



Over de spontane verzwakking der virulentie van den diphtherie-bacil (Klebs-Loeffler)

<https://hdl.handle.net/1874/240524>

4192

21 Mt
1890

J. M. REBEL

OVER DE

SPONTANE VERZWAKKING DER VIRULENTIE

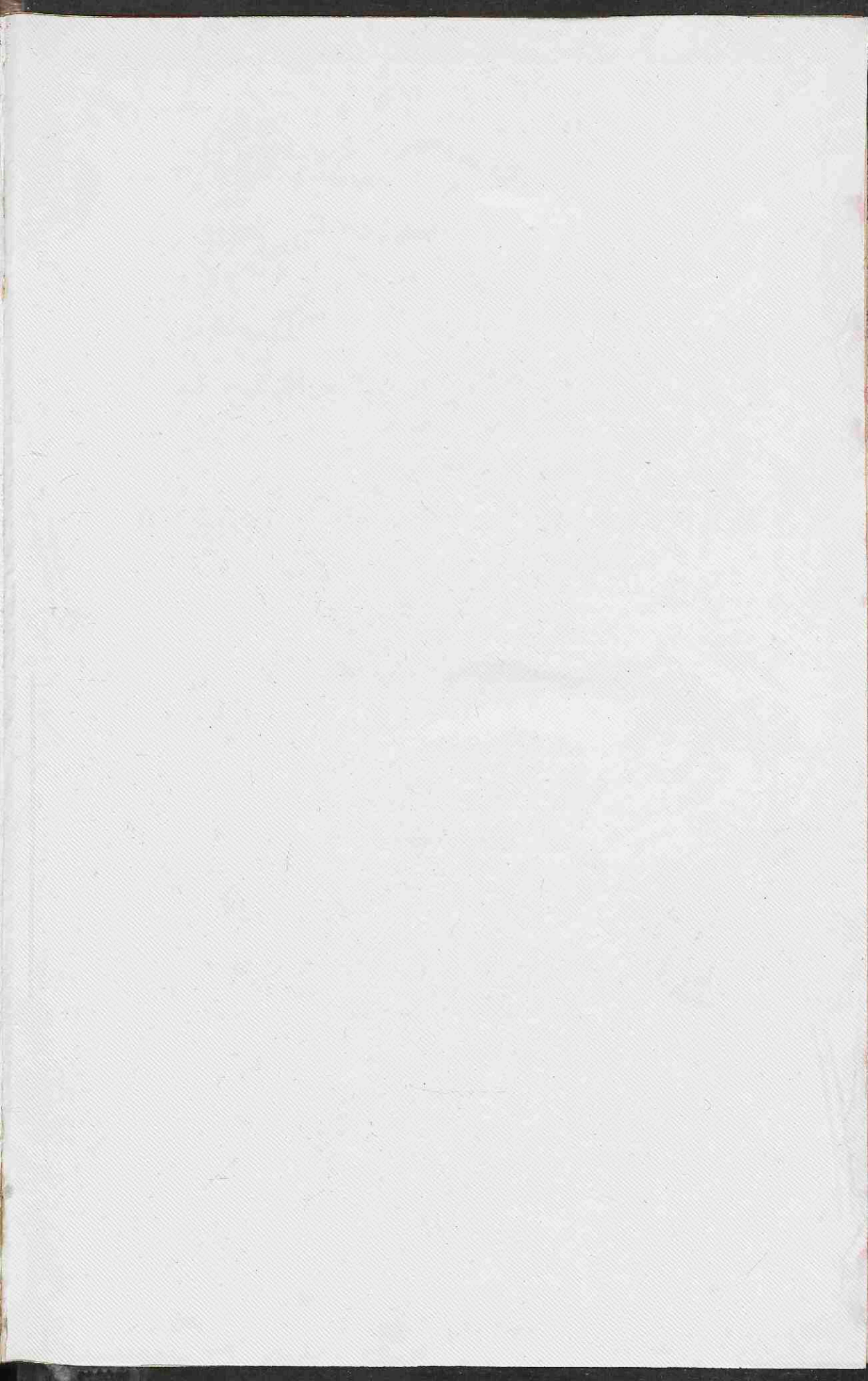
VAN DEN

DIPHTHERIE-BACIL,

- Klebs-Loeffler. -

u.

A. qu.
192



REVISED

of the

of the

of the

of the

of the

of the

of the

of the

MARINUS REBEL



OVER DE SPONTANE VERZWAKKING DER VIRULENTIE

VAN DEN

Diphtherie-bacil, (Klebs—Loeffler.)

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD

VAN

Doctor in de Geneeskunde

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,

NA MACHTIGING VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS

Dr. J. A. C. OUDEMANS

Hoogleraar in de Faculteit der Wis- en Natuurkunde

MET TOESTEMMING VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT

TEGEN DE BEDENKINGEN VAN

DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE

TE VERDEDIGEN

op Vrijdag 21 Maart 1890, des namiddags ten 4 $\frac{1}{2}$ ure

DOOR

JACOBUS MARINUS REBEL, ARTS,

geboren te Almen.



UTRECHT — KEMINK & ZOON — 1890.

STATE OF NEW YORK

IN SENATE

JANUARY 18, 1890

REPORT

OF THE

COMMISSIONERS OF THE LAND OFFICE

FOR THE YEAR 1889

ALBANY:

1890

PRINTED BY THE STATE PRINTING OFFICE

AAN MIJNEN VADER.

THE HISTORY OF THE UNITED STATES

OF AMERICA
FROM THE FIRST DISCOVERY
TO THE PRESENT TIME
BY
JOHN B. HENNINGSHAW
OF THE UNIVERSITY OF VIRGINIA

5434

Gaarne maak ik van deze gelegenheid gebruik U, Hoog-Geleerde Heeren, leden der medische faculteit, mijn dank te betuigen, voor alles wat Gij tot mijn vorming hebt bijgedragen.

In de eerste plaats is het mij een behoefte U, Hoog-Geleerde SPRONCK, HoogGeachte Promotor, afzonderlijk te gedenken. De hulp en de steun van U ondervonden, bij de samenstelling van dit proefschrift, kan ik niet genoeg op prijs stellen. Wees er van overtuigd dat ik deze steeds in dankbare herinnering zal houden. Ten zeerste blijf ik mij in Uw voortdurende vriendschap aanbevelen.

Gaarne noem ik in de tweede plaats U, HoogGeleerde PEKELHARING. Voor ruim zes jaren gundet Gij mij de eer bij U als assistent op te treden; wat ik daaraan te danken heb gehad, zal mij in mijn verder leven steeds bijblijven.

Niet het minste ben ik U verplicht, HoogGeleerde VAN GOUDOEVER. Ruim vier en een half jaar had ik het voorrecht Uw assistent te zijn. Wat een schat van kennis en ondervinding mij die tijd gebaard heeft, zal een ieder

begrijpen, die het voorrecht heeft gehad Uw leerling te zijn. Ontvang echter niet alleen daarvoor mijn dank, maar tevens voor de zoo vriendschappelijke wijze, waarop Gij gedurende dien tijd met mij hebt omgegaan.

Zeer Geleerde VAN DER MEULEN, Uw degelijk onderwijs en de vele nuttige wenken van U ontvangen, zullen voor mij, daarvan ben ik overtuigd, steeds goede vruchten afwerpen.

INDEELING.

	Pag.
I. Inleidng	1
II. Historisch overzicht	2
III. Eigen onderzoek	21
A. Onderzoek naar de virulentie van bouillon-cultures van verschillenden leeftijd.	
<i>Bijlage a.</i> Beschrijving der proeven	35
Tabellarisch overzicht.	
B. Onderzoek naar de virulentie van serum-cultures van verschillenden leeftijd	65
<i>Bijlage b en c.</i> Beschrijving der proeven	75
Tabellarisch overzicht.	
IV. Aanhangsel	100
<i>Bijlage d.</i>	103
V. Résumé.	106
VI. Stellingen	109

REPORT

1850

The following is a list of the names of the persons who have been admitted to the office of the Secretary of the Board of Education, during the year ending on the 31st day of December, 1850.

1. Mr. J. B. [Name] [Address]

2. Mr. J. C. [Name] [Address]

3. Mr. J. D. [Name] [Address]

4. Mr. J. E. [Name] [Address]

5. Mr. J. F. [Name] [Address]

6. Mr. J. G. [Name] [Address]

7. Mr. J. H. [Name] [Address]

8. Mr. J. I. [Name] [Address]

9. Mr. J. K. [Name] [Address]

10. Mr. J. L. [Name] [Address]

11. Mr. J. M. [Name] [Address]

12. Mr. J. N. [Name] [Address]

13. Mr. J. O. [Name] [Address]

14. Mr. J. P. [Name] [Address]

15. Mr. J. Q. [Name] [Address]

16. Mr. J. R. [Name] [Address]

17. Mr. J. S. [Name] [Address]

18. Mr. J. T. [Name] [Address]

19. Mr. J. U. [Name] [Address]

20. Mr. J. V. [Name] [Address]

21. Mr. J. W. [Name] [Address]

22. Mr. J. X. [Name] [Address]

23. Mr. J. Y. [Name] [Address]

24. Mr. J. Z. [Name] [Address]

25. Mr. J. A. [Name] [Address]

26. Mr. J. B. [Name] [Address]

27. Mr. J. C. [Name] [Address]

28. Mr. J. D. [Name] [Address]

29. Mr. J. E. [Name] [Address]

30. Mr. J. F. [Name] [Address]

31. Mr. J. G. [Name] [Address]

32. Mr. J. H. [Name] [Address]

33. Mr. J. I. [Name] [Address]

34. Mr. J. K. [Name] [Address]

35. Mr. J. L. [Name] [Address]

36. Mr. J. M. [Name] [Address]

37. Mr. J. N. [Name] [Address]

38. Mr. J. O. [Name] [Address]

39. Mr. J. P. [Name] [Address]

40. Mr. J. Q. [Name] [Address]

41. Mr. J. R. [Name] [Address]

42. Mr. J. S. [Name] [Address]

43. Mr. J. T. [Name] [Address]

44. Mr. J. U. [Name] [Address]

45. Mr. J. V. [Name] [Address]

46. Mr. J. W. [Name] [Address]

47. Mr. J. X. [Name] [Address]

48. Mr. J. Y. [Name] [Address]

49. Mr. J. Z. [Name] [Address]

50. Mr. J. A. [Name] [Address]

51. Mr. J. B. [Name] [Address]

52. Mr. J. C. [Name] [Address]

53. Mr. J. D. [Name] [Address]

54. Mr. J. E. [Name] [Address]

55. Mr. J. F. [Name] [Address]

56. Mr. J. G. [Name] [Address]

57. Mr. J. H. [Name] [Address]

58. Mr. J. I. [Name] [Address]

59. Mr. J. K. [Name] [Address]

60. Mr. J. L. [Name] [Address]

61. Mr. J. M. [Name] [Address]

62. Mr. J. N. [Name] [Address]

63. Mr. J. O. [Name] [Address]

64. Mr. J. P. [Name] [Address]

65. Mr. J. Q. [Name] [Address]

66. Mr. J. R. [Name] [Address]

67. Mr. J. S. [Name] [Address]

68. Mr. J. T. [Name] [Address]

69. Mr. J. U. [Name] [Address]

70. Mr. J. V. [Name] [Address]

71. Mr. J. W. [Name] [Address]

72. Mr. J. X. [Name] [Address]

73. Mr. J. Y. [Name] [Address]

74. Mr. J. Z. [Name] [Address]

75. Mr. J. A. [Name] [Address]

76. Mr. J. B. [Name] [Address]

77. Mr. J. C. [Name] [Address]

78. Mr. J. D. [Name] [Address]

79. Mr. J. E. [Name] [Address]

80. Mr. J. F. [Name] [Address]

81. Mr. J. G. [Name] [Address]

82. Mr. J. H. [Name] [Address]

83. Mr. J. I. [Name] [Address]

84. Mr. J. K. [Name] [Address]

85. Mr. J. L. [Name] [Address]

86. Mr. J. M. [Name] [Address]

87. Mr. J. N. [Name] [Address]

88. Mr. J. O. [Name] [Address]

89. Mr. J. P. [Name] [Address]

90. Mr. J. Q. [Name] [Address]

91. Mr. J. R. [Name] [Address]

92. Mr. J. S. [Name] [Address]

93. Mr. J. T. [Name] [Address]

94. Mr. J. U. [Name] [Address]

95. Mr. J. V. [Name] [Address]

96. Mr. J. W. [Name] [Address]

97. Mr. J. X. [Name] [Address]

98. Mr. J. Y. [Name] [Address]

99. Mr. J. Z. [Name] [Address]

100. Mr. J. A. [Name] [Address]

I. Inleiding.

In aansluiting aan de onderzoekingen, verricht in het pathologisch laboratorium alhier, betreffende de pathogene beteekenis van den diphtherie-bacil Klebs-Loeffler, verrichtte ik enkele reeksen van proeven, om na te gaan of de diphtherie-bacil feitelijk zijn virulentie gaandeweg verliest, zooals het eerst door von Hofmann is medegedeeld. In de navolgende bladzijden zal ik gelegenheid vinden om er op te wijzen, hoe deze spontane verzwakking, door von Hofmann geconstateerd, aanleiding heeft gegeven tot de ontwikkeling van een nieuwen strijd over de beteekenis van den diphtherie-bacil. In de eerste plaats stelde mijn onderzoek zich dus ten doel in dezen klaarheid te brengen, door 1° na te gaan of de bedoelde verzwakking inderdaad plaats heeft, en 2° welke beteekenis aan deze verzwakking moet worden toegekend.

II. Historisch overzicht.

Voor hen die met de litteratuur betrekking hebbende op den Klebs-Loefflerschen bacil bekend zijn, zal ik nauwelijks behoeven te zeggen, dat aangaande het onderwerp van mijn proefschrift, betrekkelijk weinig bekend is. In de eerste plaats moet dan vermeld worden, dat von Hofmann het eerst in een voorloopige mededeeling, in 1888 verschenen, medegedeeld heeft, dat reincultures van den diphtheriebacil op Loeffler's serum gekweekt, gaandeweg haar virulentie verliezen, zoodat zij reeds na ééne maand hare pathogene eigenschappen ten eenenmale hadden verloren.

Het zal intusschen gewenscht zijn, wat nader bij deze kwestie stil te staan, omdat von Hofmann's waarneming tot verschillende conclusies heeft aanleiding gegeven, die, te oordeelen naar de resultaten van mijn onderzoek, volkomen onjuist moeten worden genoemd. Vooraf zij het gezegd, dat ik het ten zeerste betreur, dat von Hofmann zijn later onderzoek niet uitvoerig heeft medegedeeld. Wellicht toch zouden daarin een aantal punten opheldering gevonden hebben, die thans tot dusverre geheel duister gebleven

zijn. Zooals men weet, is genoemde onderzoeker onlangs te Berlijn het slachtoffer geworden zijner bacteriologische onderzoekingen, zoodat daarmede de uitkomsten zijner proeven, betreffende het onderwerp, dat ons hier bezig houdt, waarschijnlijk voor de wetenschap verloren zullen zijn. Wanneer in de volgende bladzijden herhaaldelijk zal worden aangetoond, dat ik zijne resultaten en conclusiën niet alle onderschrijven kan, geschiedt zulks stellig niet om afbreuk te doen aan den goeden naam, dien deze jeugdige onderzoeker zich reeds in de wetenschap had verworven, maar enkel ter wille van de waarheid in ons weten.

In de hierboven aangehaalde verhandeling doelt von Hofmann ons mede, dat hij in het bezit van een bacil, die morphologisch de grootste overeenkomst vertoonde met den Klebs-Loefflerschen diphtheriebacil, maar van dezen laatsten ten eenen male onderscheiden door zijn absoluut gemis aan virulentie, zich naar Berlijn begaf, om zijn bacil met die van Loeffler te vergelijken. En inderdaad, bij morphologische vergelijking van von Hofmann's avirulente cultures met de virulente van Loeffler, kon geen merkbaar verschil worden vastgesteld. Von Hofmann en Loeffler namen toen de volgende proef. Twee cavia's werden met von Hofmann's, twee andere met Loeffler's bacillen geënt. Het resultaat beantwoordde volstrekt niet aan de verwachting, want evenals de met de avirulente cultuur van von Hofmann geënte

dieren, bleven ook die, welke met de cultures van Loeffler geïnoculeerd waren, volkomen gezond, terwijl deze laatste, zooals men wæet, uiterst gevoelig zijn voor den Klebs-Loefflerschen bacil.

Het negatieve resultaat nu, dat Loeffler bij deze vergelijkende proef kreeg, moet volgens von Hofmann daaraan worden toegeschreven, dat Loeffler in casu met een niet versehe cultuur experimenteerde. En inderdaad in zijn jongste verhandeling erkent Loeffler ¹⁾ de juistheid van von Hofmann's opvatting. Daarin zegt hij: daar ik geen versehe cultuur op dat oogenblik bezat, werd geënt met een oude cultuur die „seit Jahr und Tag" in het instituut bewaard was, zoodat misschien een vermindering der virulentie bestond. Aan de hierboven besproken uitkomst zijner proeven, voegt von Hofmann met betrekking tot de spontane verzwakking der virulentie van den diphtheriebacil nog slechts weinig toe. Dit weinige wensch ik hier met zijne eigene woorden aan te halen, omdat juist deze mededeeling aanleiding gaf tot mijn onderzoek.

Einer mehr zufälligen Beobachtung will ich noch erwähnen, weil sie mich schon zu den irrthümlichen Glauben der spontanen Umzüchtung der einen „physiologischen Art" in die andere gebracht hatte. Viru-

1) Der gegenwärtige Stand der Frage nach der Entstehung der Diphtherie. Deutsche medicin. woch. schr. 1890 n^o. 5 en 6. Seite 83.

lente Kulturen hatten nach vier Wochen die Virulenz wenigstens grösstentheils eingebüsst, während die von den alten Kulturen abgenommenen Tochterkulturen wieder den früheren hohen Virulenz-grad zeigten ¹⁾.

Zoals men ziet, schijnt von Hofmann dit onderzoek niet uitvoerig verricht te hebben, en met name blijkt niet, of zijn resultaat enkel verkregen was bij subcutane injecties van oude cultures bij cavia's, of dat ook andere infectieproeven daarbij verricht werden. Op zich zelf genomen zou deze waarneming van von Hofmann stellig niet in staat geweest zijn, om de pathogene beteekenis van den diphtherie-bacil in twijfel te trekken. Het is immers voldoende bekend, dat meerdere pathogene organismen, wanneer zij geruimen tijd vertoefd hebben op den voedingsbodem, waarop zij tot ontwikkeling zijn gekomen, hunne pathogene eigenschappen in mindere of in meerdere mate plegen te verliezen. Meer omstandigheden kunnen daarbij een zekere rol spelen. In de eerste plaats is het duidelijk, dat de bacterien op deze wijze in ongunstige voedingsverhoudingen geraakt zijn, omdat de voedingsbodem, zooals men het kort pleegt uit te drukken, bedorven is. In de tweede plaats speelt hoogst waarschijnlijk ook het contact der zuurstof in

1) G. v. Hofmann Wellenhof. Untersuchungen über den Klebs-Loefflerschen Bacillus der Diphtherie und seine pathogene Bedeutung. Wiener medicinische Wochenschrift 1888 n^o 3, 4. S. 110.

de lucht zekere rol, wanneer de bacterien althans geen sporen gevormd hadden. Eindelijk kan bij zekere species dáárdoor een verzwakking schijnbaar tot stand komen, dat de bacillen gaandeweg afsterven, welke verklaring onder anderen Pasteur voor de mitigatie van de microben der hondsdolheid, bij zijn welbekende methode van preventieve enting, aanneemt. Ja, het is immers bekend, dat men juist in het laten oud worden van cultures een middel bezit, om zekere pathogene microben te verzwakken, om ze dienstig te maken aan preventieve enting.

Maar von Hofmann's onderzoek bracht andere argumenten aan, die er op schenen te wijzen, dat de virulentie van den Klebs-Loefflerschen diphtherie bacil zeer inconstant was. Nu eens toch vond hij bacillen, die in alle opzichten met die van Loeffler overeenkwamen. Dan weer werden in de pseudo-membranen van lijders aan echte diphtherie-bacillen gevonden, die morphologisch geheel, of bijna geheel met die van Loeffler overeenkwamen, maar totaal avirulent waren, — bacillen die men tegenwoordig met den collectief-naam van pseudo-diphtherie-bacillen bestempelt. Eindelijk vond hij in den pharynx-bacillen, die ook weer morphologisch geheel overeenkwamen met die van Loeffler, maar wier virulentie een geringere was dan die door Loeffler beschreven. In zes gevallen van diphtherie isoleerde von Hofmann bacillen, die nu ja, wel alle virulent waren, maar in

verschillende mate. In sommige gevallen stierven jonge cavia's zeer spoedig na enting met een kleine dosis, terwijl andere dieren slechts dan stierven, wanneer zeer groote doses werden geïnjecteerd, en wel eerst na vijf dagen, of na nog langeren tijd. Hij zag dan tevens ter plaatse van de enting, karakteristieke locaalverschijnselen optreden in den vorm van vaste infiltratie en necrose van het geïnfecteerde weefsel, afstooting der eschara en eindelijk genezing onder vorming van granulatie en littekenweefsel.

Juist deze inconstantie der virulentie, moest, zooals van zelf spreekt, aanleiding geven tot bedenkingen tegen de pathogene beteekenis van den echten diphtherie-bacil, bedenkingen vooral door Baumgarten in zijn *Lehrbuch der Pathologischen Mycologie* ¹⁾ uitvoerig besproken.

