



lets over den vibrio Koch

<https://hdl.handle.net/1874/234878>

Jf 40192

Med. 14 Apr. 1894

J. NOORDHOEK HEGT.

Iets over den vibrio Koch.

A. qu.
192

IETS OVER DEN VIBRIO KOCH.

IETS OVER DEN VIBRIO KOCH.

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN

Doctor in de Geneeskunde

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,

NA MACHTIGING VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS

M^R. M. S. POLS,

Hoogleraar in de Faculteit der Rechtswetenschap.

MET TOESTEMMING VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT

TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE

TE VERDEDIGEN

op Zaterdag 14 April 1894, des namiddags te 4 uur,

DOOR

JOHAN NOORDHOEK HEGT,

Arts. Officier van Gezondheid 2. klasse O. I. Leger,

geboren te Batavia.



UTRECHT. — J. VAN BOEKHOVEN. — 1894.

Aan mijne Ouders.

Bij het eindigen van mijne Academische studien, is het mij een behoefte een woord van dank te richten tot U, Hooggeleerde Professoren der Medische en Philosophische faculteit voor het onderwijs, dat ik van U mocht ontvangen, en de welwillendheid, waarmede Gij mij steeds tegemoet kwaamt.

In het bijzonder aan U, Hooggeleerde SPRONCK, betuig ik warme erkentelijkheid voor de belangstelling en den steun, die ik bij mijne werkzaamheden zoo ruimschoots mocht ondervinden.

De tijd, op het Pathologisch-Anatomisch Laboratorium doorgebracht, zal steeds in dankbare herinnering bij mij blijven.

INLEIDING.

Ondanks de vele onderzoekingen, sinds de ontdekking van den *vibrio cholerae*, aan het cholera-vraagstuk gewijd, ondanks de vele geschriften, die voornamelijk in de laatste jaren over dit onderwerp verschenen zijn, blijven er nog vele duistere punten over, die eene opheldering noodzakelijk behoeven.

De epidemie van cholera asiatica 1892—1893 in Nederland, bood mij een gunstige gelegenheid enkele dezer quaestieuze punten nader te onderzoeken.

De bevruchtingstheorie van MAX DAHMEN trok mij aan om een contrôle-onderzoek in te stellen, waarvan de resultaten in Hoofdstuk I worden samengevat.

Hoofdstuk II bevat een onderzoek omtrent de oorzaak van een atypischen kolonievorm van den cholerabacil.

In de 3^e plaats ging ik na, in hoeverre SANARELLI's meening de juiste is, dat choleravibrionen uit dejecties of openbare wateren geïsoleerd, onder bepaalde omstandigheden de zoo karakteristieke eigenschap verliezen om de nitroso-indolreactie te geven.

HOOFDSTUK I.

In het Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde ¹⁾, publiceerde Dr. MAX DAHMEN zijne onderzoekingen, „Ueber gewisse Befruchtungsvorgänge bei den Vibrionen KOCH, FINKLER und PRIOR, METSCHNIKOFF und DENEKE”, en kwam daarbij tot, voor de epidemiologie van de Aziatische Cholera, zoo gewichtige gevolgtrekkingen, dat het mij belangrijk voorkwam, mij van de juistheid zijner proeven te overtuigen.

De choleraepidemie 1892—1893 bood daartoe in ruime mate de gelegenheid.

Dr. MAX DAHMEN had opgemerkt, dat in gelatine-platen, geënt met één van de 4 genoemde vibrionen verschillende kolonievormen voorkwamen, die zich vooral daardoor onderscheidden, dat, aan den éenen

¹⁾ Jaargang 1893, Bd. XIV: N^o. 2/3, bldz. 43 en volgende.

kant zich kolonies voordeden, die een uitgesproken neiging hadden, om, door vorming van uitloopers naar andere kolonies, met deze samen te vloeien, door hem α -kolonies genoemd, aan de andere zijde zich kolonies vertoonden, die hoewel vlak naast elkaar gelegen, steeds haren ronden vorm behielden, door hem β -kolonies genoemd. Hij zag de α -kolonie haren uitlooper uitzenden naar de β -kolonie, ofschoon in vele gevallen andere α -kolonies meer in de nabijheid waren gelegen. De β -kolonie trok zich voor dezen uitlooper terug, als om de samenvloeiing tegen te gaan, of stulpte zich zelfs in, zoodat eene klokvorm of een kwalvorm ontstond, totdat de uitlooper de klok in haar binnenste midden aanraakte, en zoo de kolonies vereenigd waren. Voor en na de aanraking zag hij de β -kolonies zich veel sneller vergrooten, als ware haar nieuwe levenskrachten gegeven, terwijl daarna tevens de β -kolonies eigenschappen als van α -kolonies kregen, die zich uitten door het vormen van uitloopers naar andere β -kolonies en het sneller groeien van deze. Dit telkens wederkeerende verschijnsel bracht er hem toe de α - en β -kolonies te isoleeren om hare verdere eigenschappen na te gaan.

Allereerst onderzocht MAX DAHMEN zijne vibrionen in plaatcultures.

Gelatineplaatcultures werden aangelegd op die wijze, dat $\frac{1}{3}$ buisje gelatine, geënt met een α -kolonie, werd uitgezaaid in het midden van de plaat, terwijl $\frac{2}{3}$ buisje gelatine, geïnfecteerd met een β -kolonie, daaromheen werd gegoten. Omgekeerd nam in een 2^e plaat de β -gelatine het midden in, terwijl daarbij de α -gelatine de omgevende ring was. In een 3^e plaat werd een buisje gelatine uitgegaten, geïnfecteerd met een α - en een β -kolonie.

Na broeiing vond hij den rand van de β -gelatine het sterkst vervloeid, en terwijl deze gelatine geheel een diffuse verweeking vertoonde, waren in de α -gelatine nog scherp begrensde vervloeingskuiltjes te herkennen. In de α -, zoowel als in de β -platen kwamen enkele β - respectievelijk α -kolonies voor.

In de 3^e plaat was het bestaan uit α - en β -kolonies in de vervloeide massa nog duidelijk te herkennen, en waar op enkele plaatsen slechts α - en β -kolonies lagen, daar was de vervloeijing eene veel mindere.

Behalve door de uitloopers- en intrekkingfiguren onderscheidde de α - en β -kolonies zich bovendien nog daardoor van elkander, dat de eerste zich als

een troebele, tamelijk diepe inzinking met scherp begrensde rand voordeed, terwijl de β -kolonie in de diepte van eenen trechter gelegen was als een korrelige, een weinig onregelmatige massa. Bij den vibrio DENEKE was dit verschil het duidelijkst uitgesproken.

DAHMEN trekt uit deze gegevens de volgende conclusies:

1. Bij de genoemde vibrionen komen steeds 2 soorten kolonies voor, de α - en de β -kolonies.
2. De α -kolonies hebben blijkbaar in betrekkelijk geringe mate de neiging met elkaar samen te groeien, wat zich openbaart door uitbochting aan de meest nabijliggende plaatsen.
3. De β -kolonies vertoonen nooit deze neiging.
4. De α -kolonies hebben blijkbaar het streven zich met de β -kolonies te vereenigen en nemen daarom de meest verschillende vormen aan.
5. Deze vormveranderingen van de α -kolonies worden teweeggebracht door een stroom van stofwisselingsproducten in een bepaalde richting, waardoor ook de organismen worden medegesleept.
6. De β -kolonies-groeien na opname van deze stofwisselingsproducten buitengewoon snel en vervloeien de gelatine dan ook evenredig aan dien snellen groei.

7. De β -kolonies, die deze stofwisselingproducten opgenomen hebben, kunnen deze of andere producten aan andere β -kolonies afgeven en daardoor invloed hebben op een snelleren groei van deze.
8. In de α -kolonies zijn hoofdzakelijk vibrionen, die weer α -kolonies in het leven roepen; de β -kolonie-vibrionen zijn bijna altijd vormers van β -kolonies.
9. In de α - en β -kolonies ontstaan spontaan enkele bacteriën, die β - respectievelijk α -kolonies vormen.

Nu Dr. DAHMEN aldus aan moet nemen, dat er een invloed door de β - op de α -kolonies en omgekeerd wordt uitgeoefend, doet zich bij hem de begrijpelijke vraag voor: wat moet als oorzaak daarvan worden aangezien?

Een chemische verklaring lijkt hem onmogelijk, als hij ziet, dat de β -kolonies de aanraking met de α -kolonies als 't ware niet willen, ja er voor terugwijken. Een gelijkmaking van bestaande chemische verschillen tusschen de α - en de β -kolonies, kan derhalve de verklaring niet geven.

Van osmose, dialyse of diffusie, kan volgens hem ook geen sprake zijn.

Er blijft niets anders over, wil hij een verklaring

geven van het feit, dat „organismen durch Aufnahme von Producten anderer Individuen neue Eigenschaften erlangen“, dan aan te nemen, dat er een bevruchtingsproces heeft plaats gehad.

„Wir werden demnach an diesen Ansichten festhalten müssen, da es nicht wahrscheinlich ist, dasz neue Thatsachen, die oben mitgetheilten in ihrem Werte abschwächen, während es andererseits angezeigt erscheint die Ausdrücke α -kolonie und β -kolonie bei zu behalten.“

Ook in steekcultures waren duidelijke verschillen te constateeren. Waar de β -cultuur (bij den vibrio Косн) den voor cholera karakteristieken vorm vertoonde, daar was bij de α -cultuur geen luchtbel te zien, terwijl het steekkanaal veel breeder en meer troebel was. De gemengde cultuur eindelijk (cultuur verkregen door gelijktijdige enting van α - en β -vibrionen) was niet te onderscheiden van die van FINKLER en PRIOR.

De α -vibrionen vertoonden mikroskopisch goedgevormde komma's, terwijl de β -vibrionen zich meestal als korte, plumpe staafjes voordeden.

De agarcultures boden verschil in snelheid van groei. De $\alpha + \beta$ -cultuur was reeds na 5—6 uren met een dunnen sluier bedekt. De α - en de β -cultures

groeiden veel langzamer en vormden een dichtere massa.

6 Cavia's werden intraperitoneaal geïnfecteerd, en wel zoo, dat 2 cavia's, ieder 1 cM³ van een suspensie van een platinallis eener agarcultuur van de α -kolonie in 5 cM³ bouillon, twee 1 cM³ van de gelijke suspensie van een β -cultuur, 2 een gelijke suspensie van een α + β -cultuur, ontvingen.

Bij de met β -cultuur geïnfecteerde dieren werden geen ziektesymptomen geconstateerd; na 3 à 4 dagen maakten echter de met α -cultuur geïnfecteerden den indruk van ziek te zijn. De cavia's met α + β -cultuur geïnfecteerd, waren al den 1^{en} dag ziek, doch schenen na 4 à 5 dagen weder gezond. Zonder een zekere conclusie te trekken uit deze dierproeven, omdat hij niet met cultures werkte, die de volle virulentie bezaten, vindt Dr. MAX DAHMEN het toch zeer waarschijnlijk, dat bij infectie met versche cholerabacillen de proefdieren op verschillenden tijd zullen sterven naar gelang zij met α -, β - of α + β -cultuur worden geïnfecteerd. Er zou dus volgens hem een groot onderscheid bestaan in giftigheid tusschen de α - en de β -cholera, waardoor dan ook verklaard zou worden het zich wel gevoelen van v. PETTENKOFER, EMMERICH

e. a., die zich waarschijnlijk met de onschuldige β -vibrionen infecteerden, daar deze in gelatine-cultures de voor cholera karakteristieke eigenschappen het duidelijkst vertoonen.

Wat nu de epidemiologische gevolgtrekkingen betreft, zoo wijst DAHMEN op de ervaring van CANTANI, die drie vormen van choleraepidemieën onderscheidde:

De 1^e vorm onderscheidde zich door het indikken v. h. bloed ten gevolge van sterk waterverlies.

De 2^e vorm openbaarde zich door sterke intoxicatieverschijnselen, zonder groot waterverlies.

De 3^e vorm was gekarakteriseerd door sterk waterverlies, naast sterke vergiftiging.

De 1^e vorm zou dan berusten op een infectie met den β -vibrio, die toch in de steekcultuur eene luchtbel vormt, welke wijst op een aantrekking van water, dat door de β -vibrionen verbruikt wordt tot vorming van stofwisselingsproducten. Werd dit water niet verbruikt, dan zoude de luchtbel niet aanwezig zijn maar geheel moeten opgevuld zijn met vervloeiende gelatine, omdat niet kan aangenomen worden, dat op deze plaats eene sterke verdamping plaats heeft.

De 2^e epidemie-vorm zoude afhankelijk zijn van de α -vibrionen, die stofwisselingsproducten zoo rijkelijk

leveren, dat, indien deze toxisch zijn (bij virulente cholerabacillen), zij een hevigen graad van vergiftiging moeten teweegbrengen.

