultaten opgeleverd; echter moet in aanmerking genomen worden, dat, zooals de klinische ervaring leert, eene bizondere persoonlijke voorbeschiktheid voor het ontstaan van parasitaire huidziekten noodig schijnt te zijn.

Bij *muizen* komt een op favus gelijkende dermatomycose voor, waarvan de schimmel volgens Boer identisch is met die van den mensch; met goed gevolg is zij op de muis overgebracht door de schimmelbevattende huidschubjes te brengen op de (met een mesje opengekrabte) epidermis der hoofdhuid — Flügge en Nicolaier.

Verschillende inentingsmethoden:

1.) met een getand pincet een weinig van de cultuur nemen en dit

zoo sterk mogelijk in een huidplooi persen; de geïnoculeerde plaats bedekken met een in sparadrap gevat horlogeglas. *[1])

2.) Methode van UNNA: *[2]) De huid van den linker voorarm zorgvuldig reinigen met zeep, water en alcohol, niet met sublimaat; hierop een sporenhoudende reincultuur zacht inwrijven, daarna met gesteriliseerd getahpercha-papier bedekken en dit met lijm bevestigen. Na 3—4 dagen wordt het verband afgenomen. Onder zoo'n verband wordt de huid vochtig gehouden en worden de cellen van de hoornlaag weeker, hetgeen den groei van de parasiet bevordert.

---

*[1]) Dr. A. W. NIEUWENHUIS. Tinea imbricata (Manson). Geneesk. t. v. Ned. Indië. Dl. 38. 1898.
*[2]) Monatshefte f. prakt Dermatologie. Bd. 10. S. 465.

Microsporon furfur. (Eichstedt.) *1)

I. *Vorm en conidiënvorming.*

Een draadschimmel (hyphomyceet), die constant aangetroffen wordt in de geelachtige, „café au lait"-kleurige, schilferige huidvlekjes bij **Pityriasis versicolor.** In de huidschubjes bestaat zij uit een mycelium en zeer talrijke conidiën.

De *myceliumdraden* zijn gewoonlijk **kort,** eenigszins gebogen en weinig vertakt.

De *conidiën* zijn van verschillende grootte en vorm.

Kenmerkend is, dat zij (in de huidschubjes) gegroepeerd zijn in druiventrosvormige hoopjes of nesten.

In culturen worden de conidiën vaak in rijen gevonden.

De parasiet woekert in de oppervlakkigste lagen der huid, n.l. in het stratum corneum, nooit in de haren. (onder de schimmelwoekering gaat pigment in het rete Malpighi verloren.)*2)

II. *Cultuur.*

Van een aangetast huidplekje, met een spatel, schilfers afkrabben en deze volgens de methode van Král behandelen. (Zie: Achorion favosa.) Plaatculturen in zoog. doozen van Král.

III. *Groei.*

Op voedingsgelatine.

Zeer langzame groei op gelatine.

In steekcultuur.

Rondom de entplaats vormt zich na eenige dagen een zeer dun, witachtig vliesje; in de diepere lagen der gelatine ontstaan pas na een week enkele puntvormige kolonies, van onregelmatigen vorm.

Op voedingsagar.

Groeit slecht op gewone agar.

In streepcultuur.

Na 48 uur ontstaan kleine, ronde kolonies, of een samenhangend grijs- of geel-wit vliesje. Veel later vertoonen de kolonies een donker centrum, een lichte hof en „*mosachtige uitloopers*" aan de randen.

In Bouillon.

Langzame groei. De bouillon blijft helder; op den bodem van het cultuurbuisje ontwikkelt zich een vlokkige cultuur.

---

*1) Zie: Archiv. f. Dermat. u. Syphilis. Bd. 37. Spietschka. Untersn. u. d. Mikrosporon furfur.

*2) Jaarverslag v. h. Laboratorium voor Path. Anatomie en Bacteriologie te Weltevreden. 1890.

Op aardappel. Langzame groei.

Op andere voedingsbodems. *Melk*: zeer langzame groei, na 3 maanden is meestal slechts een nauwelijks speldeknopgroot vlokje ontstaan.

Urine-agar (1 : 10); Glycerine-pepton-agar; Glycerine-suiker-agar zijn de **beste voedingsbodems**: dikwijls zijn reeds na 24 uur kleine, puntvormige kolonies zichtbaar, die na 8—10 weken ongev. een middellijn van 6—8 m.M. hebben. In het midden van zoo'n kolonie ziet men een of meer witte puntjes, die, bij doorvallend licht, levendig bruin van kleur zijn; daaromheen — een dunnere hof, dofwit, respectievelijk licht-bruin van kleur en eindelijk, aan de randen, — straalsgewijze verloopende fijne uitloopertjes, die er als mosloof uitzien, en eenigszins aan de *„arbor vitae der kleine hersenen"* doen denken.

Zweet-pepton-agar (1 : 10): is geen gunstige voedingsbodem.

Gecoäguleerd eiwit en gecoäguleerde eidojer zijn geschikte voedingsbodems.

Spietschka verkreeg op eiwit een plaatcultuur, waarbij de kolonies een prachtig bruin pigment geproduceerd hadden; de kleur geleek volkomen op die van Pityriasis Versicolor-vlekken.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob.

V. *Temperatuur.* ———————

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

VII. *Verhouding tegenover kleurstoffen.* Van de vlekken, met een spatel, schilfers afkrabben en op het objectglas in 5% kaliloog bezichtigen.

Culturen kleuren met Löffler's methyleenblauwopl.

VIII. *Pathogeniteit.* Het is Spietschka éénmaal gelukt door inwrijving van reinculturen van microsporon furfur bij den mensch een huidziekte te doen ontstaan, die bestond in de vorming van bruine, sterk schilferende vlekken, zonder ontstekingsverschijnselen. In deze schubjes werd de typische schimmel teruggevonden en reinculturen daarvan verkregen.

———————

Trichophyton tonsurans.

Botrytis trichophyton (Sabouraud.)

I. *Vorm.*

Een draadschimmel (hyphomyceet), die constant aangetroffen wordt bij klinisch verschillende dermatomycosen, samengevat onder den naam van „**trychophyties**".

Sabouraud[*1]) onderscheidde verschillende soorten. Twee hoofdtypen:

I. **Trichophyton macrosporon**, gekenmerkt door *groote* conidiën, — diameter van ± 7-8 micron, terwijl het *mycelium* tusschen de sporen *steeds zichtbaar* is.

Is vooral een **parasiet van de epidermis**, de oorzaak van *trichophytie der onbehaarde* (met lanugohaar bedekte) *huid.*

T. macrosporon kan echter ook de behaarde huid aantasten en, bij kinderen, trichophytia capitis veroorzaken, maar wordt hier minder dikwijls aangetroffen dan de T. microsporon en het huidlijden is dan ook meestal goedaardig.

De parasiet woekert slechts **in**, niet buiten om de haren: **endothrix**; de haren zijn niet-atrophisch en kort boven de follikelopening afgebroken.

De oorspronkelijk-**dierlijke** T. macrosporon is een (endo-)**ectotrix**;[*2]) heeft pyogene eigenschappen[*3]) en gewoonlijk worden *Kerion Celsi* (»Suppurating ringworm" van het behaarde hoofd bij kinderen), *Sycosis barbae* en *Perifolliculitis agminata* door deze trichophyton-soort veroorzaakt.

II. **Trichophyton microsporon**, gekenmerkt door *kleine* conidiën, — diameter van ongev. 3 micron; een *mycelium* is *niet zichtbaar.*

Is een **parasiet van het haar**, de oorzaak van de meeste en de hardnekkige gevallen van *Herpes tonsurans capillitii* bij kinderen.

T. microsporon tast waarschijnlijk nooit onbehaarde (met lanugohaar bedekte) plaatsen aan.

Men vindt de conidiën niet alleen in, maar ook talrijk **om** het haar: **ectothrix**; de haren zijn dun, atrophisch en op eenigen afstand boven de follikelopening afgebroken.

Volgens Sabouraud identisch met **Microsporon Audouini.**

---

*1) Sabouraud. Annales de dermatologie et de Syphiligraphie. Paris 1892. pg. 1061.

*2) Idem. Juli 1893.

*3) Sabouraud. Trichophyties à Dermite profonde. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893. pg. 497.

KRÁL*1) meent, dat de door SABOURAUD gescheiden soorten, variëteiten eener zelfde soort zijn.

Dezelfde schimmelsoort kon verschillende ziektevormen veroorzaken en uit klinisch gelijksoortige dermatosen konden verschillende schimmelvariëteiten gekweekt worden.

II. *Cultuur.*

Cultuur-methoden.

De aangetaste *huidplek* met alcohol wasschen en daarvan, met een curette, squamae afkrabben en deze brengen op een vooraf geflambeerd voorwerpglas; dit bedekken met een ander steriel voorwerpglas. Kleine stukjes uitzaaien op bijv. 4 buisjes, — gewoonlijk wordt dan op 1 of 2 daarvan een cultuur verkregen, die zuiver genoeg is om er andere buisjes van in te enten. [Wenschelijk is het, om *veel* (6—8) buisjes te nemen.] Kweeken bij een temp. van 18—20° C.: bij deze temp. wordt de groei van verontreinigende microben vertraagd.

Een (met een pas uitgegloeid pincet) geëpileerd *haar* wordt, op een steriel voorwerpglas, met een geflambeerde, lancetvormige naald in kleine stukjes gesneden; met een platinanaald brengt men een enkel stukje in een geschikten voedingsbodem.

Zie ook: Methode van KRÀL, bij Achorion favosa.

Voedingsbodems.

Bierwort (+ 2% suiker, — herhaalde malen steriliseeren op 125° C): is door SABOURAUD als voedingsbodem aanbevolen, omdat, hoewel trichophytonsoorten er langzaam in groeien, de meeste microben er in het geheel niet in groeien.

[*Bierwort* is een moutsuikerhoudende vloeistof, — infuus of decoct van mout en hop. *Mout*, is kunstmatig gekiemd graan (meestal gerst), waarbij de ontkieming vervolgens, (door drogen, of eesten) gestoord wordt; bij het kiemen van gerst ontstaat daarin een ferment, dat, ook na het drogen, de eigenschap bezit het zetmeel van het graan om te zetten in moutsuiker (maltose), — $C_{12} H_{22} O_{11} + H_2 O$ en dextrine.]

Is van wisselende samenstelling.

Maltose-pepton-agar. Maltose: 3.70 gr.; pepton: 0,75 gr.; water: 100 gr.; agar $1\frac{1}{2}$—2%.

Voor de cultuur van Tinea imbricata (MANSON)*2) hebben peptonhoudende voedingsbodems beter voldaan dan sterk suikerhoudende, nl.:

Pepton-manniet-agar, — 4% pepton; $\frac{1}{2}$% manniet; 2% agar.

---

*1) F. KRÁL. Ueber den Pleomorphismus pathogener Hyphomyceten. Archiv. f. Dermatologie u. Syphilis. 1894.

*2) Dr. A. W. NIEUWENHUIS. Tinea imbricata (MANSON). Geneesk. T. v. Ned. Indië. 1898.

Cultuureigenschappen van trichophyton macrosporon (SABOURAUD).

III. *Groei.*

Op voedingsgelatine. Geelwitte cultuur.

Op **bierwort-agar.** Pas op den avond van den 4^den^ dag, of op den 5^den^ dag ontstaat een donzig vlekje. Dit vlekje is sneeuwwit van kleur en doet zich dan reeds „als met meel bestrooid" voor.

Den 6^den^ dag is een dicht *lucht-mycelium* waar te nemen [het mycelium van t. microsporon vormt meer een (stervormig) *mycelium in de diepere lagen* van den voedingsbodem.]

Na 15—16 dagen is de geheele cultuur *„als met meel bestrooid"*, (volwassen cultuur.) Het stof, dat de kolonie bedekt, blijft nooit zuiver wit, maar wordt, na ongeveer 3 weken, *licht-bruin* van kleur (verschil met t. microsporon.)

Vaak ontstaat een bruin-gekleurde, knopvormige kolonie, n.l. een centrale navel, met een dikke ring daaromheen.

Na 3 weken vindt men straalvormige vertakkingen, die van de periferie der cultuur in den voedingsbodem dringen.