Het zou te ver voeren hier uitvoerig uit te weiden over al de bedenkingen, die tegen de opvatting, dat dat de Klebs-Loefflersche bacil de eenige oorzaak van de diphtherie bij den mensch is, kunnen aangevoerd worden; een aantal dier argumenten zijn immers door de jongste onderzoekingen, hierop betrekking hebbende, weerlegd geworden. Alleen zij er op gewezen, dat allen die zich, na de publicatie van von Hofmann's onderzoek, met het onderzoek van diphtheri-

1) P. Baumgarten. *Lehrbuch der Pathologischen Mycologie* II^e Abth. Lief 1. Seite 694. u. f.

sche membranen van den mensch bezig hielden, tot het resultaat zijn gekomen, dat de echte diphtherie-bacil constant de pathogene eigenschappen bezit, het eerst door Loeffler bij dezen bacil beschreven ¹⁾. Daaronder noem ik de uitkomsten door Roux en Yersin ²⁾, door Zarniko ³⁾, door Escherich ⁴⁾, verkregen, voorts de resultaten in het pathologisch instituut alhier, bij het onderzoek der epidemie te Horn ⁵⁾. Wel bleek herhaaldelijk dat in de mondholte van den mensch een bacil wordt aangetroffen, die morphologisch veel overeenkomst met den Klebs-Loefflerschen diphtherie-bacil bezit, maar totaal avirulent is (Loeffler ⁶⁾, Zarniko ⁷⁾, Escherich ⁸⁾.

Het is nu de vraag of de pseudo-diphtherie-bacil met den echten diphtherie-bacil iets te maken heeft;

1) F. Loeffler. Mittheilungen aus dem kaiserlichen Gesundheits-Ambte. Bd. II 1884.

2) Roux et Yersin. Annales de l'Institut Pasteur, 1888 n^o 12 1889 n^o 6.

3) C. Zarniko. Beitrag zur Kenntnis des Diphtherie-bacillus. Inaugural-Dissertation. Kiel 1889.

4) Escherich. Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. 1890.

5) C. H. H. Spronck, E. Wintgens en J. A. van den Brink. De diphtherie-bacil (Klebs-Loeffler) en zijn pathogene beteekenis. Weekblad v. h. Ned. Tijdschrift v. Geneeskunde. n^o 22 en n^o 23. 25^{ste} jaargang. Deel II 1889.

6) F. Loeffler. Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. Bd. II 1887 n^o 4.

7) C. Zarniko. l. c.

8) Escherich. l. c.

of men met twee bacterienspecies te doen heeft, of wel dat beide tot een en dezelfde soort behooren. Neemt men het laatste aan, dan zoude men tevens moeten veronderstellen, dat deze bacterie tot zekere hoogte wisselende vorm- en groei-verschillen kon aanbieden, en dat zij daaronboven een spontane overgang tusschen een infectieusen en een niet-infectieusen toestand zoude kunnen aannemen, waarop Baumgarten de aandacht vestigt 1).

Intusschen moet er op gewezen worden, dat er toch een aantal punten van verschil tusschen beide organismen valt aan te wijzen. De groei der beide bacterien heeft dezelfde temperatuur-grenzen, en is op Loeffler's serum dezelfde. Op Agar-Agargelei groeit daarentegen de avirulente bacil vrij weelderig, terwijl de virulente slechts een dun grijs-wit laagje aan de oppervlakte vormt.

Eindelijk heeft Zarniko er op gewezen, dat de cultuur in bouillon punten van verschil aanwijst. Het bezinksel dat bij de cultuur van den pseudo-dyphtherie-bacil gevormd wordt, doet zich compacter en witter voor, dan dat van den virulenten bacillus. Terwijl verder, zooals bekend is, de diphtherie-bacil binnen weinige dagen aan de voedingsbouillon een vrij intensieve zure reactie geeft, behoudt de bouillon bij den pseudo-diphtherie-bacil hare alcalische reactie. Ziedaar

1) P. Baumgarten. l. c. Seite 701.

de voornaamste differentieele kenmerken, die er vallen aan te wijzen, want de geringe verschillen die de kleur der serum-cultures aanbiedt, evenals het feit, dat de cel-individuën bij den pseudo-dyphtherie-bacillus een weinig korter en dikker zijn dan die van den virulenten vorm, kunnen, zooals van zelf spreekt, nauwelijks in aanmerking genomen worden. Zijn pseudo-dyphtherie-bacil en diphtherie-bacil, zoo schrijft Baumgarten, twee verschillende bacterien-species, dan zou men eerstens moeten toegeven, dat de diphtherie-bacil, ook zonder aanwezigheid van diphtherie, vaker in de mondholte voorkomt, en dat zij in de tweede plaats, wat wel het belangrijkste is, zoowel binnen als buiten het menschelijk organisme, gedeeltelijk spontaan, geheel of gedeeltelijk de virulentie zoude kunnen verliezen. Baumgarten meent, dat de identiteit van beide, hoewel niet bewezen, toch waarschijnlijk geacht moet worden. Wanneer men echter in de litteratuur nagaat, of er voldoende gegevens bestaan om aan te nemen, dat de echte diphtherie-bacil vaker in de mondholte van den normalen mensch wordt aangetroffen, dan blijkt intusschen, dat er tot dusverre slechts enkele gevallen daarvan bekend zijn. Het eene betrof een kind, dat volkomen gezond was, en waarbij Loeffler ¹⁾ virulente bacillen uit het slijm van de mondholte kon isoleeren.

1) F. Loeffler. l. c.

Het tweede geval is beschreven door von Hofmann¹⁾ en betrof een individu, dat eveneens geen afwijkingen in larynx of pharynx vertoonde. Eindelijk heeft v. Hofmann²⁾ virulente diphtheric-bacillen aangetroffen in een geval van morbilli, waarbij evenwel een diepe locale affectie in pharynx en larynx aanwezig was. In een daaraan overeenkomstig geval, nl. morbilli met ulcera laryngis, trof ook Babes³⁾ den Klebs-Loefflerschen bacil aan, terwijl hij tevens bij twee niet diphtherische individuen denzelfden bacil zoude hebben gevonden. Ziedaar de zes gevallen die in de litteratuur vermeld zijn, en onder deze gevallen zijn er twee, ulcereuse laryngitides bij morbilli betreffende, die stellig nog twijfelachtig zijn te noemen, omdat ook bij morbilli pharynx-dyphtherie kan voorkomen, en von Hofmann en Babes daaromtrent onvoldoende inlichtingen geven.

Baumgarten⁴⁾ wijst er voorts op, dat volgens zijn meening, het krachtigste argument voor de onderstelling, dat pseudo-dyphtherie-bacillen en dyphtherie-bacillen identisch zijn, nu juist hierin gelegen is, dat de dyphtherie-bacil, zooals von Hofmann aangetoond

1) v. Hofmann. l. c. Seite 110. zie onder c.

2) v. Hofmann. l. c. Seite 110. zie onder a.

3) Victor Babes. Société anatomique 29 Janvier 1886. Progrès médical 20 Février 1886. Zeitschrift für Hygiene Bd. V 1888 Pag. 178.

4) Baumgarten. l. c. Seite 702.

heeft, zijn karakteristieke eigenschap, met name de infectiositeit, spontaan geheel kan verliezen. Kan dit geschieden, zegt hij voorts, dan kan men ook de mogelijkheid niet van de hand wijzen, dat dezelfde bacil uit den niet-virulenten toestand weder spontaan in den virulenten toestand kan terugkeeren, zoodat hij tot de onderstelling komt, dat men hier enkel te doen heeft met een wisseling tusschen een virulenten (parasitair), en een avirulenten (saprofytischen), levenstoestand van een en denzelfden bacil.

Juist met het oog op deze belangrijke kwestie is het, dat een nader onderzoek van de spontane verzwakking der diphtherie-cultures hoogst wenschelijk te achten is. Vooral ook wanneer men bij Roux en Yersin ¹⁾ aan het einde van hun eerste verhandeling leest: *Peut-être ce bacille est il très répandu? Peut-être est il l'hôte fréquent et inoffensif de la bouche et du pharynx? Dépourvu de virulence et impuissant devant une muqueuse saine, il se développera si la muqueuse s'inflamme ou se dépouille de son revêtement d'épithélium. Sur ce milieu favorable il reprendra sa virulence et élaborera son poison, qui va pénétrer l'organisme: lui même sera prêt pour de nouvelles contagions. Ce sont là des hypothèses, mais elles ne sont pas en contradiction avec les expériences faites et elles en suggèrent de nouvelles.*"

1) Roux et Yersin. l. c. page 647.

Zooals men ziet, kan men uit deze opvatting van Roux en Yersin afleiden, dat ook zij, evenals v. Baumgarten van meening zijn, dat er naast virulente ook feitelijk avirulente diphtherie-bacillen bestaan, en dat de eene in den anderen vorm kan overgaan. Baumgarten, en naar het schijnt ook Roux en Yersin, gronden hunne opvatting voornamelijk op de mededeelingen van von Hofmann, die wij hierboven uitvoeriger hebben besproken en aangehaald. De eigen onderzoekingen toch, door Roux en Yersin aangaande de virulentie van oude cultures verricht, gaven geen aanleiding om de door hen uitgesprokene hypothese te staven. Het zijn juist deze onderzoekingen die, evenals de mijne, naar aanleiding van de uitkomsten van von Hofmann genomen, hier nader vermeld moeten worden, omdat zij zich voor een deel hetzelfde ten doel stelden als de mijne. De genoemde onderzoekers zeggen in hun eerste mémoire ¹⁾: Wanneer de cultures oud zijn, treedt de dood der dieren in het algemeen niet zoo snel op, dan wanneer men jeugdige cultures bezigt, maar wanneer men de cultuur overent, krijgt zij onmiddellijk hare volledige virulentie terug. Een serum-cultuur, die bij gewone temperatuur 5 maanden in het duister bewaard was, doodde bij inoculatie een cavia binnen 5 dagen; een jeugdige dochter-cultuur daarentegen, doodde een andere

1) l. c. pag. 636.

cavia binnen 24 uren. Zij zeggen voorts: „Il n'y avait donc pas à proprement parler, d'abâténuation de la culture ancienne.” En verder: „Il ne parait donc pas, que la virulence de la bacille de Klebs soit aussi fragile que quelques auteurs l'ont prétendu. Eindelijk wijzen zij er op, dat de wisselingen der virulentie zich evenwel dan openbaren, wanneer men op dieren experimenteert die minder gevoelig zijn dan cavia's. De injecties van oudere cultures onder de huid bij duiven, in het bloed bij konijnen, veroorzaakten niet den dood van de dieren; zij hadden in het geheel geen effect, of konden aanleiding geven tot tardieve paralyzen.

De uitkomsten van Roux en Yersin komen dus niet geheel overeen met die van von Hofmann. Jammer dat Roux en Yersin de protocollen hunner proeven niet hebben medegedeeld; hoeveel proeven zij hebben genomen, wordt niet vermeld.

Uit mijne onderzoekingen, die in de volgende hoofdstukken zullen ter sprake komen, kan ik, wel verre van eenig argument te putten, dat vóór de opvattingen van Baumgarten en Roux en Yersin spreekt, op een aantal omstandigheden wijzen, die tegen hun zienswijze pleit. Eindelijk moet hier nog vermeld worden, dat zoowel von Hofmann als Loeffler, die beide aannemen dat de pseudo-diphtherie-bacil met den echten diphtherie-bacil niets te maken heeft, gewezen hebben op de mogelijkheid, dat er misschien

nog meerdere species van bacillen zullen gevonden worden, die zekere overeenkomst met den diphtherie-bacil aantoonen, wat morphologische en culturiëele eigenschappen betreft. Neemt men in aanmerking, hoe betrekkelijk gering onze kennis der bacterie-flora nog is, dan zal men stellig die mogelijkheid moeten erkennen. Het zou zeker gewenscht zijn, om nadere onderzoekingen in te stellen aangaande het bestaan en voorkomen van zulke vormen van bacillen, veel overeenkomst vertoonende met den echten diphtherie-bacil. Ook Loeffler zegt in zijne laatste, hierboven aangehaalde verhandeling, dat een nauwkeurige vergelijking van pseudo-diphtherie-bacillen met ware diphtherie-bacillen hoogst noodzakelijk is. Hij wijst bij die gelegenheid er op, dat behalve de zoogenaamde pseudo-diphtherie-bacillen ook de xerose-bacillen en de gonidiën-vormende bacillen van Neisser, waarschijnlijk met de door Babes bij trachoom gevondene bacillen, zooals laatstgenoemde onderzoeker aanneemt, tot één en denzelfden groep of natuurlijke familie behooren, waaronder ook de echte diphtherie-bacillen moeten gerangschikt worden.

Het lag derhalve voor de hand, in de eerste plaats den diphtherie-bacil zelve aan een nauwkeurige studie te onderwerpen, om na te gaan, of deze misschien nieuwe argumenten zou kunnen aanbrengeu, die een spontanen overgang van den virulenten in den niet-virulenten vorm waarschijnlijk maken. Alvorens over

te gaan tot de behandeling mijner onderzoekingen, wensch ik nog op enkele bijzonderheden der cultures van den echten diphtheric-bacil opmerkzaam te maken, die in nauw verband staan met mijn onderzoek. Met name wensch ik op den voorgrond te stellen, het verschil dat er bestaat tusschen de cultures op serum, zooals ze bij voorkeur door Loeffler bij zijn onderzoek gebruikt worden, en bouillon-cultures door Roux en Yersin bij voorkeur bij hunne onderzoekingen gebezigd. Het is gebleken, dat beide cultures met betrekking tot de werking, die zij bij dieren uitoefenen, groote verschillen opleveren. Terwijl toch serum-cultures voornamelijk in verschen toestand zeer werkzaam zijn, en, zooals hierboven besproken is, volgens von Hofmann, hare virulentie gaandeweg verliezen, hebben daarentegen Roux en Yersin op overtuigende wijze aangetoond, dat bouillon-cultures, bij 33° C. gehouden, gaandeweg een intensievere werking op de proefdieren gaan uitoefenen. De juistheid van de onderzoekingen van Roux en Yersin bleek ook bij de onderzoekingen, die door van den Brink in het pathologisch instituut alhier werden verricht.

Het verschil nu, dat tusschen serum- en bouillon-cultures bestaat, zetelt in hoofdzaak hierin, dat op Loeffler's serum de cultuur weldra haar maximalen groei bereikt, en de bacillen slechts betrekkelijk geringe kwantiteiten diphtherie-vergif aan de oppervlakte

van den vasten voedingsbodem vormen, terwijl daarentegen in bouilloncultures de productie van diphtherie-gif weken lang blijft aanhouden. Het is alsof aan de oppervlakte van den vasten voedingsbodem de bacillen het voedsel moeilijker tot zich kunnen trekken en daardoor niet in staat zijn diphtherie-vergif in groote hoeveelheid te produceeren. In het vloeibare medium daarentegen, kunnen zij in veel ruimere mate over de in oplossing verkeerende voedingsstoffen beschikken en produceeren nu, zooals de ervaring leert, voortdurend diphtherie-vergif, dat zich in betrekkelijke groote quantiteit in de vloeistof ophoopt. Deze ophooping van diphtherie-vergif in bouillon-cultures uit zich door de grootere vergiftigheid van oude dan van jeugdige cultures, wat duidelijk wordt, wanneer men de cultures onder de huid, in de spieren, in het bloed of in de buikholte der proefdieren injicieert. Roux en Yersin hebben er met nadruk op gewezen, dat men deze toenemende vergiftigheid der bouillon-cultures volstrekt niet mag verwisselen met haar virulentie. De oudere cultures dooden de proefdieren, zooals wij later uitvoerig zullen zien, door vergiftiging. Roux en Yersin toonden immers, evenals van den Brink, aan, dat bacillenvrije filtraten van oude bouillon-cultures dezelfde werking hebben als die, welke de bacillen bevatten. Wat evenwel betreft de virulentie der bacillen, waaronder wij verstaan het vermogen der bacillen om zich aan de opper-

vlakke van, of in het levend organisme te vermenigvuldigen, daaromtrent heeft men tot dusverre bouilloncultures niet nader onderzocht. Hieromtrent juist hebben mijne proeven nadere uitkomsten gegeven, die in het volgende hoofdstuk behandeld worden.

Nog één punt wensch ik ter sprake te brengen, alvorens tot eigen onderzoek over te gaan. In den loop dezer beschouwing heb ik op den voorgrond gesteld, dat de nieuwere onderzoekingen alle leerden, dat de virulentie van den echten diphtherie-bacil een constante was. Men zou mij echter kunnen tegenwerpen, dat niet enkel de onderzoekingen van von Hofmann argumenten daartegen hebben aangebracht, maar dat bij een vergelijking van de resultaten van Roux en Yersin met die van Loeffler evenzoo, ofschoon in mindere mate, punten van verschil vallen aan te wijzen. Terwijl von Hofmann wisselende resultaten verkreeg bij cavia's, dieren die uiterst gevoelig zijn voor den diphtherie-bacil — de eenige proefdieren die hij bij zijne onderzoekingen schijnt gebezigd te hebben — vindt men bij vergelijking van de uitkomsten van Loeffler en Roux en Yersin, wat de proeven bij konijnen betreft, een vrij aanzienlijk verschil in resultaat. Terwijl toch konijnen, die van Loeffler subcutaan of intra-venens een vrij groote quantiteit bacillen ontvangen hadden, zonder uitzondering in leven bleven, hebben Roux en Yersin medegedeeld, dat konijnen op dezelfde wijze met een

niet te geringe dosis bacillen geïnfecteerd, in den regel stierven. En ook in de proeven, die in het pathologisch instituut alhier genomen werden, met de cultures der Hornsche epidemie, werden konijnen in de meeste gevallen gedood, wanneer ze 1 c.M.³ cener bacillenrijke vloeistof intraveneus of subcutaan ontvangen hadden.

Heeft men misschien het recht uit deze verschillen af te leiden, dat de cultures van Loeffler in mindere mate virulent waren dan die van Roux en Yersin en de onze? Dat, met andere woorden, even zoo goed verschil van virulentie te bespeuren valt tusschen onze cultures der Hornsche epidemie, als ten andere, tusschen die van Loeffler en de bacillen, die von Hofmann uit diphtherische membranen isoleerde?

Het antwoord op deze vraag zal hieronder nog nader ter sprake komen. Nu reeds wensch ik echter te zeggen, dat het mij voorkomt dat men niet het recht heeft te concludeeren, dat de cultures van Loeffler in mindere mate virulent zouden zijn geweest dan de onze. Immers in de eerste plaats moet er op gewezen worden, dat Roux en Yersin, en wij evenzoo experimenteerden, of met bouillon-cultures, die, zooals boven gezegd, na eenigen tijd in giftigheid toenemen, of met jeugdige cultures op Loeffler's serum, dat is met cultures, die hoogstens vier of vijf dagen bij 33° C. hadden vertoefd. Van den anderen kant valt er op te wijzen, dat Loeffler,

die uitsluitend met serum-cultures experimenteerde, den leeftijd zijner cultures niet heeft aangegeven, zoodat het zeer wel mogelijk is, dat hij zijne proeven nu eens met jongere, dan eens met oudere cultures heeft verricht. En dat Loeffler feitelijk aanvankelijk weinig aandacht geschonken heeft aan den leeftijd zijner cultures, daarvan levert de vergelijkende proef met von Hofmann genomen — een proef hierboven uitvoeriger beschreven — zeker wel het afdoende bewijs. Mocht deze opmerking waarheid bevatten, dan zal ons in den loop dezer verhandeling voldoende blijken, waarom Loeffler's konijnen gezond bleven, terwijl de met onze cultures geïnfecteerden meestal te gronde gingen.

III. Eigen onderzoek.

A. ONDERZOEK NAAR DE VIRULENTIE VAN BOUILLON-CULTURES VAN VERSCHILLENDE LEEFTIJD.

Zooals in het vorige hoofdstuk gezegd is, ziet men bouillon-cultures van den Klebs-Loefflerschen bacil met den leeftijd vergiftiger worden. Dat wil zeggen, dat van deze cultures, naarmate men ze langer in de broedstoof bij 33° C. laat staan, kleinere quantiteiten voldoende zijn om cavia's, konijnen, duiven enz. bij subcutane, intramusculaire, intraperitoneale, respectieve intraveneuse injecties te dooden. Daarmede is evenwel volstrekt niet gezegd, dat een oudere cultuur een intensiever membraneus ontstekings-proces zal verwekken, wanneer men daarmede het slijmvlies van de gelaedeerde trachea inoculeert.

Hier toch is het juist de vitaliteit van de bacillen zelve, die in de eerste plaats het ontstekings-proces der trachea teweegbrengt, doordien de bacillen aan de oppervlakte daarvan gaan woekeren. Bij de bovengenoemde proeven berust de werking der cultuur,

in hoofdzaak althans, op de aanwezigheid van een zekere quantiteit diphtherie-vergif in de voedingsbouillon aanwezig. Wanneer men dus wil nagaan hoe de virulentie van diphtherie-bacillen, in bouillon gecultiveerd, zich verhoudt in oudere cultures, dan heeft men in de eerste plaats deze cultures te ontdoen van het daarin aanwezige diphtherie vergif.

Om de ware virulentie van diphtherie-bacillen in bouillon gecultiveerd te onderzoeken, ben ik op de volgende wijze te werk gegaan. Van de op hare virulentie te onderzoeken bouillon-cultuur, nam ik, nadat ze flink omgeschud was, om de op den bodem bezonkene bacillen in de vloeistof zoo veel mogelijk te verdeelen, telkens een quantiteit van 50 c.M.³ Deze cultuur-massa werd vervolgens onder de noodige voorzorgsmaatregelen in een toestel gebracht, dat ik aldus had samengesteld. In een hoog cilinder-glas werd een Chamberlandsche buis gebracht en het glas door aanvulling met watten afgesloten. Tot de ruimte tusschen cilinder en Chamberlandsche buis gaven toegang twee gebogen glazen buizen, waarvan de eene tot op den bodem van het vat reikte, beide buizen op hun beurt door een watten prop afgesloten. Nadat dit geheele toestel in toto bij 160° C. gesteriliseerd was, werden de 50 c.M.³ bouillon-cultuur langs de eene buis in het glas gegoten. Vervolgens werd aan de Chamberlandsche buis de luchtpomp verbonden en in werking gebracht.