De 3^e vorm van epidemie zoude een gevolg zijn van eene gemengde infectie (α - + β -vibrionen).

Bij mijn onderzoek heb ik Dr. MAX DAHMEN zoo veel mogelijk op den voet gevolgd.

Alleen bij het onderzoek in gelatine-plaatcultures ben ik van zijn methode afgeweken, omdat zijne wijze van doen (het omgieten van de α - met de β -gelatine en omgekeerd) mij omslachtig en niet geheel zuiver was gebleken.

Om toch te zorgen, dat de gelatine, in het midden der platen uitgegoten, zich niet naar den omtrek verspreidde, was een spoedige stolling noodzakelijk, en om deze te verkrijgen, behoefde men platen, die vóór het gebruik flink koud waren gemaakt. Goot men nu de gelatine om dit centrum uit, dan kreeg men door de spoedige stolling een ongelijkmatige verdeeling der gelatine, die dan meestal hare dikste laag had aan de grens tusschen de α - en de β -gelatine, zoodat de uitkomst, dat de grensrand het sterkst vervloeid was, naar mijne meening niet mocht aan-

gehaald worden als een bewijsgrond voor de aantrekkingskracht tusschen de α - en de β -kolonies onderling, maar alleen daarop zoude kunnen berusten, dat daar de meeste kolonievormende bacteriën aanwezig waren.

Indien echter waar was, hetgeen Dr. MAX DAHMEN uit zijne plaatproeven meende te mogen concludeeren, dat in de α -kolonies spontaan zich slechts enkele β -vibrionen ontwikkelden, en de β -kolonies slechts enkele α -bacteriën herbergden, dan moest in platen geïnfecteerd met α - of β -kolonies alleen, de samenvloeiing in veel mindere mate aanwezig zijn, dan in de met $\alpha + \beta$ -kolonies geënte platen, terwijl dan ook in de eerste platen, de uitloopers- en intrekkingfiguren slechts in een veel geringer aantal aanwezig moesten zijn, dan in de laatste plaat.

Door deze overweging geleid, stak ik daarom van de oorspronkelijke platen een duidelijk geïsoleerde α -, een β - en een nog duidelijk uit α - en β -bestaande samenvloeïings-figuur af, verdeelde elk der afgestoken kolonies in 3 buisjes gelatine, en goot daarvan platen, die ik in de broeistoof bij $\pm 22^{\circ}$ C plaatste, en na 24 en meer uren onderzocht.

Uit hetgeen ik zooeven zeide, blijkt reeds, dat

ook door mij, in choleraplaatcultures de eigenaardige uitloopers- en intrekkings-figuren geconstateerd werden, aan welke door DAHMEN de namen van α - en β -kolonies werden gegeven. Echter kon ik in geen der door mij onderzochte gevallen het verschil tusschen den α - en β -kolonievorm, dat door MAX DAHMEN aangegeven wordt (scherp begrensde, troebele, tamelijk diepe inzinking van de α -, een onregelmatig begrensde, korrelige, in een trechter gelegen massa van de β -kolonies) ontdekken, zoodat het mij niet mogelijk was te zeggen, welke der kolonies zich als een met α -, welke zich als een met β -eigenschappen bedeelde, zou verhouden, vóórdat door den uitlooper aan den eenen kant, door de intrekkingsfiguur aan de andere zijde, zich verschil had geopenbaard.

Bij mijne proeven maakte ik vooreerst gebruik van cultures in het Laboratorium aanwezig. Deze cholerabacillen waren voor een deel in 1892, voor een deel in 1893 uit dejecties geïsoleerd. Later bezigde ik volkomen versche cultures, die door mij uit cholera-dejecties afkomstig uit Vollenhoven, 's Hertogenbosch (2 gevallen), Helmond en Utrecht (3 gevallen) in reinkultuur waren gebracht.

Daar echter zoowel in de oudere, als in de versche cultures, de verhouding tusschen α - en β -kolonies steeds dezelfde was, en alle mijne resultaten overeenkwamen, komt het mij onnoodig voor, elk geval afzonderlijk te beschrijven, maar zal ik, alles te samen nemende, de uitkomsten mijner onderzoekingen, naar MAX DAHMEN's volgorde mededeelen.

Gelatine-plaatcultures. Uitgaande van een agar-cultuur van het te onderzoeken geval, verdeelde ik één platinalisje over 4 buisjes vloeibaar gemaakte gelatine, door telkens één oogje van het voorafgaande in een volgend buisje te brengen. Hiervan werden 4 platen gegoten, die bij ongeveer 22° C in de broeistoof werden geplaatst en gedurende meerdere dagen in observatie werden gehouden.

In elk door mij onderzocht geval, zoodra zich de uitloopersfiguren vertoonden, beschouwde ik langen tijd achtereen bij 96-malige vergrooting (Zeiss. oc. 4 object. A) het proces, dat zich afspeelde. In geen enkel geval kon ik opmerken, dat de groei der β -kolonies veel sterker werd, door den invloed van de stofwisselings-producten der α -kolonies. Wel kon ik constateeren, dat de β -kolonie misschien sneller groeide na de samenvloeiing. De oorzaak daarvan

lag evenwel niet in de stofwisselings-producten der α -kolonies, zooals ik aanvankelijk met Dr. DAHMEN geloofde, maar was een gevolg daarvan, dat de α -kolonie haren uitlooper als 't ware als uitloozingsbuis gebruikte, waarlangs korreltjes naar de β -kolonie werden gevoerd. De beweging der korreltjes in de richting der β -kolonies was bij 96-malige vergrooting in enkele gevallen, waar de kolonies wat ouder waren, zeer duidelijk te constateeren. De kern der β -kolonie (in de oudere cultures aanwezig) werd door dezen stroom van het centrum naar de periferie gedrukt, en ook de korreltjes dezer figuur kon men zien terugwijken voor deze kracht, wat daaruit bleek, dat de naar de α -kolonie toegekeerde, nu ingestulpte rand, veel minder korreltjes ging bevatten en daardoor al helderder werd, terwijl de afgekeerde zijde naar die mate donkerder werd. Langzamerhand, na geheele samenvloeiing, verdween deze lichtschakeering.

De uitlooper zelf liet zien, dat de hem samenvloeiende korreltjes verder uit elkaar gelegen waren, dan in het overige gedeelte der bacterie-massa.

Hierdoor werd de β -kolonie met een grootere hoeveelheid vibrionen gevuld, dan voor de aanraking

en natuurlijk kon ook de groei en de vervloeiing daardoor versneld worden, ofschoon van een duidelijk in 't oog springende verandering in groeisnelheid geen sprake was.

Reeds voordat de uitlooper echter zich zoo als 't ware in de β -kolonie had uitgestort, zag ik in vele gevallen, waar een kolonie in de nabijheid was, dat de β -kolonie zich werkelijk als een α -kolonie ging verhouden. Aan de naar deze kolonie toegekeerde zijde namelijk begon aan de β -figuur zich een uitlooper te ontwikkelen.

Moesten dan toch werkelijk de stofwisselingsproducten der α -kolonie zoo'n invloed hebben op de β -vibrionen, dat zij zich als α -bacterien gingen verhouden?

Indien werkelijk een groot verschil in eigenschappen bestond tusschen de α - en β -kolonies, dan kon dit wel aangenomen worden. Was dit onderscheid echter niet aanwezig, dan moest een andere oorzaak voor deze eigenaardige koloniefiguratie aanwezig zijn.

Naast deze ook door DAHMEN geconstateerde veranderingen, nam ik in enkele platen nog een verschijnsel waar, door hem niet vermeld.

Sommige β -kolonies vormden, na de intrekking een' uitlooper naar de α -kolonie zelve, terwijl deze zich dan voor de naderende uitbochting terugtrok. Deze laatste uitlooper lag soms naast, soms onder, soms boven den eersten uitlooper der eerste kolonie.

Wilde men Dr DAHMEN's theorie als de juiste beschouwen, dan moest aangenomen worden, dat enkele kolonies, die deze verschijnselen vertoonden, α -, zoowel als β -eigenschappen bezaten; dat deze dus waarschijnlijk met een ongeveer gelijk aantal α - als β -vibrionen waren bevolkt.

Om na te gaan of nu werkelijk de α - en β -kolonies bijna uitsluitend hare eigen vibrionen herbergden, ging ik op de reeds boven beschreven wijze te werk en kreeg dan 3 soorten plaatserieën.

1. met een geïsoleerde α -kolonie geïnfecteerd.
2. met een geïsoleerde β -kolonie geïnfecteerd.
3. met een samenvloeiingsfiguur geïnfecteerd.

Na $\pm$ 24 uren broeiing vond ik nu zonder uitzondering:

- 1^o. dat de vervloeiing in alle platen gelijken tred hield.
- 2^o. dat het aantal uitloopers- en intrekkingenfiguren in de platen geïnfecteerd met een samenvloei-

ingsfiguur, zeker niet grooter was dan in de platen bezaaid met een α - of een geïsoleerde β -kolonie.

Uit deze onverwachte uitkomst meen ik dus te mogen afleiden, dat zoowel de α - als de β -kolonies (indien men deze benaming wil blijven houden) beide soorten bacteriën herbergen in gelijk aantal en niet uitsluitend bevolkt worden door α - of β -vibrionen alleen.

Alle kolonies zouden dan zoowel α - als β -eigenschappen moeten hebben, m. a. w. het verschil door MAX DAHMEN aangegeven, zou niet bestaan en de eigenaardige uitloopers- en intrekkingsfiguren zouden een geheel andere oorzaak moeten hebben.

II. *Gelatine-steekcultures.* Van de plaatcultures werden een uitloopers-, een intrekkings- en een samengevloeiende figuur afgestoken en op agareprouvettes uitgestreken, die gedurende 18 à 24 uren in de broeistoof bij 37° C. werden geplaatst. Met een platinanaald werd dan over het agaroppervlak gestreken, en met de daaraan hangende massa, op de gewone wijze een steekcultuur aangelegd. Aldus verkreeg ik een α -, een β -, een $\alpha + \beta$ -steekcultuur, die dan bij $\pm 22^\circ$ C. werden weggezet en gedu-

rende 6 dagen in hare ontwikkeling werden gevolgd.

α - zoowel als β - en $\alpha + \beta$ -cultures vertoonden in alle onderzochte gevallen de luchtbel en de voor cholera karakteristieke vervloeiing, zonder dat eenig duidelijk onderscheid aanwezig was. Een gelijkenis van de $\alpha + \beta$ -steekcultuur met den groei van den vibrio FINKLER PRIOR kon ik nooit constateeren, zelfs niet bij een choleravibrio (afkomstig uit dejecties van een kind te Wezepe), die gelatine buitengewoon snel deed vervloeien), zoodat ik mij de uitkomsten, door MAX DAHMEN verkregen, niet kon verklaren.

III. *Microscopische praeparaten*, verkregen uit de 3 kolonievormen, gaven geen verschillend beeld. Staafjes, kommas, en meer ronde lichamen vertoonden zich, wanneer een gelatinekolonie of een pepton-keukenzoutcultuur werd onderzocht; voor het meerendeel komma's, waar kolonies werden afgestoken van agarplaten, onafhankelijk of deze afkomstig waren van α -, β - of $\alpha + \beta$ -cultures.

IV. Evenmin gelukte het mij een onderscheid te vinden in de *cultures op het schuine agaroppervlak*, waar ik, hoevele malen ik mijne proeven controleerde, nooit eenig werkelijk duidelijk verschil in

snelheid van groei kon vinden. Wel was nu eens de α -, dan weer de β -, en eindelijk de $\alpha + \beta$ -cultuur met wat dichtere massa begroeid, maar het was onmogelijk daaruit een vasten regel af te leiden en kleine verschillen waren ook zeer goed daardoor te verklaren, dat de hoeveelheid afgestoken massa waarschijnlijk wel nooit gelijk was.

V. *Dierproeven.* Voor de uitkomst dezer proeven verwijs ik naar Protocol n^o. 1. De cultuur, die ik voor de injectie gebruikte, verkreeg ik uit de faeces van een kind uit 's Hertogenbosch, (17 Sept. 1893).

Van deze cultuur goot ik op den 2^{en} Oct. 9 ure 4 platen; 3 Oct. 9 ure werden van de platen eene α -, eene β -kolonie en eene samengevloeiende figuur afgestoken en in pepton-keukenzoutoplossing (pepton 1%, keukenzout 1%) gebracht. Een 4^e buisje pepton-keukenzout werd geïnfecteerd met een lisje van de oorspronkelijke cultuur. Deze 4 buisjes werden gedurende 6 uren in de broeistoof bij 37° C. geplaatst. Van alle buisjes werden nu lisjes op breede agar-eprouvettes uitgestreken, die gedurende 18 uren bij 37° C. werden gebroeid.