Op gewone pepton-agar. Donzige, later, (na ± 15 dagen) melige culturen. Dikwijls ontstaat een verkleuring van den voedingsbodem (rood, violet, rozerood of roodbruin).

In bierwort. Drijvende eilandjes, bruin van kleur, met een wit stof bedekt.

In bouillon. Als op bierwort, maar de kleur der culturen is niet zoo donker.

Op aardappelen. Bruine cultuur, met een rand van lichtbruin gekleurd stof; de aardappel zelf krijgt ook een bruine kleur.

Cultuur-eigenschappen van trychophyton microsporon (SABOURAUD.)

Evenals bij trichophyton macrosporon is pas op den avond van den 4^den^ dag met het bloote oog een cultuur te zien.

Op voedings-gelatine. Donzige, niet karakteristieke cultuur.

Op **bierwort-agar.** „In het begin" is haast *geen lucht-mycelium* waar te nemen (verschil met t. macrosporon). Den 6^den^ dag zijn, in de *diepere lagen* van den voedings-

bodem, rondom het uitgezaaide materiaal als centrum, naar alle richtingen mycelium-draden van gelijke lengte gegroeid, zoodat de kolonie zich zuiver rond voordoet en gelijkt op *„het zijdeachtige zaadje van den populier"*

Later worden de luchtdraden talrijker en langer. Na 3 weken ontstaat concentrisch om de oorspr. cultuur een tweede ring van luchtdraden, — van het centrale, donzige kuifje gescheiden door een bijna kale, circulaire ruimte.

Kenmerkend tegenover t. macrosporon is: dat de culturen *zuiver wit blijven* en *niet poederachtig* zijn.

Op gewone peptonagar. Ongeveer als op bierwort-agar.

In bierwort en in bouillon. Ronde kolonies in de vloeistof, die *niet bruin* van kleur zijn.

Op aardappelen. Langs den streep ontstaat een op gedroogd bloed gelijkende cultuur, waaruit witte luchtdraadjes groeien, die hier en daar als „tuiltjes" bijeenstaan.

Volgens Waelsch*) is in de eerste plaats het *watergehalte van den voedingsbodem* van invloed op den vorm der culturen: zoo werden op water-arme voedingsbodems gekleurde Culturen verkregen, die, op water-rijke media overgeënt, weder wit werden.

Een luchtmycelium nam hij pas waar, wanneer de voedingsbodem uitgeput begon te raken.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob.

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij gewone kamert., als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng (niet constant).

VII. *Microscopisch onderzoek.* Zie: Bijlagen.

---

*) Waelsch. Archiv. f. Dermatologie u Syphilis. Bd. 37. S. 3—35.

VIII *Pathogeniteit.* Behalve bij den mensch wordt T. tonsurans o. a. gevonden bij runderen, paarden, honden, katten, geiten, schapen en varkens.

Inentingsproeven op den mensch geven niet altijd positieve resultaten. Verschillende factoren zijn van invloed op het al of niet slagen daarvan: individuele praedispositie (reactie van het zweet), de techniek der inoculatie enz.; de ouderdom der cultuur schijnt echter volgens SABOURAUD van weinig beteekenis te zijn, — hij verkreeg positieve resultaten met een cultuur, die 3 maanden oud was.

Trichophyton macrosporon: *Mensch.* Na 4 dagen ontstaat op de plaats van inenting een verheven roode vlek, met „moeten", die eenigermate gelijken op de follikelopeningen van geëpileerde haren, — waarin de parasiet kan worden aangetoond. De vlek is na 10 dagen verdwenen, of, er ontstaat daaromheen een erythemateuse ring, die squameus wordt.

Trichophyton microsporon: Er ontstaat slechts een licht erytheem, met geringe desquamatie, — geen duidelijke ring.

Cavia. Niet constante resultaten; SABOURAUD verkreeg een huidlijden als bij Kinder-Herpes tonsurans, dat met haaruitval begon (na 8 dagen), drie weken duurde en spontaan verdween.

De *Muis* schijnt immuun te zijn voor alle trichophytonsoorten.

Inoculatiemethode van Sabouraud.

1.) De in te enten plaats rigoureus désinfecteeren (anders ontstaat er folliculitis en mislukt de enting.)

2.) Steekmethode toepassen; de gemaakte piqûre met een horlogeglas bedekken.

(Scarificaties zijn te ontraden, omdat de typische laesie daardoor onkenbaar gemaakt zou worden, het entingsmateriaal er slecht op gefixeerd wordt en licht buiten de gescarificeerde plaats geraakt.)

3.) Op verschillende tijdstippen van den dag de reactie van het zweet controleeren; bicarbonas natricus toedienen om een alkalisch reageerend zweet te verkrijgen.

Bacillus cholerae gallinarum (Perroncito; Pasteur.)

Bacterium avicidum (Kitt.)*[1])

I. *Vorm en sporenvorming.* Zeer kort (0,8—2 micron), ovaal staafje, — coccobacil (vertoont morphologische gelijkenis met den bacil der septicaemia haemorrhogica en met bac. rhusiopathiae suis, maar de laatste is *dunner*). Soms zijn de microben rond, als coccen, — jonge vormen, alleenstaande of paarsgewijs verbonden: *microbes en huit.*

Na kleuring, waarbij de uiteinden sterker getingeerd zijn dan het middenstuk, gelijkt de bacil eenigszins op den gonococcus.

Heim nam in het bloed van een, met culturen geïnfecteerde duif „kapselhoudende" bacteriën waar.

Vormt geen sporen.

Wordt gevonden in het bloed, de inw. organen (vooral in de milt) en in de faeces van kippen, die aan **kippencholera** (cholera gallinarum), of **vogel-septicaemie** lijden.

Verschijnselen van kippencholera: Men onderscheidt een peracute, acute en chronische vorm van kippencholera. In het eerste geval sterven de dieren binnen enkele uren (2—5) onder hevige krampen. Bij den acuten vorm zijn zij treurig, somnulent en hebben geen eetlust; de veeren staan overeind en de vleugels hangen. Het voornaamste verschijnsel is de diarrhee, waarbij eerst grijze en daarna bloederigschuimende faeces, gemengd met witte brokjes, ontlast worden. Kam en slijmvliezen zijn cyanotisch. De dood treedt in na 12—60 uren. Bij den chronischen vorm vermagert het dier snel en heeft aanhoudend diarrhee. Na weken sterft het aan uitputting.

II. *Bewegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei op voedingsgelatine.* Zeer langzame groei op gelatine.

In steekcultuur. Aan de oppervlakte vormt zich een zeer dun, grijswit beslag; langs het steekkanaal ontwikkelen zich witachtig-doorschijnende, puntvormige kolonies, die later samengroeien.

Op voedingsagar. Dun, glinsterend, witachtig beslag.

In bouillon. (**geneutraliseerde bouillon van vogelspieren.** Pasteur.) Bouillon blijft helder, geelwit bezinksel.

---

*1) Th. Kitt. Bakterienkunde. Wien 1899. S. 236.

Op aardappel. Bij 37° C., wasachtig-doorschijnende, grijsgele, dunne laag.

Op andere voedingsbodems. *Melk*: gecoäguleerd.
Bloedserum: dof-wit, dun beslag.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob.

V. *Temperatuur.* Optimum 37° C.; groeit ook bij gewone kamertemp. Op aardappel: alleen bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* Dekglaspraeparaat van bloed van de nog levende kip, of zoo kort mogelijk na den dood.
„*Gram*": ontkleurt.
Neemt aniline-kleurstoffen gemakkelijk op; „*pool-kleuring*". (vergel. bact coli communis; bac. influenzae enz.) Dubbelkleuring van een bloed-praep. met eosine en gentiaanviolet.

VIII. *Dierproef.* De **duif** is het beste proefdier; na enting boven de borstspier (met een scalpel een 2—3 c.M. lange huidsnede maken en de wond bestrijken met virulent bloed, lever- of milt-pulpa.) neemt men het volgende waar:
1.) *snelle dood*, reeds na 12—48 uur;
2.) *Typische pathol.-anat. veranderingen* bij de autopsie, n.l. *a.*) een omschreven zwelling op de plaats van inoculatie, die bij insnijding blijkt te bestaan uit een stroogeel, fibrineus exsudaat, *b.*) pericarditis fibrinosa, met ecchymosen van het pericard, *c.*) enteritis haemorrhagica, met bloederigen, chocolade-kleurigen darminhoud;
3.) *in het bloed en in de inwendige organen* zijn de specifieke bacillen talrijk aanwezig
De **kip** sterft, op dezelfde wijze ingeënt, na 12—24 uur, soms pas na 2—4 dagen; de plaatselijke reactieverschijnselen zijn zeer uitgebreid, — men vindt op de plaats van inenting: een grijs- of roodachtig-witte, brokkelig vaste, necrotische massa, die op „*gekookt spek*" gelijkt en zich over de geheele borstspier uitbreidt. Bij de sectie constateert men vaak, behalve pericarditis en enteritis, pneumonie en pleuritis haemorrhagica. (quantitatief verschil in pathogeniteit met bact. septicaemiae haemorrhagicae.)

Eenden en ganzen vertoonen meestal geringe locale reactieverschijnselen; daarentegen vaak een heftige darmontsteking.

[Vergel. bacillus anthracis, waartegen *vogels zeer resistent* zijn.]

Het **konijn** is **zeer vatbaar:** door cutane infectie (van een aan het oor gemaakt huidwondje) met slechts een kleine hoev. virulent vogelbloed treedt na ongev. 10—20 uur, onder diarrhoea, de dood in; bij de obductie wordt vaak pleuro-pneumonie waargenomen. (PASTEUR's raad om de *konijnenplaag* in Australië met bacillen der kippencholera te bestrijden.)

Caviae, schapen en paarden konden door cutane of subcutane enting onder algemeene ziekteverschijnselen gedood worden; evenwel ontstonden meestal slechts locale processen, — absces op de plaats van injectie, waarin de bacteriën weken lang in cultuur bleven!

Bij *huis- en veldmuizen* zijn dikwijls negatieve resultaten verkregen.

Voederingsproeven. Bizonder gevoelig voor intestinale infectie is het konijn (modus infectionis: een koolblad bestreken met bloed of bacillenhoudende kippenfaeces); honden en katten zijn daarvoor onvatbaar.

Door subcutane injectie van (bacterienvrije) cultuurfiltraten werden bij proefdieren verschijnselen van slaapzucht te weeg gebracht zooals bij spontane kippencholera.

Vaccinatie tegen kippen-cholera In 1880 ontdekte PASTEUR, dat culturen van bacillen der kippencholera, die men langen tijd had laten staan, d. w. z. niet had overgeënt, zóódanig in virulentie verzwakt waren, dat zij bij kippen wel ziekte, maar slechts bij uitzondering den dood konden veroorzaken. „*De herstelde kippen waren niet vatbaar meer voor de infectie met het onverzwakte virus*" (eerste proeven van PASTEUR over immuniteit.)

Identiteit van de bacillen der kippencholera met die der „konijnen-septicaemie": **Bacterium cuniculicidum.** (DAVAINE, R. KOCH en GAFFKY.)

Volgens HUEPPE en KITT is bact. avicidum identisch met den bacil der konijnen-septicaemie; kippen en eenden, die ingeënt waren met de verzwakte vaccins van kippencholera, bleken tevens immuun te zijn geworden tegen konijnensepticaemie-virus; contrôle-proefdieren stierven, na enting met septicaemie-bacillen, onder de typische verschijnselen van kippencholera.

Bacillus rhusiopathiae suis.*)

Bacterium erysipelatos suum.

I. *Vorm en sporenvorming.*

Zeer klein, slank staafje (bact. avicidum is *plomp*), slechts 1—1,5 micron lang; in culturen, vaak dunne draden.

Van sporenvorming is niets met zekerheid bekend; heeft weinig weerstandvermogen tegen hooge temperaturen.

Is de oorzaak van de **vlekziekte der varkens** (rouget de porc, schweinerothlauf) en van andere klinische ziektevormen bij varkens, — **endocarditis valvularis bacillosa** en **urticaria.**

Bij varkensvlekziekte worden de bacillen aangetroffen in het bloed, echter veel talrijker in de milt, de lever en de nieren; men vindt ze ook in de excrementen.