Tegelijkertijd liet ik langs de andere buis langzamerhand gesteriliseerde physiologische-zoutsolutie aan de cultuur toevloeien. Het was nu gemakkelijk de afvoer door het Chamberlandsche filter naar het daaraan bevestigde reservoir, waarin het filtraat werd opgevangen, en tevens de toevoer van de zoutsolutie zóó te regelen, dat het niveau in het cilinder glas op dezelfde hoogte bleef. Deze filtratie en uitspoeling der cultuur zette ik betrekkelijk geruimen tijd voort. Bij iedere proef liet ik door de 50 c.M.³ cultuur-vloeistof een hoeveelheid van 1500 c.M.³ gesteriliseerde physiologische-zoutoplossing doervloeien, voor welke bewerking ongeveer twee uren noodig waren. Ten slotte werd de cultuurmassa nauwkeurig teruggebracht op de oorspronkelijke quantiteit (50 c.M.³). Gedurende de filtratie ziet men de cultuur spoedig volkomen helder worden, doordien de bacillen tegen de zuigende oppervlakte van het Chamberlandsche filter worden afgezet. Van tijd tot tijd stelde ik, om de uitspoeling des te vollediger te maken, de luchtpomp even buiten werking, en verdeelde, door even het toestel voorzichtig te schudden, de bacillen opnieuw in het vloeibare medium. Op deze wijze heb ik een tiental proeven verricht met cultures die gedurende 3, 5, 6, 8, 9, 21, 32, 40, respectieve 102 dagen in de broedstoof bij 33° C. hadden gestaan. Zoowel met de cultuur vóór de uitspoeling als met de van diphtherie-vergift ontdane bacillen, verrichtte ik een

aantal infectie-proeven, om in de eerste plaats na te gaan welk gedeelte der verschijnselen door de bouillon-cultures bij dieren verwekt, op rekening moet gesteld worden van de bacillen zelve, en in de tweede plaats om te vergelijken de virulentie der gereinigde bacillen van jeugdige en die van oudere cultures.

Met de gewone bouillon-cultures, zoo pas uit de broedstoof genomen, verrichtte ik proeven bij cavia's, duiven en konijnen. Daar deze dieren in de meeste gevallen zeer spoedig aan de gevolgen der infectie stierven, wanneer een betrekkelijk kleine quantiteit subcutaan, intramusculair, respectieue intraveneus werd geïnjecteerd, beperkte ik mij in de meeste gevallen tot een intra-musculaire injectie bij een duif. Tevens werd telkens de levensvatbaarheid der bouillon-cultuur gecontroleerd door uitzaaiing op Loeffler's serum. Het zal voldoende zijn te zeggen, dat zelfs de cultuur, die gedurende 102 dagen bij 33° C. was gehouden, bij uitzaaiing nog talrijke kolonies van diphtherie-bacillen gaf. Na filtratie en uitspoeling werden nu een aantal experimenten verricht bij dezelfde proefdieren. Bij cavia's spoot ik een halve tot één c.M.³ onder de huid. Bij duiven werden één tot twee c.M.³ in den musculus pectoralis gespoten. Bij konijnen spoot ik 1, 2, 3 tot 4 c.M.³ van dezelfde uitgewassene bacillen in het bloed of onder de huid. Eindelijk verrichtte ik in een aantal gevallen bij konijnen tracheotomie, laedeerde met een vooraf uitge-

gloeid pincet het slijmvlies van de trachea, door er even over heen en weer te strijken, en bracht vervolgens enkele platina-lissen vol of enkele druppels van de uitgewasschen bacillen bevattende vloeistof op het slijmvlies; vervolgens werd de trachea met een catgut-hechting gesloten, de wond flink gedesinfecteerd, spier- en huidsuturen aangelegd en de wond ten slotte bedekt met in Jodoform-collodion gedrenkte watten. In „Bijlage a” vindt men de bovengenoemde proeven uitvoerig beschreven, terwijl in „Tabel I” een overzicht dezer proevenreeks gegeven is. De uitkomsten dezer proeven gaven een verrassend resultaat, dat men in korte woorden aldus kan samen vatten, dat de bacillen in voedings-bouillon gecultiveerd, gaandeweg hunne virulentie verliezen. Stellig een verrassend resultaat, wanneer men ziet dat de bouillon-cultuur met den leeftijd giftiger wordt.

Om een en ander toe te lichten, wensch ik uit de proevenreeks enkele gevallen van naderbij te beschouwen. Laat ons in de eerste plaats onderzoeken hoe jeugdige bouillon-cultures zich verhouden. Van een cultuur die drie dagen oud was, (Proef III), spoot ik bij een duif, (n^o 10), 1 cM.³ in den musculus pectoralis, bij een konijn, (n^o 9), 1 cM.³ in de oor-vena. De duif vertoonde reeds den volgenden dag duidelijke diffuse verlamings-verschijnselen en werd twee dagen na de injectie dood in het hok gevonden. Het konijn vertoonde den vierden dag na de injectie

verlammingsverschijnselen der beide achterpooten, die het dier, bij het voortkruipen, nasleepten. In den ochtend van den volgenden dag waren de verlammingsverschijnselen toegenomen en spoedig daarop overleed het dier. Van de uitgewasschene bacillen van dezelfde cultuur, die volkomen levensvatbaar bij uitzaaiing op serum bleken, spoot ik 2 cM.³ in de musculi pectorales van een duif, (n^o 12), 4 cM.³ in de oorvena van een konijn, (n^o 11). Tevens verrichtte ik tracheotomie bij een konijn, (n^o 13), en bracht van de uitgewasschene bacillen bevattende vloeistof, een paar platina-lissen vol op het vooraf gelaedeerde slijmvlies van de trachea.

De duif werd na tweemaal vierentwintig uur dood in het hok gevonden, zonder van te voren verlammingsverschijnselen vertoond te hebben.

Het konijn werd na vier dagen dood in het hok gevonden, zonder dat ik vooraf verlammingsverschijnselen bij dit dier bespeurde.

Ook de inoculatie op het slijmvlies der trachea viel positief uit. Tweemaal vierentwintig uur na de enting werd het dier dood in het hok gevonden, terwijl daags te voren geen merkbare ziekelijke verschijnselen bij het dier waren waargenomen. Bij de obductie bleek het slijmvlies der trachea met een dunne pseudo-membraan bedekt, terwijl voorts een uitgebreide diphtherische ontsteking van de wond en in de omgeving daarvan werd aangetroffen.

Zooals men ziet bleek derhalve, dat bij deze jeugdige

bouillon-cultuur geen merkbaar verschil bestond tusschen de cultuur qua talis, en de uitgewasschene bacillen die ze bevatte, en dat de laatste bij enting op het slijmvlies der trachea een membraneuse ontsteking verwekten.

Deze uitkomst stemt volledig overeen met de resultaten van Roux en Yersin, dat gedurende de eerste dagen bouillon-cultures slechts weinig diphtherievergif bevatten. Voorts wensch ik er met een enkel woord op te wijzen, dat de diphtherie-bacil zelve, zonder eenig aanklevend ferment, in staat is membraneuse ontsteking van een gelaedeerd slijmvlies op te wekken.

Vergelijken wij daarmede het resultaat dat verkregen werd met een bouillon-cultuur die 9 dagen oud was. (Proef II). Van deze cultuur werd 1 cM.³ in den musculus pectoralis van een duif, (n^o 6), gespoten, die het dier in 24 uur doodde. Bij de na de uitwassching verrichte infectie-proeven bij duiven, zagen wij de eene duif, (n^o 8), bij welke 2 cM.³ in den musculus pectoralis was gespoten, na twee dagen sterven, terwijl de andere duif, (n^o 7), die 3 cM.³ in den musculus pectoralis ontvangen had, reeds den volgenden dag dood in het hok gevonden werd.

In een tweede geval, (Proef V), waarin eveneens een bouillon-cultuur, die 9 dagen oud was, werd gebruikt, werd met de cultuur qua talis een infectie-proef verricht bij een duif, (n^o 20). Deze ontving 1 cM.³ in den musculus-pectoralis en werd den vol-

genden dag dood in het hok gevonden. Met de uitgewasschene bacillen werden drie infectie-proeven verricht bij konijnen; en wel ontving een konijn, (n^o 23), wiens lichaamsgewicht het kleinste was, 1 cM.³ intraveneus, een tweede, (n^o 22), dat wat zwaarder was, 2 cM.³ een derde, (n^o 21), het zwaarste van de drie, 3 cM.³ in de oor-vena. Van deze drie konijnen bleven het eerste en het derde gezond; het tweede werd den vijfden dag na de injectie dood in het hok gevonden. Gelijk men ziet, bleven twee konijnen, die één, respectieve 3 cM.³ der uitgewasschene cultuur in het bloed ontvingen, in leven. Uit dit resultaat wensch ik echter niet onmiddellijk de gevolgtrekking te maken, dat de bacillen reeds den 9^{den} dag eenige verzwakking hunner virulentie zouden vertoonen. Het is immers voldoende bekend, dat konijnen in veel mindere mate gevoelig zijn voor den diphtherie-bacil dan cavia's en duiven. Men weet dat Loeffler's konijnen steeds in leven bleven na de infectie; dat Roux en Yersin evenwel, evenals v. d. Brink, „in den regel” konijnen na de infectie zagen sterven. Voorts moet ik er op wijzen dat, (Proef VI), drie konijnen die één, twee, respectieve drie cM.³ eener uitgewasschene 5 dagen oude bouillon-cultuur in het bloed ontvingen, allen gestorven zijn. Het is dus mogelijk, dat bij de boven beschrevene proef reeds eenige verzwakking in het spel was; zekerheid zoude evenwel alleen door herhaling der proef verkregen kunnen worden.

Beschouwen wij thans de uitkomst verkregen met een cultuur, die 21 dagen oud was, (Proef VIII), zoo zien wij, dat twee duiven, die ieder 2 cM.³ van het uitgespoelde virus in den musculus pectoralis ontvingen, volkomen gezond bleven ¹⁾. Uit deze proef blijkt met afdoende zekerheid, dat de bacillen reeds na 21 dagen, eene evidente vermindering hunner virulentie hadden ondergaan. Duiven toch stierven, wanneer haar 1 cM.³ eener troebele bacillen-suspensie in de borstspier werd geïnjecteerd, — vele mijner proeven bewijzen dit op afdoende wijze — reeds na enkele dagen. De proefdieren n^o 33 en 34, die ieder 2 cM.³ in de borstspier ontvingen, bleven daarentegen volkomen gezond, en zijn zulks nog op het oogenblik dat ik dit neerschrijf (23 Febr.). Bij een andere proef, (n^o IX), verrichtte ik overeenkomstige experimenten met een 40 dagen oude bouillon-cultuur. Een duif (n^o 36), die 1 cM.³ in den musculus pectoralis ontving, stierf reeds binnen 2maal vierentwintig uur. Van de

1) Van dezelfde uitgewasschene cultuur werden, met behulp van een Pravaz-spuitje, enkele druppels in de vooraf blootgelegde trachea van een konijn gespoten. Dit konijn werd na vijf dagen gedood, doch bij de obductie bleek de trachea geheel onveranderd. Ik moet evenwel opmerken, dat dit negatieve resultaat weinig beteekenis heeft, omdat in casu het slijmvlies niet, of slechts onbeduidend gelaedeerd werd. Omtrent de mogelijkheid diphtherische tracheïtis door eenvoudige intratracheale injectie teweeg te brengen, vergelijk pagina 100 van dit proefschrift.

gereinigde bacillen derzelfde cultuur, werden bij twee duiven, (n^o 38 en 39), elk 2 cM.³ in de borstspier geïnjectieerd. Een der beide duiven bleef volkomen gezond, (n^o 38), en is zulks heden, 23 Febr. nog. De andere daarentegen stierf ongeveer een maand na de injectie, zonder in de eerste dagen na de injectie ziekte-verschijnselen vertoond te hebben, (n^o 39). Ook uit deze proef blijkt, dat na 40 dagen de virulentie der diphtherie-bacillen duidelijk verzwakt was. Doch een ander, niet minder merkwaardig verschijnsel ontmoetten wij in deze proef. De verzwakte bacillen bleken namelijk bij de duif n^o 39 tardieve verschijnselen te weeg te brengen, — een feit waarvan hieronder nog nadere bijzonderheden zullen blijken.

Eindelijk wensch ik nog te wijzen op de proef die ik verricht heb met een bouillon-cultuur die 102 dagen in de broedstoof bij 33° C. had vertoefd. (Proef I.) Deze cultuur bevatte zeer toxische eigenschappen. Een konijn, (n^o 1) n. l., dat 1 cM.³ in het bloed ontving, stierf reeds den volgenden dag. Een ander, (n^o 2), dat 1 cM.³ subcutaan werd ingespoten, werd den dorden dag na de injectie dood in het hok gevonden. Daarentegen bleken de in de bouillon-cultuur aanwezige bacillen, na gereinigd te zijn, hunne virulentie ten eenenmale te hebben verloren. Een konijn, (n^o 5), dat 3 cM.³ van een troebele suspensie onder de huid, even als een ander, (n^o 4), dat 3½ cM.³ in het bloed ontving, zijn volkomen gezond gebleven.

Ja, wat nog sterker spreekt, een cavia, (n^o 3), een zoo bij uitstek gevoelig dier, bij welke een 1 cM.³ onder de huid werd geïnjecteerd, is eveneens volkomen gezond gebleven.

Uit de hier boven kortelings beschrevene proeven, blijkt met zekerheid, dat de diphtherie-bacil, in voedings-bouillon gekweekt, gaandeweg zijn virulentie verliest. Deze verminderde virulentie uit zich in de eerste plaats daardoor, dat de geïnfecteerde dieren niet meer de acute ziekteverschijnselen vertoonen, die na de infectie met virulente bacillen regelmatig binnen korten tijd verschijnen. In de tweede plaats door het absoluut uitblijven van elk spoor van ziekelijke verschijnselen. Het is evenwel moeielijk met zekerheid aan te geven op welk tijdstip de cultuur haar virulentie verloren heeft, te meer daar een enkele maal nog betrekkelijk geruimen tijd na de infectie, tardieve verschijnselen het leven van het proefdier in gevaar kunnen brengen.

Niet alleen blijkt er verzwakking op te treden, wanneer de cultuur bij 33° C. vertoeft; hetzelfde is ook het geval wanneer men de bouillon-cultuur bij kamertemperatuur bewaart. Proef n^o X levert daarvan een duidelijk bewijs. De cultuur, die in deze proef gebruikt werd, had acht dagen bij 33° C. vertoeft. In deze cultuur hadden de diphtherie-bacillen dus nog geen noemenswaardige hoeveelheid diphtherie-vergif geproduceerd. Op dit tijdstip werd de cultuur uit de

broedstoof genomen, en bij betrekkelijk lage kamertemperatuur, (winter), bewaard, zoodat ook in de nu volgende periode van 24 dagen, geen diphtherie-ferment kon geproduceerd worden. Men mag dit tenminste onderstellen uit het gegeven, dat de groei van den diphtherie-bacil bij 22° C. geheel ophoudt. Met deze tweeëndertig dagen oude cultuur nu, verrichtte ik de volgende infectie-proeven. Bij een konijn, (n° 41), spoot ik 1 cM.³ in het bloed; bij een ander, (n° 42), spoot ik 2 cM.³, onder de huid. Beide dieren zijn volkomen gezond gebleven en zijn dit op dit oogenblik nog. (23 Febr.). Bij een duif, (n° 40), werd 1 cM.³ in den musculus pectoralis geïnjecteerd. Deze infectie veroorzaakte een aantal ziekteverschijnselen, (verlammings-verschijnselen), die spoedig na de infectie optraden, en waaraan ik het dier aanvankelijk meende te verliezen. Gaandeweg evenwel namen de verschijnselen af, verdwenen ten slotte geheel, en eindelijk was het dier volkomen hersteld. Het is op dit oogenblik volkomen gezond. (23 Febr.) De cultuur (vrij of zoo goed als vrij van diphtherie vergif) bleek derhalve duidelijk verzwakt. Na de reiniging der bacillen van het weinige den bacillen aanklevende ferment, bleek bij een aantal infectie-proeven hetzelfde. Twee duiven, (n° 44 en 45), die ieder 1 cM.³ in den musculus pectoralis ontvingen, bleven geheel gezond, zoodat ik geneigd ben, de ziekte verschijnselen van de hierboven beschrevene duif, (n° 40), aan het hoewel

in geringe quantiteit aanwezige diphtherie-ferment toe te schrijven.

Een konijn, (N^o. 47), dat 2 c.M.³ der gereinigde bacillen onder de huid ontving, bleef volkomen gezond. Daarentegen werd een zwak konijntje, (N^o. 46), door de intra-veneuse injectie van 1 c.M.³ binnen zes dagen gedood.

Merkwaardig is het feit, dat een konijn, (N^o. 48.), waarbij ik enkele droppels der uitgewasschene cultuur op het vooraf gelaedeerde slijmvlies der trachea bracht, binnen weinige dagen aan uitgebreide membraneuse ontsteking der trachea succombeerde.

Dit laatste feit, n. l. dat ook een verzwakte cultuur in staat is bij inoculatie op het slijmvlies der trachea een heftig ontstekings-proces te weeg te brengen, is stellig zeer verrassend. Ik zal niet op deze plaats nader ingaan op de beteekenis van het feit, daar ik bij de beschouwing van de volgende proeven-reeks gelegenheid zal vinden dit resultaat wat nader te bespreken en tevens zijn beteekenis toe te lichten. Aan het slot van het résumé der verkregene uitkomsten met bouilloncultures, moet ik er op wijzen, dat mijne resultaten niet overeenstemmen met een experiment door Roux en Yersin in hun eerste mémoire¹⁾ vermeld. Zij zeggen daar in een korte noot, dat zij het bacillen-bezinksel van een twee en veertig dagen oude

1) l. c. pag. 658.

bouillon-cultuur, nadat de bacillen met water uitgewassen waren, bij een konijn in het bloed en bij een cavia onder de huid spoten, en dat beide dieren onder karakteristieke verschijnselen, binnen twee, respectieve vier dagen stierven. Men zou hier uit moeten afleiden, dat de tweeneveertig dagen oude bacillen geen merkbare verzwakking hunner virulentie vertoonden. Daar Roux en Yersin deze uitkomsten slechts in een korten noot mededeelden, en noch aangegeven hebben hoe groot de quantiteit der bacillen was, die zij injecteerden, noch medegedeeld hebben of een voldoende uitwassing der bacillen had plaats gehad, kon ik deze proeven in het geheel niet beoordeelen, en meen ik ook geen nadere beteekenis daaraan te moeten hechten.

BIJLAGE a.

Proeven der eerste reeks.

N° I.

17 Oct. Bij deze proef wordt gebruik gemaakt van een bouilloncultuur van diphtheriebacillen der Hornsche epidemie, geval IV, die sinds 4 Juli op een constante temperatuur van 33° C. gehouden is. Een drietal serumhuisjes, waarop de cultuur werd uitgezaaid, ver- toonden reeds 24 uren later zeer talrijke kolonies van diphtheriebacillen.

Met de niet uitgewasschen cultuur worden de vol- gende infectieproeven verricht:

N° 1.

17 Oct. Bij een wit konijn, dat 1455 gram weegt, wordt 1 cM.³ der cultuur in de rand-vena van het rechter oor gespoten.

18 Oct. Des namiddags ten twee ure is het konijn zwaar ziek en ligt op de eene zijde; wordt het dier overeind getild, dan valt het onmiddellijk weer omver. Er bestaan diffuse verlammingverschijnselen. Van

tijd tot tijd ziet men lichte clonische krampen aan de extremiteiten.

Ten vier ure wordt het dier dood in het hok gevonden.

Bij de obductie vindt men het volgende: in de buikholte is eenig helder vocht aanwezig. Het omentum vertoont talrijke kleine bloeditstortingen. De oksel en mesenteriaalklieren zijn gezwollen; in de laatste zijn kleine bloeditstortingen aanwezig. In de pleura-pulmonalis zijn hier en daar kleinere stipvormige bloeditstortingen aanwezig. De lever vertoont geen afwijkingen; ook de milt vertoont de normale grootte en kleur. De nieren zijn hyperaemisch.

N^o 2.

17 Oct. Bij een zwart konijn, dat 2055 gram weegt, wordt 1 cM.³ van de cultuur onder de huid van den rug gespoten.

18 Oct. Het konijn vertoont geen ziekteverschijnselen.

19 Oct. Het konijn eet niet meer en zit ineen gedoken in een hoek van het hok.

20 Oct. Des morgens ten 9 ure ligt het dier dood in het hok.

Bij de obductie vindt men het volgende. De okselklieren zijn een weinig gezwollen. In de buikholte is geen vrij vocht aanwezig. Het mesenterium vertoont geen bloedingen. De milt is bloedrijk, niet gezwollen.

De lever is geelachtig van tint en broos. De nieren zijn hyperaemisch.

De bouillon-cultuur wordt op de in den text beschreven wijze uitgewassen met gesteriliseerde physiologische zoutoplossing. 50 cM.³ van de cultuur worden met 1250 gram zoutoplossing uitgespoeld. Met deze troebele vloeistof, op haar oorspronkelijk volumen teruggebracht, worden, nadat de levensvatbaarheid der bacillen door uitzaaiing op serum nogmaals was vastgesteld, de volgende proeven verricht.