Den 4^{en} Oct. werd nu van elke cultuur 9 milligram in een gesteriliseerd platinaschaaltje afgewogen, goed

gemengd met $4\frac{1}{2}$ cM³ steriele bouillon door middel van eene gesteriliseerde glasstaaf en hiermede 4 serieën van 3 cavia's, intraperitoneaal geïnfecteerd. Van de voor de injectie bestemde cavia's werden de buikharen plaatselijk weggeknipt, daarna de huid daar ter plaatse eerst met alcohol, daarna met sublimaat 1 : 2000 gereinigd. De infectie volgde dadelijk daarop.

Aldus werden geïnjecteerd :

3 cavia's met 2, 3 en 4 miligram van de α -cultuur.

3 " " " " " " " " " β "

3 " " " " " " " " " $\alpha + \beta$ -cultuur.

3 " " " " " " " " " oorspronkelijke cultuur.

De lichtste Cavia's kregen de kleinste, de zwaarste in lichaamsgewicht de grootste dosis.

De injectie had plaats 's morgens van 10—11 uren. Ten 4 ure 's middags, dus na ongeveer 5 uren, vertoonden *alle* proefdieren symptomen van ziek zijn, nadat zij eerst met verhooging, daarna met verlaging van temperatuur hadden gereageerd. In elkaar gedoken, mit dikke koppen en paretische achterpooten, gebruikten zij niets van het voedsel, dat hun werd voorgezet.

De einduitslag der proef was als volgt:

Binnen 24 uren stierven:

Met α geïnfect.	Met β geïnfect.
<i>Cavia</i> n ^o . 1 (2 mgrm.)	<i>Cavia</i> n ^o . 6 (4 mgrm.)
<i>Cavia</i> n ^o . 2 (3 mgrm.)	
Met $\alpha + \beta$ geïnfect.	Met oorspr. cult. geïnfect.
<i>Cavia</i> n ^o . 7 (2 mgrm.)	<i>Cavia</i> n ^o . 11 (3 mgrm.)

Binnen 48 uren stierven.

Met α geïnfect.	Met β geïnfect.
—	<i>Cavia</i> n ^o . 4 (2 mgrm.)
Met $\alpha + \beta$ geïnfect.	Met oorspr. cult. geïnfect.
—	<i>Cavia</i> n ^o . 19.

Bij sectie van alle deze dieren vond men dezelfde veranderingen.

Een zekere hoeveelheid sereus exsudaat in de peritoneaalkholte, geringe injectie v. h. peritoneum, pseudomembranen op de lever en een heldere vloeistof in de pleura-holte. De dunne darm was paralytisch en gevuld met een grijze, slijmerige massa.

Gelatineplaten geïnfecteerd met het exsudaat uit de buikholte, met hartbloed en met leversap vertoonden reincultuur van cholerakolonies. De gelatineplaat geïnfecteerd met darminhoud vertoonde naast de cholera-

In de meeste gevallen nog andere kolonies, ofschoon de cholerakolonies overwegend waren. ¹⁾

Na 7 dagen stierf nog cavia n^o. 5 (3 mgrm. β -cultuur) aan darmcholera. Hartbloed, leversap en peritoneaalholte waren steriel.

Deze uitslag, hoewel niet geheel, zooals ik verwachtte, doet mij toch besluiten, dat geen virulentie-verschil bestaat tusschen de α -, β -, en $\alpha + \beta$ -cultuur.

Er is ook hier weer geen vaste regel af te leiden.

Wel is waar stierven 2 der 3 met α -cultuur geïnjecteerde dieren binnen 24 uren, terwijl slechts 1 van de 3 met β -geïnfecteerden dat lot onderging, en zou deze uitslag ten gunste van de meerdere virulentie der α -cultuur pleiten, indien niet het in leven blijven van 2 met $\alpha + \beta$ -cultuur geïnjecteerde cavia's en van het met 4 milligram α -cultuur geïnfecteerde dier, en de dood van het met 4 milligram β -cultuur

¹⁾ Om bij het gieten der darmplaat, de aan de serosa hechtende vibrionen uit te sluiten, werd een dubbel onderbonden darmstuk eerst 5 min. in sublimaat 1:2000.— daarna in leidingwater afgespoeld. Daarop werd met een gloeiend mes de darmwand geschroeid en deze plaats met een in de vlam gesteriliseerd schaartje ingeknipt. Met een platinaoogje werd dan in de darmholte gegaan en van de inhoud 1 lisje uitgezaaid.

geïnfecteerde proefdier het m. i. duidelijke bewijs leveren, dat hier aan meerdere of mindere resistentie der cavijs tegen het cholera gif moet gedacht worden, niet aan een meerdere of mindere virulentie der verschillende culturen.

Nu dus uit alles blijkt, dat geene verschillen bestaan tusschen de vibrionen der α - en der β -kolonies, kan de eigenaardige vormverandering in plaat-cultures niet berusten op een bevruchtingsproces.

Een chemiotactische werking door verschillende stofwisselingsproducten der α - en der β -vibrionen kan mijns inziens ook niet aangenomen worden. Men zou dan toch in de met eene geïsoleerde α - of eene geïsoleerde β -kolonie bezaaide platen een geringer aantal samenvloeïngsfiguren moeten verwachten, dan in de met $\alpha + \beta$ -cultuur geënte platen. Mijne proeven leerden echter, dat dit verschil in het aantal samenvloeïngsfiguren niet bestond.

Eene gelijkmaking van bestaande evenwichtsverschillen, afhankelijk van ongelijken druk, zoude alle vormveranderingen kunnen verklaren:

De cholera bacil vormt in gelatine eene nagenoeg kogelvormige, zeer weeke massa omgeven door een schaal van eveneens in verweeking begrepen gelatine.

Is de kolonie geïsoleerd, dan is deze weeke schaal over haar geheelen omtrek omsloten door vaste gelatine.

Komen nu twee kolonies dicht in elkanders nabijheid dan zullen de twee schalen van in verweeking begrepen gelatine elkander op een gegeven oogenblik raken.

Staan de beide kolonies onder dezelfde verhoudingen van druk, dan zullen de beide kolonies uitloopen naar deze plaats van minderen weerstand en zal de figuur ontstaan door DAHMEN aan twee samen-vloeiende α -kolonies toegeschreven.

Is er echter verschil, dan zal de kolonie met hooger druk, om het evenwicht te herstellen naar de andere kolonie moeten uitloopen, voor zich uitdrijvende de in verweeking begrepen gelatine, die daardoor op de elastische bacteriën-massa een druk uitoefent, waarvan de instulpingsfiguur het gevolg is. Daardoor wordt ook in deze kolonie de druk hooger, en komt nu hare in verweeking begrepen schaal in aanraking met die van eene andere in de nabijheid gelegen kolonie met lageren druk, dan zal zij op hare beurt tot evenwichtsherstelling een uitlooper naar deze kolonie zenden, enz. Dat een kolonie in de nabijheid van een andere gelegen, niet

naar deze, maar wel naar een derde, iets verderaf gelegene, een uitlooper zendt, laat zich zoo verklaren, dat de twee eerste kolonies een gelijken druk bezitten, welke hooger is dan die van de derde kolonie.

Drie afwijkende gevallen wil ik afzonderlijk bespreken. In deze drie, sinds 1892 in het Laboratorium voortgekweekte cultures, vormden de vibrionen in gelatine-platen steeds van den gewonen vorm afwijkende kolonies, die eenigzins overeenkomen met de atypische in Hoofdstuk II beschreven kolonies. De bacillen-massa zelve vormde hierbij een compacten, weinig korreligen klomp, omgeven door een groote schaal van vervloeide in verweeking begrepen gelatine. Hierbij werden nooit uitloopers- of intrekingsfiguren geconstateerd.

Ook dit feit is niet in strijd met deze verklaring. Het eenige punt van verschil bestaat hierin, dat de uitloopers- en intrekingsfiguren eenvoudig onzichtbaar zijn, doordien de vervloeide en in verweeking begrepen gelatine volkomen doorschijnend is en de bacillenklomp, ook daar, waar twee kolonies in elkander vloeien, op dezelfde plaats blijft liggen, zonder eenige vormverandering te ondergaan.

Tegen een gelijkmaking van verschil in druk pleit m. i. alleen deze omstandigheid, dat twee kolonies aan de oppervlakte der gelatinelaag gelegen, toch de eigenaardige figuratie vertoonen, terwijl dan van een druk of spanning in de kolonie geen sprake schijnt te zijn.

Welke onbekende krachten bij deze vormveranderingen in 't spel zijn, kan ik dus niet zeggen, nu blijkt, dat noch een bevruchtingsproces, noch een chemiotactische werking, noch mechanische momenten een volledige verklaring kunnen geven.

Over de epidemiologische gevolgtrekkingen van MAX DAHMEN behoeft ik slechts zeer kort te zijn.

Waar ik geen verschil in eigenschappen tusschen de vibrionen kon constateeren, moet ik zijne gevolgtrekkingen, als op een foutieven grondslag berustende, verwerpen.

Protocol No. 1.

Datum, Woensdag 4 Oct. 1893 's morgens 10 uur.

Intraperitoneale injectie bij Cavia's van α , β en $\alpha + \beta$ -cultuur, naast die van de oorspronkelijke cultuur; cult. afkomstig uit faeces 's Hertogenbosch.

Agar cult. oud 18 uren (37° C.) Injectie 10 uur.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
1. Witte Cavia, blauw, gekl. neus.	280 gr.	2 mgrm. α	+	Binnen 24 uren. Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 38.2° C. „ „ „ 2 „ 38.2° „ „ „ „ 4 „ 36.8° „ „ „ „ 8 „ 33.9° „ 5 X '93. Dood gevonden.
2. Zwartbruine Cavia blauwe kraag.	380 gr.	3 mgrm. α	+	Binnen 24 uren. Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 38.0° C. „ „ „ 2 „ 37.9° „ „ „ „ 4 „ 36.4° „ „ „ „ 8 „ 34.5° „ 5 X '93. Dood gevonden.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
3. Bruin zwarte Cavia witte neus, gele streep in den nek.	400 gr.	4 mgrm. α cult.	— Voorbijgaande ziekte, symptomen.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 37.8° C. „ „ „ 2 „ 38.3° „ „ „ „ 4 „ 36.1° „ „ „ „ 8 „ 37.1° „ „ 5 X '93 8.30 „ 39.° „ „ „ „ 12 „ 38.9° „ 6 X '93. Dier weer gezond.
4. Zwart bruine Cavia blauwe neus.	310 gr.	2 mgrm. β cult.	+ Binnen 2 × 24 uren.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 38.1° C. „ „ „ 2 „ 39.5° „ „ „ „ 4 „ 37.6° „ „ „ „ 8 „ 35.6° „ „ 5 X '93 8.30 „ 34.7° „ „ „ „ 12 „ 34.3° „ „ „ „ 2 „ 34.° „ „ „ „ 4 „ 33.5° „ 6 X '93. Dood gevonden.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	<i>Aanmerkingen.</i>
5. Cavia achterste gedeelte van den rug blauw.	380 gr.	3 mgrm. β -cult.	+ Voorbijgaande ziekteverschijnselen; na 7 dagen overleden aan darmcholera.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 38.1° C. „ „ „ 2 „ 37.9° „ „ „ „ 4 „ 35.9° „ „ „ „ 8 „ 35.7° „ „ 5 X '93 8.60 „ 37.7° „ „ „ „ 12 „ 38.3° „ 6 X '93. Cavia weêr vlug. 12 X '93. Dood gevonden.
6. Zwart bruine Cavia gele neus.	400 gr.	4 mgrm. β -cult.	+ Binnen 24 uren.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 38.1° C. „ „ „ 2 „ 39.7° „ „ „ „ 4 „ 38.° „ „ „ „ 8 „ 34.3° „ 5 X '93. Dood gevonden.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
7. Cavia blauwe streep in den nek	315 gr.	2 mgrm. $\alpha + \beta$ cultuur.	+ Binnen 24 uren.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 38.° C. " " " 2 " 39.2° " " " " 4 " 37.2° " " " " 8 " 34.1° " 5 X '93. Dood gevonden.
8. Bruin-witte Cavia.	380 gr.	3 mgrm. $\alpha + \beta$ cultuur.	— Voorbijgaande ziekte symptomen.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 38.° C. " " " 2 " 37.9° " " " " 4 " 37.1° " " " " 8 " 37.9° " " 5 X '93 8.30 " 38.6° " " " " 12 " 28.2° " 6 X '93. Dier weer vlug.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
9. Zwart witte Cavia.	405 gr.	4 mgrm. $\alpha + \beta$ cultuur.	— Voorbijgaande ziekte- symptomen.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 37.8° C. „ „ „ 2 „ 38.7° „ „ „ „ 4 „ 36.7° „ „ „ „ 8 „ 36.8° „ „ 5 X '93 8.30 „ 39.6° „ „ „ „ 12 „ 38.6° „ 6 X '93. Dier weer vlug.
10. Witte bruine Cavia rechts van de kop blauw.	350 gr.	2 mgrm. oorspron- kelijk cultuur.	+ Binnen 2 × 24 uren.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 37.9° C. „ „ „ 2 „ 37.1° „ „ „ „ 4 „ 34.8° „ „ „ „ 8 „ 30.5° „ „ 5 X '93 8.30 „ 32.8° „ „ „ „ 12 „ 32.8° „ „ „ „ 2 „ 32.8° „ „ „ „ 4 „ 32.3° „ 6 X '93. Dood gevonden.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
11. Cavia met zwarten kop, witten neus.	370 grm.	3 mgrm. oorspronkelijke cultuur.	— Binnen 24 uren.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 37.7° C. „ „ „ 2 „ 26.° „ „ „ „ 4 „ 36.5° „ „ „ „ 8 „ 34.4° „ 5 X '93. Dood gevonden.
12. Zwart bruine Cavia	410 grm	4 mgrm. oorspronkelijke cultuur.	— Voorbijgaande ziektesymptomen.	Temperatuur 4 X '93 8.30 u. 37.8° C. „ „ „ 2 „ 37.° „ „ „ „ 4 „ 34.6° „ „ „ „ 8 „ 34.9° „ „ 5 X '93 8.30 „ 36.4° „ „ „ „ 12 „ 36.8° „ „ „ „ 2 „ 37.6° „ 6 X '93. Dier weer vlug.