Verschijnselen der vlekziekte: 1.) *Acute vorm.* — Hevige koorts, buitengewoon snelle dood, roode vlekken op de huid, gezwollen oogleden, soms epistaxis en braken, hangende staart (er is geen krul in de staart), hyperaemie van het maag- en darm-slijmvlies, zwelling van de klieren in de nabijheid der maag en van de Peyersche plàques; 2.) *Subacute vorm* — meestal de dood, begint met vermindering van eetlust, later diarrhoea, roode vlekken; 3.) *Chronische vorm*: Na de ziekte blijven de dieren mager en krijgen zwelling van verschillende gewrichten (la goutte) en lijden veelal aan endocarditis verrucosa. Soms ontbreken de vlekken op de huid. Soms ziet men urticae, in andere gevallen vesicae.

II. *Bewegelijkheid.*

Geen eigen beweging.

III. *Groei.*

Diagnose van vlekziekte door de cultuur: miltsap van het aan vlekziekte bezweken varken op een muis of duif inenten en pas van het hartebloed dezer proefdieren een steekcultuur maken.

Op gelatine.

In streepcultuur.

Aan de oppervlakte nauwelijks zichtbare kolonies, waarvan fijne, penseelvormige vertakkingen naar de diepere lagen der gelatine doordringen.

In steekcultuur.

Typische gelatine-steekcultuur: geen groei aan de oppervlakte der gelatine; langs het steekkanaal ontstaan opeengehoopte, grijswitte bolletjes, ongeveer ter grootte van een speldeknop, waarvan straalsgewijs fijne uitloopers uitgaan; na 6—10 dagen gelijkt de cultuur op een *„lampeborstel".*

---

*) Zie o. a.: Kitt. Bacterienkunde. Wien 1899.

Op platen. Na 2—3 dagen ontstaan in de gelatine halfdoorzichtige, blauwachtig-grijze kolonies.

Op voedings-agar. Zeer dunne, nauwelijks zichtbare laag.

Op aardappelen. Geen groei.

In Bouillon. De bouillon wordt eerst een weinig troebel, later helder met een grijswit bezinksel.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob.

V. *Temperatuur.* Groeien zoowel bij gewone kamertemp. als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng (geringe verweeking. HEIM.)

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* Dekglaspraeparaat van milt-, lever- en milt-sap.
„GRAM": positief.

VIII. *Dierproef.* **Witte of grijze huismuis:** Subcutane inoculatie, — in de huid boven de staart een knipje of snede maken en door de gemaakte opening, met de platinanaald, een kleine hoev. reincultuur, varkensbloed of miltpulpa in het onderh. bindw. schuiven. Na ongeveer 24 uur is de muis duidelijk ziek, zit ineengedoken, met overeind staande haren, heeft respiratieversnelling en vertoont een heftige conjunctivitis mucipera, Na 2—4 dagen sterft het dier.

Veldmuizen schijnen immuun te zijn.

De **duif** is, evenals de witte muis, **zeer gevoelig** voor de infectie. Deze geschiedt heel gemakkelijk door de huid boven de borstspier met een door bloed, of pulpa besmet mesje open te krabben. De dood volgt gewoonlijk na 3—4 dagen.

Het virus wordt in duiven giftiger.

De musch sterft meestal een dag eerder.

In het bloed en in de organen dezer proefdieren worden de vlekziekte-bacillen gevonden.

Het konijn is voor subcutane injectie minder gevoelig; spuit men in onder de huid van het oor, dan ontstaat dikwijls slechts een locaal erysipeloid ontstekingsproces, dat geneest, of soms door algemeene infectie gevolgd wordt. Niet zelden ontwikkelt zich een chronisch lijden. Daar-

entegen wordt het konijn bij intraveneuse injectie in den regel binnen 3—6 dagen gedood.

Het varken kan men, met culturen, vlekziekte bezorgen, o. a. ook door voedering met excrementen van daaraan lijdende dieren. (experimentele bevestiging van een veelvuldige oorzaak van verspreiding. Verschil met bac. sarcophysematos bovis.)

Inentingen van *runderen, schapen, paarden, ezels, honden, katten, caviae,* **kippen,** *ganzen* en *eenden* hebben tot dusver **negatieve** resultaten opgeleverd (vergel. bac. cholerae gallinarum.)

Immunisatie van konijnen en schapen tegen vlekziekte kan worden verkregen: door herhaalde onderhuidsche inspuitingen van gedoode culturen.

Witte muizen heeft men onvatbaar kunnen maken door injectie van bloedserum, afkomstig van geïmmuniseerde konijnen.

Vaccinatie van **varkens** *tegen vlekziekte*:

1.) door „subcutane injectie" van culturen van *verzwakte* bacillen, maar alleen dan, als de bacillen nog virulent genoeg zijn om in de circulatie te geraken; — een konijn inspuiten met virulente vlekziektebacillen en wanneer het dier slechts met een locaal ontstekingsproces reageert, uit het exsudaat de nu „verzwakte" bacillen kweeken: **de passage door het konijn heeft de bacil verzwakt voor het varken;**

2.) door culturen van *gedoode* bacillen, slechts onder voorwaarde, dat men deze direct „in het bloed" inspuit, niet bij subcutane injectie.

3.) door *bloedserum* van tegen vlekziekte actief geïmmuniseerde varkens, die bovendien, korten tijd vóórdat men hun bloed neemt, nog weer met een virulente cultuur ingespoten worden.

De bacil van de vlekziekte der varkens is zeer na verwant (rasvariatie), waarschijnlijk identisch met dien der **muizen-septicaemie (Bacillus murisepticus).** Beide schijnen niet pathogeen te zijn voor veldmuizen en caviae, wel voor witte muizen, duiven en konijnen; zij komen morphologisch overeen en de culturen vertoonen slechts geringe verschillen. Toch is het nog nooit gelukt met bact. murisepticus bij het varken vlekziekte te weeg te brengen.

Volgens Lorenz zijn konijnen, die tegen vlekziekte geïmmuniseerd zijn, ook onvatbaar voor muizen-septicaemie en bleken konijnen, die aan muizensepticaemie geleden hadden, refractair tegen vlekziekte te zijn.

Bacillus sarcophysematos bovis (Bollinger; Feser.)*)

Boutvuur-bacil.

I. *Vorm en sporenvorming.* Recht staafje, lang 3—6 micron, breed 0,5—0,7 micron (gewoonlijk, korter en dunner dan *bac. anthracis*, waarmede hij vroeger dikwijls verward is), heeft afgeronde uiteinden (gelijkt dus veel op bac. oedem. maligni; de uiteinden van bac. anthracis zijn, na kleuring, rechthoekig afgesneden, of met schotelvormige verdiepingen).

Bezit vele trilharen; ook komen vrije, blijkbaar van den bacil losgelaten en vaak tot groote, *spiraalvormige bosjes* vereenigde ciliën voor in bloedserum-culturen (niet in gelatine-culturen).

Vormt glinsterende, ovale *sporen*, eind- of middelstandig gelegen; de sporendragende bacil gelijkt op een „trommelstok", of op een „kolf". (In het spiersap vindt men ook vrije sporen.) Ook tijdens het leven heeft in de weefsels sporenvorming plaats (verschil met bac. anthracis.)

De bacil is de oorzaak van het **boutvuur** („Rauschbrand" of Charbon symptomatique) en wordt bij aan deze infectieziekte gestorven dieren, — runderen e. a., slechts spaarzaam in het bloed aangetroffen, maar talrijk in het spiervleesch, in de haemorrhag. transsudaten van het onderhuidsche bindw. en der verschillende lichaamsholten en in de gal.

Voornaamste verschijnselen van boutvuur: hooge koorts, huid-emphyseem, beven, kreupel loopen met een lidmaat waaraan meestal-zwelling wordt geconstateerd, t. g. van emphyseem door gas-ontwikkeling, — sereus-bloederige transsudaten in spieren (vooral in borst- en dijspieren); de dieren sterven ongev. 40—50 uren na de infectie. Vooral jonge runderen (1—3 jr.) worden aangetast.

Door het *emphysemateus karakter* der zwellingen onderscheidt zich deze ziekte van *miltvuur*. Komen uitwendige zwellingen bij deze ziekte voor, dan zijn zij altijd oedemateus. *Boosaardig oedeem* is bij runderen hoogst zeldzaam en stond bijna altijd met *partus* in verband.

II. *Bewegelijkheid.* Ronddraaiende eigen beweging; sporendragende bacillen zijn meestal onbewegelijk. (Zie: bac. tetani; bac. oed. maligni is bewegelijk, bac. anthracis niet).

III. *Groei.*

Op voedings-gelatine.

In steekculturen. Groei alleen in de diepere lagen, onder vervloeiing der gelatine en **gasontwikkeling.** (zie o. a. bac. coli commune en bac. oed. maligni).

---

*) Zie: Kitt. Bacterienkunde u. Pathol. mikroskopie. Wien 1899.

Op platen. Ronde kolonies, als *met vocht gevulde kogeltjes* in de gelatine, waarvan draadvormige vertakkingen uitgaan. (Zie: bac. oedem maligni.)

Op voedingsagar. *Karakteristieke agar-steekcultuur*: bij 37° C. reeds na 24 uur **gasontwikkeling**, die zóó overvloedig wordt, dat de agar er als door luchtblazen gespleten uitziet.

In bouillon.

Cavia-*bouillon.* Kweeking in waterstofgas, bij 37° C.: na 24 u. is de bouillon troebel, er ontstaan witte vlokjes en aan de oppervlakte vormt zich schuim.

De bouillon-cultuur riekt naar ranzige boter.

Op aardappelen. Bij afsluiting van dampkringslucht, — cultuur als van *bac. typhi abdominalis*: schrale, bijna onzichtbare, eenigszins vochtige culturen.

IV. *Verhouding tot lucht.* **Anaëroob.** [kan zich ook ontwikkelen bij toetreding van dampkringslucht; kweeking in *groote* hoeveelheden ($^1/_2$—1 Liter) bouillon, waarin veel virus is uitgezaad; — bac oedem. maligni is ook anaëroob.]

V. *Temperatuur.* Minimum: 16—18° C.; Optimum: 37° C. De sporenvorming in culturen geschiedt sneller bij 37° C. dan bij gewone kamertemp.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Vervloeiïng (bac. anthracis en bac. oedem. maligni ook.)

VII. *Verhouding tegenover kleurstoffen.* Kleuring van spiersap, — van (sereus-bloederig) transsudaat.

„Gram": ontkleurt (volgens Heim ook positief.) [Bac. anthracis: positief!; bac. oedem. maligni: ontkleurt.]

Dubbelkleuring met eosine en gentiaanviolet.

VIII. *Dierproef.* Bij den *mensch* is nooit een geval van boutvuur waargenomen (**maligne oedeem** komt, hoewel zeldzaam **wel** bij den mensch voor.)

I. Zeer vatbaar zijn: runderen, schapen, geiten en caviae.

II. Minder vatbaar zijn: paarden, ezels, witte ratten (vertoonen slechts locale reactieverschijnselen na de infectie).

III. Het **konijn** is, onder normale omstandigheden, nagenoeg **refractair**

tegen boutvuur; verder schijnen buffels, varkens, honden, katten, eenden, kippen en duiven schijnen zoo goed als immuun te zijn.

Modus infectionis: kunstmatige infectie slaagt niet bij cutane, wel bij *subcutane* enting: het virus moet diep onder de huid, liefst tot tusschen de spierbundels gebracht worden. *Runderen* zijn resistent tegen intraveneuse injectie (beteekenis van de porte d'entrée van een virus.) *)

Zelfs door invoering van groote hoeveelheden spierpulpa, hebben voederingsproeven, meestal negatieve resultaten opgeleverd (verschil met bac. rhusiopathiae suis.)

Kikvorschen kunnen boutvuur krijgen, als men ze, na de infectie, brengt in een omgeving, waarvan de temperatuur 22° C. bedraagt.

Materiaal voor de entingsproeven: culturen (die in bouillon verliezen hunne virulentie in ongev. 8 dagen; op vaste voedingsbodems behoudt de bacil zijn virulentie veel langer), spiersap, poeder van in warme lucht gedroogd spiervleesch (Kitt.)