N° 3.

17 Oct. Bij een witte cavia, die 485 gram weegt, wordt 1 cM.³ der suspensie onder de huid van den rug gespoten.

19 Oct. De cavia is volkomen gezond. Het dier wordt weken lang in observatie gehouden, doch heeft volstrekt geen ziekteverschijnselen vertoond.

N° 4.

17 Oct. Een wit konijn, dat 1900 gram weegt, ontvangt in de oor-vena $3\frac{1}{2}$ cM.³ der troebele suspensie.

19 Oct. Het konijn is gezond. Weken lang werd het dier verder in observatie gehouden, doch vertoonde geenerlei ziekte verschijnselen.

N° 5.

17 Oct. Bij een zwart konijn, dat 1700 gram weegt,

worden 3 cM.³ der uitgespoelde cultuur onder de huid van den rug gespoten.

19 Oct. Het dier is volkomen gezond. Nog na meerdere weken viel aan het dier niets abnormaals te bespeuren.

N° II.

30 Oct. Bij deze proef wordt gebruik gemaakt van een bouilloncultuur van diphtheriebacillen, die van 21 October tot heden bij 33° C. vertoefde.

Met de troebele cultuur worden de volgende infectieproeven verricht.

N° 6.

30 Oct. Bij een blauwe duif, die 390 gram weegt, wordt 1 cM.³ in den musculus pectoralis sinister ingespoten.

31 Oct. De duif ligt dood in het hok. Bij de obductie vindt men de linker borstspier, ter plaatse van de injectie geelachtig verkleurd. De mesenteriale vaten zijn sterk gevuld; tevens zijn er eenige kleinere bloeduitstortingen in het omentum aanwezig. De lever vertoont geen veranderingen.

Vijftig cM.³ der bouilloncultuur worden in het toestel gebracht ter uitspoeling. Gedurende deze bewerking breekt een buis van het apparaat, zoodat de cultuur-vloeistof slechts met 220 cM.³ gesteriliseerde physiologische vloeistof kan worden uitgewasschen.

Met de aldus verkregen bacillensuspensie (50 cM.³), waarvan door uitzaaiing de levensvatbaarheid geconstateerd wordt, worden de volgende proeven genomen.

N° 7.

30 Oct. Bij een blauwe duif, die 370 gram weegt, worden 3 cM.³ van het virus intrapectorale geïnjecteerd.

31 Oct. De duif wordt dood in het hok gevonden. Bij de obductie zijn de beide muscoli pectorales, waarin het virus werd ingespoten, oedemateus en geelachtig van tint. De mesenteriale vaten zijn sterk gevuld: nergens worden bloedingen gevonden.

N° 8.

30 Oct. Een blauwe duif, die 280 gram weegt, ontvangt 2 cM.³ van het virus in de muscoli pectorales.

31 Oct. De duif ziet er ziek uit, eet niet meer en zit ineengedoken in het hok.

1 Nov. De duif ligt dood in het hok. Bij de obductie vindt men in de spieren, ter plaatse van de injectie, geelachtige haarden. De mesenteriale vaten zijn zeer sterk gevuld. De lever is bleek van tint.

N° III.

1 Nov. De bouillon-cultuur, die bij deze proef gebruikt wordt, is 3 dagen oud. (29 Oct. tot 1 Nov.).

De cultuur heeft een licht zure reactie: de volgende infectieproeven worden verricht vóór de uitwassing.

N° 9.

1 Nov. Bij een grijs konijn, dat 1582 gram weegt, wordt in de rand-vena van het linker oor 1 cM.³ van de cultuur ingespoten.

4 Nov. Het konijn vertoont geen ziekte-verschijnselen.

5 Nov. De eetlust van het proefdier is verdwenen. Het dier zit ineengedoken in een hoek van het hok. Jaagt men het dier op, dan blijkt, dat de achterpooten min of meer slepend worden voortbewogen.

6 Nov. Des ochtends ten 9 ure ligt het dier met frequente ademhaling in het hok. Het laat zich niet meer opjagen, en schijnt diffuse verlamingsverschijnselen van het grootste gedeelte van het lichaam te vertoonen.

Ten elf ure ligt het konijn dood in het hok. Bij de obductie vindt men in buik- en borstholte geen vrij vocht. De okselklieren zijn gezwollen. In de pleurae pulmonales vindt men eenige ecchymosen. De mesenteriale vaten zijn sterk gevuld. De lever vertoont geen verandering. De nieren zijn niet hyperacmisch. De blaas blijkt sterk gevuld met heldere, eiwithoudende urine.

N° 10.

1 Nov. Bij een blauwe duif, die 370 gram weegt, wordt 1 cM.³ van de bouilloncultuur in den musculus pectoralis sinister geïnjicieerd.

2 Nov. Des ochtends ten 9 ure vind ik de duif ziek, in elkaar gedoken in een hoek van het hok.

Ten een ure blijkt, dat de duif verlamningsverschijnselen vertoont. Jaagt men het dier op, dan blijkt, dat het in het geheel niet meer vliegen kan, en gebruikt het de uitgespreide vleugels om het evenwicht te houden. De pooten worden bewogen, doch op onregelmatige wijze. Na een paar schreden gedaan te hebben, slaat het dier met uitgeslagen vleugels voorover.

3 Nov. Des morgens ten 9 uur wordt de duif dood in het hok gevonden.

Bij de obductie vindt men ter plaatse van de injectie en in de onmiddellijke omgeving daarvan, een geelachtig verkleurden haard. De mesenteriale vaten zijn sterk gevuld. Voorts bestaan geen macroscopisch zichtbare afwijkingen.

Van de bouilloncultuur, waarmede de proeven n° 9 en n° 10 verricht werden, worden 50 cM.³ in het spoeltoestel gebracht en met 1500 cM.³ gesteriliseerde physiologische keukenzoutoplossing uitgewassen, en wel zóó, dat het eindvolumen weder 50 cM.³ bedraagt.

Met deze troebele bacillensuspensie worden nu, nadat vooraf door uitzaaiing op serum de levensvatbaarheid der bacillen geconstateerd is, de volgende twee infectie-proeven verricht.

N° 11.

1 Nov. Bij een grijs konijn, dat 2145 gram weegt, worden 4 cM.³ in het bloed gespoten.

5 Nov. Des ochtends ten 9 ure vind ik het dier, dat sinds de infectie geen ziekteverschijnselen vertoonde, dood in het hok. Bij de obductie vind ik in de buikholte geen vrij vocht. Het omentum vertoont geen haemorrhagiën. De lever is bleek en broos. De borstholte is geheel ledig. In de pleurae pulmonales zijn enkele kleine ecchymosen aanwezig. De nieren zijn hyperaemisch. De milt vertoont geene afwijkingen. De blaas is ledig. Oksel- en liesklieren zijn niet merkbaar opgezet.

N° 12.

1 Nov. Een witte duif, die 360 gram weegt, ontvangt in de musculi pectorales 2 cM.³ van het virus.

2 Nov. Des namiddags begint de duif er ziek uit te zien. Zij zit ineengedoken op haar stok.

3 Nov. Des morgens ten 9 ure sterft de duif.

Bij de obductie vindt men geelachtig verkleurde haarden in de musculi pectorales op de plaatsen van injectie. Voorts constateert men sterke vulling der mesenteriale vaten. Overigens bestaan geen merkbare afwijkingen.

N° 13.

1 Nov. Bij een grijs konijn, dat 2035 gram weegt,

wordt tracheotomie verricht. Na opening der trachea wordt het slijmvlies gelaedeerd door er even over heen te strijken met een branche van een gesteriliseerd pincet. Vervolgens worden op de gelaedeerde plaats een paar lissen vol van het virus geïnoculeerd. Bij het wegnemen van de platina-lis raakt deze de wondrand bij ongeluk even aan. De trachea wordt zorgvuldig met catgut gehecht. Vervolgens wordt de wond met sublimaat 1/1500 afgesponsd en worden spier- en huidsutures aangelegd. Eindelijk wordt de wond bedekt met in Jodoform-collodion gedrenkte watten.

2 Nov. Het konijn vertoont geen ziekteverschijnselen: met name neemt men niets abnormaals aan de ademhaling waar.

3 Nov. Des ochtends ten 9 ure vind ik het dier dood en verstijfd in het hok.

Bij de obductie vind ik het volgende:

Bij het insnijden van de huid vind ik het subcutane celweefsel in de omgeving van de wond aan den hals oedemateus gezwollen. De wondranden doen zich grijswit geïnfilteerd voor. Bij het openen van de trachea vind ik deze laatste voor een deel met een schuimend vocht gevuld. Nadat dit afgespoeld is, vindt men ter hoogte van de gelaedeerde plek een dunne grijswitte pseudo-membraan gelegen. Het slijmvlies der bronchi, evenals dat van den larynx is geïnjecteerd, doch vertoont geen membranen. De longen

bieden geen afwijkingen aan. Evenmin de overige organen van het dier.

N° 14.

1 Nov. Bij een zwartbont konijn, dat 2400 gram weegt, worden onder inachtneming van de noodige voorzorgsmaatregelen, met behulp van het spuitje van Pravaz, een paar druppels in de voorste kamer van het rechter oog gebracht.

19 Nov. De injectie in de voorste oogkamer heeft volstrekt geen nadeelige gevolgen gehad ¹⁾.

N° IV.

4 Nov. Bij deze proef maakten wij gebruik van een bouilloncultuur van diphtherie-bacillen, die zes dagen oud was en een duidelijk zure reactie vertoonde (29 October—4 Nov.). Met deze cultuur wordt de volgende infectieproef verricht.

N° 15.

4 Nov. Bij een witte duif, die 305 gram weegt, wordt in den musculus pectoralis sinister 1 cM.³ der cultuur ingespoten.

5 Nov. De duif is ziek, zit ineengedoken te rillen in een hoek van het hok en beweegt zich zeer moeilijk. Dwingt men het dier zich van zijn plaats

1) Deze infectieproef heb ik, daar zij geen resultaat scheen op te leveren, later niet herhaald.

te bewegen, dan blijkt duidelijk, dat er aanzienlijke motorische stoornissen bestaan. Het dier duikelt telkens weer over den kop, evenals dat met de duif, in proef n^o 10 vermeld, het geval was.

6 Nov. Des ochtends ligt de duif dood in het hok. Bij de obductie vindt men den reeds meerdere male beschreven geel-getinten haard in den musculus pectoralis. Voorts constateert men weder een aanzienlijke vulling der mesenteriale vaten.

Nadat 50 cM.³ van de bovengenoemde cultuur in ons toestel gebracht waren, en de bacillen met eene hoeveelheid van 1500 cM.³ gesteriliseerde physiologische keukenzoutoplossing gecleinigd waren, werden met de bacillen-suspensie, die weder op een quantiteit van 50 cM.³ was teruggebracht, de volgende infectieproeven verricht, nadat vooraf de levensvatbaarheid der bacillen door uitzaaiing op Loeffler's serum was gecontroleerd.

N^o 16.

4 Nov. Bij een zwarte duif, die 375 gram weegt, wordt 1 cM.³ van het virus in den musculus pectoralis sinister geïnjectieerd.

6 Nov. De duif zit lusteloos in het hok; dwingt men ze te loopen, dan valt het dier telkens omver en tracht zich met de uitgespreide vleugels op den bodem te steunen. Deze verlamningsverschijnselen

komen wederom geheel overeen met die vermeld in de proeven n° 10 en n° 15.

7 Nov. De duif ligt dood in het hok. Bij de obductie vindt men weer den karakteristieken gelen haard ter plaatse van de injectie, evenals de al meermalen genoemde aanzienlijke vulling der mesenteriaalvaten. Voorts is de lever bleek van kleur.

N° 17.

4 Nov. Bij een cavia, die 335 gram weegt, wordt van hetzelfde virus, als in proef n° 16 1 cM.³ onder de huid van den rug gespoten.

6 Nov. De cavia wordt dood in het hok gevonden. Bij de obductie vindt men ter plaatse der injectie een geleiachtig haemorrhagisch oedeem. Voorts vindt men eenige hyperaemie van nieren en milt. In de borstholte is geen vocht aanwezig.

N° 18.

4 Nov. Bij een grijs konijn, dat 2655 gram weegt, wordt in de lumbaal-streek $\frac{4}{10}$ cM.³ van hetzelfde virus onder de huid gespoten, nadat vooraf op die plaats met een gesteriliseerden tenotoom onder de noodige voorzorgsmaatregelen (scheeren en desinfectie der huid) een vrij aanzienlijke subcutane verwonding van het bindweefsel en van de daaronder liggende spier was teweeg gebracht. Het huidwondje, door den ingevoerden tenotoom veroorzaakt, wordt met jodoform-collodion afgesloten.

8 Nov. Het konijn is volkomen gezond gebleven en vertoont ter plaatse van de subcutane laesie en infectie geen opvallende zwelling.

29 Januari 90. Het dier is nog volkomen gezond. Tardieve verschijnselen zijn geheel uitgebleven. Ter plaatse van de infectie is het haar nog weinig aangegroeid en constateert men geen merkbare infiltratie.

N^o 19.

4 Nov. Bij een grijs konijn, dat 2095 gram weegt, worden 4 cM.³ van hetzelfde virus op vier verschillende plaatsen onder de huid gespoten.

12 Nov. Het konijn is nog volkomen gezond: ziekteverschijnselen hebben zich in het geheel niet voorgedaan. In den aanvang van December kon ik het dier nog observeeren. Het was toen niet vermagerd. Tegen het einde van December werd mij dit proefdier ontstolen.

4 Nov. Om na te gaan of een langer verblijf van de diphtheriebacillen in physiologische keukenzoutoplossing voor de vitaliteit dezer bacteriën schadelijk is, bracht ik een zekere quantiteit van het virus, waarmee hierboven de drie laatste infectieproeven verricht werden, en onder noodige voorzorgsmaatregelen in gesteriliseerde reageerbuisjes, die ik met een wattenprop behoorlijk afsloot. Op den 7^{den} November werd een der genoemde buisjes geopend, en een paar lussen

vol op Loeffler's serum gebracht. Bij 33° C. gehouden, vertoonde dit buisje reeds na 24 uur een volumineuse cultuur.

Op den 12^{den} en op den 18^{den} November werd eveneens telkens een ander buisje geopend en bleken bij uitzaaiing de bacillen nog zeer goed levensvatbaar.

Op den 25^{sten} November werd nogmaals een nieuw buisje op zijn vitaliteit onderzocht. Thans bleken de bacillen afgestorven; de geënte serumbuisjes bleven steriel. Zooals men ziet, waren de bacillen nagenoeg 14 dagen in leven gebleven.

Voorts injicieerde ik ter controle bij een duif in de beide musculi pectorales een cM.³ gesteriliseerde bouillon. Het dier bleef volkomen gezond en vertoonde volstrekt geen motorische stoornissen.

N° V.

7 Nov. Bij deze proef gebruikte ik een bouilloncultuur van diphtheriebacillen, die 9 dagen oud was. Met deze cultuur wordt de volgende infectieproef verricht.

N° 20.

7 Nov. Bij een blauwe duif, die 435 gram weegt, wordt 1 cM.³ van de cultuur in den musculus pectoralis sinister geïnjecteerd.

8 Nov. Des ochtends ligt de duif dood in het hok. Bij de obductie vindt men dezelfde verschijnselen als in de vorige proeven bij duiven vermeld: den geel-

witten haard in den musculus pectoralis; de opvallend sterke vulling der mesenteriaalvaten.

50 cM.³ der negen dagen oude cultuur worden in het filtreertoestel gebracht, en met 1500 cM.³ gesteriliseerde physiologische keukenzout oplossing uitgewassen. Nadat de vloeistof weer tot 50 cM.³ is teruggebracht, worden enkele lissen daarvan op Loeffler's serum uitgestreken. Reeds den volgenden dag vertoonden de geënte buisjes volumineuse culturen van den Klebs-Loefflerschen bacil.

Met de uitgewassen bacillensuspensie vorrichtte ik de volgende drie infectieproeven.

N° 21.

7 Nov. Bij een grijs konijn, dat 2390 gram woog, werden 3 cM.³ van het virus in het bloed gespoten.

19 Nov. Het konijn is tot dusverre volkomen gezond gebleven.

5 Dec. Het dier is nog volkomen gezond.

N° 22.

7 Nov. Bij een wit konijn, dat 2210 gram weegt, worden 2 cM.³ van hetzelfde virus in het bloed gespoten.

13 Nov. Het konijn, dat gisteren nog geheel gezond scheen, ligt heden ochtend dood in het hok. In de buikholte en in de pleuraholten vindt men bij de

obductie geen vrij vocht. De mesenteriale klieren zijn wat gezwollen. De lever en evenzoo de nieren zijn opvallend bleek van kleur. De blaas is ledig.

N° 23.

7 Nov. Bij een zwart konijn, dat 2100 gram weegt, wordt 1 cM.³ van hetzelfde virus in de linker oor-vena gespoten.

16 Nov. Het konijn is tot dusverre geheel gezond gebleven. De urine werd niet onderzocht.

5 Dec. Tot dusverre heeft het konijn nog geen ziekteverschijnselen vertoond.

N° VI.

14 Nov. Bij de navolgende proeven werd gebruik gemaakt van een bouilloncultuur van diphtherie-bacillen, die gedurende 5 dagen bij een temperatuur van 33° C. had vertoefd.

N° 24.

14 Nov. Een witte duif, die 337 gram weegt, ontvangt 1 cM.³ van deze cultuur in den musculus pectoralis sinister.

15 Nov. De duif ziet er ziek uit; zit ineengedoken in het hok.

16 Nov. Des ochtends ten 9 ure vertoont de duif, die er erg ziek uitziet, duidelijke verlamingsverschijnselen, overeenkomstig, aan die welke in de proe-

ven n° 2, 10, 15 en 16 beschreven zijn. Ten elf ure sterft het dier.

Bij de obductie vindt men afwijkingen zooals die reeds meermalen zijn beschreven bij overeenkomstige infectieproeven bij duiven.

50 cM.³ van de cultuur, waarmede de infectieproef n° 24 verricht werd, worden op de meermalen beschrevene wijze, met 1500 cM.³ gesteriliseerde physiologische keukenzoutsolutie uitgewasschen en ten slotte op hun oorspronkelijk volumen teruggebracht. Met de aldus verkregen bacillen-suspensie, verrichtte ik de volgende experimenten.

N° 25.

14 Nov. Bij een bont konijn, dat 1535 gram weegt, worden 3 cM.³ van het virus in de oor-venagespoten.

15 Nov. Het konijn vertoont geen verschijnselen.

18 Nov. Ten 9 ure des morgens vind ik het konijn op de zijde liggend. Tilt men het dier overeind, dan valt het weer onmiddellijk op dezelfde zijde terug. Het dier beweegt zich kruipend voort; de achterste lichaamshelft schijnt geheel verlamd. Ten elf ure sterft het dier.

Bij de obductie vindt men de liesklieren gezwollen. In de buik- en borstholten bevindt zich geen vrij vocht. Het omentum bevat geen bloeduitstortingen. De lever is bleek en broos. De nieren zijn niet

hyperaemisch. De blaas bevat eene groote quantiteit heldere urine.

N° 26.

14 Nov. Bij een zwartbont konijn, dat 1355 gram weegt, injicieer ik in de linker oor-vena 2 cM.³ van hetzelfde virus, als in proef n° 25.

16 Nov. Het konijn schijnt nog volkomen gezond.

18 Nov. Ten 9 ure vind ik het dier dood in het hok. Bij de obductie vindt men de okselklieren gezwollen; het omentum vertoont geen bloeditstortingen, de lever is bleek en broos. De nieren zijn niet hyperaemisch. De blaas is ledig.

N° 27.

14 Nov. Bij een zwartbont konijn, dat 1315 gram weegt, spuit men 1 cM.³ in de oor-vena.

18 Nov. Heden ochtend ten 9 ure ligt het dier dood in het hok. De vorige dagen heeft het geen ziekteverschijnselen vertoond. Bij de obductie vind ik duidelijk bloeditstortingen in het omentum. De lever is broos en vertoont dezelfde geelachtig bleeke tint als die der beide voorafgaande proefdieren. De nieren zijn daarentegen zeer hyperaemisch, de blaas is matig gevuld.

N° 28.

14 Nov. Bij een cavia, die 495 gram weegt, spuit

ik een half cM.³ van hetzelfde virus onder de huid van den rug.

26 Nov. Heden ochtend vind ik de cavia dood in het hok liggen. Hoewel ik het dier dagelijks zag, kon ik absoluut geen ziekteverschijnselen bij het dier waarnemen. Bij de obductie worden dezelfde verschijnselen gevonden, die bij de cavia van proef n^o 17 vermeld zijn.

N^o VII.

21 Nov. Bij dit experiment maakte ik gebruik van een bouilloncultuur van diphtheriebacillen, die gedurende 8 dagen in de broedstoof bij een temperatuur van 33° C. gehouden was.

N^o 29.

21 Nov. Van deze troebele cultuur spoot ik bij een duif, die 340 gram woog, een cM.³ in den musculus pectoralis sinister.

22 Nov. De duif ligt dood in het hok. Bij de obductie vindt men weder de afwijkingen, die reeds herhaaldelijk bij duiven werden aangetroffen, wanneer ik ze het diphtherisch virus in den musculus pectoralis had gespoten.

50 cM.³ van de bouillon-cultuur worden vervolgens in ons toestel gebracht en uitgewasschen met 1500 cM.³ van een gesteriliseerde physiologische keukenzoutoplossing.

Aan het einde der uitspoeling wordt de cultuur niet op haar oorspronkelijk volumen (50 cM.³), maar op 150 cM.³ gebracht. Het virus werd dus drie malen verdund. Hiermede nu verrichtte ik de volgende infectieproeven.

N^o 30.