HOOFDSTUK II.

Bij mijne onderzoekingen over de α - en β -kolonies en ook reeds in plaatcultures van choleradejecties, was het mij opgevallen, dat in vele gevallen cholerakolonies voorkwamen (de kolonies bestonden uit komma's, die alle eigenschappen der choleravibriones bezaten), die verschillen vertoonden met de als typische cholerakolonies beschreven vormen.

Eerst met het denkbeeld, dat deze misschien de α -kolonies van DAHMEN zouden kunnen zijn, ging ik tot het isoleeren dezer kolonies over. Daar echter geene der eigenschappen dezer kolonievormers, verschilde met die van den gewonen vorm, stelde ik het mij ten taak na te gaan, welke oorzaak aan deze afwijking in groei ten grondslag lag.

Terwijl ik met mijn onderzoek bezig was, verscheen er een publicatie van prof. BERNHARD FISCHER in de „Deutsche medicinische Wochenschrift.” ¹⁾ „Ueber

¹⁾ Dtsche med. Wochenschrift N°. 23, Jaargang 1893.

„einige bemerkenswerthe Befunde bei der Untersuchung Choleraverdächtigen Materials,” waarin hij in eenige regels melding maakt van dezen kolonievorm: „Es liessen sich dann an diesen durch lebhafte Verflüssigung ausgezeichneten Colonieën ebenso wie bei den übrigen Kommabacillen und bei einigen denselben nahestehenden Leuchtbakterien Zwei Arten des Wachsthum's unterscheiden.

„Bei der einen bleibt die verflüssigte Gelatine klar und bildet die Colonie ein punkt- bis stecknadelkopfgrosses grauweisses Klümpfchen in der Mitte. Geht damit eine stärkere Verdunstung der verflüssigten Massen einher, dann erscheinen diese Colonieën bei seitlicher Betrachtung wie Luftblasen. Bei der anderen Art, etc. etc.”

Bij deze beschrijving van de ook door mij opgemerkte kolonies, sluit ik mij gaarne aan; echter wil ik, volledigheidshalve, daaraan nog het volgende toevoegen. Ook de gewone cholerakolonies bezitten eene vervloeingszone, eenen zeer smallen lichtbrekenden ring. Waar echter bij de gewone vormen deze ring door zijne smalte geheel op den achtergrond treedt, daar is de vervloeide gelatine bij de atypisch groeiende kolonies een breed, om de koloniemassa

liggend, helder band, terwijl de koloniemassa zelve op een kleine grijze centrale kern in een groote doorschijnende cel gelijk.

Bij 96-malige vergrooting ziet men deze kolonie als een heldere, zeer lichtkorrelige massa, meestal niet zoo sterk onregelmatig gecontoureerd als de kolonies van gewonen vorm. Na 48 uren broeiing treden in de, vóór dien tijd heldere, vervloeingszone kleine korreltjes op, die, eerst in klein aantal, langzamerhand de geheele vervloeide massa op gaan vullen, zoodat deze eerst heldere massa meestal reeds na 3×24 uren macroscopisch en microscopisch geheel opgevuld is met korreltjes, en de kolonie dikwijls alleen nog maar door een sterker lichtbrekend klompje in het midden, van de andere, gewone kolonies is te onderscheiden.

Door mij was nu na te gaan of deze kolonievorm eene levensuiting was van cholerabacillen met andere gewijzigde eigenschappen dan de gewone Kochsche vibriones, of dat invloeden van buiten af zóó inwerkten, dat de gewone kommabacillen ongewone kolonievormen gaven.

Om dit te beslissen ging ik als volgt te werk:

1. Van een plaat geïnfecteerd met een lisje der

choleradejecties, afkomstig uit 's Hertogenbosch, werd de kolonie met afwijkend type, afgestoken en op pepton-keukenzoutoplossing (1 % pepton- 1% keukenzout) gebracht. Na 6 uren bij 37° C gebroeid te zijn, werd deze pepton-keukenzoutcultuur onderzocht. Zij bleek uit komma's te bestaan en gaf een sterke cholerarood-reactie.

Een lisje werd uitgestreken over een breede eprouvette agar, en dit buisje gedurende 18 uren bij 37° C in de broeistoof gehouden.

Van de flink opgekomen agarcultuur werden 5 milligram in een gesteriliseerd platina-schaaltje afgewogen, met $\frac{1}{2}$ cM. sterielen bouillon vermengd en van de aldus verkregen troebele vloeistof 0.3 cM. (= 3 milligram cultuur) bij een Cavia van 310 gram intraperitoneaal geïnjecteerd.

Het proefdier overleed binnen 24 uren na verhooging en vervolgens verlaging van temperatuur vertoond te hebben.

De sectie gaf het gewone beeld te aanschouwen: een sereus exsudaat in de buikholte, eenige injectie v. h. peritoneaalvlies; op de lever eenige pseudomembranen; eene paralytische dunne darm.

Met 2 lisjes v. h. sereus exsudaat uit de buikholte

werden 4 buisjes gelatine geïnfecteerd en hiermede 4 platen gegoten, die gedurende 24 uren in de broeistoof aan een temperatuur van 22°C worden blootgesteld.

Bij onderzoek der platen constateerde ik nu:

1. Dat in alle 4 platen 2 kolonievormen aanwezig waren:
 - a. De gewone typische cholerakolonies.
 - b. De kolonies met afwijkenden vorm.
2. Dat de, door hare heldere vervloeingszone, afwijkende kolonies voornamelijk in het midden der platen zetelden.

Uit de afwijkende cholerakolonie waren dus na passage van een cavialichaam, de 2 kolonievormen te kweken. Was deze passage echter noodzakelijk, of kon ook door directe uitzaaiing van ééne der kolonies, de 2 vormen verkregen worden?

II. Van ééne der 4 platen, verkregen uit het sereus buikholte-exsudaat der gestorven cavia, werd een kolonie met afwijkend type afgestoken en over 3 buisjes gelatine verdeeld. De 3, door uitgieting in Petri'sche schalen, verkregen platen, werden bij 22°C gedurende ± 30 uren gebroeid.

Het bleek nu, dat in 2 dezer platen de 2 kolonievormen voorkwamen, terwijl ook hier weer het mid-

dengedeelte als het ware de plaats van praedelectie was der kolonies met den helderen vervloeiingsrand.

Dit telkens voorkomen der afwijkende cholera-kolonies in het midden der platen, bracht er mij toe, de Petri'sche schalen zelve eens nauwkeuriger te beschouwen en het bleek mij toen, dat in vele gevallen het middengedeelte zich iets boven het niveau der randen verhief, zoodat de daarin gegoten vloeibare gelatine in het centrum der plaat een dunnere laag vormde dan meer aan de periferie.

Nadat ik dus geconstateerd had, dat, zoowel na passage, als door directe uitzaaiing in gelatine-platen, uit de ééne, de beide koloniesoorten waren te kweken, bracht deze vondst mij tot het vermoeden, dat deze eigenaardige koloniegroei alleen afhankelijk was van de dunheid der gelatinelaag, waarin zij zich vormde.

De weg, dien ik had in te slaan, om zekerheid te verkrijgen omtrent de juistheid van mijn vermoeden, was nu aangewezen.

Ik had slechts dunnere en dikkere platen te gieten van gelatine, geïnfecteerd met een willekeurige cholerakolonie, om dan na te gaan of op de eerste

zich de afwijkende, op de laatste zich de gewone kolonievorm ontwikkelde. Om de dunnere en dikkere gelatine-platen te verkrijgen, ging ik in alle door mij onderzochte gevallen aldus te werk, dat ik, na verdunning van één lisje agarcultuur in 2 of 3 buisjes gesteriliseerd water, 2 gelatinebuisjes infecteerde en in de ééne plaat een geheel buisje gelatine (± 10 cM.) met de helft van het 2^e, in de andere plaat de overblijvende helft van het 2^e buisje uitgoot. Omdat de gelijkmatige verdeeling van de halve massa gelatine over de plaat, dikwijls gebleken was moeilijk te zijn door de spoedige stolling, verwarmde ik de plaat, daarvoor bestemd, even boven de gasvlam. Aldus verkreeg ik zeer dunne gelijkmatige platen.

In de onderzochte gevallen werd door mij naast de dikke en dunne plaat nog een plaat van gewone dikte gegoten, die vóór de geheele stolling der gelatine schuin werd geplaatst, zoodat de ééne zijde door een dikke, de andere zijde door eene dunne laag werd ingenomen.

Na 30—48 uren staan bij 22° C. werden de platen onderzocht, en werd dan het macroscopisch reeds zeer duidelijke resultaat, microscopisch gecontroleerd.

De uitslag van mijne proeven laat ik hier volgen:

PROEF I.

Vibrio-cholerae afkomstig uit dejecties van een cholera-lidder uit 's Hertogenbosch. In reïncultuur gebracht 17 September 1893.

1 dunne, 1 dikke gelatine-plaat gegoten 29 Oct., 4 u. p. m. Platen onderzocht 30 Oct. 8 u. a. m.

<i>Dunne plaat.</i>	<i>Dikke plaat.</i>
Alle kolonies met afwijkend type.	Gewone kolonies.

PROEF 1 a.

Dezelfde cultuur als boven.

30 Oct. 10 u. a. m. 3 platen gegoten. Eén dunne, één dikke, één van gewone dikte, schuin geplaatst.

31 Oct. 5 u. p. m. platen onderzocht.

1. <i>Dunne plaat.</i>	2. <i>Dikke plaat.</i>	3. <i>Schuine plaat.</i>
Alleen kolonies met afwijkend type.	Alleen gewone kolonies.	In dikke laag gewone, in dunne laag atypische kolonies.

PROEF II.

Cultuur afkomstig uit dejecties van een patient uit Vollenhoven. In reïncultuur gebracht 17 Sept. 1893.

3 Nov. 8 u. a. m. 3 platen gegoten: Eén dunne, één dikke, één van gewone dikte, schuin geplaatst.

4 Nov. 4 u. p. m. Platen onderzocht.

1. <i>Dunne plaat.</i>	2. <i>Dikke plaat.</i>	3. <i>Schuine plaat.</i>
Alleen kolonies met afwijkend type.	Plaat had schuin gestaan, vóór de stolling. Daarom als plaat 3.	In dikke laag gewone, in dunne laag atypische kolonies.

PROEF III.

Cultuur afkomstig uit dejecties van een patient te Jutphaas. In reïncultuur gebracht 14 Sept. 1893.

18 Nov. 8 u. a. m. 3 platen gegoten. Eén dunne één dikke, één van gewone dikte, schuin gehouden.

19 Nov. 4.30 u. p. m. Platen onderzocht.

<i>Dunne plaat.</i>	<i>Dikke plaat.</i>	<i>Schuine plaat.</i>
Vertoont beide soorten kolonies. Plaat te dik. Nieuwe dunne plaat gegoten 19 Oct. 5 u. p. m.	Kolonies van gewonen vorm.	In dikke laag gewone, in dunne laag atypische kolonies.
Vertoont 21 Oct. 9 u. alleen atypische kolonies.		