Inentingen met poeder van spiervleesch: Kitt heeft waargenomen, dat spiervleesch van aan boutvuur bezweken runderen, gedroogd in warme lucht, jaren lang virulent blijft. Door poeder van zulk vleesch, met water gemengd (1 gr. 20 water) kan men proefdieren dooden: Injectie van eenige droppels van dit mengsel bij een *cavia* onder de huid van de dij, doodt het dier in 24—48 uur; op de plaats van injectie ontstaat oedeem, het onderh. bindweefsel en de spieren zijn donkerrood gekleurd en in het transsudaat vindt men talrijke boutvuur-bacillen. Schapen en runderen sterven door de injectie van 1—5 c.M^3. van het poedermengsel.

*) Zie: Levy-Klemperer. Klinische Bakteriologie. Berlin 1898. pg. 31.

Bacterium septicaemiae haemorrhagicae*) (Bollinger, Hueppe, Kitt.)

Bacillus pansepticus.

I. *Vorm en sporenvorming.* Zeer klein, ovaal, plomp staafje (morphologische overeenkomst met bac. cholerae gallinarum; bac. rhusiopathiae suis is *slank*), 0,6—1 micron lang en 0,3 micron breed; ook rond, als een coccus.

De uiteinden worden door bas. aniline-kleurstoffen sterker gekleurd dan het middenstuk: bact. bipolare multicidum.

Sporenvorming is niet waargenomen.

Wordt aangetroffen in het bloed, de inw. organen, de exsudaten van herten, wilde zwijnen, paarden, runderen, varkens en andere aan **septicaemia haemorrhagica** (Hueppe) of **„Wild- und Rinderseuche"** (Bollinger) lijdende dieren.

Voornaamste verschijnselen van Septicaemia haemorrhagica der runderen: een met bloedingen gepaard gaande acute septicaemie (bacteriaemie); 3 vormen, — 1.) de *exanthematische* vorm (uitgebreid ontstekingsoedeem van de huid, oedemateuse infiltratie van de uitw. weeke deelen door een sereuse of haemorrhagische vloeistof, zwelling van de tong enz.), 2.) de *pectorale* vorm (fibrineuse pleuro-pneumonie, fibrineuse pericarditis, mediastinitis), 3.) de *intestinale* vorm (haem. enteritis, die evenwel gewoonlijk ook bij andere vormen voorkomt.)

De exanthematische vorm zou desnoods met *boutvuur* kunnen verwisseld worden. De zwellingen *crepiteeren* evelwel *nooit;* zij houden altijd het karakter van heete oedemen.

II. *Bewegelijkheid.* Geen eigen beweging.

III. *Groei.*

Op voedingsgelatine. De culturen vertoonen *overeenkomst met die van bac. cholerae gallinarum.*

Witte, hyaline, kraakbeenachtige, droppelvormige kolonies; geen vervloeiïng.

Op voedingsagar. Idem.

Op aardappelen. Grijsgeel beslag.

IV. *Verhouding tot lucht.* Aëroob.

V. *Temperatuur.* Groeit zoowel bij gewone kamert., als bij 37° C.

VI. *Verhouding tot gelatine.* Geen vervloeiïng.

*) Zie: Kitt. Bacterienkunde u. Pathol. mikroskopie. Wien 1899.

VII. *Verhouding tot kleurstoffen.* „*Gram*": ontkleurt.
Poolkleuring: (bac. cholerae gallinarum ook.)

VIII. *Dierproef.* Zeer gevoelige proefdieren zijn de **witte muis** en het **konijn**; door enting met bloed, stukken van organen en reinculturen gaan zij snel te gronde.

Ook door voeding met bloed, stukken van organen, die de bacteriën bevatten, (gestreken op brood of koolbladen) kunnen muizen en konijnen gemakkelijk geïnfecteerd worden.

De *witte muis* sterft ongeveer 12—36 uur na de subcutane of cutane infectie (de punt van het oor afsnijden en de wondvlakte bestrijken met virulent bloed of milt-sap); bij de obductie vindt men de milt sterk vergroot.

Het *konijn* is zóó gevoelig, dat een uiterst geringe hoeveelheid van het virus voldoende is, om het in korten tijd te dooden (scarificatie van de huid van het oor met een met bloed besmet mesje). Post mortem: constant voorkomen eener laryngo-tracheïtis, dikwijls haem. enteritis, haem. pneumonie, oedema pulmonum.

Caviae konden niet besmet worden door cutane enting, werden echter door subcutane injectie van het virus gedood.

Vatbaar voor een doodelijke infectie zijn verder gebleken: *runderen* (subcutaan), *varkens*, een *geit*, een *schaap* (subcutaan) en een *paard*.

Duiven en *musschen* (kleine vogels dus) werden door subcutane enting meestal in 12—24 uren gedood.

Door voeding met stukjes vleesch, afkomstig van een aan septicaemia haem. gestorven konijn, stierven twee *koolmezen* na één en anderhalven dag.

Hoenders[*]) werden, zoowel door subcutane, als door intra-musculaire infectie met materiaal, afkomstig van aan septicaemia haem. gestorven dieren en met reinculturen **niet gedood** (verschil met bac. cholerae gallinarum.)

Toch is bact. septicaemiae haemorrh., hoewel zwak, in zooverre toch wel pathogeen voor kippen, omdat bij subcutane inenting, op de plaats van injectie in het onderhuidsche bindw. en in de spieren een analoge path.-anat. verandering gevonden wordt als die, welke plaatselijk door injectie der kippencholera-bacillen wordt teweeggebracht (vergel. bac. cholerae gallinarum).

De microben werden ook in de eerste dagen na de injectie in het bloed der hoenders aangetroffen.

---

*) Zie het Jaarverslag van het Laboratorium voor pathol. anat. en bacteriologie te Weltevreden over het jaar 1890.

I.

Het kleuren van bacteriën.

I. *Kleurmiddelen.*

Aniline-Kleurstoffen.

Benzol, $C^6 H^6$, is een vloeistof, die aangetroffen wordt in de lichte steenkolen-teerolie. Daaruit kan men met salpeterzuur nitro-benzol, $C^6 H^5 N O^2$ bereiden, dat door inwerking van waterstof in statu nascente wordt omgezet in *amido benzol* of *aniline* $C^6 H^5 N H^2$.

Toluol is methyl-benzol. $C^6 H^5 C H^3$; dit wordt door salpeterzuur omgezet in nitro-toluol, $C^6 H^4 N O^2 C H^3$ dat door reduceerende stoffen overgaat in *amido-toluol of toluïdine*, $C^6 H^4 N H^2 C H^3$.

Anilineolie is een *mengsel van aniline en toluïdine,* — de grondstof voor de bereiding van aniline-kleurstoffen.

Door oxydatie van anilineolie ontstaat *rosaniline:*

$$\underbrace{C^6 H^7 N}_{\text{Aniline.}} + \underbrace{2\,C^7 H^9 N}_{\text{Toluïdine.}} + 3\,O = \underbrace{C^{20} H^{19} N^3}_{\text{Rosaniline.}} + 3\,H^2 O$$

Vele in de bacteriologie gebruikelijke kleurstoffen zijn „zouten van de basische verbinding rosaniline," of van substitutiederivaten van rosaniline.

Men onderscheidt *basische* en *zure* aniline-kleurstoffen; in de eerste is een base het kleurend bestanddeel, in de tweede een zuur (Ehrlich). De kleuring wordt opgevat als een chemisch-physisch proces.[1*]) — (physische absorptie; acidophiele en basophiele weefsel-elementen.)

Gebleken is, dat **voornamelijk** de **kernen** en **bacterïen** de **basische** kleurstoffen vasthouden, dat zure kleurstoffen de weefsel-elementen *diffuus* kleuren.

Basische kleurstoffen kleuren echter niet alleen de kernen en bacteriën, maar, na kleuring van een bacteriënhoudend weefsel, zullen door ontkleurings-vloeistoffen, bijv. door alcohol, achtereenvolgens ontkleurd worden: 1. de tusschenstof; daarna 2. het cel-protoplasma, terwijl 3. *de celkernen* en 4. de *bacteriën de kleurstof het langst vasthouden.*

De voornaamste basische (d. z. kern- en bacteriën-kleurende) kleurstoffen zijn: Gentiaanviolet, methyleenblauw, fuchsine, Bismarkbruin (Vesuvine).

Erhlich's *analinewater-gentiaanviolet-oplossing*: [2*])

Anilineolie $2^1|_2$ c.M.^{3} schudden met 50 c.M.^{3} water, filtreeren door een met water bevochtigd filter en $5^1|_2$ c.M.^{3} verzadigde alcohol. gentiaanviolet-opl. toevoegen; sterk schudden en filtreeren.

[1*]) Vergel. Dr. M. C. Dekhuijzen. De aard van het proces der kleuring van microsc. praeparaten. Nederl. T. v. G. 1886, blz. 585. Dl. II.

[2*]) Deutsche med. Wochenschrift 1882, blz. 270.

Carbol-gentiaanviolet-oplossing : (gemakkelijker te bereiden dan en niet veranderlijk zooals *aniline* gentiaanviolet-oplossing).

1 Gram gentiaanviolet (of krystal-violet) in een mortier fijnwrijven en verdeelen in 10 c.M.^{3} alcohol absol. en, bij gedeelten, 100 c.M.^{3} eener 1 % oplossing van carbolzuur hieraan toevoegen (oorspr. voorschrift: verz. opl. van gentiaanviolet in alchol 95 % — 10 c.M^3; carbolzuuropl. 1 % — 100 c.M^3.

Krystal-violet: is van constanter samenstelling dan gentiaanviolet.

Löffler's *methyleenblauw-oplossing* : [1*])

Verzadigde alcohol. methyleenblauwopl. 30 c.M.^{3}; waterige oplossing van kaliloog (1 : 10.000, of 10 m.Gr') — 100 c.M.^{3}.

Kühne's *methyleenblauwoplossing* :

Methyleenblauw 1,5 Gram; Alcohol absol. 10 c.M.^{3}; Carbolzuuropl. 5 % 100 c.M.^{3}.

Nicolle's *Carbol-thionine-oplossing* :

Thionine 0,5 Gram; Alcohol absol 10 c.M.^{3}; Carbolzuuropl. 1 % — 100 c.M.^{3}. (oorspr. voorschrift: verz. opl. van thionine in 50 % alcohol — 10 c.M.^{3}; carbolzuuropl 1 % — 100 c.M.^{3}; aan te bevelen voor het kleuren van bacteriën, die „Gram" niet nemen, sterk kleurend vermogen, is weinig opl. in abs. alcohol, wanneer zij op bacteriën gefixeerd is).

Ziehl's *Carbolfuchsinoplossing* : [2*])

Fuchsine 1 Gram; Alcohol absol 10 c.M^3; Carbolzuuropl. 5 % — 100 c.M.^{3}.

Eosine-alcohol :

Verzadigde alcoholische (96 %) oplossing van eosine — 1 dl.; alcohol 96 % — 2 dln.

Eosine is een *zure*, de weefsels diffuus kleurende aniline-kleurstof.

Gram's of Lugol's oplossing :

2 Gram Jodetum kalicum oplossen in 300 c.M.^{3} gedest. water en hierin, onder wrijven, 1 Gram Jodium oplossen.

Nicolle [3*]) heeft een *sterkere* oplossing aanbevolen: Jodium 1; Jod. kal. 2; Aqua dest. **200 c.M.^{3}**, de bacteriën worden sterker gekleurd en bieden meer weerstand aan ontkleuring.

[1*]) Mitteilungen aus d. kaiserl. Gesundheidsamte. Bd. II, 1884, blz. 439.

[2*]) Deutsche med. Wochenschrift. 1882. blz. 451.

[3*]) Annales de l'Institut Pasteur. 1895. Tome 9.

II. *Fixatie op het dekglas.* Neemt een zorgvuldig gereinigd en gedroogd dekglaasje (dat *vetvrij* gemaakt is door het dekglaasje te bewaren op alcohol-aether ana partes, en het, vóór het gebruik nog door de vlam te halen), —brengt hierop, met een vooraf gegloeide platinanaald, een druppel steriel water (voor culturen in vloeibare voedingsbodems neme men een druppel van de cultuurvloeistof),— verdeelt daarin een zeer kleine hoeveelheid van de bacteriënmassa en strijkt den druppel tot een zoo gelijkmatig mogelijk laagje over het dekglaasje uit. Men laat het dekglas nu liggen, tot het goed luchtdroog geworden is en haalt het daarna, met de praeparaatzijde naar boven, drie maal langzaam, *„zooals men brood snijdt"*, door de (blauwe) vlam van een Bunsenschen brander. (Bloed-praep. niet in de vlam fixeeren maar eenige min. in absol. alcohol leggen en aan de lucht laten drogen).