21 Nov. Bij een donkergrijs konijn, dat 2150 gram woog, wordt 1 cM.³ van het virus in de rechter oor-vena geïnjecteerd.

25 Nov. Bij het konijn, dat tot dusverre gezond is gebleven, wordt heden nogmaals van hetzelfde virus een cM.³ in de oorvena geïnjecteerd.

3 Januari 90. Het konijn heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Het dier, dat voorts nog in observatie zou blijven, werd gestolen.

N^o 31.

21 Nov. Bij een leikleurig konijn, dat 2100 gram weegt, wordt 1 cM.³ van het zelfde virus in de linker oor-vena gespoten.

25 Nov. Het konijn is gezond gebleven. Heden wordt opnieuw 1 cM.³ van het virus in de oorvena gespoten. Bij uitzaaiing van het virus op serum, dat gisteren heeft plaats gehad, zijn heden talrijke kolonies van diphtherie-bacillen op Loeffler's serum uitgegroeid.

3 Dec. Het konijn ligt dood in het hok. Bij de obductie vindt men de buikholte en de pleuraholte ledig. Bloedingen in het omentum ontbreken. De

lever is bleek en broos. De nieren vertoonen geen afwijkingen.

N° 32.

21 Nov. Bij een witte duif, die 360 gram weegt, worden 2 cM.³ van het virus in den musculus pectoralis sinister geïnjecteerd.

23 Nov. De duif heeft tot dusverre geen ziekteverschijnselen vertoond en is ook heden heel wel.

15 Jan. 90. De duif is nog steeds gezond.

N° VIII.

4 Dec. Bij dit experiment wordt een bouilloncultuur van diphtheric-bacillen gebezigd, die van 1 November tot 4 December, derhalve gedurende 21 dagen bij 33° C. in de broedstoof had gestaan. Nadat de levensvatbaarheid van deze cultuur door uitzaaiing was vastgesteld, worden 50 cM.³ in ons toestel gebracht en met 1500 cM.³ gesteriliseerde physiologische keukenzoutoplossing uitgewassen. Nadat de quantiteit van het virus weder op 50 cM.³ was teruggebracht, worden daarmee de volgende infectieproeven verricht.

N° 33.

4 Dec. Bij een zwarte duif, die 330 gram weegt, worden 2 cM.³ in de muscoli pectorales geïnjecteerd.

7 Dec. De duif, voortdurend in observatie gehouden, heeft tot dusverre nog geen ziekteverschijnselen vertoond.

30 Jan. 90. De duif is nog steeds gezond.

N^o 34.

4 Dec. Bij een roode duif, die 200 gram weegt, worden, evenals in proef n^o 33, 2 cM.³ van het virus in de musculi pectorales geïnjectieerd.

7 Dec. De duif is nog volkomen gezond.

30 Jan. 90. De duif, sinds 4 December in observatie gehouden, is tot dusverre volkomen gezond gebleven.

N^o 35.

4 Dec. Bij een zwart konijn, dat 2250 gram weegt, wordt de trachea blootgelegd, en worden met een fijne canule een paar druppels van het virus in de trachea gespoten. Vervolgens wordt de wond onder strenge antiseptische cauteelen gehecht en met in jodoform-collodion gedrenkte watten voorzien.

9 Dec. Het konijn, dat tot dusverre geen ziekteverschijnselen heeft aangeboden, wordt gedood. In de trachea wordt geen afwijking gevonden. Ook de wond vertoont niets bijzonders ¹⁾.

1) Wellicht zal het den lezer bevreemden, dat ik bij deze proef van de gewone wijze van intratracheale infectie met de diphtheriebacillen afweek. Deze afwijking geschiedde om na te gaan of werkelijk een uitgebreidere laesie van het slijmvlies noodig is, om een croupeuse ontsteking teweeg te brengen. Op deze kwestie kom ik later terug. Ik verrichtte namelijk opzettelijk een viertal infectieproeven, om hier omtrent iets naders te weten te komen. Men vergelijke de proeven n^o 83, 84, 85 en 86 en den tekst pag. 100.

N° IX.

23 Dec. Bij de hier volgende proeven maakte ik gebruik van een bouilloncultuur van diphtheriebacillen, die van 13 November tot heden in de broedstoof bij 33° C. had vertoefd. Een aantal buisjes met Loeffler's serum werden met deze zeven en dertig dagen oude cultuur geënt, en leverden volumineuse rein-cultures van den Klebs-Loefflerschen bacil. Na aldus de levensvatbaarheid der bacillen gecontroleerd te hebben, verrichtte ik met de cultuur de volgende infectieproef.

N° 36.

23 Dec. Bij een witte duif met bruine vleugels wordt 1 cM.³ van de bouilloncultuur in den musculus pectoralis sinister ingespoten.

25 Dec. De duif wordt dood in het hok gevonden: bij de obductie van het dier vindt men weder den geelachtig gekleurden circumscripten haard ter plaatse van de injectie en voorts de opvallend sterke vulling van de venae mesenteriales.

23 Dec. 50 cM.³ van de zeven en dertig dagen oude cultuur worden in ons toestel gebracht, met 1500 cM.³ van een gesteriliseerde physiologische keukenzoutoplossing uitgewasschen en de bacillen-suspensie wederom teruggebracht op haar oorspronkelijk volumen van 50 cM.³. Met dit virus verrichtte ik de volgende drie infectie-proeven.

N° 37.

23 Dec. Bij een zwartbont konijn, dat 2075 gram weegt, wordt tracheotomie verricht. De achterwand van de trachea wordt even gelaedeerd door er over heen te strijken met de branche van een gesteriliseerd pincet. Vervolgens werden een paar platina-lissen vol van het virus op dezelfde plaats uitgestreken. De wond der trachea wordt met catgut gehecht. Men legt spier- en huidhechtingen, na behoortelijke reiniging van de wond, aan, en appliceert een watten-verband met Jodoform-collodion gedrenkt.

24 Dec. Het konijn vertoont geen ziekteverschijnselen.

26 Dec. Het dier, dat gisteren nog geheel gezond was, is heden verdwenen. Er was diefstal gepleegd.

N° 38.

23 Dec. Bij een blauwe duif met gespikkelden kop, die 362 gram weegt, worden 2 cM.³ in de muscoli pectorales geïnjicieerd.

26 Dec. De duif vertoont geen ziekteverschijnselen.

30 Januari 90. De duif is voortdurend gezond gebleven en heeft met name geen tardieve verlammingverschijnselen vertoond.

N° 39.

23 Dec. Bij een blauwe duif, die 305 gram weegt,

worden eveneens 2 cM.³ van hetzelfde virus in de musculi pectorales geïnjicieerd.

27 Dec. De duif heeft geen ziekteverschijnselen vertoond en ziet er gezond uit.

15 Januari 90. De duif, die naar ik verneem, in de laatste dagen er ziekelijk uitzag, maar niet bepaald verlamingsverschijnselen vertoonde, werd heden gedurende mijn afwezigheid (influenza), dood in het hok gevonden. De obductie werd niet verricht.

N° X.

25 Januari 90. Bij de volgende reeks van infectieproeven maakte ik gebruik van een cultuur van diphtheric-bacillen in bouillon, die heden 32 dagen oud is. Er moet evenwel gezegd worden, dat deze cultuur in tegenstelling tot al de andere bouillon-cultures bij de voorafgaande proeven gebruikt, niet voortdurend bij 33° C. gehouden werd. *De cultuur vertoefde van den 23sten December tot den 31sten December bij 33° C.* Vervolgens werd zij bij kamertemperatuur tot op heden bewaard. Heden werden acht serumbuisjes met deze cultuur geënt; zij vertoonden alle reeds twee dagen later fraaie cultures van den Klebs-Loefflerschen bacil.

N° 40.

25 Januari. Bij een bronskleurige duif, die 290 gram weegt, wordt 1 cM.³ der 32 dagen oude cultuur in den musculus pectoralis dexter gespoten.

26 Januari. De duif ziet er ziek uit. Zij zit in elkaar gedoken in een hoek van het hok.

27 Januari. De duif vertoont diffuse verlamningsverschijnselen. Zij laat de vleugels hangen en loopt moeielijk.

29 Januari. De duif is nog steeds ziek; zij laat de vleugels nog hangen, doch loopt beter.

1 Febr. De ziekteverschijnselen zijn verminderd.

6 Febr. De duif loopt weer goed: alleen laat zij de vleugels nog wat hangen.

N° 41.

25 Jan. Bij een grijs konijn, dat 1890 gram weegt, wordt 1 cM.³ der cultuur in de oor-vena gespoten.

6 Febr. Het dier is gezond gebleven. Ook heden is nog geen enkel ziekelijk verschijnsel waar te nemen.

N° 42.

25 Januari. Bij een grijs konijn met witten bles, dat 2040 gram weegt, worden 2 cM.³ van dezelfde bouillon-cultuur in de huid van den rug gespoten.

6 Febr. Het konijn heeft tot dusverre geen enkel ziekelijk verschijnsel vertoond.

Na 50 cM.³ in ons waschtoestel gebracht te hebben, worden deze met 1500 cM.³ van een gesteriliseerde physiologische zoutoplossing uitgespoeld, en vervolgens de troebele bacillen-suspensie weer op een volumen

van 50 cM.³ teruggebracht. Met deze suspensie verrichtte ik de volgende zes infectieproeven.

N^o 43.

25 Januari. Bij een cavia, die 540 gram woog, wordt 1 cM.³ van de genoemde bacillen-suspensie onder de huid van den buik gespoten.

30 Januari. Het dier is volkomen gezond gebleven, het loopt zeer snel door het hok.

31 Jan. Het dier, dat ten 9 ure des ochtends stil in een hok van het hok zat, sterft in den namiddag. Bij de obductie blijkt het volgende. De cavia weegt 450 gram. Op de plaats der inoculatie wordt in het subcutane bindweefsel een haemorrhagisch oedeem gevonden. Bij het openen van de buikholte blijkt nader, dat de genoemde oedemateuse infiltratie zich door den buikwand voortzet, terwijl daar ter plaatse de serosa der buikholte met een fibrineus exsudaat bedekt is. Terzelfder plaatse vindt men een darmlis met den buikwand verkleefd. Overigens is het peritoneum onveranderd en bevat de buikholte geen vrij vocht. De linker hoorn van den uterus is zeer volumineus: hij bevat een bijna voldragen embryo. Bij onderzoek blijkt de placenta materna met fibrineuse pseudomembranen bedekt, terwijl ook uitwendig ter plaatse van de insertie der placenta aan den uteruswand, plaatselijk hetzelfde exsudaat wordt aangetroffen. Uit een en ander blijkt, dat de naald der Pravaz-sche spuit in de

buikholte is gedrongen en de placenta heeft getroffen. Overigens worden bij het dier geene afwijkingen gevonden.

N° 44.

25 Jan. Bij een bronskleurige duif, die 290 gram weegt, wordt 1 cM.³ van dezelfde uitgewasschen bacillencultuur in den musculus pectoralis geïnjecteerd.

6 Febr. De duif heeft tot dusverre geen ziekteverschijnselen vertoond.

N° 45.

25 Jan. Bij een lichtbruine duif, die 360 gram weegt, wordt, evenals bij de vorige proef, 1 cM.³ van hetzelfde virus, in den musculus pectoralis geïnjecteerd.

6 Febr. De duif is volkomen gezond gebleven.

N° 46.

25 Jan. Bij een leikleurig konijn, dat 1620 gram weegt en er zwak en wat vermagerd uitziet, wordt 1 cM.³ van hetzelfde virus in de oor-vena gespoten.

31 Jan. Het dier ligt dood in het hok. Bij de obductie vindt men bij het dier, dat 1500 gram weegt, de buikholte ledig, in het mesenterium geen bloeduitstortingen. De lever is bruinrood van kleur. De milt is hyperaemisch. De blaas is matig uitgezet en bevat heldere, gele, eiwithoudende urine. De nieren zijn bleek van kleur; de schors is troebel, bloedingen zijn

afwezig. In het pericardium vindt men een weinig vocht. De pleura-holten zijn ledig; de longen vertoonen geen veranderingen. Het pancreas-aselli, de lies- en okselklieren zijn niet gezwollen.

N° 47.

25 Jan. Bij een grijs konijn met witten hals, dat 2540 gram weegt, worden 2 cM.³ van hetzelfde virus onder de huid van den rug gespoten.

6 Febr. Het dier is tot dusverre volkomen gezond gebleven.

N° 48.

25 Jan. Bij een wit konijn, zwart gevlekt, dat 2640 gram woog, wordt tracheotomie verricht. Na het slijmvlies der trachea ter plaatse van de gemaakte opening een weinig gelaedeerd te hebben, door er even over heen te strijken met de branche van een vooraf uitgegloeid pincet, worden enkele druppels van dezelfde bacillen-suspensie in de trachea gedruppeld.

Vervolgens werd de trachea met catgut gehecht, de wond met sublimaat gedesinfecteerd en werden spier- en huidhechtingen aangelegd. Ten slotte werd de wond met een jodoform-collodion wattenverband bedekt.

1 Febr. Het dier ziet er ziek uit en heeft dyspnoe. Bij de ademhaling hoort men een piepend geluid. Bij onderzoek van de urine blijkt deze eiwit te bevatten.

4 Febr. Het dier is heden ochtend gestorven. Het weegt 2000 gram. Bij de obductie vindt men het celweefsel in de buurt van de wond oedemateus-haemorrhagisch. In de trachea vindt men het slijmvlies met een duidelijke fibrincuse membraam bedekt. Deze membraam strekt zich niet gelijkmatig over de geheele trachea uit, maar is vleksgewijze op het slijmvlies gelegen. In de bronchi vindt men geen exsudaat. De boven- en middenkwab der rechterlong zijn bruinrood gehepatiseerd. Ook een deel van de bovenkwab der linkerlong verkeert in denzelfden toestand. De lever is bleekgeel van kleur. De milt is hyperaemisch. De nieren zijn bleek. In het omentum vindt men langs de vaten kleine bloeditstortingen. Het slijmvlies van den pharynx is nergens met pseudomembranen bedekt.

OVERZICHT VAN DE PROEVEN DER EERSTE REEKS.

INFECTIE-PROEVEN MET BOUILLON-CULTURES.

INFECTIE-PROEVEN MET GEREINIGDE BACILLEN.

Nummer van het Experiment.	Ouderdom der cultuur.	Proefdier.	Resultaat.	AANMERKINGEN.	Proefdier.	Resultaat.	AANMERKINGEN.
Proef I.	102 dagen.	Konijn n° 1. 17 Oct. 1 cM. ³ intraveneus.	18 Oct. gestorven.		Cavia n° 3. 17 Oct. 1 cM. ³ subcutaan.	gezond gebleven.	
		Konijn n° 2. 17 Oct. 1 cM. ³ subcutaan.	20 Oct. gestorven.		Konijn n° 4. 17 Oct. 3 1/2 cM. ³ intraveneus.	gezond gebleven.	
					Konijn n° 5. 17 Oct. 3 cM. ³ subcutaan.	gezond gebleven.	
Proef II.	9 dagen.	Duif n° 6. 30 Oct. 1 cM. ³ intramusc.	31 Oct. gestorven.		Duif n° 7. 30 Oct. 3 cM. ³ intramusc.	31 Oct. gestorven.	
					Duif n° 8. 30 Oct. 2 cM. ³ intramusc.	1 Nov. gestorven.	
Proef III.	3 dagen.	Konijn n° 9. 1 Nov. 1 cM. ³ intraveneus.	6 Nov. gestorven.		Konijn n° 11. 1 Nov. 4 cM. ³ intraveneus.	5 Nov. gestorven.	
		Duif n° 10. 1 Nov. 1 cM. ³ intramusc.	3 Nov. gestorven.		Duif n° 12. 1 Nov. 2 cM. ³ intramusc.	3 Nov. gestorven.	
					Konijn n° 13. 1 Nov. Inoculatie i. d. trachea.	3 Nov. gestorven.	
Proef IV.	6 dagen.	Duif n° 15. 4 Nov. 1 cM. ³ intramusc.	6 Nov. gestorven.		Duif n° 16. 4 Nov. 1 cM. ³ intramusc.	7 Nov. gestorven.	
					Cavia n° 17. 4 Nov. 1 cM. ³ subcutaan.	6 Nov. gestorven.	
					Konijn n° 18. 4 Nov. 4/10 cM. ³ subcutaan.	gezond gebleven.	
					Konijn n° 19. 4 Nov. 4 cM. ³ subcutaan.	Aanvang December Konijn gezond.	Einde December proefdier gestolen.
Proef V.	9 dagen.	Duif n° 20. 7 Nov. 1 cM. ³ intramusc.	8 Nov. gestorven.		Konijn n° 21. 7 Nov. 3 cM. ³ intraveneus.	gezond gebleven.	
					Konijn n° 22. 7 Nov. 2 cM. ³ intraveneus.	13 Nov. gestorven.	
					Konijn n° 23. 7 Nov. 1 cM. ³ intraveneus.	gezond gebleven.	
Proef VI.	5 dagen.	Duif n° 24. 14 Nov. 1 cM. ³ intramusc.	16 Nov. gestorven.		Konijn n° 25. 14 Nov. 3 cM. ³ intraveneus.	18 Nov. gestorven.	
					Konijn n° 26. 14 Nov. 2 cM. ³ intraveneus.	19 Nov. gestorven.	
					Konijn n° 27. 14 Nov. 1 cM. ³ intraveneus.	18 Nov. gestorven.	
					Cavia n° 28. 14 Nov. 1/2 cM. ³ subcutaan.	26 Nov. gestorven.	
Proef VII.	8 dagen.	Duif n° 29. 21 Nov. 1 cM. ³ intramusc.	22 Nov. gestorven.		Konijn n° 30. 21 Nov. 1 cM. ³ intraveneus.	gezond gebleven.	
					Konijn n° 31. 21 Nov. 1 cM. ³ intraveneus.	3 Dec. gestorven.	
					Duif n° 32. 21 Nov. 2 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.	
Proef VIII.	21 dagen.				Duif n° 33. 4 Dec. 2 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.	
					Duif n° 34. 4 Dec. 2 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.	
					Konijn n° 35. 4 Dec. Intra-tracheale injectie van een paar druppels.	9 December Konijn gedood. Trachea normaal.	
Proef IX.	40 dagen.	Duif n° 36. 23 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	25 Dec. gestorven.		Konijn n° 37. 23 Dec. Inoculatie i. d. trachea.	25 December Dier nog gezond.	Het dier werd 26 Dec. gestolen.
					Duif n° 38. 23 Dec. 2 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.	
					Duif n° 39. 23 Dec. 2 cM. ³ intramusc.	15 Jan. gestorven.	
Proef X.	32 dagen. (8 dagen bij 33° C. vervolgens kamertemperatuur.	Duif n° 40. 25 Jan. 1 cM. ³ intramusculair.	Na ziek geweest te zijn, wederom hersteld.		Cavia n° 43. 25 Jan. 1 cM. ³ subcutaan.	31 Jan. gestorven.	Dier aan complicatie overleden. Zie de proef.
		Konijn n° 41. 25 Jan. 1 cM. ³ intraveneus.	gezond gebleven.		Duif n° 44. 25 Jan. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.	
		Konijn n° 42. 25 Jan. 2 cM. ³ subcutaan.	gezond gebleven.		Duif n° 45. 25 Jan. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.	
					Konijn n° 46. 25 Jan. 1 cM. ³ intraveneus.	31 Jan. overleden.	
					Konijn n° 47. 25 Jan. 2 cM. ³ subcutaan.	gezond gebleven.	
					Konijn n° 48. 25 Januari Intra-tracheale inoculatie.	4 Febr. gestorven.	

B. ONDERZOEK NAAR DE VIRULENTIE VAN SERUM-CULTURES VAN VERSCHILLENDE LEEFTIJD.

Ik wend mij thans tot het onderzoek van de virulentie van rein-cultures van diphtherie-bacillen, die gedurende meerdere weken bij 33° C. in de broedstroof stonden, of na enkele dagen bij die temperatuur vertoefd te hebben, voorts bij kamertemperatuur waren bewaard geworden.

Alvorens over te gaan tot het verrichten van infectieproeven, werd enkele dagen te voren de oude cultuur, door uitzaaiing op Loeffler's serum, op hare vitaliteit onderzocht. Alleen dan, wanneer de uitzaaiing onmiddellijk een cultuur leverde, werd de oude cultuur voor een experiment gebezigd. Bleek daarentegen bij de uitzaaiing dat de levensvatbaarheid der bacillen zeer aanzienlijk verminderd was, wat inderdaad niet zeldzaam kon worden geconstateerd, dan werd de oude cultuur ongeschikt geacht voor de proef en daarmede niet geëxperimenteerd.

Wat de vitaliteit van serum-cultures betreft, zoo valt in het algemeen op te merken, dat de cultures

ongeveer 3 maanden lang levensvatbaar blijven, met met dien verstande evenwel, dat enkele cultures hunne levensvatbaarheid langer behouden, andere daarentegen reeds spoediger afsterven. Terwijl Loeffler reeds bij zijn eerste onderzoek constateerde, dat de serum-cultures ruim drie maanden levensvatbaar blijven, heeft hij er in zijne laatste verhandeling op gewezen, dat de cultures in enkele gevallen reeds binnen enkele weken bijna geheel afgestorven waren, zoodat bij uitzaaiing van grootere quantiteiten der cultuur, slechts weinige kolonies van diphtherie-bacillen werden verkregen; van den anderen kant zagen wij in het historisch overzicht, Roux en Yersin experimenteeren met een 5 maanden oude cultuur, in het duister bewaard, wier bacillen stellig grootendeels nog levensvatbaar waren. Het was derhalve zeer zeker noodzakelijk, telkens, zooals hierboven vermeld is, voordat wij tot het verrichten van infectie-proeven overgingen, de levensvatbaarheid voor ieder geval nauwkeurig na te gaan.