PROEF IV.

Cultuur afkomstig uit dejecties van een patient, verpleegd in de Amaliastichting. In reincultuur gebracht 20 Oct. 1893.

25 Nov. 3 u. p. m. 3 platen gegoten: Eén dunne, één dikke, één gewone dikte, schuin gehouden.

27 Nov. 8. u. a. m. Platen onderzocht.

<i>Dunne plaat.</i>	<i>Dikke plaat.</i>	<i>Schuine plaat.</i>
---------------------	---------------------	-----------------------

Alle platen vervloeid. Na sterkere verdunning van het agar-cultuurlijse, 3 nieuwe platen aangelegd op 27 Oct. 9 u. a. m.

28 Nov. 4 u. p. m. Platen onderzocht.

<i>Dunne plaat.</i>	<i>Dikke plaat.</i>	<i>Schuine plaat.</i>
Alle kolonies met afwijkend type.	Gewone kolonies.	In dikke laag gewone, in dunne laag atypische kolonies.

PROEF V.

Cultuur afkomstig uit dejecties van een patient te Smilde. In reincultuur gebracht 24 Oct. 1893 (Prof. SPRONCK).

30 Nov. 10 u. a. m. 3 platen gegoten: Eén dunne; één dikke, één gewone dikte, schuin gehouden.

2 Dec. 10 u. a. m. Platen onderzocht.

<i>Dunne plaat.</i>	<i>Dikke plaat.</i>	<i>Schuine plaat.</i>
Vertoont 2 soorten kolonies: gewone en atypische. Plaat niet dun genoeg.	Vertoont 2 soorten kolonies, gewone en atypische. Plaat schuin gestaan vóór stolling. In dikke laag gewone, in dunne atypische kolonies	In dikke laag gewone, in dunne laag atypische kolonies.

3 nieuwe platen gegoten op 1 Dec. 11 u. a. m.

3 Dec. 9 u. a. m. Platen onderzocht.

<i>Dunne plaat.</i>	<i>Dikke plaat.</i>	<i>Schuine plaat.</i>
Alleen kolonies met afwijkend type.	Gewone kolonies.	In dikke laag gewone, in dunne laag atypische kolonies.

PROEF VI.

Cultuur afkomstig uit dejecties van een patient, verpleegd in de Amaliastichting (Utrecht II). In reincultuur gebracht 7 Nov. 1893.

8 Dec. 9 u. a. m. platen gegoten: Eén dunne, één dikke, één van gewone dikte, schuin gehouden.

9 Dec. 4 u. p. m. Platen onderzocht.

<i>Dunne plaat.</i>	<i>Dikke plaat.</i>	<i>Schuine plaat.</i>
Kolonies met afwijkend type.	Gewone kolonies.	In dikke laag gewone, in dunne laag atypische kolonies.

Uit deze 6 proeven blijkt, dat ik het geheel in mijne macht had, zich de atypische kolonies te laten ontwikkelen. Waren mijne gelatine-lagen maar dun genoeg, dan verkreeg ik steeds de kolonies met afwijkenden groei. De schuin gehouden platen dienden slechts om de uitkomsten, verkregen door de dunne platen, te versterken.

Dat deze atypische koloniegroei, niet afhankelijk was van een zich ontwikkelen aan de oppervlakte der gelatine-laag, blijkt reeds uit den groei op de dikke platen, waar nooit een aan de oppervlakte groeiende kolonie den afwijkenden vorm vertoonde. Om dit echter nog met meer zekerheid uit te sluiten, legde ik een andere soort van plaat aan.

Een gewoon buisje vloeibaar gemaakte gelatine werd in een Petri'sche schaal uitgegoten en tot stolling gebracht op een ijskoud nivelleertoestel.

Met een langharig, zeer zacht penseel, bevochtigd

in een 3- of 4-malige verdunde pepton-keukenzoutcultuur van den te onderzoeken Kochschen vibrio, werd dan het gelatineoppervlak bestreken en de plaat gedurende 30—48 uren bij 22° C. geplaatst. Aldus kreeg ik uitsluitend aan de oppervlakte groeiende kolonies.

In alle 6 door mij onderzochte gevallen kwamen steeds de gewone kolonievormen voor den dag.

Deze atypische groei der cholerakolonies is dus alleen afhankelijk van de ontwikkeling in een zeer dun laagje gelatine. Dit kon ik later nog vele malen constateeren, indien platen, geïnfecteerd met cholera-vibrionen, met opzet of toevallig schuin waren geplaatst vóór de geheele stolling. In het dunne laagje kwamen dan steeds de kolonies met de heldere vervloeiingszone voor den dag.

HOOFDSTUK III.

1892 en 1893 hebben den wateronderzoekers een rijken oogst opgeleverd van vibrionen. Elke week, als 't ware, bracht een nieuwe species te voorschijn, die in hare eigenschappen min of meer verschilden van den uit faeces gekweekten Kochschen vibrio.

FRÄNKEL ¹⁾, GÜNTHER ²⁾, WEIBEL ³⁾, BUJWID ⁴⁾, FOKKER ⁵⁾, KIESLING ⁶⁾, DUNBAR ⁷⁾, SPRONCK ⁸⁾, BLACHSTEIN ⁹⁾, SANARELLI ¹⁰⁾, en anderen, vonden komma's, waarvan sommigen, met de tegenwoor-

¹⁾ Dtsche med. wochenschrift 1892 No. 41.

²⁾ " " " " " " " " No. 49.

³⁾ Centralbl. f. Bakteriologie u Parasitenk. 1892 p. 117.

⁴⁾ " " " " " " " " p. 120.

⁵⁾ Dtsche med. Wochenschrift 1893 No. 7.

⁶⁾ Arbeiten a. d. Kais. Gesh. a. Bd. VIII 1893 p. 430.

⁷⁾ Dtsche med. Wochenschr. 1893 No. 7 en Arb. a. d. Kais. Gesh. a. Bd. 1894 p.

⁸⁾ Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde.

⁹⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur 1893 No. 10 p. 689.

¹⁰⁾ " " " " " " " " p. 693.

dige kennis der eigenschappen van den Kochschen vibrio, als echte cholerabacillen, anderen, als saprophyten of een geheel andere plaats innemende vibrionen, moeten opgevat worden.

FOKKER beschouwt zijn vibrio, die in de vloeibare voedingsbodems zich het beste bij kamertemperatuur ontwikkelt, als een gedegenereerde cholerabacil; SANARELLI ziet, op grond van experimenten, alle zijne uit water gekweekte vibrionen aan voor de Kochsche komma, die min of meer de typische eigenschappen verloren, en door het verblijf in open wateren meer saprophytische eigenschappen heeft aangenomen.

Het niet immuniseeren van echte, uit faeces gekweekte, cholerabacillen, voor elkaar, en voor vibrionen, uit water gekweekt en met alle eigenschappen voorzien, die de diagnose „vibrio Koch” noodzaken; aan den anderen kant het immuum maken, door in eigenschappen op saprophyten gelijkende water-vibrionen, voor uit faeces en water gekweekte cholerabacillen; het verlies van de eigenschap van in water gekweekte vibrionen om de nitroso-indol-reactie in zoo sterke mate te geven als de oorspronkelijke cultuur, en om pathogeen te zijn voor proef-

dieren; de mindere vervloeiing der gelatine, na 3 maanden verblijf in water bij kamertemperatuur van een vibrio uit de Seine bij St. Cloud gecultiveerd, doen bij hem het denkbeeld ontstaan aan eene veel vormigheid der cholerabacillen, waarvan de eigenschappen veranderen naar de omstandigheden, waaronder zij geplaatst zijn.

Ik stelde het mij nu ten doel na te gaan, of het werkelijk mogelijk was, door verblijf in water, aan vibrionen, die de cholerarood-reactie gaven, deze eigenschap geheel of gedeeltelijk te ontnemen, en of ook in den groei in eene pepton-keukenzoutoplossing door deze veranderde levenswijze wijziging was gekomen.

SANARELLI vulde 2 groote flesschen met Seinewater en liet daarin, na sterilisatie bij 120° C., eenige druppels cultuur vallen, rein gekweekt uit Seinewater, in de nabijheid van St. Cloud, en die alle eigenschappen bezat van den Kochschen vibrio. ¹⁾

De ééne flesch werd bij kamertemperatuur (20° — 24° C.), de andere in de ijskast (5° — 10° C.) weggezet.

Na ééne maand kon hij weder uit beide flesschen de vibrionen kweeken, doch deze hadden nu alle

¹⁾ Ann. de l'Inst. PASTEUR 1893, n^o. 10 p. 704 en p. 722.

virulentie verloren, terwijl de nitroso-indolreactie der vibrionen, bij kamertemperatuur gekweekt, veel minder sterk was dan die van de oorspronkelijke cultuur en de choleraroodreactie der komma's uit de ijskast een nauwelijks merkbare verkleuring opleverde.

Om zooveel mogelijk dezelfde omstandigheden te verkrijgen, als waaronder SANARELLI zijne vibrionen in het water liet vertoeven, werden er 12 goed schoongemaakte flesschen van 1 liter inhoud, gevuld met water uit den Krommen Rijn, geschept direct boven de spoorwegbrug te Utrecht, (6 Februari 1894).

Den 6^{en}, 7^{en} en 8^{en} Februari werden deze flesschen telkens gedurende 1½ uur in den stoomsterilisator bij 100° C. gesteriliseerd.

Den 9^{en} Februari werd dit water geïnfecteerd, door aan elke flesch 1 cM³ van 17½ uren in pepton-keukenzoutoplossing gekweekte choleracultures (37° C.) toe te voegen.

Ik bezigde daarbij 4 exemplaren van cholerabacillen in 1893 door Prof. SPRONCK uit open water gekweekt, waarvan de eigenschappen reeds beschreven zijn in het Nederl. Tijdschr. v. Geneeskunde: ¹⁾

¹⁾ Tijdschr. v. Gen. 1893, n^o. 20.

Nº. 1 uit de Dedemsvaart bij Avereest;

Nº. 2 uit den ouden Rijn bij Oudshoorn;

Nº. 3 uit een binnensloot te Aarlanderveen;

Nº. 4 uit de Dedemsvaart te Dedemsvaart.

Voorts maakte ik gebruik van twee exemplaren van *vibrio cholerae*, afkomstig uit dejecties. De één (nº. 5) sinds 1892, de ander (nº. 6) sinds 1893 in het Laboratorium voortgekweekt.

De flesschen, bestemd om bij kamertemperatuur te staan, werden met een A; die, om in de ijskast te verwijlen, met een B gemerkt.

Telkens één A- en één B-flesch werden met één soort cultuur geïnfecteerd.

De infectie geschiedde met dunne, in een lange capillairbuis uitgetrokken, pipetjes, waarop de hoogte van 1 cM³ inhoud was aangegeven. Deze werden aan de eene zijde dichtgesmolten, aan den anderen kant van een wattepropje voorzien, en daarna gesteriliseerd. Even vóór het gebruik werden de pipetjes geflamboyeerd en de dichtgesmolten punt er afgeknepen. Van de pepton-keukenzoutcultuur werd 1 cM³ opgezogen en in de flesschen uitgeblazen.

Voor elke cultuur werd een afzonderlijk pipetje gebruikt.

Aldus verkreeg ik 12 flesschen geënt met 6 cultures:

A₁ en B₁ geënt met n^o. 1.

A₂ „ B₂ „ „ n^o. 2.

A₃ „ B₃ „ „ n^o. 3.

A₄ „ B₄ „ „ n^o. 4.

A₅ „ B₅ „ „ n^o. 5.

A₆ „ B₆ „ „ n^o. 6.

De flesschen A werden in het duister, de flesschen B in de ijskast gezet.

Gedurende 31 dagen waren de flesschen A blootgesteld aan een temperatuur van 17°—26°5 C, de flesschen B aan een temperatuur van 1°—9°C.

Den 12^{en} Maart 1893 werd van elke flesch, na goed schudden en doorblazen met gesteriliseerde pipetjes, 90 cM³ in een, met heet water schoongemaakt, maatglas afgemeten en hieraan 10 cM³ van een gesteriliseerde 10 % pepton en 10 % keukenzout bevattende, met bicarbonas sodae sterk gealkaliseerde vloeistof, toegevoegd. Het mengsel werd dan in gesteriliseerde, met watteproppen afgesloten, kolfjes uitgegoten.

Deze kolfjes werden gedurende 22 uren in de broeistoof bij 37°C geplaatst.

Van het, nu aan de oppervlakte gekomen, vliesje, werd 1 lisje, na éénmalige verdunning in 1 buisje pepton-keukenzout, over 3 buisjes vloeibaar gemaakte gelatine verdeeld en hiervan platen gegoten, die na 24 of meer uren, op cholera-kolonies werden onderzocht.