III. *Kleurwijzen.* In het algemeen is voor de kleuring van bacteriën in culturen Carbolgentiaanviolet of carbol-krystalviolet aan te bevelen.

In weefsel-doorsneden: methyleenblauw-, of thionineoplossing; als *tegenkleur*: *picrocarmijn* of *eosine-alcohol.*

Enkelvoudige kleuring

I. *Van culturen*:

Brengt het gefixeerde dekglas in een horlogeglas met carbolgentiaanviolet, met de praeparaatzijde naar beneden op de oppervlakte der kleurstof, laat het ongev. 1 minuut hierop liggen; spoelt de kleurstof af in een schaal met water of onder de straal der waterleiding (of hevelflesch) droogt het tusschen filtreerpapier en legt het dan op het voorwerpglas (in water onderzoeken voor de diagnose; om het te bewaren, insluiten in canada-balsem).

II. *Van exsudaat, pus, bloed, orgaan-pulpa*:

Kleuren met carbol-methyleenblauwopl. van Kühne (2—4 min.) of met carbol-thionineoplossing (2 min.).

III. *Kleuring van coupes met bacteriën, die door „Gram" ontkleurd worden*:

1.) De paraffine-doorsnede brengen in benzine 5—10 min., daarna in alcohol 96 % — 2 min., dan in water afspoelen; 2.) in Kühne's methyleenblauwopl.; — 5 min.; 3.) in water afspoelen; 4.) even in tanninoplossing 10 % (heeft volgens Nicolle de eigenschap om het methyleenblauw op het praep. te fixeeren, onoplosbaar in alhohol te maken); 5.) in water afspoelen; 6.) in alcohol absol. — 1 min.; in xylol; in Canadabalsem. (Een geschikte bact.-kl. is hier ook carbol-thionine-opl., ± 1 min.).

Dubbelkleuring met *tannine-eosine-oplossing.*

Kleuring volgens Gram.

GRAM vond in 1884 een methode om een weefseldoorsnede, waarvan alle elemententen gelijkmatig gekleurd zijn, (dus: tusschenstof, celprotoplasma, kernen en bacteriën) zóódanig te ontkleuren, dat alleen de bacteriën (bepaalde) gekleurd blijven.

Het bleek, dat wanneer men een waterige oplossing van Jood-Joodkali laat inwerken op, door basische aniline-kleurstoffen gekleurde bacteriën, bepaalde bacteriën daarna niet door absol. alcohol (of aniline-olie, of aceton-alcohol 1: 2.) ontkleurd worden.

I. Methode van Gram voor „Culturen".

De methode van GRAM[1]) bestond daarin, de coupe gedurende 1—3 min. te brengen in EHRLICH's aniline-water-gentiaanvioletoplossing, daarna 1—3 min. in LUGOL's oplossing, vervolgens in abs. alcohol, tot geen kleurstof meer wordt afgegeven; eindelijk in nagelolie te bewaren.

A. *Methode v. Gram-Günther.* [2*])

GÜNTHER had waargenomen, dat, vooral bij praeparaten die lang op slechte alcohol gestaan hebben, de ontkleuring der kernen vaak langzaam en onvoldoende geschiedt; na de ontkleuring met alcohol, paste hij nog een na-ontkleuring met 3 % zoutzuur-alcohol toe.

a.) in kleurstof, — 1 min.; *b.*) in LUGOL's opl. — 2 min.; *c.*) in alcohol, — ½ min.; *d.*) in 3 % zoutzuur-alcohol, — precies 10 sec.; *e.*) weder in alcohol, ter verdere ontkleuring; *f.*) in xylol (is te verkiezen boven nagelolie, omdat deze de bacteriën op den duur ontkleurt).

B. *„Gram", gewijzigd door Nicolle*: [3*])

1. kleuring: op het gefixeerde dekglas praep. (uit een druppelfleschje) eenige druppels van een, vóór het gebruik telkens weer gefiltreerde oplossing van carbolgentiaanviolet brengen en deze 4—6 sec. hierop laten liggen;

2. behandeling met sterkere Gram's of Lugol's oplossing: de overtollige kleurstof laten afdroppelen op filtreerpapier (anders ontstaat er later een neerslag en kan het praep. niet behoorlijk ontkleurd worden) en, **zonder het praep. in water af te spoelen,** eenige druppels Gram's oplossing daarop brengen. Na 4—6 secunden de oplossing afgieten; 2 à 3 maal ververschen.

3. Aceton-alcohol absol. (1: 2) op het praep. droppelen, *tot het praep. er ontkleurd uitziet;* (aceton-alcohol ontkleurt sneller en zekerder dan absol. alcohol; is een niet zoo veranderlijk reagens als aniline-olie).

4. in water afspoelen, drogen tusschen filtreerpapier, insluiten in Canadabalsem.

---

[1]) Fortschritte der med. 1884. No. 6: Über die isolirte Färbung enz. v. DR. C. GRAM, aus Kopenhagen.

[2]) Zie Deutsche med. Wochenschrift. 1887. No. 22.

[3*]) NICOLLE: Pratique des colorations microbiennes par NICOLLE Annales de l'Inst. PASTEUR. Tome 9. 1895, pag 664.

De volgende wijziging der methode v. GRAM *verdient aanbeveling*: [1*])

1.) Kleuring in carbol-krystalviolet-oplossing (ROUX) — 15 à 30 sec.; afgieten.

2.) GRAM's oplossing opdroppelen (zonder het praep. vooraf in water af te spoelen), — ongev. 1 min.

3.) In gedest. water afspoelen.

4.) Absolute alcohol opdroppelen, tot het praep. er ontkleurd uitziet.

5.) In water afspoelen, drogen en insluiten.

II. Methode van Gram voor „Coupes" (dubbelkleuring).

Om de bacteriën fraai gekleurd te krijgen, is het beter de tegenkleur het eerst te laten inwerken.

a.) De parafine-doorsnede brengen in benzine 5—10 min., daarna in alcohol 96 % — 2 min., dan in water afspoelen; *b.*) in picrocarmijn (RANVIER), 5 min.; afspoelen in water; *c.*) carbolgentiaanviolet, ± 1 min.; *d.*) LUGOL: 3 maal; *e.*) alcohol absol. enz.

Of: eerst „Gram" toepassen, daarna in Bismarckbruin 2 % — 1 min., alcohol, xylol.

Kleuring van bacillus diphtheriae volgens M. NEISSER. [2*])

1.) Het dekglaspraeparaat brengen in de volgende azijnzure methyleenblauw-oplossing, gedurende 1—3 sec.

Methyleenblauw (GRÜBLER, Leipzig)	1 Gram.
Alcohol (96 %)	20 c.M.³.
Acetum glaciale	50 c.M.³.
Aqua dest.	950 c.M.³.

2.) Afspoelen in water.

3.) In Vesuvine (Bismarckbruin) — opl., gedurende 3—5 sec.

Vesuvine	2 Gram.
Kokend gedest. water . .	1 Liter.

Filtreeren!

4). Afspoelen in water, drogen en insluiten.

Volgens C. M. MOL [3*]) e. a. valt de dubbelkleuring (blauwe korrels in bruine bacil) soms ook bij pseudo-diphtherie-bacillen positief uit; volgens KURTH is de reactie soms bij echte diphtherie-bacillen negatief.

1*) Zie: DR. A. BESSON. Technique microbiol. et serothérapique. 1898 pg. 212.

2*) Zeitschrift f. Hygiene 1897. Bd. XXIV.

3*) C. M. MOL. Onderzoek naar nieuwe, differentiëele, kenmerken tusschen Diphtherie en Pseudo-diphtherie-bacillen. Proefschrift. Utrecht. Maart 1899.

Het kleuren van sporen.

Kleuring van sporen volgens MÖLLER.*[1])

1.) Het luchtdroge dekglaspraep. wordt drie maal door de vlam gehaald, of 2 min. in abs. alcohol gebracht. (het laatste is beter, het fixeeren in de vlam is een niet altijd even gelijkmatig proces.)

2.) Daarna 2 minuten in chloroform. (om intra-bacteriele granula: vetdroppeltjes, lecithine, cholesterine, die, wanneer zij gekleurd zijn, tot verwisseling met sporen aanleiding kunnen geven, — op te lossen.)

3.) In water afspoelen.

4.) In 5% oplossing van chroomzuur, — $^1/_2$ — 2 min. (chroomzuur is een maceratiemiddel voor de spore-membraan, grijpt deze niet zoo sterk aan als geschiedt bij langdurige verwarming.)

5.) Ruim afspoelen in water.

6.) Op het praeparaat een oplossing van carbolfuchsine (Fuchsine 1 gr.; alcohol abs. — 10 c.M³.; carbolzuuropl. 5% — 100 c.M³.) droppelen en dit eens, gedurende 1 minuut, boven de vlam opkoken.

7.) De kleurstof afgieten en het praep. dompelen in 5% oplossing van zwavelzuur, totdat het ontkleurd is.

8.) Zorgvuldig afspoelen in water.

9.) Dubbelkleuring: gedurende 30 sec., in een waterige oplossing van methyleenblauw.

10.) Afspoelen in water, drogen tusschen filtreerpapier, insluiten in Canadabalsem.

Sporen donkerrood; bacterie-lichaam: blauw.

Kleuring van Sporen volgens ALEX. KLEIN.*[2])

1.) Op een horlogeglas 2—3 dr. physiol. keukenzoutopl. brengen; hierin een oog vol van een jonge sporenhoudende cultuur tot een gelijkmatige emulsie verdeelen.

2.) Een gelijk aantal dr. eener pas gefiltreerde, versch bereide (ZIEHL's) Carbolfuchsineopl. toevoegen en met de platina-naald even omroeren.

---

*[1]) Dr. H. MÖLLER: Centralbl. f. Bakt. 1891. Bd. X., bl. 273

*[2]) Zie ALEX. KLEIN. Eine einfache Methode zur Sporenfärbung. Centralbl. f. Bact. 1899. No. 1.

3.) Het horlogeglas met een tweede glas bedekken (om verontreiniging te voorkomen), zeer hoog boven een kleine vlam plaatsen en gedurende **6 minuten** verwarmen, zoodat slechts een weinig damp gevormd wordt.

4.) De kleurstof + cultuur even laten bekoelen, het horlogeglaasje wat heen en weer schudden (om bacillen en sporen gelijkmatig door de kleurstof te verdeelen) en van een droppel een dekglaspraep. maken; dit luchtdroog laten worden en, ter fixatie, twee maal door de vlam halen.

5.) Het dekglaasje, ter ontkleuring in 1% oplossing van zwavelzuur: 1—2 seconden.

6.) Goed afspoelen in water.

7.) In een waterig-alcohol-opl. van methyleenblauw: 3—4 min.

8.) Afspoelen in water, drogen, insluiten in xylol-Canadabalsem.

Het kleuren van zweepdraden (ciliën).

Monotricha: de bacterie bezit slechts een enkele zweepdraad aan het eene uiteinde.

Lophotricha: vertoont een bundel van zulke draden aan een pool, (lophos = vederbos.)

Amphitricha: aan iedere pool, een zweepdraad.

Peritricha: bezit rondom een groot getal zweepdraden.

Kleurmethode van Löffler.[*1])

1.) Een zeer dun dekglaspraep. maken op zorgvuldig gereinigde, in alcohol en aether ana partes vetvrij gemaakte dekglaasjes.

2.) In de vlam fixeeren.

[*1]) Zie Centralbl. f. Bakteriol. 1880. Bd. 6 en 7.

3.) Op het praep. een droppel brengen van het volgende bijtmiddel.

Samenstelling van het bijtmiddel: Vooraf een verz. opl. van ferrosulfaat bereiden, n.l.

Sulphas ferrosus . . . . . 20 Gram.
Aqua dest. . . . . 30 c.M³.

Dit eenige dagen laten staan, zoodat een *ferri-verbinding* ontstaat.