De jeugdige cultures, die bij de genoemde controle verkregen werden, gebruikte ik nu verder om daarmee ook infectie-proeven te verrichten en op deze wijze de oude moedercultuur, met de twee tot vier dagen oude dochtercultuur, rechtstreeks te vergelijken. Ik heb met dit doel 2 seriën proeven genomen. In de eerste serie, (Bijlage b. Proeven der tweede reeks), heb ik acht proeven verricht bij duiven, waarbij het

diphtherie-virus in den musculus pectoralis werd gespoten. In de tweede serie (Bijlage c. Proeven der derde reeks), verrichtte ik proeven bij konijnen, om na te gaan, welken invloed de intratracheale inoculatie van oude cultures had. Terwijl ik bij de laatste proeven een platina-lis bacillen over het vooraf gelaedeerde slijmvlies uitstreek, werd bij de intramusculaire injecties bij duiven de oude cultuur telkens met 1 cM.³ gesteriliseerd water aangemengd en van deze troebele emulsie een gedeelte geïnjecteerd.

Wat betreft de uitkomsten bij de intramusculaire injecties bij duiven verkregen, deze waren zeer sprekend. De oudste cultures, die bij overenting uit een zeer groot aantal cultures, die voor dit doel bewaard waren geworden, voor onze proeven geschikt bleken te zijn, waren hoogstens twee maanden oud. Oudere cultures gaven slechts enkele kolonies, of bleken geheel afgestorven.

De experimenten met deze cultures verricht bij zeven duiven, leorden het volgende. Terwijl al de duiven dezelfde quantiteit, 1 cM.³, van de bacillensuspensie in den musculus pectoralis ontvingen, zijn er van mijn proefdieren vijf volkomen gezond gebleven, (n^o 51, 52, 55, 57, 58); daarentegen hebben twee duiven, die even als de andere in de eerste dagen na de injectie geen ziekte-verschijnselen vertoond hadden, geruimen tijd later duidelijke tardieve verlamingsverschijnselen aangeboden. Bij de eene duif,

(n° 49), bij welke op den 21^{sten} November de injectie plaats had, verschenen tegen den 5^{den} Januari daaraanvolgende verlamingsverschijnselen, die in de daarop volgende dagen meer en meer toenamen, zoodat het dier ten slotte noch vliegen, noch loopen kon. Op 11 Januari doodde ik het dier, om na te gaan, voornamelijk, of misschien ziekteprocessen der gewrichten (arthritis urica¹⁾), de oorzaak der waargenomen verschijnselen kon zijn. Daarbij bleek even wel, dat de gewrichten van het dier volkomenn ormaal waren, (vergelijk het obductie-verslag pag. 76). Bij een andere duif, (n° 54), bij welke op 17 December het virus in den musculus pectoralis geïnjectieerd was, traden op 1 Febr. 90, verlamingsverschijnselen op, terwijl het dier een opvallende vermagering vertoonde. Tijdens het bestaan der verlammingen overleed het dier, zonder dat bij de obductie de naaste oorzaak van den dood nauwkeurig kon worden vastgesteld. De dochter-cultures van de oude serum-cultures, waarvan hierboven melding werd gemaakt, gaven daarentegen geheel andere uitkomsten. De vier proefdieren, n° 50, 53, 56 en 59, die elk 1 cM.³ van de twee tot drie dagen oude cultuur in den musculus pectoralis ontvingen, stierven alle binnen één- tot tweemaal vierentwintig uur.

Na deze uitkomst, die met zekerheid scheen aan

1) Zie de noot pag. 76 v. d. proefschrift.

te wijzen, dat zekere verzwakking der oude cultures aanwezig was, ging ik over tot het nemen van proeven met jeugdiger cultures. Ik nam daartoe in de eerste plaats twee proeven met cultures, die een maand oud waren, en gedurende dien tijd bij 33° C. hadden vertoefd, (Exp. V en VI), en spoot van deze cultures bij vier duiven telkens 1 cM.³ in den musculus pectoralis. Deze dieren, n° 60, 61, 63 en 64, bleven zonder uitzondering gezond, en vertoonden ook later geen tardieve verschijnselen. De vier dagen oude dochter-cultures evenwel, bleken de volle virulentie te vertoonen; twee duiven, (n° 62 en 65), die elk 1 cM.³ in den musculus pectoralis ontvingen, stierven binnen tweemaal vierentwintig uur.

Ten slotte ben ik in twee volgende experimenten, n° VII en n° VIII, nog wat verder gegaan, en heb geexperimenteerd met cultures die slechts 24 dagen oud waren. (33° C.). Ik verrichtte met deze cultures weder vier infectie-proeven bij duiven, n° 66, 67, 69 en 70. Al deze dieren zijn volkomen gezond gebleven. Daarentegen bleken ook deze cultures bij overenting onmiddellijk weer de volle virulentie te bezitten, zooals de proeven n° 68 en 71 leeren. De eene duif vertoonde reeds daags na de injectie duidelijke verlamingsverschijnselen en stierf nog denzelfden dag, terwijl de tweede, dezelfde verschijnselen vertoonende, hetzelfde lot onderging.

Ik heb deze proeven niet voortgezet door nog

jongere cultures op hare virulentie te onderzoeken, daar het voor de hand lag, dat nu weldra wisselende uitkomsten zouden worden verkregen, al naar mate de cultuur, min of meer verzwakt, bij jongere of oudere duiven ingespoten werd, wat de beoordeeling der uitkomsten van mijne proeven nu verder zeer zoude gaan bemoeielijken.

Gelijk men ziet komen de resultaten mijner proeven geheel over een met die van von Hofmann, en kan ik zijn uitkomst, dat serum-cultures reeds na een maand hare virulentie voor een groot deel of bijna geheel verloren hebben, onderschrijven. Met even veel zekerheid kan gezegd worden, dat de cultures evenwel binnen dien tijd niet regelmatig hare virulentie verliezen, en dat met name zulks daardoor tot uiting kan komen, dat de dieren zelfs weken later nog aan tardieve verschijnselen kunnen te gronde gaan, zooals ook door Roux en Yersin is aangegeven.

Ook het feit door von Hofmann eenerzijds, door Roux en Yersin anderzijds geconstateerd, dat jeugdige dochter-cultures van de oude verzwakte cultures, onmiddelijk weder de volle virulentie vertoonen, werd door mijne proeven bevestigd, en op afdoende wijze nader bewezen.

Na deze beschouwing, betreffende de intramusculaire injectie bij duiven, wendde ik mij tot een anderen infectie-modus, de intra-tracheale inoculatie. Tot dus-

verre had men deze wijze van infectie, ofschoon de meest voor de hand liggende, met verzwakte cultures nog niet verricht. Na tracheotomie verricht te hebben, werd onder de noodige voorzorgsmaatregelen om wond-infectie te voorkomen, het slijmvlies der trachea gelaedeerd, en op deze plaats een geringe hoeveelheid bacillen van oude cultures uitgestreken. In experiment I, Bijlage c, entte ik met een cultuur die van 27 Nov. tot 23 Dec. bij 33° C. had gestaan. Die enting mislukte, het dier bleef volkomen gezond. In de experimenten II en III, gebruikte ik serum-cultures die 48, respectieve 37 dagen oud waren. In beide gevallen bleef de enting in de trachea, (n° 73 en 75), zonder eenig resultaat. Het proefdier n° 73, dat geruimen tijd na de inoculatie dyspnoe vertoonde, en daarom gedood werd, bleek aan secundaire infectie met tuberkel-bacillen te lijden. Ook de gelijktijdig met deze cultures verrichte intra-musculaire injecties bij duiven, (n° 74 en 76), bleven zonder eenig nadeelig gevolg. Eindelijk verrichtte ik inoculatie in de trachea bij een konijn, (n° 77), met een serum-cultuur, die 35 dagen oud was, en entte met een dochter-cultuur daarvan, die 5 dagen oud was, de trachea bij een tweede konijn, (n° 79). Beide konijnen zijn aan dezelfde afwijking te gronde gegaan. In beide gevallen werd bij de obductie een uitgebreide ontsteking van de trachea gevonden, wier slijmvlies met dikke pseudomembranen bedekt was, ja, bij het dier dat met de

oude cultuur geïnculeerd was, had het proces zelfs een buitengewoon hoogen graad bereikt, en vond men ook in de groote bronchi fibrineuse afgietsels. Dat de cultuur evenwel feitelijk, althans tot zekere hoogte, verzwakt was, leerde een intra-musculaire injectie bij een duif, (n° 78), welk dier, althans voor zoover nagegaan kon worden, gezond bleef. Een experiment, geheel overeenkomstig aan het laatst beschrevene, Exp. V, gaf volkomen denzelfden uitkomst. Zoowel het konijn, (n° 80), dat met de oude cultuur, als dat, (n° 82), hetwelk met de jeugdige dochter-cultuur in de trachea geënt was, stierven beide aan uitgebreide membraneuse ontsteking der trachea, terwijl een duif, (n° 81), ter controle ingeënt in den musculus pectorales, volkomen gezond gebleven is.

Wanneer men derhalve de uitkomsten van de proeven der laatste serie samenvat, dan blijkt, dat ook bij de enting op het gelaedeerde slijmvlies der trachea, de verzwakking van oude cultures merkbaar is. Merkwaardiger wijze vindt deze verzwakking evenwel niet haar uitdrukking in de intensiteit van het proces, dat door de bacillen wordt opgewekt, maar verkrijgt men een geheel ander resultaat. Bij sommige proefdieren volgt in het geheel geen bacillaire ontsteking; bij anderen daarentegen wekt zij een membraneuse tracheïtes op, die in intensiteit volkomen overeenstemt met die, welke men na enting met niet verzwakte cultures pleegt waar te nemen. Voorts ziet men, dat tot

deze uitslag van de proef, de leeftijd van de cultuur betrekkelijk weinig afdoet.

Wanneer men deze feiten beschouwt in verband met de in den loop der vorige proeven waargenomene daadzaak, dat de dochter-cultures van oude, zonder twijfel verzwakte cultures, wederom de oorspronkelijke virulentie terugkrijgen, dan is het, alsof bij de enting op het slijmvlies der gelaedeerde trachea, de uitkomst afhankelijk is van de levensvatbaarheid der bacterien en van de condities die zij daar ontmoeten. Naar mate deze laatste gunstiger zijn voor de vermenigvuldiging der bacillen en de vitaliteit der bacterien grooter is, des te meer kans zal er bestaan, dat de bacterien in woekering geraken, en dat hun kroost, in het bezit der volle virulentie, aanleiding zal geven tot een heftige ontsteking.

Uit de laatste proeven, met serum-cultures genomen, blijkt derhalve, dat met den leeftijd de virulentie van den diphtherie-bacil afneemt, zonder evenwel geheel verloren te gaan. Na te gaan of cultures, ouder dan die ik bij mijne proeven gebruikte, hare virulentie misschien ten eenenmale hadden verloren, was 'mij daarom niet mogelijk, omdat, zooals boven uitvoerig vermeld is, de bacillen met den leeftijd gaandeweg aanzienlijk in aantal verminderen. Zelfs bij de proeven, waarbij de bacillen op het slijmvlies der trachea geënt werden, en waarbij stellig wel dit moment van minder beteekenis zal wezen, dan bij

andere wijze van infectie, konden toch deze omstandigheden niet geheel uit het oog verloren worden, omdat het immers denkbaar is, dat de platinalis toevallig geen levensvatbare bacillen op het slijmvlies bracht.

BIJLAGE b.

Proeven der tweede reeks.

N° I.

21 Nov. Een reïncultuur van diphtheriebacillen, die sinds 21 Sept. 89 bij 33° C. stond, werd heden op hare vitaliteit en virulentie onderzocht. Na overenting op Loeffler's serum wordt de twee maanden oude cultuur met 2 cM.³ gesteriliseerde physiologische zoutoplossing aangemengd.

N° 49.

21 Nov. Van de genoemde troebele bacillen-suspensie injecteer ik 1 cM.³ in den musculus pectoralis van een blauwzwarte duif.

22 Nov. De duif is volkomen gezond.

29 Nov. De duif is nog steeds gezond gebleven.

5 Jan. 90. Heden worden bij de duif voor het eerst verlamningsverschijnselen waargenomen.

10 Jan. De duif vertoont op dit oogenblik zeer uitgebreide verlamningsverschijnselen, zoowel aan de

pooten als aan de vleugels. Het dier, dat goed gevoed is, en wiens eetlust niets te wenschen overlaat, ligt met uitgespreide beenen, met de borst op den bodem en steunt met de vleugels op den grond. Van op den stok vliegen is geen sprake meer.

11 Jan. Het dier wordt gedood. Bij de obductie vindt men in de musculi pectorales geen afwijking. Ook aan de spieren van vleugels en pooten vallen macroscopisch geen afwijkingen in het oog. De spieren vertoonen overal de gewone kleur en zijn, evenals het vetweefsel, flink ontwikkeld. Het inwendig onderzoek van het dier leert nergens eenige afwijking kennen. Het blootgelegde ruggemerg ziet er macroscopisch normaal uit. De zenuwen van vleugels en pooten vertoonen evenmin eenige, met het bloote oog, zichtbare afwijking. De gewrichten van bovenste en onderste extremiteiten worden nauwkeurig onderzocht. Nergens worden aan die gewrichten ontstekingsprocessen gevonden, en met name valt van arthritis urica niets te ontdekken ¹⁾.

1) Ik doodde deze duif in het stadium der tardieve paralyse, vooral met het oog op het onderzoek der gewrichten. Zooals men weet heeft Loeffler bij een zijner proefdieren overeenkomstige paralyzen waargenomen, die, zooals de obductie leerde, aan arthritis urica moesten worden toegeschreven. Ook Klebs wees in zijn algemeene pathologic. Bd. II. op de wenschelijkheid om de gewrichten nauwkeurig te onderzoeken, daar toch de arthritis urica een gevolg zoude kunnen wezen van eventueele nephritis der proefdieren

N° 50.

23 Nov. Met de dochtercultuur, genomen van de twee maanden oude cultuur, waarmede de voorafgaande proef genomen werd, wordt door aanmenging met gesteriliseerde physiologische zoutoplossing een troebele suspensie bereid. Hiervan injecteer ik een cM.³ in den musculus pectoralis van een bruine duif.

25 Nov. Heden ochtend vindt men de bruine duif dood in het hok. Bij de obductie vindt men in den musculus pectoralis sinister, waarin de injectie geschiedde een geelachtigen haard, gepaard met enkele haemorrhagiën. Het inwendig onderzoek van het lijk leert enkel het bestaan van een sterke vulling der mesenteriale vaten.

N° II.

17 Dec. Bij dit experiment wordt gebruik gemaakt van een serum-cultuur, die van 17 October l.l. tot 14 December bij 33° C. gehouden was. Op 14 December werden met deze cultuur serumbuisjes geënt. Reeds den volgenden dag zijn op deze laatste volumineuse cultures opgekomen. Nadat aldus de levensvatbaarheid van de bijna twee maanden oude cultuur was vastgesteld, verrichtte ik daarmede de volgende proeven.

N° 51.

17 Dec. De cultuur wordt met twee cM.³ gesteri-

liseerd water aangemengd. Van deze troebele vloeistof injecteer ik bij een volwassene blauwe duif 1 cM.³ in den musculus pectoralis dexter.

19 Dec. De duif is volkomen gezond gebleven.

30 Dec. De duif heeft nog geen ziekteverschijnselen vertoond.

1 Febr. 90. De duif is nog steeds gezond en weegt 320 gram.

N^o 52.

17 Dec. Bij een zwarte volwassene duif wordt van hetzelfde virus, dat in de vorige proef werd gebezigd, 1 cM.³ intrapectoraal geïnjecteerd.

20 Dec. De duif is volkomen gezond gebleven.

1 Febr. 90. De duif heeft tot dusverre nog geen ziekteverschijnselen vertoond en weegt 330 gram.

N^o 53.

17 Dec. Een van de buisjes, die zooals boven gezegd op 14 December geënt werden met de twee maanden oude cultuur der beide voorafgaande proeven, en die nu volumineuse reïncultures van diphtheriebaïllen vertoonen, wordt met 1 cM.³ gesteriliseerd water aangemengd. Een cM.³ van deze troebele baïllensuspensie wordt in den musculus pectoralis dexter van een witte duif geïnjecteerd.

18 Dec. De duif ligt dood in het hok. Bij de

obductie vindt men de afwijkingen, zooals die na intrapectorale injectie plegen waargenomen te worden.

N^o III.

17 Dec. Voor deze proef wordt gebruik gemaakt van een cultuur, die, evenals bij de vorige proef, (N^o II), van 17 October tot 14 December bij 33° C. gehouden was. Den 14^{den} Dec. werd door uitzaaiing op Loeffler's serum de levensvatbaarheid der cultuur geconstateerd.

N^o 54.

17 Dec. De twee maanden oude cultuur wordt heden met 2 cM.³ gesteriliseerd water aangemengd, en van deze suspensie wordt een cM.³ in den musculus pectoralis sinister van een volwassene blauwe duif geïnjecteerd.

19 Dec. De duif vertoont geen ziekteverschijnselen.

30 Dec. De duif is geheel gezond gebleven.

1 Febr. 90. Terwijl de duif in de laatste weken volkomen gezond was, vertoont zij sinds gisteren diffuse verlamingsverschijnselen. De laatste zijn weder volkomen overeenkomstig aan die, welke men bij duiven pleegt waartenemen, na vergiftiging met diphtheriefirment of na de bacillaire infectie.

2 Febr. De duif ligt dood in het hok. Bij de obductie wordt een aanzienlijke algemeene vermagering der duif gevonden. Het dier weegt slechts 250

gram. Het onderzoek der inwendige organen leert bij macroscopisch onderzoek niets abnormaals. Bij nauwkeurig onderzoek der gewrichten blijken deze geheel normaal. Met name valt van arthritis urica niets te ontdekken.

N° 55.

17 Dec. Bij een blauwe volwassene duif wordt 1 cM.³ van dezelfde bacillen-suspensie ingespoten, die bij het vorige proefdier gebruikt werd.

30 Dec. De duif is nog volkomen gezond.

3 Febr. 90. De duif weegt 410 gram, heeft goede eetlust en biedt geen ziekteverschijnselen aan.

N° 56.

17 Dec. Een dochter-cultuur van de oude cultuur, die bij de twee voorafgaande proefdieren gebruikt werd, en heden drie dagen oud is, (33° C.), wordt aangemengd met 1 cM.³ gesteriliseerd water en van deze bacillen-suspensie spuit ik 1 cM.³ in den musculus pectoralis dexter van een witte duif.

18 Dec. Heden ochtend ligt de duif reeds dood in het hok. Bij de obductie worden de gewone afwijkingen gevonden.

N° IV.

17 Dec. Een serumcultuur, die van 17 Oct. 11. tot 14 December bij 33° C. gehouden was, werd op

14 Dec. op haar levensvatbaarheid onderzocht. De serumbuisjes, waarop een kleine quantiteit der oude cultuur was uitgezaaid, vertoonden reeds 15 December duidelijke cultures van den Klebs-Loefflerschen bacil. Ter vergelijking van de virulentie van de oude cultuur met hare jeugdige dochter-cultures verrichtte ik de volgende drie experimenten.

N° 57.

17 Dec. Bij een blauwe duif met witten kop (fraai volwassen dier) wordt 1 cM.³ van de bacillen-suspensie, verkregen door de oude cultuur met 2 cM.³ gesteriliseerd water aan te mengen, in den musculus pectoralis dexter geïnjicieerd.

20 Dec. De duif is gezond gebleven: zij vertoont hoegenaamd geen ziekteverschijnselen.

30 Dec. De duif is volkomen gezond.

2 Jan. '90. De toestand der duif laat niets te wenschen over.

6 Febr. Tardieve verschijnselen hebben zich nog niet voorgedaan. De duif weegt 340 gram.

N° 58.

17 Dec. Bij een blauwe volwassene duif met gespikkelden kop, wordt 1 cM.³ van dezelfde bacillensuspensie, waarmede het vorige proefdier werd geïnfecteerd, in den musculus pectoralis dexter gespoten.

20 Dec. De duif is volkomen gezond.

6 Febr. '90. De duif heeft tot dusverre, evenmin als het vorige proefdier, ziekteverschijnselen vertoond. Het dier weegt 335 gram.

N° 59.

17 Dec. Bij een witte duif, (linker vleugel en staart afgeknipt), wordt 1 cM.³ van een met 1 cM.³ gesteriliseerd water aangemengde dochter-cultuur, die heden 3 dagen oud is, in den musculus pectoralis sinister geïnjecteerd.

18 Dec. De duif wordt reeds heden dood in het hok gevonden. Bij de obductie vindt men dezelfde afwijkingen, die men pleegt waar te nemen bij duiven met virulente diphtherie-bacillen geïnfecteerd.

N° V.

21 Dec. Bij deze proef wordt de virulentie onderzocht van een cultuur op Loeffler's serum, die van af 17 Nov. tot 17 Dec. op 33° C. gehouden werd. Op 17 December werd deze cultuur uit de broedstroof genomen, en een geringe quantiteit daarvan op Loeffler's serum uitgezaaid. Deze cultuur bleek nog volkomen levensvatbaar, want reeds den 18den December vertoonden de geënte buisjes fraaie cultures van den Klebs-Loefflerschen bacil. Om de virulentie der dochter-cultures, die heden 4 dagen oud zijn, te vergelijken met die der oude moeder-cultuur, verrichtte ik de volgende drie infectieproeven.

N° 60.

21 Dec. Van de met 2 cM.³ gesteriliseerd water aangemengde vier en dertig dagen oude cultuur, wordt 1 cM.³ ingespoten in den musculus pectoralis dexter van een witte duif, (staart afgeknipt).