Op deze wijze gelukte het mij cholera-bacillen te isoleeren uit de flesschen A_1 , A_3 , A_4 , A_5 , en B_3 . Dat uit A_2 en A_6 geen cholera-vibrionen meer waren te kweeken, was afhankelijk van een sterke verontreiniging dezer flesschen met andere bacterien.

De oorzaak dezer verontreiniging moest gezocht worden in een infectie door de pipetjes. Om namelijk de vermindering van het aantal vibronen, door het verblijf in het water, na te gaan, had ik, onmiddellijk na de infectie met de cholera-cultuur, de daarvoor gebruikte pipetjes ten 2^{en} male in het midden der flesschen A_2 en A_6 gestoken, om 1 cM³ van het geïnfecteerde water, op te zuigen.

Waarschijnlijk waren nu, in den tijd tusschen de infectie en de opzuiging, luchtbacteriën op het pipetje gevallen, en had ik dus aan het water andere bacteriën toegevoegd.

Dat in de flesschen B, behalve in B_3 , geen cho-

leravibrionen meer aanwezig waren, moet ik wijten aan de lage temperatuur, die allen gedood had.

Echter bleef mij nog altijd de cultuur uit de B₃ flesch over, om die nog te toetsen aan het resultaat, door SANARELLI verkregen.

Van de platen, die de cholera-kolonies bevatten, werden ieder 2 kolonies afgestoken en in buisjes pepton-keukenzout gebracht. Deze werden gedurende 6 uren bij 37° C. gebroeid.

Van iedere pepton-keukenzoutcultuur werd nu 1 groot lisje opnieuw in een buisje pepton-keukenzout gebracht. Tevens werden 4 andere buisjes pepton-keukenzout ieder met één klein lisje van een 6 uren oude (37° C.) pepton-keukenzoutcultuur der oorspronkelijke agarculturen geënt.

Alle buisjes werden nu gedurende 18 uren bij 37° C. gebroeid en de verschillende cultures onderzocht op troebelheid, oppervlakte-vliesje en cholerarood-reactie.

Hierbij bleek, dat geen verschil te constateeren was; noch in de pepton-keukenzoutcultuur, noch in de intensiteit en het na langeren of korteren tijd verschijnen der cholerarood-reactie, was een onderscheid te vinden tusschen de oorspronkelijke en de na één

maand weder uit water gekweekte cultures, zoodat ik moet concludeeren, dat het leven der vibrionen in water gedurende één maand hen niet ontnemt de nitroso-indolreactie en geen verandering teweegbrengt in hunnen groei in pepton-keukenzoutoplossing.

Mijne resultaten, met 4 choleracultures, waarvan drie watervibrionen, in 1893 in reincultuur gebracht, en één uit dejecties (in 1892) gekweekte komma, komen dus niet overeen met de door SANARELLI verkregene, zoodat het mij toeschijnt zeer wenschelijk te zijn, dat zijne proeven nog in alle opzichten gecontroleerd worden.

Over het verlies van virulentie der vibrionen, door verblijf in water, kon ik geen proeven nemen, aangezien de meest versche, in het Laboratorium aanwezige cultures, hare virulentie reeds verloren hadden, en het mij noch door passage, noch door kweeking op levend eiwit of eidooier (GRUBER en WIENER), noch door opeenvolgende cultures in voedingsvloeistoffen met telkens hooger keukenzoutgehalte (GAMALEIA), gelukte, voldoende toename der virulentie te verkrijgen.

Echter bewijzen de spoedige vermindering van

virulentie, der in het Laboratorium gekweekte cholerabacillen, dat ook op kunstmatige voedingsbodems de choleravibrionen al zeer spoedig hunne giftigheid kunnen verliezen.

Nog een sterk sprekend feit is het volgende:

Waar in protocol n^o 1 de infectie met 1.5 milligram voor een cavia van 300 gram op 4 October doodelijk was, daar bleef van dezelfde cultuur 1.5 milligram bij een cavia van 300 gram op 17 October absoluut zonder eenige werking. In 13 dagen tijd was dus de virulentie duidelijk afgenomen.

HOOFDSTUK IV.

SANARELLI, bij eenige zijner dierproeven, verkreeg het resultaat, dat caviar, voorafbehandeld met op saprophyten gelijkende vibrionen, immuun waren voor letale doses van echte choleravibrionen. Dat dit geen bewijs is van overeenkomst tusschen deze vibrionen en echte cholerabacillen, toonen de proeven van E. KLEIN ²⁾, die èn door intraperitoneale, èn door subcutane injectie van caviar met cultures van *Spirillum Finkler-Prior*, *Bact. Coli Commune*, *Bac. prodigiosus* en *Proteus vulgaris*, na 24 uren, een immuniteit verkreeg tegen doodelijke doses van choleravibrionen. Deze uitkomsten, later ook door SOBERNHEIM ²⁾ verkregen, werden bevestigd door PFEIFFER ³⁾, die echter daarbij verklaart, dat het be-

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. u. Parasitk. Bd. XIII N. 13.

²⁾ Dtsch Med. Wochenschr. 1893.

³⁾ Zeitschrift f. Hyg. u. Infect. Krkh. Bd. XVI. Dl. 2.

wijs nog geleverd moet worden, dat men hier met een echte immuniteit te doen heeft. Waar de proeven van ISAEFF ¹⁾ ten duidelijkste bewijzen, dat door intraperitoneale- of subcutane injectie van de meest verschillende stoffen: physiologische keukenzoutoplossing, serum van gezonden of zieken, urine, 2% mucleïneoplossing, gesteriliseerde bouillon, enz. enz., een meerdere prikkelbaarheid der leucocyten opgewekt wordt, die de cavia beschut tegen intraperitoneale choleraïnfectie, daar kan de immuniteit, verkregen door voorafbehandeling met bijna in alle opzichten van den cholera-vibrio afwijkende komma's, niet pleiten voor een versterking van de hypothese, dat deze bacillen iets met de cholera-spirillen te maken hebben, en blijft altijd nog de vraag over, of deze immuniteit een langdurende is.

Dat de voorafbehandeling van cavia's met levende, zelfs weinig virulente cholera-vibrionen, aan de proefdieren een langdurig weerstandsvermogen verleent tegen intraperitoneale infectie van doodelijke doses virulente cholera-bacillen, bewijzen de protocollen n^o 2 en 2a, n^o 3 en 3a.

¹⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infect. Krkh. Bd. XVI. Dl. 2.

Op den 2^{en} December 1893 werden 6 cavia's, 3 aan 3, intraperitoneaal geïnfecteerd met 2 cholera-cultures, sedert 1892 in het Laboratorium voortgekweekt.

Dat de cultures hare virulentie bijna geheel verloren hadden, bewijst wel, dat de doses van 7 milligram cultuur, bij cavia's van 320 en 325 gram slechts voorbijgaande ziekteverschijnselen gaven. De proefdieren, geïnfecteerd met 3 en 5 milligram vertoonden geene ziekteverschijnselen, ofschoon degene met de cultuur WEZEPE geïnjecteerd met een temperatuursverlaging reageerden. (Zie prot. n^o 2 en n^o 3).

Na 17 dagen werden de aldus voorbehandelde cavia's allen geïnfecteerd met een door passage door het cavialichaam versterkte cultuur, (afkomstig uit dejecties van een patient te Coevorden).

Ieder voorafbehandeld dier werd 3 milligram dezer cultuur geïnjecteerd, terwijl een contrôlecavia een dosis ontving van 1.5 milligram.

Alle voorafbehandelde cavia's reageerden in 't geheel niet met temperatuursverlaging, en vertoonden geen ziektesymptomen, terwijl het contrôledier onder sterke intoxicatieverschijnselen, binnen 24 uren, overleed.. (Zie prot. n^o 2a en n^o 3a). Deze waar-

neming werd reeds door BRIEGER en WASSERMAN ¹⁾ gedaan en mijne proeven dienen dan ook alleen tot bevestiging van hunne resultaten.

Zeer de moeite waard was het zeker na te gaan, of ook voorafgegane behandeling met cultures van andere bacillen deze langdurende immuniteit geven, of dat deze invloed op het cavialichaam slechts door een specifieke werking der cholera-vibrionen wordt gegeven.

Eigen proeven, om deze vraag op te helderen, moest ik staken, omdat, in weerwil van alle pogingen, een voor dit doel gewenschte virulentie niet meer was te verkrijgen.

Alle aangegeven methodes werden beproefd:

I. Passage gaf geen blijvend resultaat. Was eenmaal een zekere virulentie verkregen, dan daalde deze wederom plotseling, zonder dat een reden gevonden kon worden.

II. Ook kweeking op levend eiwit en eidooier van verse eieren, in steriele kolfjes werd beproefd. Vertoonden deze kolfjes, na 3 dagen staan in de

¹⁾ BRIEGER en WASSERMAN. Dtsch med. Wochenschrift. XVII. 31. 1892.

broeistoof van 37° C., geen verontreiniging, dan werden de voedingsbodems geïnfecteerd met een cholera-cultuur en gedurende een maand of aan kamer-temperatuur of aan een warmte van 37° C. of 22° C. blootgesteld waarbij van tijd tot tijd op versch eiwit en eidooier werd overgezet.

Het eidooier bleek een goede voedingsbodem te zijn; in het eiwit bleven de bacillen wel is waar leven, maar van een duidelijke vermeerdering was niets te bemerken.

Een zeer geringe virulentievermeerdering werd door de eidooiercultuur bij kamer-temperatuur verkregen; echter veel te gering en van te voorbijgaanden aard, dan dat zij mij dienen kon voor mijne proefnemingen.

III. Een cultuur uit 's Hertogenbosch, die nog slechts zeer weinig virulent was, werd achtereenvolgens in pepton-keukenzoutsoluties, met om de 2 dagen telkens 1 % hooger wordend keukenzoutgehalte gekweekt, totdat dit gehalte tot 5 % was gestegen. Van toen af werd de cultuur gedurende één maand steeds in pepton-keukenzoutoplossing met 5 % keukenzout gekweekt. Dierproeven toonden in 't geheel geen virulentievermeerdering. Deze methode beproefde

ik naar aanleiding van een mededeeling van GAMALEIA ¹⁾ waarbij G. zegt: En elevant à 3, 4, 5 % la richesse en chlorure de sodium des milieux etc., etc. . . . j'en ai obtenu ces différentes races, qui . . . etc., concordent toutes à ce point de vue capital, à savoir qu'elles donnent une septicémie reinoculable au cobaye et au pigeon.

't Was mij dus niet mogelijk na te gaan, of ook andere bacillen de eigenschap bezitten caviar tegen virulente choleravibronen voor een langen tijd te beschutten.

Dat echter de immuniteit ook door voorafgaande behandeling met cholerabacillen verkregen, de caviar niet beschut tegen een infectie van het darmkanaal, staat op dit oogenblik door de proeven van PFEIFFER en WASSERMAN ²⁾ en van SOBERNHEIM ³⁾ voldoende vast. Bovendien was verleden jaar in het pathologisch Instituut herhaaldelijk waargenomen, dat caviar, die een niet doodelijke dosis van min of meer virulente cholerabacillen in de buikholte hadden ont-

¹⁾ Semaine Med. 1893.

²⁾ PFEIFFER u. WASSERMAN. Ztschr. f. Hyg. u. Infect. Krkh. XIV. p. 56. 1893.

³⁾ SOBERNHEIM. Ztschr. f. Hyg. u. Infect. Krkh. XIV. 1893.

vangen, na aanvankelijk slechts voorbijgaande temperatuurverheffing of verlaging vertoond te hebben, meerdere dagen na de infectie aan echte darmcholera stierven. Terwijl prof. SPRONCK deze waarnemingen elders zal publiceeren, wensch ik hier een drie-tal overeenkomstige feiten mede te deelen, die mij voorkwamen bij mijne dierproeven.

1. *Cavia* n^o 5 (zie prot. n^o 1) werd den 4^{den} October 1893 intraperitoneaal geïnfecteerd met 3 milligram van een cholera-cultuur ('s Hertogenbosch). Het proefdier reageerde met temperatuursverlaging en vertoonde symptomen van ziek zijn; na 2 dagen was het schijnbaar weer geheel hersteld.

Den 12^{en} October werd het dier dood in het hok gevonden.

Bij de sectie vertoonde zich een hyperaemie van het peritoneum, een weinig peritoneaal exsudaat, een paralytische dunne darm.

Gelatine-platen, geïnfecteerd met hartbloed, leversap en peritoneaal exsudaat, bleven steriel.

De gelatine-plaat, geïnfecteerd met een lisje van den darminhoud vertoonde een reincultuur van cholera-kolonies.