De samenstelling is nu aldus:

Koud verzadigde opl. van ferrosulfaat . . . . . 5 c.M³.
Tannine oplossing (20 Gram oplossen in 80 c.M³ warm water) 10 c.M³.
Verzadigde alcoh. of wat fuchsineopl. . . . . 1 c.M³.

Met bijtmiddel moet zuur gemaakt worden bij alkali-vormende bacteriën (met 1% opl. van zwavelzuur) en alkalisch bij zuur-vormende bacteriën (met 1% opl van Na O H.).

Verwarmt het praep. boven de vlam, (de vloeistof steeds in beweging houden), totdat een weinig damp gevormd wordt (niet koken!) en laat het bijtmiddel nog even ($^1|_2$—1 min,) op het dekglaasje.

4.) Ruim in gedest. water afspoelen, vooral de randen (anders ontstaan neerslagen van bijtmiddel met kleurstof.)

5.) In alcohol absol. uitwasschen.

6.) Op het dekglaspraep. 2—3 droppels van het kleurmiddel brengen, eenigen tijd heen en weder bewegen en voorzichtig verwarmen, totdat een lichte damp opstijgt.

Samenstelling van het kleurmiddel:

Verzadigde alcoh.-oplossing van fuchsine . . . 11 c.M³.
Alcohol absol. . . . . 10 c.M³.
Anilinewater (4 c.M³. anilineolie op 100 c.M³. water) . . . . . 100 c.M³.

7.) In gedest. water afspoelen; drogen tusschen filtreerpapier; insluiten in Canadabalsem.

Kleurmethode van M. Nicolle *en* V. Morax.*1)

1.) In een horlogeglaasje met eenige droppels gewoon water, zooveel van een recente agar-cultuur verdeelen, dat een nauwelijks troebele vloeistof verkregen wordt.

2.) van deze verdunning met een pipet een droppel brengen op een zorgvuldig gereinigd en te voren sterk geflambeerd dekglaasje, schuin houden en de overtollige hoev. vocht met filtreerpapier opzuigen.

3.) Laten drogen aan de lucht, tegen stof beschut

---

*1) Annales de l'Institut Pasteur. Tome 7. 1893. pg. 554.

4.) Het bijtmiddel van LÖFFLER op het praep. brengen (toevoeging van natron- of zwavelzuuropl. is overbodig) boven een kleine vlam, — de veilleuse van een Bunsenschen brander, verwarmen en, zoodra zich dampen vormen, (na ongeveer 10 sec.) het bijtmiddel afgieten en het praep. zorgvuldig, ruim afspoelen in water — (2—3 maal het bijtmiddel opbrengen en weder afspoelen; na elke wassching de ondervlakte van het dekglaasje zorgvuldig afvegen.)

5.) **Geen alcohol** na het bijtmiddel, maar, na afspoeling in water, een paar droppels ZIEHL's Carbolfuchsineopl. (in plaats van het kleurmiddel van van LÖFFLER) op het praep. brengen, (één of twee maal) boven de vlam verwarmen, tot dampen opstijgen, -- ongev. $^1/_4$ min.

6.) In water afwasschen.

7.) In water onderzoeken.

Om praecipitaten te voorkomen: *[1]) ruim afspoelen in water; het bijtmiddel niet direct op het praep. droppelen, maar een *stukje filtreerpapier* op het dekglaasje brengen en daarop het bijtmiddel droppelen.

Kleurmethode van PITFIELD, *gewijzigd door* R. MUIR. *[2])

De *dekglaasjes zorgvuldig reinigen*, door ze 24 uur te laten liggen in de volgende oplossing (v. Ermemgem): geconc. zwavelzuur — 6 c.M³.; bichromat. kal. — 6 Gram; water — 100 c.M³. Daarna zorgvuldig uitwasschen in stroomend water, in een schoon bakje overbrengen en in alcohol absol. bewaren.

1.) Op het dekglaspraep. een droppel brengen van het volgende bijtmiddel; verwarmen boven de vlam, totdat een weinig damp gevormd wordt, dan het bijtmiddel ongev. één min. op het dekglas laten.

Samenstelling van het bijtmiddel:

Waterige opl. van *tannine* 10 %	10 c.M³.
Verzadigde waterige opl. van *sublimaat*	5 c.M³.
Verzadigde waterige opl. van *aluin*	5 c.M³.
Kleurstofoplossing (zie hieronder)	5 c.M³.

Een nacht laten staan en de heldere, bovendrijvende vloeistof met een pipet in een schoon fleschje overbrengen. De oplossing blijft 1 a 2 weken goed.

2.) Afspoelen in stroomend water (ongev. 2 min.) en daarna boven de gasvlam drogen.

3.) Een droppel van de volgende kleurstofopl. op het dekglaspraep. brengen, boven de vlam verwarmen, tot een weinig damp gevormd wordt en 1 min. op het dekglas laten.

Kleurstofoplossing:

Verzadigde alcoh. opl. van gentiaanviolet	2 c.M³.
Verzadigde wat. opl. van aluin	10 c.M³.

De kleurstof blijft 2—3 dagen goed.

4.) Afspoelen in stroomend water, drogen tusschen filtreerpapier, insluiten in Canada-balsem.

---

*[1]) Abel. Taschenbuch f. Bakt. Praktikanten. IV Aufl. 1898. S. 46.

*[2]) Edinburgh med. Journal. January 1899, p. 85.

Kleurmethode van E. VAN ERMENGEM. *)

1.) Zorgen voor zeer zuivere dekglaasjes; de dekglaasjes koken in een mengsel van: kal. bichrom., acid. sulfur. conc. aa 6 Gr., water 100 Gr., herhaalde malen afspoelen in water en in alcohol absol. en, zonder ze af te vegen, op den kant onder een klok te drogen zetten.

2.) Van een jonge (10—18 uur oude) agar-cultuur een zeer dun dekglaspraep. maken (om de bacteriën *geïsoleerd* en zoo min mogelijk *neerslag* te verkrijgen); laten drogen aan de lucht en (tusschen de vingers gehouden!) drie maal door de vlam halen.

3.) Op het praep. het volgende *bijtmiddel* droppelen:

Waterige opl. van *osmiumzuur* 2 % . . . . . 1 dl.
Waterige opl. van *tannine* 10-25 % (+ 4-5 dr. Acetum glaciale op 100 c.M³.) 2 dln.

en dit, zonder het praep. te verhitten, ½ uur laten inwerken (of 5 min. bij een temp. van 50—60° C.)

4.) Ruim afspoelen in water en in alcohol.

5.) Het glaasje gedurende eenige sec. dompelen in een 0,5—0,25 % opl. van zilvernitraat — **zilverbad.**

6.) Niet afspoelen in water, maar het praep. onmiddellijk overbrengen in het zoog. **reductiebad:**

Acid. gallic.	5	Gr.
Tannine.	3	„
Kal. acet. fus	10	„
Aqua dest.	350	„

Eenige oogenblikken hierin laten liggen.

7.) Nogmaals in het zilverbad brengen en dit bad voortdurend in beweging houden, totdat de zilveropl. zwart begint te worden.

8.) Afspoelen in veel water; drogen tusschen filtreerpapier; insluiten in Canadabalsem.

---

*) Zie: Referaat in Centralbl. f. Bakter. No. 15. 1894. S. 969.

Kapsel-kleuring.

Kapsel-bacteriën noemt men bacteriën, waarvan de *cel-wand* sterk gezwollen en in een *slijmige*, geleiachtige massa veranderd is; deze verandering van den cel-wand treft men meestal alleen in het dierlijk lichaam aan, hoogst zelden in culturen. Brengt men kapsel-bacteriën in een aniline-kleurstofopl. dan wordt de kleurstof sterker door den celinhoud dan door den celwand opgenomen.

Kapsel-kleuring bij bacillus anthracis volgens JOHNE.

Het is slechts mogelijk bij praeparaten van *weefsel sap* en culturen op vloeibaar bloedserum (*paarden-serum*), **niet** in culturen op andere voedingsbodems, een kapsel aan te toonen.

1.) Het bloed-dekglaspraep. of de cultuur op paardenserum brengen in waterige opl. van gentiaanviolet 1 % (0,5—2 %); boven de vlam houden, tot dampen opstijgen, — ongev. 10—15 secunden.

2.) In azijnzuuropl. 2 %, gedurende 10 sec.

3.) Ruim afspoelen in water.

4.) In **water!** bezichtigen. (Bacteriën doen zich in balsem kleiner voor dan in water; vele details, — bijv. *kapsels*, zijn in balsem niet te zien.) *1)

Kapsel-kleuring bij Diplococcus pneumoniae volgens RIBBERT. *2)

Dekglas-praeparaat van een zeer dunne laag van het roestkleurige sputum, of van de vloeistof, die men van de doorsnede der geïnfiltreerde long kan afstrijken. De methode is *niet* geschikt *voor weefsel-doorsneden.*

1,) Het dekglas-praep. brengen in: Acet glaciale — 12,5; Alcohol — 50; Water — 100; **Dahlia** tot verzadiging bij verwarming.

Slechts *even* met deze oplossing in aanraking brengen; de kapsel mag slechts lichtblauw, de coccen moeten donkerblauw van kleur zijn.

2.) Afspoelen in water.

3.) Drogen tusschen filtreerpapier; insluiten in Canada-balsem.

Kapsel-kleuring volgens FRIEDLÄNDER.

a.) *Sap* van pneumonische longen. *3)

1.) Het luchtdroge praep drie maal door de vlam halen.

2.) In azijnzuuropl. 1 %, gedurende 1 of eenige min.

(Verdund azijnzuur lost alleen uit de *omgeving* der pneumonie-coccen een stof op, die sterk te kleuren is met anilinewater-gentiaanviolet-opl., maar niet uit de coccen en hunne kapsels.)

---

*1) Zie: Abel. Taschenbuch f. d. bakteriol. Praktikanten. 4 afl. 1898, blz. 30.

*2) Zie: Deutsche med. Wochenschrift. 1885. No. 9, pag. 136. Zur Färbung der Pneumoniekokken von Prof. Dr. RIBBERT.

*3) C. FRIEDLÄNDER. Fortschritte der medicin. 1885. S. 757.

3.) Het azijnzuur van het praep. verwijderen door blazen met een puntig uitgetrokken glazen buis en het praep. snel drogen aan de lucht.

4.) In verzadigde anilinewater-gentiaanviolet-opl., — slechts eenige secunden.

5.) Afspoelen in water.

b.) In *coupes.* *1)

1.) In de volgende zure opl. van gentiaanviolet, gedurende 24 uur:

Verzadigde alcoh. opl. van gentiaanviolet . .	50 c.M^3.
Aqua destill.	100 c.M^3.
Acid. acetic.	10 c.M^3.

2.) Ter ontkleuring in azijnzuuropl. 0.1 %, — 1 à 2 min.

3.) Even in alcohol absol. (water-onttrekking.)

4.) In nagelolie (om het praep. doorschijnend te maken.)

---

*1) C. Friedländer. Fortschritte der medicin. 1885. S. 92.

Microscopisch onderzoek van Schimmels.

I. Schimmelculturen (ongekleurd.)

a. *Praeparaat, geschikt tot onderzoek, maar niet ter bewaring.*

1.) Met een pincet (met fijne punten) brengt men een klein vlokje van de schimmelcultuur op een voorwerpglas.

De punten van het pincet vooraf ***met water bevochtigen***, daar de myceliumdraden er anders te zeer aan kleven.

2.) Dan plaatst men op het vlokje een druppel ammonia-alcohol (1 dl. ammonia liquida, 4 deelen alcohol 96%) *[1]) en pluist men het met praepareernaalden uit.

Het onderzoek wordt ***nooit direct in water!*** verricht, daar schimmels (omdat zij een vetlaag bezitten) geen water in zich opnemen, en dan dus allicht *luchtbellen* aan het praeparaat zouden kleven, die, onder het dekglas mede ingesloten, de duidelijkheid van het praep. zouden storen.

3.) Na verdamping van den ammonia-alcohol, een druppel verdunde glycerine (1 dl. op 2 dln. water) toevoegen.

Niet direct in *sterke* glycerine, omdat de cel-structuur daardoor zou lijden.