23 Dec. De duif is volkomen gezond.

2 Jan. 90. De duif heeft tot dusverre geen ziekteverschijnselen vertoond.

6 Febr. De duif is nog steeds gezond gebleven. Het dier weegt 340 gram.

N° 61.

21 Dec. Bij een witte duif wordt 1 cM.³ van dezelfde bacillen-suspensie, waarmede het voorafgaande proefdier werd geïnoculeerd, in den musculus pectoralis dexter geïnjicieerd.

24 Dec. Het dier is gezond.

31 Dec. De duif heeft tot dusverre geen ziekteverschijnselen vertoond.

6 Febr. 90. De duif is nog steeds gezond en weegt 370 gram.

N° 62.

21 Dec. Bij een zwarte duif met witte vleugels wordt 1 cM.³ van een bacillen-suspensie, verkregen door een der dochtercultures met 1 cM.³ gesteriliseerd water aan te mengen, in den musculus pectoralis ingespoten.

22 Dec. De duif ziet er ziek uit en zit ineengedoken in een hoek van het hok.

23 Dec. De duif is gestorven. Hare obductie leert, dat de afwijkingen geheel overeenkomen, met die, welke men pleegt waar te nemen, na inoculatie met virulente diphtheric-bacillen.

N° VI.

21 Dec. Bij deze proef wordt vergeleken de virulentie van een cultuur van diphtheric-bacillen op Loeffler's serum gekweekt, en van af 17 November tot 17 December bij 33° C. gehouden, met die harer dochtercultures, op 17 December door de oude cultuur op Loeffler's serum geleverd. Ik verrichtte daartoe de drie volgende infectie-proeven.

N° 63.

21 Dec. Na de oude cultuur (34 dagen) met 2 cM.³ gesteriliseerd water aangemengd te hebben, wordt van deze troebele vloeistof 1 cM.³ in den musculus pectoralis sinister van een witte duif ingespoten. De rechter vleugel wordt afgeknipt.

24 Dec. De duif is volkomen gezond.

2 Jan. 90. De duif is steeds gezond gebleven.

6 Febr. De duif heeft tot dusverre geen afwijking vertoond en weegt 315 gram.

N° 64.

21 Dec. Bij een witte duif, wier linker vleugel afgeknipt wordt, spuit ik in den musculus pectoralis sinister 1 cM.³ van dezelfde bacillen-suspensie, waarmede het vorige proefdier werd geïnoculeerd.

24 Dec. De duif vertoont geen ziekteverschijnselen.

2 Jan. 90. De duif is steeds gezond gebleven.

6 Febr. De toestand is onveranderd. De duif weegt 320 gram.

N° 65.

21 Dec. Bij een blauwe duif, (meeuwtje), spuit ik in den musculus pectoralis sinister 1 cM.³ eener troebele suspensie van diphtherie-bacillen, verkregen door een der dochter-cultures, die heden drie dagen oud is, met 1 cM.³ gesteriliseerd water aantemengen.

22 Dec. De duif ziet er ziek uit. Ze eet niet meer.

23 Dec. Des ochtends vind ik het dier dood in het hok. Bij de obductie worden de veranderingen gevonden, die bij duiven na infectie met virulente diphtherie-bacillen plegen aangetroffen te worden.

N° VII.

24 Dec. Bij deze proef wensch ik na te gaan de virulentie eener 27 dagen oude cultuur. De cultuur stond van 27 November tot 21 December in de broedstoof bij een temperatuur van 33° C. Tevens wenschte

ik weder de werking dier cultuur te vergelijken met die harer dochter-cultures en heb daartoe op 21 December een geringe quantiteit der oude cultuur op twee buisjes met Loeffler's serum uitgezaaid, welke beide buisjes heden volumineuse cultures van den Klebs-Loefflerschen bacil vertoonen. Met genoemd doel verrichtte ik de drie volgende infectie-proeven.

N° 66.

24 Dec. Na de 27 dagen oude cultuur aangemengd te hebben met 2 cM.³ gesteriliseerd water, spuit ik van deze troebele bacillen-suspensie 1 cM.³ in den musculus pectoralis sinister van een blauwe duif (meeuwte, staart afgeknipt).

30 Dec. De duif is volkomen gezond gebleven.

2 Jan. 90. Het dier is nog steeds gezond.

6 Febr. Tardieve verschijnselen hebben zich tot dusverre niet voorgedaan. Het dier weegt 300 gram.

N° 67.

24 Dec. Bij een blauwe duif, (staart geknipt), wordt 1 cM.³ van dezelfde suspensie der oude cultuur, waarmede de vorige infectieproef verricht werd, in den musculus pectoralis sinister gespoten.

30 Dec. De duif heeft geen ziekteverschijnselen vertoond.

6 Febr. 90. Tot dusverre zijn nog geen tardieve verschijnselen waartnemen. Het dier weegt 240 gram.

N° 68.

24 Dec. Bij een witte duif, (staart en rechter vleugel afgeknipt), wordt intrapectoraal geïnjecteerd 1 cM.³ eener suspensie van een dochter-cultuur verkregen, door de drie dagen oude cultuur met 1 cM.³ gesteriliseerd water aantemengen.

25 Dec. De duif vertoont duidelijke verlammingverschijnselen. Zij kan niet meer op den stok vliegen, en valt bij het loopen telkens omver.

Des namiddags vind ik het dier dood in het hok liggen. De obductie leert de meermalen beschrevene afwijkingen.

N° VIII.

24 Dec. Bij deze proef wordt nogmaals de virulentie van een 27 dagen oude serumcultuur van diphtherie-bacillen vergeleken met die harer drie dagen oude dochter-cultures. De moeder-cultuur op Loeffler's serum stond van 27 November tot 21 December in de broedstoof bij 33° C. Op den 21sten December werd een kleine quantiteit der cultuur op Loeffler's serum uitgestreken. Deze uitzaaiing leverde fraaie dochter-cultures. De volgende infectie-proeven worden verricht.

N° 69.

24 Dec. De oude cultuur wordt met 2 cM.³ gesteriliseerd water aangemengd en hiervan 1 cM.³ ingespoten in den musculus pectoralis dexter van een blauwe duif (meeuwtje, beide vleugels afgeknipt).

30 Dec. De duif is volkomen gezond.

4 Febr. 90. De duif heeft tot dusverre geen ziekteverschijnselen vertoond. Het dier weegt 270 gram.

N° 70.

24 Dec. Bij een witte duif, (beide vleugels afgeknipt), wordt 1 cM.³ van hetzelfde virus, dat bij de laatst beschrevene proef gebruikt werd, in den musculus pectoralis dexter geïnjicieerd.

2 Januari 90. De duif heeft nog geen ziekteverschijnselen vertoond.

6 Febr. De duif is steeds gezond gebleven. Het dier weegt 305 gram.

N° 71.

24 Dec. Nu wordt een drie dagen oude dochtercultuur eveneens met 2 cM.³ gesteriliseerd water aangemengd en van dit mengsel spuit ik 1 cM.³ in den musculus pectoralis dexter van een witte volwassene duif, (staart en linker vleugel afgeknipt).

25 Dec. Heden ochtend vind ik de duif gedeeltelijk verlamd in het hok liggen. Zij kon noch vliegen, noch loopen.

In den namiddag wordt de duif dood in het hok gevonden. Bij de obductie vindt men weder in den musculus pectoralis dexter een geel witten haard; de venae van het mesenterium zijn sterk gevuld: overigens vindt men macroscopisch geen afwijkingen.

OVERZICHT VAN DE PROEVEN DER TWEDE REEKS.
CULTURES OP LOEFFLER'S SERUM.

INFECTIE-PROEVEN MET OUDE MOEDER-CULTURES.

INFECTIE-PROEVEN MET JEUGDIGE DOCHTER-CULTURES.

Nummer der proef.	Ouderdom der cultuur.	Proefdier.	Resultaat.	AANMERKINGEN.	Ouderdom der cultuur.	Proefdier.	Resultaat.	AANMERKINGEN.
I.	2 maanden (33° C.) (21 Sept.—21 Nov.)	Duif n° 49. 21 Nov. Intramusc. (1 cM. ³).	5 Jan. 90. Verlam- mingsverschijnselen	11 Jan. wordt het dier gedood.	2 dagen (33° C.).	Duif n° 50. 23 Nov. 1 cM. ³ intramusc.	25 Nov. gestorven.	
II.	17 Oct.—14 Dec. (33° C.).	Duif n° 51. 17 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.		3 dagen (33° C.).	Duif n° 53. 17 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	18 Dec. gestorven.	
		Duif n° 52. 17 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					
III.	17 Oct.—14 Dec. (33° C.).	Duif n° 54. 17 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	1 Febr. 90. Tar- dieve verschijnselen. 2 Febr. gestorven.		3 dagen (33° C.).	Duif n° 56. 17 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	18 Dec. gestorven.	
		Duif n° 55. 17 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					
IV.	17 Oct.—14 Dec. (33° C.).	Duif n° 57. 17 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.		3 dagen (33° C.).	Duif n° 59. 17 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	18 Dec. gestorven.	
		Duif n° 58. 17 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					
V.	17 Nov.—17 Dec. (33° C.).	Duif n° 60. 21 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.		4 dagen (33° C.).	Duif n° 62. 21 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	23 Dec. gestorven.	
		Duif n° 61. 21 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					
VI.	17 Nov.—17 Dec. (33° C.).	Duif n° 63. 21 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.		4 dagen (33° C.).	Duif n° 65. 21 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	23 Dec. gestorven.	
		Duif n° 64. 21 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					
VII.	27 Nov.—21 Dec. (33° C.).	Duif n° 66. 24 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.		3 dagen (33° C.).	Duif n° 68. 24 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	25 Dec. gestorven.	
		Duif n° 67. 24 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					
VIII.	27 Nov.—21 Dec. (33° C.).	Duif n° 69. 24 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.		3 dagen (33° C.).	Duif n° 71. 24 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	25 Dec. gestorven	
		Duif n° 70. 24 Dec. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					

BIJLAGE c.

Proeven der derde reeks.

N° I.

23 Dec. Bij deze proef wordt gebruik gemaakt van een serum-cultuur van virulente diphtherie-bacillen gemerkt B, gekweekt uit de pseudo-membranen van een geval van angina diphtherina n° 2, op 12 November 1889 door dr. v. d. Weijden te Utrecht uit den pharynx verwijderd. Deze serum-cultuur stond sinds 27 November in de broedstoof bij 33° C.

N° 72.

23 Dec. Bij een grijs konijn, dat 2170 gram weegt, wordt tracheotomie verricht. Aan den achterwand van de trachea, tegenover de daarin gemaakte incisie, wordt het slijmvlies even gelaedeerd door er met de branche van een gesteriliseerd pincet heen en weer over te wrijven. Vervolgens wordt een weinig van de cultuur, waarvan door uitzaaiing op serum de levensvatbaarheid gebleken was, door middel van de platinalis op de gelaedeerde plek geïnoculeerd. De wond der trachea wordt vervolgens met catgut gehecht. Vervolgens

worden, na disinfectie, spier- en huidhechtingen aangelegd en de wond met in Jodoform-Collodion gedrenkte watten bedekt.

25 Dec. Het dier vertoont geen ziekteverschijnselen.

30 Dec. Tot dusverre is het dier gezond gebleven.

2 Jan. 90. Het dier is nog steeds volkomen gezond.

N° II.

10 Jan. '90. Een serum-cultuur van diphtheriebaïllen der Hornsche epidemie, geval 4, stond van 24 November tot 29 November bij 33° C en vervolgens bij gewone kamertemperatuur tot 10 Januari 1890.

Heden wordt een weinig van deze cultuur op Loeffler's serum uitgezaaid. 2 dagen later waren fraaie dochter-cultures opgekomen.

N° 73.

11 Jan. Bij een grijs-bruin konijn, dat 1900 gram weegt, wordt tracheotomie verricht. Op het gelaedeerde slijmvlies der trachea wordt een platina-lis der genoemde cultuur uitgestreken. Vervolgens wordt de wond gedesinfecteerd en door spier- en huidhechtingen gesloten. Eindelijk wordt een Jodoform-Collodion wattenverband aangelegd.

13 Jan. De urine bevat geen albumen. Het dier ziet er gezond uit.

20 Jan. Het dier is steeds volkomen gezond gebleven.

3 Febr. Het dier ziet er ziek uit en heeft dispnoe.

5 Febr. Het konijn, dat 1560 gram weegt, wordt gedood. Bij de obductie blijkt, dat de wond geheel gesloten is, en dat er in haar omgeving geen merkbare infiltratie bestaat. Bij het verdere onderzoek blijkt, dat ter plaatse van de in de trachea gemaakte incisie, een tuberculeuse haard ter lengte van een centimeter tot ontwikkeling gekomen is. Deze haard, die blijkbaar de dispnoe voor een deel veroorzaakte, is in de trachea geperforeerd, wat aanleiding gegeven heeft tot de ontwikkeling van uitgebreide aspiratie-tuberculose van den linker boven en van den rechter boven- en midden-kwab der longen. (Broncho-pneumonia caseosa). Overigens wordt in het lijk niets bijzonders gevonden. Het dier leed blijkbaar aan een secundaire infectie met tuberkelbacillen.

N^o 74.

11 Jan. De bij de voorafgaande proef gebezigde oude cultuur wordt met 1 cM.³ gesteriliseerd water aangemengd en deze suspensie in toto in den musculus pectoralis van een zwart-bonte duif gespoten (lichaamsgewicht 400 gram).

6 Febr. De duif is nog steeds volkomen gezond.

N^o III.

10 Jan. 90. Bij deze proef wordt gebruik gemaakt

van een serumecultuur van diphtherie-bacillen der Hornsche epidemie (geval n° 4), die van af 5 December 1889 tot 8 December bij 33° C. vertoefde en vervolgens bij kamertemperatuur bewaard was.

Heden wordt een weinig dezer oude cultuur op Loeffler's serum uitgezaaid.

11 Jan. Talrijke kolonies van diphtherie-bacillen zijn op de geënte serumbuisjes verschenen.

N° 75.

11 Jan. Bij een grijs konijn, dat 2050 gram weegt, wordt tracheotomie verricht en een platina-lis bacillen der oude cultuur op het ietwat beleedigde slijmvlies der trachea geënt.

Na desinfectie der wond worden spier- en huidhechtingen aangelegd en de wond met een wattenverbandje (jodoform-collodion) bedekt.

14 Jan. Het konijn, dat tot dusverre geen ziekteverschijnselen vertoonde, wordt heden gedood. De wond is reeds gesloten. In het onderhuidsche celweefsel aan den hals bestaat zeer weinig infiltratie. De in de trachea gemaakte incisie is gesloten en nauwelijks meer te herkennen. Het slijmvlies der trachea is een weinig geïnjecteerd, doch is nergens met fibrineuse membranen bedekt. Overigens vindt men bij het dier geen veranderingen.

N° 76.

11 Jan. De oude cultuur, bij proef n° 75 gebruikt,

wordt met 1 cM.³ gesteriliseerd water aangemengd en in toto in den musculus pectoralis van een blauwe duif, die 350 gram weegt, ingespoten.

6 Febr. De duif is nog steeds volkomen gezond.

N° IV.

28 Jan. 90. Bij deze proef wordt gebruik gemaakt van een reïncultuur van diphtheric-bacillen op Loeffler's serum, die van af 24 December 1889 tot 1 Januari 1890 bij 33° C. gehouden was, en vervolgens bij gewone kamertemperatuur was bewaard. Op 23 Januari was deze cultuur uitgezaaid op Loeffler's serum, waarbij onmiddellijk dochter-cultures verkregen werden. Bij de volgende infectieproeven wenschte ik de virulentie dezer laatste met die der oude cultuur te vergelijken.

N° 77.

28 Jan. Bij een grijs konijn met witte borst en voorpooten, dat 2640 gram weegt, wordt tracheotomie verricht, het slijmvlies der trachea aan de tegenoverliggende zijde een weinig gelaedeerd en vervolgens op deze plaats geënt met bacillen der 34 dagen oude cultuur.

1 Febr. Het dier is ziek, heeft dyspnoe en maakt een eigenaardig snorrend geluid bij de ademhaling.

2 Febr. Heden ochtend ligt het dier dood in het hok. Het lichaamsgewicht bedraagt 2100 gram. In de heden nacht geloosde urine vindt men een groote

quantiteit eiwit. De wond is met een grijs-wit beslag bedekt.

In haar omtrek zijn het onderhuidsche celweefsel en de spieren oedemateus haemorrhagisch geïnfiltréerd. Het slijmvlies der trachea is overal ontstoken en bedekt met een uitgebreide, dikke, fibrineuse membraan, *die zich duidelijk in de groote bronchi voortzet*. De pharynx en de oesophagus zijn normaal. In de bovenkwabben van beide longen vindt men multiple lobulaire pneumonische haarden. De lever vertoont een hoogen graad van vettige degeneratie. De milt is niet hyperaemisch, in het omentum treft men geen bloedingen aan. De nieren zijn bleek, haar schors is troebel.

N^c 78.

28 Jan. De oude cultuur, waarmede in proef n^o 77 werd geëxperimenteerd, wordt aangemengd met 2 cM.³ gesteriliseerd water. Van deze bacillen-suspensie wordt 1 cM.³ bij een zwarte volwassene duif in den musculus pectoralis gespoten.

30 Jan. De duif is volkomen gezond.

3 Febr. De duif wordt dood in het hok gevonden en is blijkbaar door een roofdier gedood en ten deele opgegeten.

N^o 79.

28 Jan. Van een der dochter-cultures op 23 Jan. door uitzaaiing van bacillen der oude cultuur, waar-

mede de proeven n^o 77 en n^o 78 verricht werden, verkregen, en heden 5 dagen oud, wordt een platinalis op het vooraf gelaedeerde slijmvlies der trachea van een wit konijn, (lichaamsgewicht 2130 gram), gebracht. De tracheotomie-wond wordt gedesinfecteerd en door hechtingen gesloten, en met een wattenverbandje (Jodoform-collodion) bedekt.

30 Jan. Het konijn is ziek. De ademhaling is duidelijk bemoeielijkt. In de urine bevindt zich een kleine quantiteit eiwit.

31 Jan. Het dier is stervende. In de urine vindt men veel eiwit. In den namiddag sterft het dier. Het konijn weegt 1800 gram. Bij de obductie vindt men in den omtrek van de wond aan den hals het onderhuidsche celweefsel en de spieren oedemateus haemorrhagisch geïnfilteerd. De lymphklieren aan den hals zijn sterk gezwollen. Het slijmvlies van geheel de trachea is bedekt met een grijs-witte fibrineuse membraan, die zich naar boven tot in den larynx, naar beneden tot op een afstand van anderhalve centimeter boven de bifurcatie der trachea uitstrekt. De pharynx vertoont geen afwijkingen. De milt is wat gezwollen, de lever is geel-bruin van kleur. De nieren zijn bleek. Het omentum vertoont geen bloedingen. De blaas is vrij sterk gevuld.

N^o V.

4 Febr. Voor deze proef werd gebruik gemaakt van

een cultuur van diphtherie-bacillen op Loeffler's serum, die van 24 December 1889 tot 1 Januari 1890 bij 33° C. was gehouden en vervolgens bij kamertemperatuur bewaard was. Op den 31^{sten} Januari werd een weinig van deze cultuur geënt op Loeffler's serum. Reeds 24 uren later waren talrijke colonies van diphtherie-bacillen opgekomen.

N° 80.

4 Febr. Bij een grijs konijn, dat 2840 gram weegt, wordt tracheotomie verricht, en een platinalis bacillen der 41 dagen oude cultuur uitgestreken op het slijmvlies der trachea, nadat dit laatste vooraf een weinig gelaedeerd was geworden, door er met de gesteriliseerde branche van een pincet even over heen te strijken. Vervolgens worden hechtingen aangelegd, de wond gedesinfecteerd en gesloten en deze met een watten verbandje (Jodoform-collodion) bedekt.

10 Febr. Het konijn, dat tot dusverre geen ziekteverschijnselen aanbod, vertoont heden voor het eerst geringe dyspnoe. Bij de ademhaling verneemt men een licht snorrend geluid.

14 Febr. De stenose verschijnselen zijn niet toegenomen, eer verminderd. De urine bevat geen albumen. Het dier ziet er gezond uit en eet goed.

20 Febr. Het dier schijnt weer geheel hersteld.

25 Febr. Het dier ligt dood in het hok. Bij de obductie vindt men de trachea voor een groot gedeelte

met pseudo-membranen opgevuld. Het proces heeft niet de bronchi bereikt, doch strekt zich naar boven tot in den larynx uit. De lever is bleek en verkeert blijkbaar in vettige degeneratie. In de blaas zijn eenige c.M.³ urine aanwezig, die veel eiwit bevatten. In het omentum trof men geen bloedingen aan. Het celweefsel in de omgeving der wond aan den hals was oedemateus geïnfiltréerd. Een platina-lis van dit vocht op Loeffler's serum gebracht, doet hierop, na 24 uur rein-cultures van den Klebs-Loefflerschen bacil ontstaan.

N° 81.

4 Febr. Bij een blauwe duif, (staart afgeknipt), die 370 gram weegt, wordt de oude cultuur, aangemengd met 1 cM.³ gesteriliseerd water, in den musculus pectoralis geïnjicieerd.

10 Febr. De duif heeft tot dusverre geen ziekteverschijnselen vertoond.

20 Febr. De duif bleef tot dusverre gezond.

N° 82.

4 Febr. Bij een grijs konijn (lichaamsgewicht 2520 gram), wordt de trachea blootgelegd en geïncideerd, het slijmvlies aan den achterwand even gelaedeerd door er over te strijken met een gesteriliseerd pincet en op deze plaats wordt geïnoculeerd met bacillen van een heden 4 dagen oude dochter-cultuur (serum),

van de bij de infectieproeven n^o 80 en n^o 81 gezegde moedercultuur.