2. Een *cavia*, den 2^{en} December 1893 geïnfecteerd

met 1.5 milligram van een cultuur, verkregen uit dejecties van een cholera-lijder te Coevorden, reageerde met temperatuursverlaging, doch herstelde weder. Den 2^{en} Januari 1894 werd het dier dood gevonden. (Zie prot. n^o. IV.)

Sectie: hyperaemie van het peritoneum, weinig peritoneaal exsudaat en een paralytische dunne darm.

Platen geïnfecteerd met hartbloed en peritoneaal-exsudaat, bleven steriel.

Een gelatine-plaat bezaaid met dundarminhoud vertoonde een reincultuur van zeer vele cholera-kolonies.

Eene gelatine-plaat geïnfecteerd met het leversap vertoonde een reincultuur van weinige cholera-kolonies.

3. Een cavia 18 Januari geïnfecteerd met 3.5 milligram van dezelfde cultuur als de cavia n^o. 2, na passage door 4 cavia's, reageerde met verlaging van temperatuur, doch herstelde zich. Den 27^{en} Januari wordt het dier dood in het hok gevonden. (Zie prot. n^o. IV.)

Sectie: hyperaemie van het peritoneum, weinig exsudaat in de buikholte. Paralytische dunne darm.

Gelatine-platen geïnfecteerd met leversap en darm-inhoud vertoonen reincultures van cholera-kolonies.

De gelatine-plaat geïnfecteerd met coloninhoud vertoonde enkele cholera-kolonies naast vele andere. Gelatineplaten geïnfecteerd met peritoneaal exsudaat en hartbloed bleven steriel.

Daar de 3 cavia's met temperatuursverhooging en verlaging reageerden, moet aangenomen worden, dat zij immuun zouden zijn tegen een intraperitoneale infectie van virulente cholera-vibrionen. Toch gaan zij te gronde aan een infectie van den darm.

Daar nu de proeven van PFEIFFER en ISAEFF ¹⁾ bewijzen, dat de phagocytose de hoofdrol vervult in de cholera-immuniteit en antitoxische stoffen daarbij niet in 't spel zijn, is het zeer waarschijnlijk, dat in den darm de vibrionen niet door de leucocyten verhinderd worden in hunne vermeerdering, dat aldus een opeenstapeling komt van vergiftige producten, die bij resorptie in het lichaam den dood moeten veroorzaken.

¹⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infect. Krkh. XVI 2. 1894.

Protocol No. 2.

Datum, 1 December 1893 's morgens 10½ uur.

Intraperitoneale injectie bij Cavia van cholera 47 (1892).

Cultuur oud 18 uur (37° C.) Injectie 10½ uur.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
1. Fuchsine neus.	275 gr.	3 mgrm.	Geene ziektesymptomen.	Temperatuur 1 Dec. 10.30 u. 37.7° C.
			Proefdier op 2 Dec. weer	„ „ 12 „ 37.5° „
			vlug.	„ „ 2 „ 39.1° „
				„ „ 4 „ 38.2° „
				„ „ 6 „ 38.3° „
2. Bruin witte Cavia kop geheel bruin.	300 gr.	5 mgrm.	Geene ziektesymptomen.	Temperatuur 1 Dec. 10.30 u. 37.9° C.
			Proefdier op 2 Dec. weer	„ „ 12 „ 38.4° „
			vlug.	„ „ 2 „ 38.5° „
				„ „ 4 „ 37° „
				„ „ 6 „ 37.3° „
3. Zwart bruine Cavia met witte plek op kop.	320 gr.	7 mgrm.	Voorbijgaande ziekte- symptomen.	Temperatuur 1 Dec. 10.30 u. 37.7° C.
			Proefdier op 2 Dec. weer	„ „ 12 „ 37.9° „
			vlug.	„ „ 2 „ 38.3° „
				„ „ 4 „ 35° „
				„ „ 6 „ 34.4° „

Protocol No. 2a.

Datum, 18 December 1893 's morgens.

Intraperitoneale injectie van vibrio Coevorden (na passage door 4 dieren) bij Cavia's nadat deze reeds geïnjecteerd waren met vibrio 47 (Prot. n^o. 2).

Cultuur oud 18 uur (37° C, 's morgens 35° C) Injectie 10½ uur.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
1. Fuchsine neus.	285 gr.	3 mgrm.	Geene ziektesymptomen. Dier sterft 14 Jan. 1894. Sectie vertoont eene algemeene tuberculose. Gelatine-platen van hartbloed, leversap, peritoneaalexudant en dunne darm steriel.	Temperatuur 18 Dec. 9.30 u. 37.9° C. " " 12 " 38.9° " " " 2 " 39.3° " " " 4 " 39.7° " " " 6 " 39° " " 19 Dec. 9 " 38.3° " 14 Jan. 1894. Doodgevonden in hok.
2. Bruin witte Cavia kop geheel bruin.	325 gr.	3 mgrm.	Geene ziektesymptomen.	Temperatuur 18 Dec. 9.30 u. 38.4° C. " " 12 " 40.3° " " " 2 " 39.2° " " " 4 " 37° " " " 6 " 37.7° " " 19 Dec. 9 " 38.2° "

No. der Caviar.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
3. Zwart bruine Cavia met witten plek op kop.	325 gr.	3 mgrm.	Geene ziektesymptomen.	Temperatuur 18 Dec. 9.30 u. 38.5° C. „ „ 12 „ 39.7° „ „ „ 2 „ 38.7° „ „ „ 4 „ 36.8° „ „ „ 6 „ 37.7° „ „ 19 Dec. 9 „ 39° „

Protocol No. 3.

Datum, 1 December 1893 's morgens 10½ uur.

Intraperitoneale injectie bij Caviar van cholera Wezoep (1892) ter inumseering.

Cultuur oud 18 uur (37° C.)

No. der Caviar.	Gewicht.	Dosis,	Resultaat.	Aanmerkingen.
4. Bruin zwarte Cavia met witten kop.	270 gr.	3 mgrm.	Geene ziektesymptomen. Proefdier op 2 Dec. weer vlug.	Temperatuur 1 Dec. 10.30 u. 37° C. „ „ 12 „ 37.7° „ „ „ 2 „ 38.7° „ „ „ 4 „ 35.5° „ „ „ 6 „ 35.5° „ 2 Dec. Dier gezond.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
5.				
Wit zwarte Cavia.	290 gr.	5 mgrm.	Geene ziektesymptomen.	Temperatuur 1 Dec. 10.30 u. 37.5° C.
			Proefdier op 2 Dec. weer	„ „ 12 „ 38.5° „
			vlug.	„ „ 2 „ 39.1° „
				„ „ 4 „ 36.1° „
				„ „ 6 „ 35.1° „
				2 Dec. Dier gezond.
6.				
Cavia gele neus.	350 gr.	7 mgrm.	Voorbijgaande ziektesymp-	Temperatuur 1 Dec. 10.30 u. 38.2° C.
			tomen.	„ „ 12 „ 38.3° „
			Proefdier op 2 Dec. weer	„ „ 2 „ 38.9° „
			vlug.	„ „ 4 „ 35.6° „
				„ „ 6 „ 35.3° „
				2 Dec. Dier gezond.

Protocol No. 3a.

Datum, 18 Dec. 1893 's morgens 10½ uur.

Intraperitoneale injectie van vibrio Coevorden bij Cavia (na passage door 4 dieren), nadat deze reeds geïnjecteerd waren met vibrio Wezepe (Prot. No. 3).

Cultuur oud 18 uren (ingezet bij 37° C. 's morgens stond stoof 35° C.) Injectie 10½ uur.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
4. Bruinzwarte Cavia witte kop.	230 grm.	3 mgrm.	Geene ziektesymptomen.	Temperatuur 18 Dec. 1.30 u. 39.2° C.
			Dier doodgevonden 27 Dec.	„ „ 12.— „ 37.8° „
			Sectie vertoont tuberculose van de organen.	„ „ 2.— „ 38.2° „
			Gelatine-platen van hartbloed, leversap, peritoneaal exudaat en dunne darm steriel.	„ „ 4.— „ 37.4° „
				„ „ 6.— „ 38.4° „
				„ 19 „ 9.— „ 38.6° „
				Dier vlug en gezond. 27 Dec. 4.30 u. Dier dood in hok gevonden.
5. Wit zwarte Cavia.	370 grm.	3 mgrm.	Geene ziektesymptomen.	Temperatuur 18 Dec. 9.30 u. 39.1° C.
			Dier doodgevonden 14 Jan.	„ „ 12.— „ 39.6° „
			Sectie vertoont tuberkels in lever, peritoneum en longen.	„ „ 2.— „ 38.1° „
			Gelatine-platen van hartbloed, lever, peritoneaal exudaat en dunne darm steriel.	„ „ 4.— „ 37.9° „
				„ „ 6.— „ 38.5° „
				„ 19 „ 9.— „ 38.6° „
				Dier vlug en gezond. 14 Jan. 1894. Dier dood in hok.

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
6. Cavia gele neus.	275 grm.	3 milli-gram.	Geene ziektesymptomen.	Temperatuur 18 Dec. 9.30 u. 38.7° C. „ „ 12.— „ 39.3° „ „ „ 2.— „ 38.6° „ „ „ 4.— „ 35.8° „ „ „ 6.— „ 38.1° „ „ 19 „ 9.— „ 38.4° „ Dier vlug en gezond.
7. Proefdier. Versche Cavia zwartbruin, linker achterpoot wit, kop rechts wit, links zwart.	280 grm.	1,5 milli-gram.	+ Dier sterft binnen 24 uren. Choleravibrionen in lever- sap, peritoneaal-exsu- daat en dunne darm.	Temperatuur 18 Dec. 9.30 u. 38.7° C. „ „ 12.— „ 39.3° „ „ „ 2.— „ 38.3° „ „ „ 4.— „ 35.8° „ „ „ 6.— „ 35.0° „ 19 Dec. Dier dood in hok.

Protocol No. 4.

Datum, 2 December 1893 's morgens 10 uur.

Intraperit. injectie bij een Cavia van vibrio Coevorden.

Cultuur oud 18 uren (37° C.).

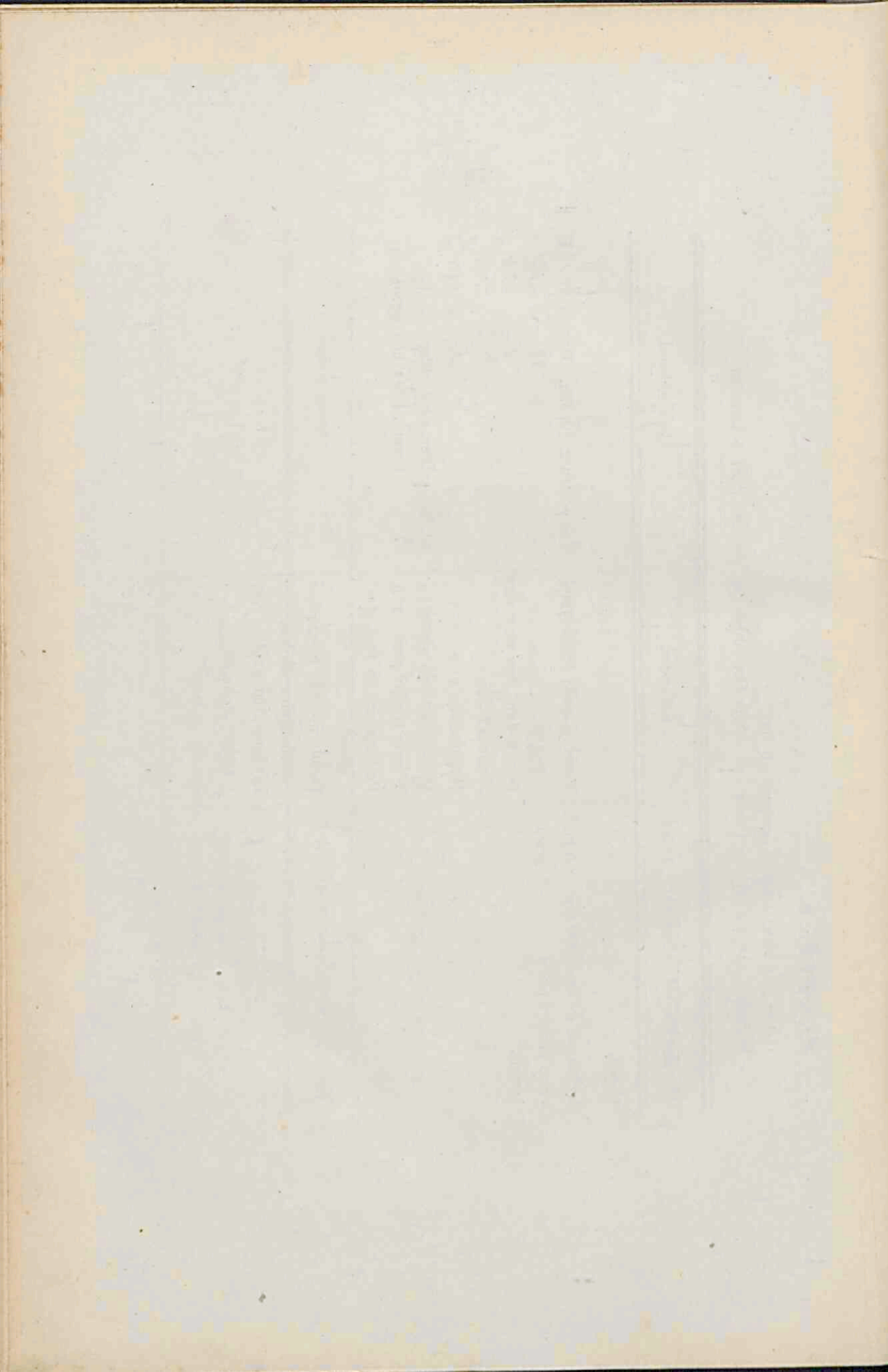
No. der Cavia's.	Gewicht	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
9. witte Cavia.	325 grm.	1.5 milli-gram.	Voorbijgaand. Ziektesymptomen. Op 3 Dec. dier weer vlug. 2 Jan. dood gevonden. <i>Sectie</i> weinig perit. exud. Hyperaemie v. perit. Paralytische dunne darm. Darm- en leverplaten cholerakol Andere platen stierel.	Temperatuur 2 Dec. 10.— u. 38.0° C. „ „ 12.— „ 39.0° „ „ „ 2.— „ 38.7° „ „ „ 4.— „ 36.4° „ „ „ 6 — „ 35.8° „ „ 3 „ 11.— „ 38.6° „ Dier weer vlug. 2 Jan. 1894. Dood gevonden.