4.) Het dekglas voorzichtig (om te voorkomen, dat lucht onder het dekglas blijft) op het praep. neerleggen.

b. *Duurzaam „ongekleurd" praeparaat van schimmels: volgens* G. Winter *[2])

1.) Naast het dekglas (met het in water liggende praep.) een druppel van de volgende aanvullingsvloeistof brengen.

Glycerine	1 dl.
Alcohol of azijnzuur . . .	2 dln.
Gedest water	3 dln.

2.) Het praep. onder een klok plaatsen, om het tegen stof te beschutten.

3.) Na een paar uur: een tweede druppel van de vloeistof laten doortrekken.

4.) Is, na verloop van één dag, de ruimte onder het dekglas nog niet overal met glycerine gevuld (water en alcohol verdampen; glycerine blijft terug), dan weer een druppel laten doortrekken enz., tot geen leege ruimte meer aanwezig is (ongev. na *een week!*)

---

*[1]) Delafield and Prudden. Handbook of pathological anatomy. London 1897. pg. 170.

*[2]) G. Winter. Die Pilze Deutschlands. Oesterreichs und der Schweiz. 1884. S. 25.

5.) De overtollige, buiten het dekglaasje afvloeiende glycerine, — door middel van filtreerpapier zorgvuldig wegnemen (anders hecht het lak niet.)

6.) Met een fijn penseeltje (met kort afgesneden haren) een dun laagje eener snel-opdrogende lak-soort op den rand van het dekglas strijken. Is dit eerste laagje opgedroogd, dan nog 1 à 2 maal met lak penseelen.

Een ander **insluitingsmiddel** voor **ongekleurde** praeparaten is *glycerine-gelatine.*[*1])

Gelatine	1.—
Aqua	6
Glycerine	7.
Carbolzuuropl. 1 % .	1

Verwarmen en filtreeren.

„Het in te sluiten praep. eenige dagen in glycerine laten liggen, daarna, door middel van een penseel, met alcohol zoo volledig mogelijk de aanhangende glycerine wegnemen.

Nu legt men er een klein stukje glycerine-gelatine op en verwarmt even boven een spiritus-vlam, zoodat het stukje smelt".[*2])

Gelatine-oplossing van Unna[*3]) kan ook als **insluitingsmiddel** dienen:

Gelatine 1; liq. Ammon. caust., Spiritus aa 25.0; Glycerine 15,0; Aq. dest. 35,0.

Deze vloeistof wordt door schimmels opgenomen neemt luchtbellen weg een maakt het praep. doorschijnend.

Afsluitingsmiddelen voor glycerine-praeparaten: lak, paraffine of Gold size (Grübler, Leipzig.)

II. Het kleuren van Schimmels

Voor een voorloopig onderzoek is kleuring onnoodig, omdat men hier met sterk lichtbrekende cellen te doen heeft en de hyphen en sporen meestal reeds natuurlijke kleuren bezitten.

In het algemeen worden de gebruikelijke waterige oplossingen van aniline-kleurstoffen door schimmels minder goed opgenomen dan door bacteriën; meestal echter gelukt de kleuring wel met Löffler's alcalische methyleenblauwopl.

---

*1) Abel. Taschenbuch f. d. Bakt. Praktikanten. 4te Aufl. S. 92.

*2) Oudemans en de Vries. Handleiding bij het vervaardigen van microsc. praeparaten uit het plantenrijk. 1896. blz. 13.

*3) Unna. Zur Untersuchungstechnik der Hyphomyceten. Centralbl. f. Bakt 1892 Bd. 11. S. 7.

Kleuring van **coupes**, *waarin schimmels.*

1.) Het weefselstukje (liefst zoo versch mogelijk) brengen in fixatievloeistof: *formol*-MÜLLER (Orth),*[1]) gedurende 12 uren — 3 dagen:

Formaline			1 dl.
Müller's vloeistof	Bichromas kal.	50	9 dln.
	Sulfas natric.	20	
	Aqua dest.	2000	

Telkens versch bereiden en in een bruine flesch bewaren!

2.) Het stukje in een cylinderglas onder de kraan van de waterleiding plaatsen (het uitspoelen in stroomend water dient om de fixatievloeistof te verwijderen, anders zouden kristal-praec. in het praep. ontstaan), — gedurende ± 24 uur.

3.) In alcohol 96 %, — ongev. 12 uur en daarna in alcohol-abs., — ongev. 3 uur (om te harden.)

4.) In toluol, 6—24 uur.

5.) In toluol-paraffine, (geconc. opl.) 6—24 uur.

6.) In paraffine (in de stoof bij 55° C.), ongev. 3—6 uur.

7.) Insluiten; snijden; coupe ontplooien op lauwwarm water en op dekglaasje plakken.

8.) De paraffinesnede brengen in benzine — 10 min.

9.) In alcohol 96 % — 2 min.

10.) In water — 2 min.

11.) In aluinhaemateine*[2]), — ongev. 15 minuten (of in LÖFFLER's blauw, gedurende 1—2 uur.)

Aluin . . . . . 50.—
Gedest. water . . . . 1000.—
Daaraan een oplossing van haemateine 1 gr. in alcohol abs. 50 c.M³ toevoegen.

Kleurt kernen en o. a. intensief: **Aspergillus-soorten.** *[3])

12.) In water, tot de coupe er blauw uitziet.

13.) Tegenkleuren met eosine-alcohol, — ongev. 5 min.

14.) In carbol-xylol, (acid. phenyl. 1; xylol 3.)

15.) Insluiten in Canadabalsem.

---

*[1]) Berl. Klin. W. 1896. No. 13.

*[2]) Annales de l'Inst. Pasteur. Bd. 7. 1893. pg. 602.

*[3]) G. SCHMORL. Path. hist. Unt. methoden. 1897. S. 102.

Methode „Gram-Weigert" voor coupes. *1)

1.) De paraffine-snede brengen in benzine (10 min.); in alcohol 96 % (2 min.); in water (2 min.)

2.) In **Lithion-carmijn**, ong. 20—30 min.

Carmijn . . . . . 2,5 Gram.
Verz. opl. van Lithion carbonicum 100 c.M³.
filtreeren.

3.) Afspoelen in water.

4.) Differentieeren in zoutzuur-alcohol (Acid hydrochlor. 1 dl.; Alcohol 70 %, — 100 dln.), — gedurende 10 min.

5.) Zorgvuldig uitwasschen in water.

6.) In **anilinewater-gentiaanvioletopl.**, 5—10 min.

7.) Afspoelen in water, of in 0,6 % keukenzoutopl.

8.) Het praep. drogen met filtreerpapier.

9.) In „Gram's oplossing" (Jodium 1 Gram; Jodetum kal. 2 G.; Aq. 300 c.M³), 1-3 min.

10.) Drogen met filtreerpapier.

11.) Ontkleuren met anilineolie, tot de coupe rood wordt (de olie 2—3 maal ververschen).

12.) In xylol, tot de coupe doorschijnend is; insluiten in Canada-balsem.

Kleuring van pathogene Mucorineen *2) **in coupes volgens L. Lichtheim.**

De coupes behandelen met *picrocarmijn*, dan wordt het weefsel wel, het mycelium niet (of slechts zwak) gekleurd.

Picrocarmijn kleurt evenals eosine, het geheele weefsel, is standvastiger kleurstof, trekt er niet zoo gauw uit; aluincarmijn kleurt vooral de kernen.

Pas na langer dan een jaar verdwijnt het verschil in lichtbrekingsvermogen tusschen de schimmels en het weefsel.

Oidium albicans *3) is te kleuren volgens „Gram".

Kleuring van coupes.

1.) Voorkleuring met carmijn.

2.) Dan „Gram-Weigert" toepassen, — zóó gewijzigd, dat de coupes niet alleen met aniline-olie, maar daarna nog met 95 % alcohol behandeld worden (de ontkleuring is dan meer volkomen. Heller.)

Voor de **insluiting** van met aniline-kleurstoffen **gekleurde** schimmelpraeparaten heeft Möller *4) **Sirupus simplex** en **verzadigde kaliumacetaatoplossing** aanbevolen, in plaats van glycerine en glycerine-gelatine, omdat de praeparaten in laatstgenoemde vloeistoffen op den duur ontkleuren.

---

*1) G. Schmorl. Unters.-methoden 1897. S. 88.

*2) Zeitschrift f. Klin. Medicin. Bd. 7. 1884. S. 157.

*3) Heller. Beitrag zur Lehre vom Soor. Deutsch. Archiv. f. Klin. Med. 1894. S. 125.

*4) H. Möller. Centralbl. f. Bakt. 1892. Bd. 12. S. 543—544.

Kleuring van Spruitzwammen.

Spruitzwammen nemen aniline-kleurstoffen gemakkelijk op, worden allicht overkleurd. Een geschikte kleurstof is een sterk verdunde waterige oplossing van bismarckbruin.

Kernkleuring volgens Möller. *[1])

1.) Het dekglaspraep. fixeeren in 1 % met jodium verzadigde joodkaliumopl.

(Diffundeert gemakkelijk door membranen, tast den celinhoud chemisch weinig aan.)

2.) In verdunde glycerine, of in zuiver water koken, — gedurende 1—2 min.

Hierdoor wordt het praep. *gehard*.

3.) In 3—4 % opl. van zwavelzuur ijzeroxyd-ammoniak, minstens 2 uur.

4.) Even afspoelen in water.

5.) In verzadigde waterige opl. van Haematoxyline, — $^1/_2$ uur.

6.) Goed uitwasschen in water.

7.) Het „overkleurde" praep. brengen in zwavelzuur ijzeroxyd-ammoniakopl., $^1/_2$—2 min.

(Om te differentieeren; hoewel de kern de kleurstof weinig vasthoudt, doet zij dit in grootere mate dan het protoplasma; zwavelzuur ijzeroxyd-ammoniak is een *zwakker differentieeringsmiddel* dan *alcohol*, of 1 % azijnzuur.)

8.) Insluiten in **sir. simplex** of in **verzadigde opl. van kaliumacetaat.**

Aan de sir. simplex wat *jodoform* toevoegen om het beschimmelen te voorkomen.

Onderzoek van Saccharomyces hominis „in coupes" volgens Busse *[2])

I. Ongekleurd praeparaat.

De versche weefsel-doorsnede onderzoeken in 1 % natronloog-oplossing.

Natronloog maakt het weefsel-protoplasma helder, zoodat de parasieten duidelijk zichtbaar worden.

II. Gekleurd praeparaat.

1.) Vóórkleuring met aluin-haemateine.

2.) Nakleuring met een sterk verdunde Ziehl's Carbolfuchsineopl. *[3]), 2—3 min.

Celkernen donkerblauwrood; spruitzwammen (die vooral affiniteit tot aniline-kleurstoffen hebben,) helrood.

---

*[1]) H. Möller. Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe. Centralblatt f. Bakt. 1892. Bd. 12. S. 537 en 1893. Bd. 14. S. 359.

*[2]) Virchow's Archiv. Bd. 140. 1895. S. 33. Dr. O. Busse. Ueber Saccharomycosis hominis.

*[3]) Zie ook: Zeitschr. f. Hygiene u. Inf. kr. Bd. 21. 1896. S. 24. Lydia Rabinowitsch. Unters. über pathogene Hefe-arten.

Onderzoek van de Schimmels der dermato-mycosen.

Onderzoek van haren.

I. *Methode.*[*1])

1.) Het zieke haar met een pincet op een voorwerpglas brengen en eerst droog bezichtigen.

2.) Een droppel *bijtende kaliloogopl.* toevoegen en daarop een dekglaasje plaatsen.

10% Kaliloogopl. voor blonde haren; 33% bij donkere haren.

3.) Het geheele voorwerpglas gelijkmatig en zacht (boven een kleine vlam) verwarmen, ± 10 secunden.

Door de inwerking der kaliloog, wordt het haar doorschijnend en treden de schimmels duidelijk voor den dag. De vloeistof mag *niet koken*, anders valt het haar uiteen.

II. *Methode van* Sabouraud.[*2]) *Duurzaam praeparaat.*

1.) Het volgens methode I behandelde haar uit de verwarmde kaliloog overbrengen in gedest. water, — gedurende enkele minuten. (om het van potasch-kristallen te reinigen.)