6 Febr. Het konijn vertoont dyspnoe; zit ineengedoken in een hoek van het hok.

7 Febr. Het konijn is zwaar ziek. Het vertoont sterke dyspnoe: bij de ademhaling verneemt men een piepend geluid. In de urine is nog geen eiwit aanwezig.

8 Febr. Het dier is nog in leven, doch eet niet meer; in de urine is duidelijk eenig eiwit aanwezig.

9 Febr. Het dier wordt heden ochtend dood in het hok gevonden. In de sinds gisteren avond geloosde urine is eene zeer groote hoeveelheid eiwit aanwezig.

10 Febr. Bij de obductie van het konijn, dat 2280 gram weegt, blijkt de omtrek van de wond aan den hals oedemateus geïnfiltréerd. Het slijmvlies der trachea is met een dikke fibrinouse pseudo-membraan bedekt, die zich voortzet naar boven tot in den larynx, naar beneden tot op een afstand van anderhalve centimeter boven de bifurcatie der trachea. De pharynx en de oesophagus vertoonen geen afwijkingen. In de pleuraholten is geen vrij vocht. De longen zijn normaal. De lever is duidelijk vettig gedegeneréerd.

De milt is hyperaemisch. De nieren zijn licht blauw-rood van kleur, doch vertoonen geen haemorrhagiën. De blaas is ledig. Lies- en okselklieren zijn niet gezwollen.

OVERZICHT VAN DE PROEVEN DER DERDE REEKS.

INFECTIE-PROEVEN MET OUDE MOEDER-CULTURES.

INFECTIE-PROEVEN MET JEUGDIGE DOCHTER-CULTURES.

Nummer der proef.	Ouderdom der cultuur.	Proefdier.	Resultaat.	AANMERKINGEN.	Ouderdom der cultuur.	Proefdier.	Resultaat.	AANMERKINGEN.
I.	27 Nov.—23 Dec. (33° C.).	Konijn n° 72. Inoculatie in de trachea.	Gezond gebleven.					
II.	24 Nov.—11 Jan.'90 (24 Nov.—29 Nov. 33° C.).	Konijn n° 73. 11 Jan. Inoculatie in de trachea.	5 Febr. gedood.	Tuberculosis tracheae et pulmonum.				
		Duif n° 74. 11 Jan. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					
III.	5 Dec.—11 Jan.'90. (5 Dec.—8 Dec. 33° C.).	Konijn n° 75. 11 Jan. Inoculatie in de trachea.	14 Jan. '90 gedood.	trachea normaal.				
		Duif n° 76. 11 Jan. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					
IV.	24 Dec.—28 Jan.'90 (24 Dec.—1 Jan. 33° C.).	Konijn n° 77. 28 Jan. Inoculatie in de trachea.	2 Febr. gestorven.		5 dagen (33° C.).	Konijn n° 79. 28 Jan. Inoculatie in de trachea.	31 Jan. gestorven.	
		Duif n° 78. 28 Jan. 1 cM. ³ intramusc.	30 Jan. gezond.	31 Jan. dood gevonden, (roofdier).				
V.	24 Dec.—4 Febr.'90 (24 Dec.—1 Jan. 33° C.).	Konijn n° 80. 4 Febr. Inoculatie in de trachea.	25 Febr. gestorven.		4 dagen (33° C.).	Konijn n° 82. 4 Febr. Inoculatie in de trachea.	9 Febr. gestorven.	
		Duif n° 81. 4 Febr. 1 cM. ³ intramusc.	gezond gebleven.					

AANHANGSEL.

Ofschoon niet direct betrekking hebbende op de studie van de verzwakking der virulentie van den diphtherie-bacil, zij het mij veroorloofd hier nog een belangrijk feit mededeelen, dat ik, terwijl ik mij bezighield met het bestudeeren der diphtherie, toevallig heb waargenomen..

Zooals bekend is, en meerdere onderzoekers, o. a. Loeffler, Roux en Yersin, hebben dit voldoende geconstateerd, mislukt de inoculatie van den diphtherie-bacil regelmatig, wanneer men niet te voren het slijmvlies laedeert. Dit geldt niet alleen voor de trachea van het konijn, maar ook voor de trachea en den pharynx van vogels, voor de conjunctiva van het konijn en voor de vagina van de cavia. Deze uitkomst stemt overeen met de waarneming, dat de diphtherie bacil, hoewel zeldzaam, toch enkele malen in de mondholte van normale individuën wordt aangetroffen en leidt tot de conclusie, dat ook bij den mensch de bacil zich alleen dan aan de oppervlakte van de slijmvliesen kan nestelen en woekeren, wanneer dat slijmvlies de een of andere laesie heeft ondergaan.

Om na te gaan, hoe groot deze laesie van het slijmvlies dan eigenlijk wel moet zijn, of, met andere woorden, of reeds een klein lokaal trauma voldoende is om de woekering van den diphtherie-bacil mogelijk te maken, dan of de laesie zich over een grootere zone behoort uit te strekken, legde ik bij een konijn de trachea bloot en injecteerde, met behulp van een Pravaz'spuitje, enkele droppels van een suspensie van diphtherie-bacillen in de trachea. Ik was niet weinig bevreemd het proefdier aan uitgebreide membraneuse ontsteking van de geheele trachea te zien succombeeren en meende aanvankelijk, dat inderdaad een laesie van het slijmvlies derhalve niet noodig was, om dit bacillaire-proces in de trachea van een konijn op te wekken. Ik heb toen, om dit nader na te gaan enkele proeven verricht, in Bijlage d nader vermeld, die mij evenwel tot een andere opvatting hebben geleid. In de eerste proef aldaar beschreven, (n^o 83), bleek, dat de ontsteking haar uitgang nam van de steekopening door de canule der Pravaz'sche spuit in het slijmvlies der trachea, teweegebracht. Het konijn, dat twee dagen na de injectie in de trachea, stierf, en wel hoofdzakelijk, zooals ik meende te mogen aannemen, door een bacillaire invasie van de wond en het losse celweefsel van den hals, vertoonde aan de voorzijde der trachea, en wel juist waar de canule haren wand had doorboord, een fibrineuse pseudo-membraan, die zich wel is waar, een eindwegs in de

trachea uitstrekke, maar daarbij gaandeweg dunner en dunner werd, terwijl zij op de plaats der steekopening een vrij belangrijke dikte bezat. Bij een tweede proefdier, (n^o 84), veroorzaakte dezelfde injectie een uitgebreide fibrineuse membraneuse tracheïtis, waaraan het dier succomboerde.

Ik moet evenwel opmerken, dat dit resultaat niet constant verkregen werd. Bij twee konijnen, (n^o 85 en 86), werd op volkomen dezelfde wijze tewerkgegaan. Het ééne konijn is volkomen gezond gebleven, het andere doodde ik twee dagen na de injectie, doch vond hoegenaamd geen afwijking.

Het resultaat bij deze weinige proeven verkregen, scheen mij belangrijk genoeg toe, om het hier mede te deelen. In de eerste plaats toch blijkt, dat reeds een zoo geringe laesie als de steekopening door een fijne canule der Pravaz'sche spuit, in staat is de woekering van den diphtherie-bacil mogelijk te maken. Ook scheen mij de uitkomst daarom de vermelding waardig, omdat hier wel geen twijfel kan bestaan, waar een positief resultaat verkregen werd, dat feitelijk een belangrijke woekering van bacillen in het spel moet zijn. Met betrekking tot dit laatste punt, waarover op dit oogenblik de meeningen nog min of meer verdeeld zijn, en waarover thans in het Pathologisch-instituut alhier nadere onderzoekingen worden ingesteld, wensch ik intusschen hier niet nader in te gaan.

BIJLAGE *d.*

N^o 83.

9 Dec. Bij deze proef wordt gebruik gemaakt van een 5 dagen oude cultuur van diphtherie-bacillen op Loeffler's serum (Hornsche epidemie geval N^o 4.)

De cultuur wordt aangemengd met het op den bodem van het buisje verzamelde condensatie-water, en van deze troebele suspensie worden een paar druppels met behulp van een Pravaz injectie-spuitje geïnjecteerd in de voorafblootgelegde trachea van een licht-grijs konijn, dat 1800 gram weegt. Vervolgens wordt de wond onder strenge antisepsis gehecht, gesloten en met een jodoform-collodion watten verbandje bedekt.

11 Dec. Het konijn, dat volkomen gezond schijnt, wordt gedood. Bij het wegnemen van de huid aan den hals, blijkt in den omtrek der wond het subcutane celweefsel oedemateus geïnfiltréerd. Het slijmvlies der trachea is duidelijk ontstoken en plaatselijk met een fibrineuse pseudo-membraan bedekt. Deze pseudo-membraan zetelt aan de voorzijde der trachea, en wel

op de plaats, waar de canule door haar wand werd gestoken. Blijkbaar heeft zich de membraan van uit de steekopening ontwikkeld. Alleen naar boven zet zij zich een eindweegs voort tot in den larynx, waarbij zij gaandeweg dunner en dunner wordt. Overigens worden bij de obductie geene afwijkingen gevonden.

N^o 84.

14 Dec. Bij deze proef wordt gebruik gemaakt van een serumcultuur van diphtherie-bacillen, die 24 uren oud is. De cultuur wordt met het in het buisje staande condensatie-water aangemengd, en van deze bacillensuspensie, worden bij een zwart-bont konijn, dat 2735 gram weegt, een paar druppels in de voorafblootgelegde trachea geïnjecteerd, door middel van een Pravaz' spuitje.

Vervolgens wordt de wond flink gedesinfecteerd, met hechtingen gesloten en met een Jodoform-Colloidion wattenverband bedekt.

23 Dec. Het konijn wordt dood in het hok gevonden. Bij de obductie vindt men in den omtrek der wond oedemateuse infiltratie van het subcutane weefsel en van de spieren. Het geheele slijmvlies der trachea is overal met dikke fibrineuse membranen bedekt, welke ook in den larynx, doch niet in de bronchi worden gevonden. Even beneden den larynx is de trachea bijna geheel met pseudo-membranen opgevuld.

N° 85.

14 Dec. Bij een haaskleurig konijn, dat 2065 gram weegt, wordt de trachea blootgelegd en worden met een Pravaz'spuitje een paar druppels van dezelfde cultuur, die in proef n° 84 gebruikt werd, in de trachea gespoten. De wond wordt streng gedesinfecteerd en evenals bij de voorgaande proef gehecht en verbonden.

2 Jan. '90. Het konijn is volkomen gezond gebleven.

N° 86.

14 Dec. Bij een zwart konijn, dat 1985 gram weegt, wordt de trachea blootgelegd en spuit men met een Pravaz'spuitje, dat met een fijne canule gewapend is, een paar druppels van dezelfde cultuur, die in proef n° 84 en n° 85 gebruikt werd, in de trachea. De wond wordt gesloten en verbonden op gelijksoortige wijze als bij de voorafgaande proeven.

16 Dec. Het konijn wordt gedood. In de trachea wordt hoegenaamd geen afwijking gevonden.

R é s u m é.

Het zal den lezer waarschijnlijk aangenaam zijn in weinig woorden te vernemen, welke uitkomsten mijne proeven geleverd hebben. Ik zal ze daarom kortelings aanstippen.

I. De diphtherie-bacil, zoowel in bouillon als op Loeffler's serum gekweekt, verliest met den tijd gaandeweg, tot op zekere hoogte, zijne virulentie.

II. Deze verzwakking van de virulentie van den diphtherie-bacil, treedt bij de verschillende wijzen van infectie, die wij kennen, duidelijk voor den dag; het duidelijkst evenwel bij duiven en konijnen, — dieren in het algemeen, minder gevoelig voor den diphtherie-bacil. Zij openbaart zich intusschen, wanneer de verzwakking ver genoeg is voortgeschreden, ook zelfs bij een zoo gevoelig dier als de cavia.

III. De verzwakking is in de eerste plaats, en voornamelijk daardoor te constateeren, dat de bacil bij intra-veneuse, subcutane en intramusculaire injectie, bij de proefdieren geen acute ziekte-verschijnselen

teweegbrengt. Bij inoculatie in de trachea van een konijn, uit zij zich enkel daardoor, dat een aantal der proefdieren volkomen gezond blijven.

IV. Cultures, waarvan het experiment leert, dat zij een vrij aanzienlijke mitigatie ondergaan hebben, kunnen:

A. na intra-musculaire injectie tardieve verschijnselen en zelfs den dood tweeweg brengen.

B. bij enting op het gelaedeerde slijmvlies der trachea een membraneus ontstekings-proces opwekken, waarvan de intensiteit niet het minst ten achter staat bij die, door de meest virulente jeugdige bacillen opgewekt.

V. Dochter-cultures van oude verzwakte cultures bezitten weer de volle virulentie, die de bacil oorspronkelijk en onmiddellijk na isolatie uit de membranen van den diphtherie-lijder bezat.

VI. Door de cultures oud te laten worden, gelukt het niet een absolute mitigatie van den diphtherie-bacil tweeweg te brengen, zooals af te leiden valt, ten eene uit het feit, dat met den leeftijd een aantal bacillen afsterven, zoodat men het niet in zijn macht heeft, de cultures een willekeurigen leeftijd te laten bereiken, en ten andere uit de waarneming, dat bij de proliferatie op de mucosa, even als bij de uitzaaiing op serum, onmiddellijk bacillen geproduceerd worden, die de volle capaciteit van het infectie-vermogen bezitten.

VII. De diphtherie-bacil, zonder eenig aanklevend vergif, is op zichzelf in staat, op al de ons bekende wijzen, proefdieren te infecteeren.

VIII. De meerdere werkzaamheid, die oudere bouillon-cultures van den diphtherie-bacil vertoonen, zijn enkel toe te schrijven aan de ophooping van diphtheriegif in de vloeistof, welk laatste ook dan nog voortdurend door den bacil wordt geproduceerd, wanneer de virulentie van dezen reeds merkbaar is verzwakt.

IX. Onthoudt men den diphtherie-bacil alle voedsel, door plaatsing in gesteriliseerde physiologische zoutoplossing, dan gaat hij binnen ongeveer 14 dagen te gronde.

X. De steekopening, door de fijne canule eener Pravaz'sche spuit in het slijmvlies der trachea teweeg gebracht, is reeds voldoende om het punctum minoris resistentiae te vormen, waar de diphtherie-bacil zich kan nestelen van en waaruit hij zich over geheel de trachea kan uitbreiden.

Wanneer ik ten slotte terugkeer tot het punt, dat tot mijn onderzoekingen over de verzwakking der virulentie van den diphtherie-bacil aanleiding gaf, in de inleiding vermeld, dan blijkt dat de verkregene uitkomsten, wel verre van te spreken vóór de mogelijkheid, dat de diphtherie-bacil gemakkelijk van den virulenten in den avirulenten toestand zoude kunnen

overgaan, veeleer er op wijzen, dat, wanneer zulks al mogelijk is, dit dan toch stellig zeer moeiclijk zal plaats hebben. De invloeden althans, waaraan tot dusverre de diphtheric-bacil onderworpen werd, bleken niet bij machte om den bacil zulk een verzwakking te doen ondergaan, dat men hem op eene lijn zou mogen stellen met den pseudo-diphtherie-bacil, door von Hofmann en anderen in de mondholte van den mensch aangetroffen. Een en ander maakt het daarom des te waarschijnlijker, dat men hier inderdaad te doen heeft met verschillende species, die, al behooren zij misschien tot één en dezelfde familie of groep der bacterie-flora, toch ten eenenmale van elkander onderscheiden zijn door hare physiologische eigenschappen.

STELLINGEN.

I.

De rhachitische beenverandering berust op eene traumatische ostitis.

II.

Het succes van de slinger-methode van Schultze bij asphyetisch geboren kinderen, berust voor een deel op de door deze methode teweeggebrachte sluiting van den ductus Botalli.

III.

De snelle en onregelmatige pols bij pasgeboren kinderen berust niet op de ontbrekende tonus van den nervus vagus.

IV.

Bij empyema is, behoudens enkele gevallen, eenvoudige rib-resectie niet aan te bevelen.

V.

Excisie van de primaire sclerose kan de secundaire syphilitische verschijnselen niet voorkomen, en mag daarom niet aanbevolen worden.

VI.

Bij resecties in het talo cruraal-gewricht, is de methode van Kocher in de meeste gevallen boven alle andere te verkiezen.

VII.

Wordt bij dyphtheria pharyngis et laryngis tot tracheotomie overgegaan, dan verrichte men tracheotomia inferior, en opereere in chloroform-narcose.

VIII.

Het voorschrijven van aconitine blijft, ook na de zeer vruchtbare onderzoekingen van Prof. Plugge, gevaarlijk.

IX.

Digitalis schrijve men voor in den vorm van infusio foliorum digitalis.

X.

Influenza berust niet op een contagium, maar is een miasmatische infectie-ziekte.

XI.

Herpes zoster is een infectie-ziekte. De eruptie der blaasjes volgt bepaalde vaatgebieden.

XII.

De beste behandelingswijze van placenta praevia bij gedeeltelijke ontsluiting, is gecombineerde keering en afhalen van een voet.

XIII.

Navelstreng-repositoria plaatse men voortaan in het historisch kabinet.

XIV.

De aanwezigheid van een ovariaal-tumor levert als zoodanig indicatie op voor de operatieve verwijdering.

XV.

Het uitspoelen van de voorste oogkamer na extractio lentis, is ten zeerste af te keuren.

XVI.

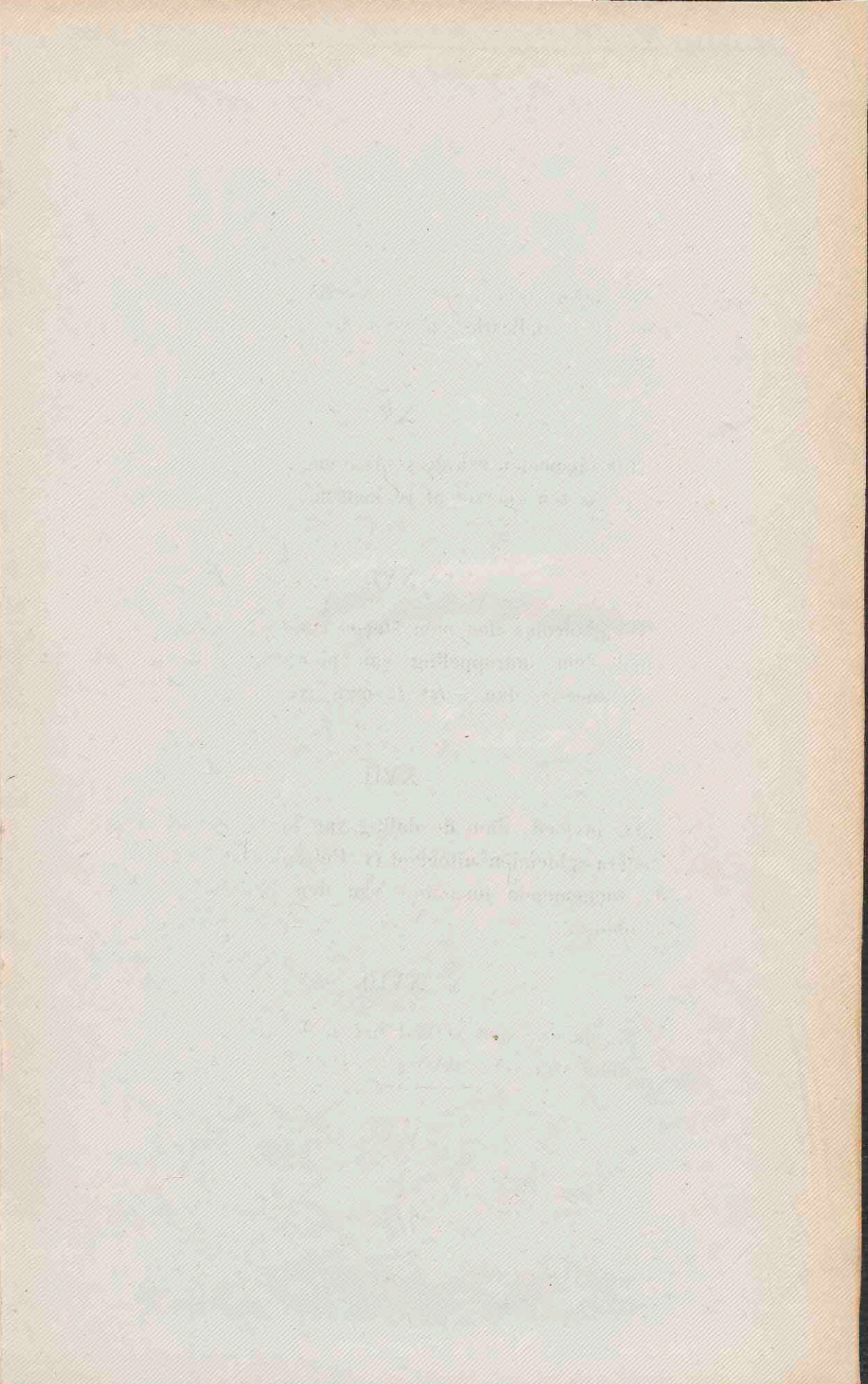
Bij glaucoma doe men steeds eerst sclerotomie, gevolgd door indroppeling van pilocarpine; heeft dit geen succes, dan eerst ga men over tot iridectomie.

XVII.

De invloed, dien de daling van het grondwater bij cholera-epidemiën uitoefent (v. Pettenkofer), berust op de toenemende tenaciteit van den Komma-bacil bij aërobiose.

XVIII.

De cholera-bacil verlaat het zieke organisme in een toestand van verzwakking (v. Pettenkofer).





A