Protocol No. 5.

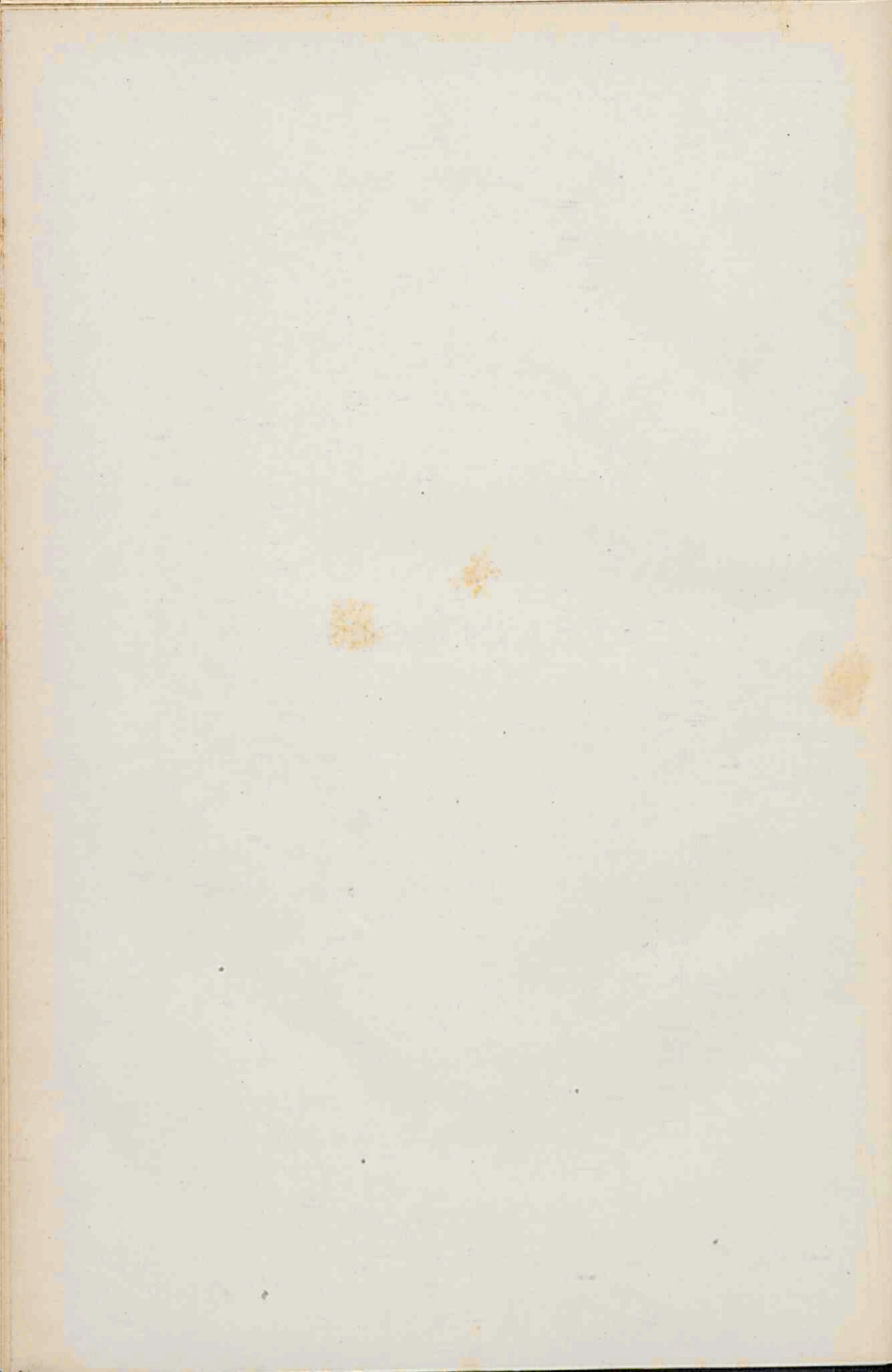
Datum, 18 Jan. 1894 's morgens 10 uur.

Intraperit injectie bij een Cavia van vibrio Coevorden (na passage door 4 Cavia's).

No. der Cavia's.	Gewicht.	Dosis.	Resultaat.	Aanmerkingen.
28.				
Rechts van de kop	300 grm.	3.5 milli-	Voorbijgaande ziektesymp-	Temperatuur 10 Jan. 10.— u. 38.0° C.
kop bruin, links		gram.	tomen.	„ „ 12.— „ 37.7° „
zwart.			Op 19 Jan. dier weer vlug	„ „ 2.— „ 37.4° „
			Sectie 27 Jan.	„ „ 4.— „ 36.8° „
			Hypernemie v. perit.	„ „ 6.— „ 34.7° „
			Dunne darm paralytisch.	19 Jan. Dier weer vlug.
			Weinig troebel perit. exud.	27 „ Dood in het hok gevonden.
			Peritoneum- en hart-plaat	
			steriel.	
			Dundarm- en lever-plaat	
			reincultuur cholera.	
			Dikdarmplaat cholera ook	
			andere kolonies.	



STELLINGEN.



STELLINGEN.

I.

Subcutance injecties van cholera-cultures of hunne producten, om bij den mensch immuniteit op te wekken tegen darmcholera, zijn nutteloos.

II.

Ten onrechte ontkent KOCH in alle gevallen, den vibrio Finkler-Prior, als oorzaak van de cholera nostras.

III.

Een systematisch onderzoek der Nederlandsche rivieren, op daarin voorkomende vibrionen, moest van wege het Geneeskundig-Staatstoezicht geschieden.

IV.

Het bestaan van eene negatieve chemotaxis bij de leucocyten is niet bewezen.

V.

Bij een bekkenvernauwing tot 7 cM. conjugata vera moet symphyseotomie Sectio Caesarea vervangen, wanneer het kind normaal van grootte en het bekken niet ankylotisch is.

VI.

Bij carcinoom van de maag is van de zoogenaamde los gebonden zoutzuur, niet de geheele hoeveelheid werkzaam voor de eiwitvertering.

VII.

Voor den praktischen Arts is de methode van zoutzuurbepaling, door HONIGMANN en VAN NOORDEN aangegeven, de beste.

VIII.

Oedemen bij nephritis zijn niet het gevolg van hydraemie.

IX.

Infusie dient te geschieden met de vloeistof van LANDERER.

X.

De behandeling van tuberculose met kaneelzuur verdient aanbeveling.

XI.

Snelle demorfinisatie is de beste behandeling bij morfinisme.

XII.

Variola en vaccinola zijn niet afhankelijk van dezelfde oorzaak.

XIII.

De Berkefeld-filter beantwoordt niet aan zijn doel.

XIV.

Acute cornea- en Irisaandoeningen behandelde men met subconjunctivale sublimaatinjecties.

XV.

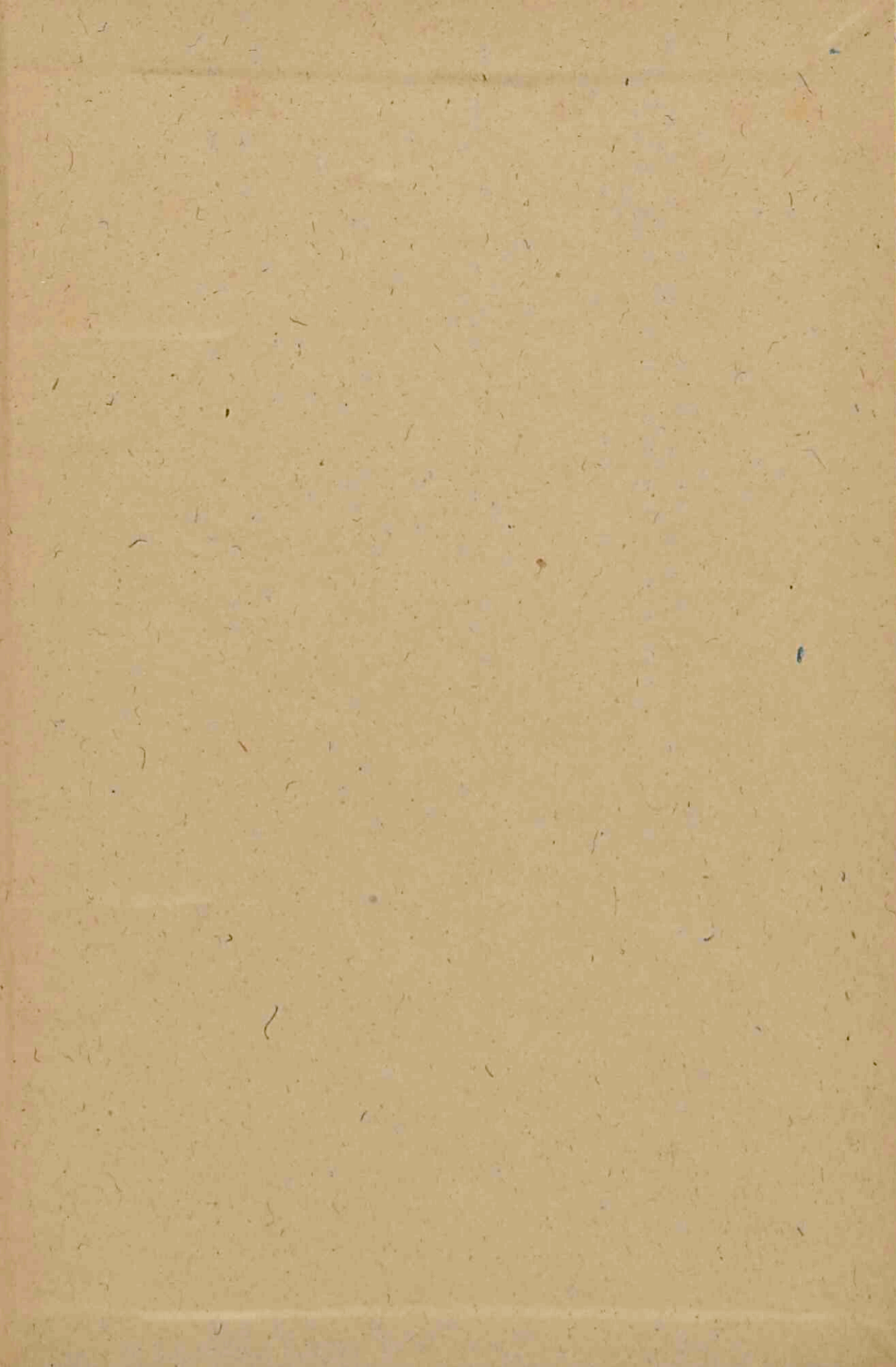
ALTMANN heeft niet bewezen dat de door hem ontdekte granula, levende elementen zijn.

XVI.

Het niet ontstaan van eene collateraal bloedsomloop is geen contraindicatie voor de onderbinding van de vena femoralis vlak onder het ligamentum van Poupart.

XVII.

Er bestaan in het ruggemerg geen anatomische verbindingen tusschen sensibele en motorische elementen.



A
1