2.) Het uitgewasschen haar op een voorwerpglas in een droppel glycerine brengen; met een dekglas bedekken en op den rand van het dekglaasje een laagje paraffine strijken.

Onderzoek van Scutula, korsten, haren enz.

Methode van Unna.[*3]) Zoog. *„drukpraeparaat"*.

1.) Een stukje van het voorwerp op een voorwerpglaasje brengen en bedekken met een droppel acid. acetic. conc.; kruiselings hierover een tweede, eveneens zeer dik voorwerpglas brengen (geschikt zijn hiervoor o. a. de zoog. »kristalglazen"). Nu wrijve men deze glazen, onder het uitoefenen van een stevigen druk op het voorwerp, zóó lang tot dit minstens 5—6 maal het oorspronkelijk oppervlak inneemt en dus in een voldoende

---

*1) De meeste gegevens betr. het onderzoek van de schimmels der dermato-mycosen werden mij met de grootste bereidwilligheid verstrekt door Dr. J. A. van der Wijk, assistent van Prof. S. Mendes da Costa, te Amsterdam.

*2) Sabouraud. Annales de dermatologie et de Syphiligraphie. Paris 1892.

*3) Unna. Monatshefte f. Prakt. Dermatologie. Bd. 13 en 21.

dunne laag is uitgebreid. Dan rukt men de glaasjes van elkaar af en dampt het azijnzuur boven de vlam uit.

2.) Op het praep. aether-alcohol droppelen (om te ontvetten.)

Aether sulf.
Spir. fort. ana partes.

3.) De aether-alcohol voorzichtig boven de vlam verdampen.

I. **Kleuring van een „drukpraeparaat" volgens de Boraxmethyleenblauw-plantenzuurmethode.**

1.) Het drukpraep. brengen in Borax-methyleenblauw-opl., — 5 min.

Borax-methyleenblauw. { Borax / Methyleenblauw aa 1 / Aqua . . . . . 100 } of { Borax . . . . . 1.— / Methyleenbl.opl. 20.— / Aqua . . . . . 100.— }

Methyleenblauwopl. { Verzadigde alcohol-opl. v. methyl.bl. . 30 / Kaliloog $^{1}/_{10.000}$ . . . . . 70 }

2.) Afspoelen in water.

3). 1 % oxaalzuur, of 1 % citroenzuur opdruppelen tot voldoende ontkleuring, ongev. 5—10 secunden.

(Oxaalzuur en citroenzuur zijn *differentieerings-vloeistoffen*, ontkleuren het te sterk gekleurde hoornweefsel).

4). Spoedig afspoelen in water (of in alcohol).

5). Drogen boven de vlam.

6). Canadabalsem.

II. **Kleuring van een „drukpraeparaat" met Gentiaanviolet en eosine.**

1). Het drukpraep. brengen in Anilinewater-gentiaanviolet-opl., — 5 min.

Anilinewater { Anilineolie 4 / Aqua dest. 100 } Gentiaanviolet-anilinewater { Anilinewater 1 / Verz. alcoh. Gentiaanvioletopl. 2 }

2). Afdrogen met filtreerpapier.

3). In waterige opl. van eosine 0.1 % + Jodium 0.5 % + Jod. kal. 5 %, gedurende 2 min.

4). In Anilineolie + 1 % hydrochloras anilini, ongev. 3 min.

5). In anilineolie tot voldoende ontkleuring.

6). Xylol; Canadabalsem.

Deze methoden zijn *niet* geschikt ter bestudeering van de *parasieten in loco*, daar de haren en schubben in een drukpraep. uiteengeperst worden.

Methoden voor de bestudeering van de parasieten „in loco".

A. 1.) Kleuren (onder verwarming $\pm \frac{1}{2}$ min.) met anilinewater-gentiaanvioletopl., en 1 min. liggen laten.

2.) Afdrogen met filtreerpapier.

3.) In waterige opl. van: (Jodium 0,5 % + Jodet. kal. 5 % + eosine 0,1 %) — 2 min.

4.) Afdrogen met filtreerpapier.

5.) In een horlogeglas met zeer groote hoev. van de volgende vloeistof gedurende $\frac{3}{4}$ uur zacht verwarmen (liefst op een zandbad.)

Anilineolie	100.—
Acid. nitr.	0,1
Acid. picrin.	0,01

6.) In anilineolie, tot voldoende ontkleuring.

7.) Xylol; Canada-balsem.

B. 1.) In Gentiaanviolet-anilinewater, — 15 min.

2.) Afdrogen met filtreerpapier.

3.) In 5 % Joodkaliumopl. + waterstofsuperoxyde (gelijke deelen), ongev. 3 min.

(Volgens UNNA bezit waterstofsuperoxyde in sterke mate het vermogen om hoornweefsel doorschijnend te maken; de aanwezige pigmenten worden tot *kleurlooze* zuurstofverbindingen gemaakt).

4.) In anilineolie 100 + acid. picrin. (0,020—0.030), gedurende 2 uur tot 1 nacht.

Aanbeveling verdient het deze vloeistof om de 2 uur te ververschen.

of in eosine-anilineolie: 0,01 op 100.

5.) In anilineolie tot voldoende ontkleuring.

6.) Xylol; Canadabalsem.

Kleurmethode van L. Waelsch, voor Achorion favosa *[1]) in coupes.

1.) Kleuren in gentiaanviolet-anilinewateropl., 10—15 min.

2.) Daarna de coupe overbrengen in een versch bereid mengsel van gelijke deelen Joodkaliumopl. 5 % en geconc. waterstofsuperoxyd, 3—5 min.

3.) Ontkleuren in een 1 % mengsel van zoutzuur en anilineolie.

De methode is een modificatie van die van WEIGERT voor fibrine.

---

*[1]) L. WAELSCH. Refer. in Centralbl. f. Algemeine Pathologie u. Path. Anatomie. 1896. Bd. 7. S. 903.

Onderzoek van huidschilfers.

Het verwijderen der schilfers.

I. *Spatelmethode*: Met een spatel schilfers van de huid afschrapen, maar zóó, dat zoo min mogelijk bloeding wordt veroorzaakt.

II. *Pleister-methode*:

1.) Men plakt stukjes pleister Beiersdorff (empl. oxydi zinci.) op de huid, laat de stukjes eenige minuten zitten en rukt ze dan af.

2.) De pleistertjes, waarop de huidschilfers vastgekleefd zitten, brengen in een horlogeglaasje met benzine.

Het zinkwit slaat neer, de schilfers laten los.

3.) De schilfers voorzichtig overbrengen in 1 % zoutzuur-alcohol.

Hierin scheidt zich het nog aanklevende zinkwit af en de schilfertjes drijven als *doorschijnende vliesjes* op de vloeistof.

4.) In Gedest. water, — eenige minuten (om de schilfers voor de kleuring geschikt te maken.)

Ongekleurd praep. van huid-schilfers.

De schub brengen in glycerine-water (1 op 3); na $^1/_2$ uur ongeveer treden aanwezige sporen duidelijk voor den dag. Na 24 uur is het praeparaat reeds verbleekt.

Door toevoeging von eenige korreltjes *resorcine* (UNNA) wordt de duurzaamheid van het praeparaat zeer bevorderd.

Onderzoek van huid-schilfers volgens Bizozzero. *[1])

BIZOZZERO bevrijdt steeds de te onderzoeken epidermis eerst van *vet;* voor schubben van de behaarde hoofdhuid vindt hij dit noodzakelijk, voor de andere huid niet onontbeerlijk.

De epidermisschubben worden daartoe eenige uren in alcohol abs. gelegd, die na een paar uur vervangen wordt door aether sulf, waarin ze 1—2 dagen blijven. Daarna worden ze weer in alcohol abs. overgebracht, waarin men ze gedurende onbepaalden tijd geschikt voor het onderzoek kan houden.

De aldus ontvette schubben behandelen volgens methoden A, B of C.

Methode A.

De ontvette epidermisschub brengen in acid. acetic. glaciale + aqua (ana partes), of in kaliloogopl. 10 %, — gedurende een paar minuten.

De schimmels treden in het doorschijnend gemaakte schubje scherp voor den dag; de *azijnzuur-praeparaten* kan men conserveeren door van af den rand van het dekglaasje glycerine te laten doortrekken.

---

*[1]) Zie: LEDERMANN en RATKOWSKI. Microsc. Technik. 1894.

Methode B.

De schub brengen op het voorwerpglas in een droppel glycerine, zwak gekleurd door methyleenblauw; met de punt van een naald het schubje in de vloeistof heen en weer bewegen.

Na ongev. 15 min. treden de schimmels goed gekleurd voor den dag.

Methode C.

1.) De schub brengen op het voorwerpglas in een druppel 50 % acid. acetic., gedurende 10—20 min. en, met naalden, vlak uitbreiden.

2.) Het azijnzuur voorzichtig boven de vlam uitdampen en 3—4 maal door de vlam halen.

3.) Op de schub kleurstof droppelen, — 15 à 30 min.
Gentiaanviolet, vesuvine, methyleenblauw enz.

4.) Uitwasschen in water.

5.) Drogen boven de vlam; insluiten in Canadabalsem.

Kleuring der huidschilfers volgens Boeck.*[1])

1.) De te onderzoeken huid-plek penseelen met Sahli's Borax-methyleenblauw-opl.

5 % waterige opl. van borax	16 dln.
Verzadigde waterige opl. van methyleenblauw	20 „
Water	24 „

2.) Met watten afdrogen, eenige schubjes van het nu scherp te voorschijn tredende *zieke* weefsel afkrabben en brengen in verdunde glycerine (1 dl. op 3 dln. water), of volgens een der bovenbeschreven methoden kleuren.

Deze methode verdient aanbeveling daar waar men zeker wil zijn de schub te krijgen van *het pathologische* huidgedeelte.

*[1]) Boeck. Monatsh. f. Prakt. Dermat. Bd. 18.

INHOUDSOPGAAF.

	Bladz.
Achorion favosa	68
Actinomyces	2
B. Anthracis	4
Aspergillus fumigatus	63
Boutvuur	85
Vibrio Cholerae asiaticae	6
B. Cholerae gallinarum	79
B. Coli communis	8
B. Diphtheriae	10
Diplococcus pneumoniae	12
Gele koorts	42
Gist-zwammen	67
Gonococcus	14
B. Icteroides	42
B. Influenzae	46
Kippencholera	79
Kwade droes	18
B. Leprae	16
Malaria-parasieten	38
B. Mallei	18
B. Mesentericus	48
Microsporon furfur	72
Mucor Mucedo	60
B. Oed maligni	20
Miltvuur	4
Oïdium albicans	65
Oïdium lactis	61
Penicillum glaucum	62
B. Pestis	22
B. Pneumoniae	24
D. Pneumoniae	12
B. Prodigiosum	50
B Proteus fluorescens	52
B Proteus vulgare	54
B. Pyocyaneum	26
B. Rhusiopathiae suis	82
Saccharomycetes	67
Sarcina ventriculi	56
B. Sarcophysematos bovis	85
B. Septicaemiae haemorrhagicae	88
Spirochaete Obermeieri	41
Staphylococcus pyogenes	28
Streptococcus pyogenes erysipelatis	30
B Subtilis	58
B. Tetani	32
Trychophyton tonsurans	74
B. Tuberculosis	34
B. Typhi abdominalis	36
Varkensvlekziekte	82

BIJLAGEN.

I. **Kleuren van bacteriën** I

a) *Kleurstoffen.*

Aniline-kleurstoffen I
Anilinewatergentiaanvioletopl. I
Carbol-gentiaanvioletopl. II
Eosine-alcohol II
Gram's oplossing II
Kühne's methyleenblauwopl. II
Löffler's methyleenblauwopl. II
Lugol's oplossing II
Nicolle's Carbolthionineopl. II
Ziehl's Carbolfuchsineopl. II

b) *Kleurwijzen.*

Enkelvoudige kleuring van coupes III
Enkelvoudige kleuring van culturen . . . III
Kleuring volgens **Gram** . . . . . IV-V
Kapsel-kleuring . . . . . XI-XII
Sporen-kleuring . . . . . VI-VII
Zweepdraden-kleuring . . . . . VII-X

II. **Microscopisch onderzoek van schimmels** . . . . . XIII-XVII

III. **Onderzoek van de schimmels der dermato-mycose** . . . . XVIII-XXII

T. 595