



# **Bacteriologische onderzoeken bij kinkhoest**

<https://hdl.handle.net/1874/254541>



A<sup>n</sup> 192.

1904

P. SMIT

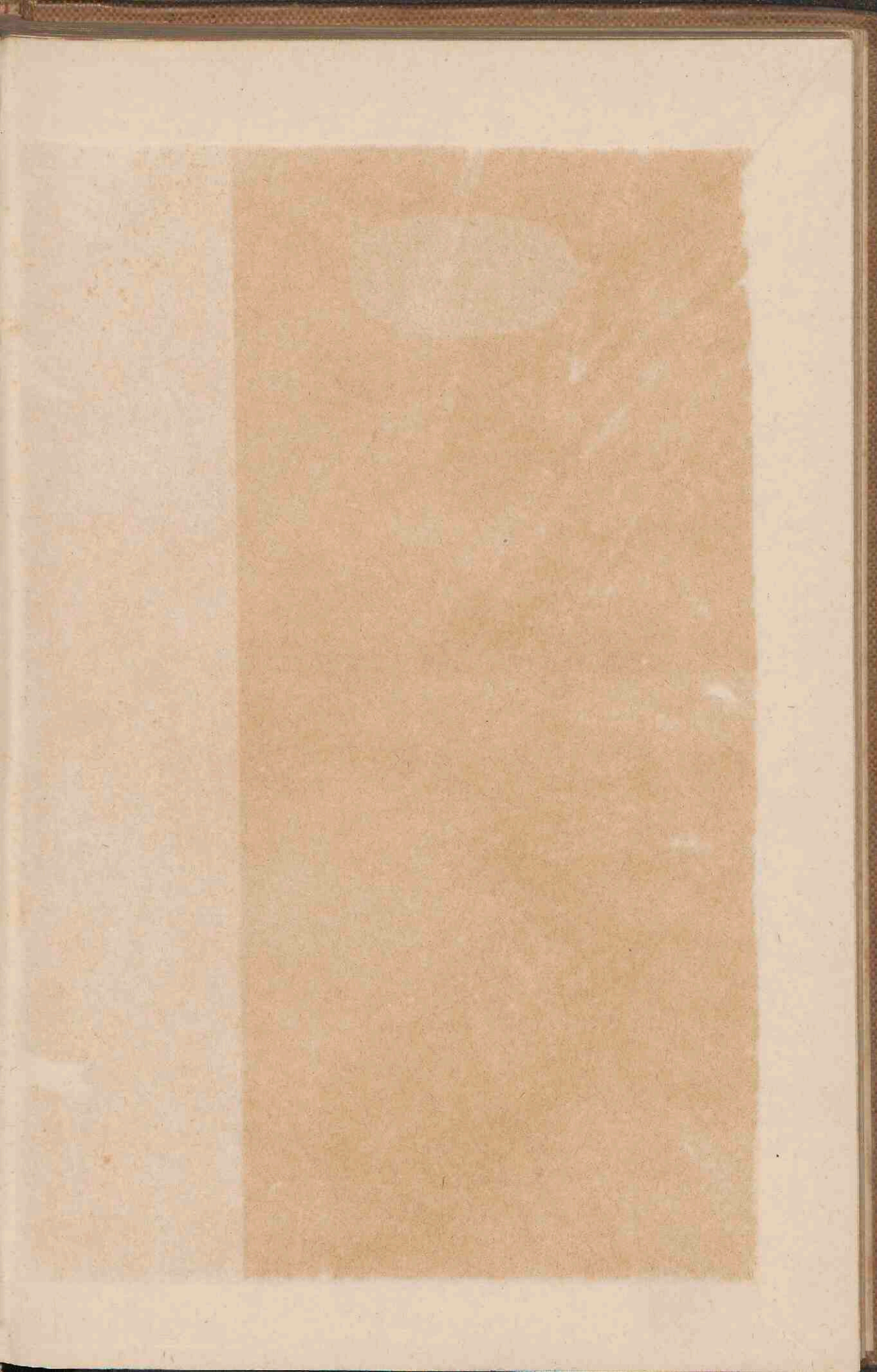
BACTERIOLOGISCHE

ONDERZOEKINGEN BIJ KINKHOEST

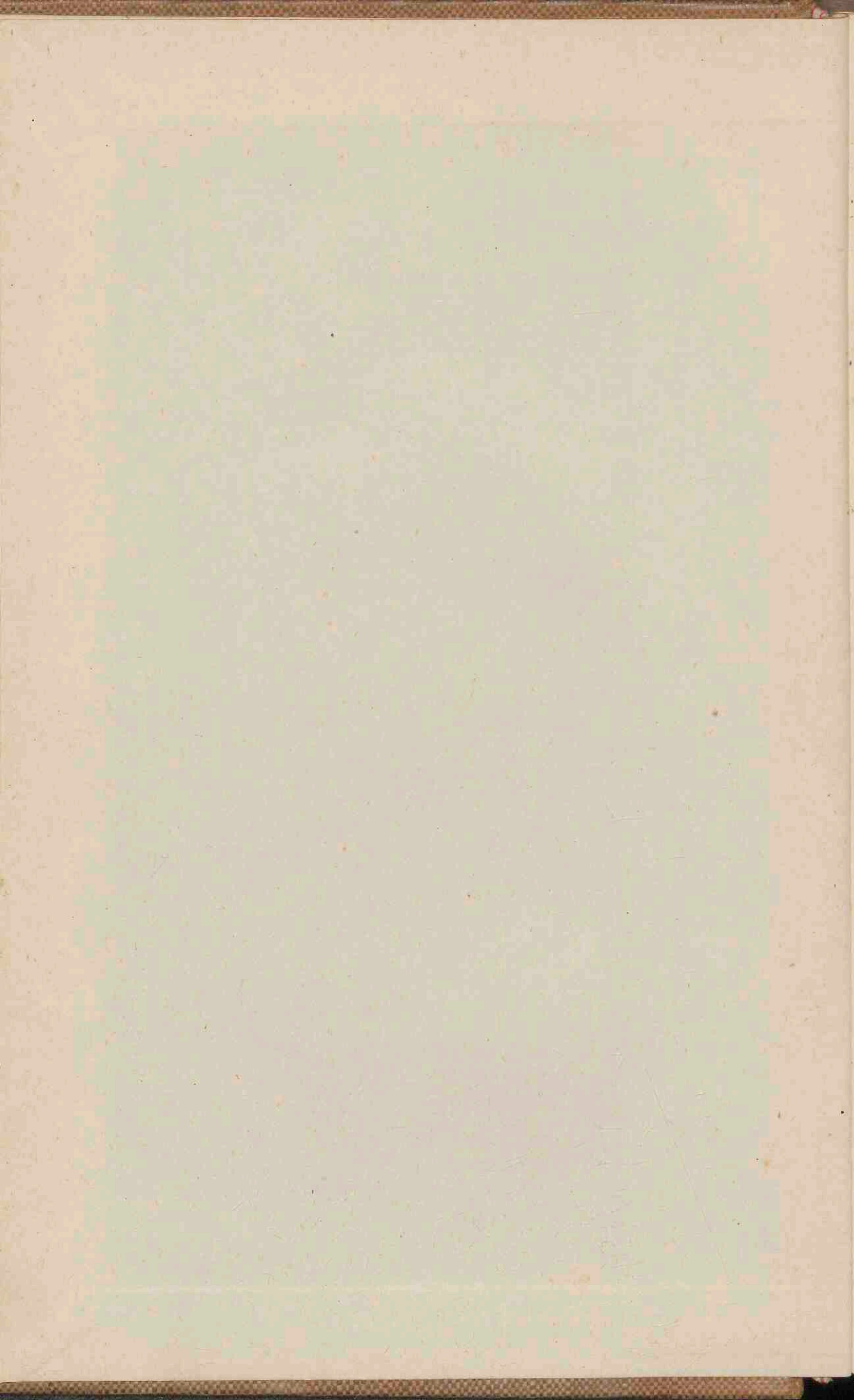
u.



A. qu.  
192

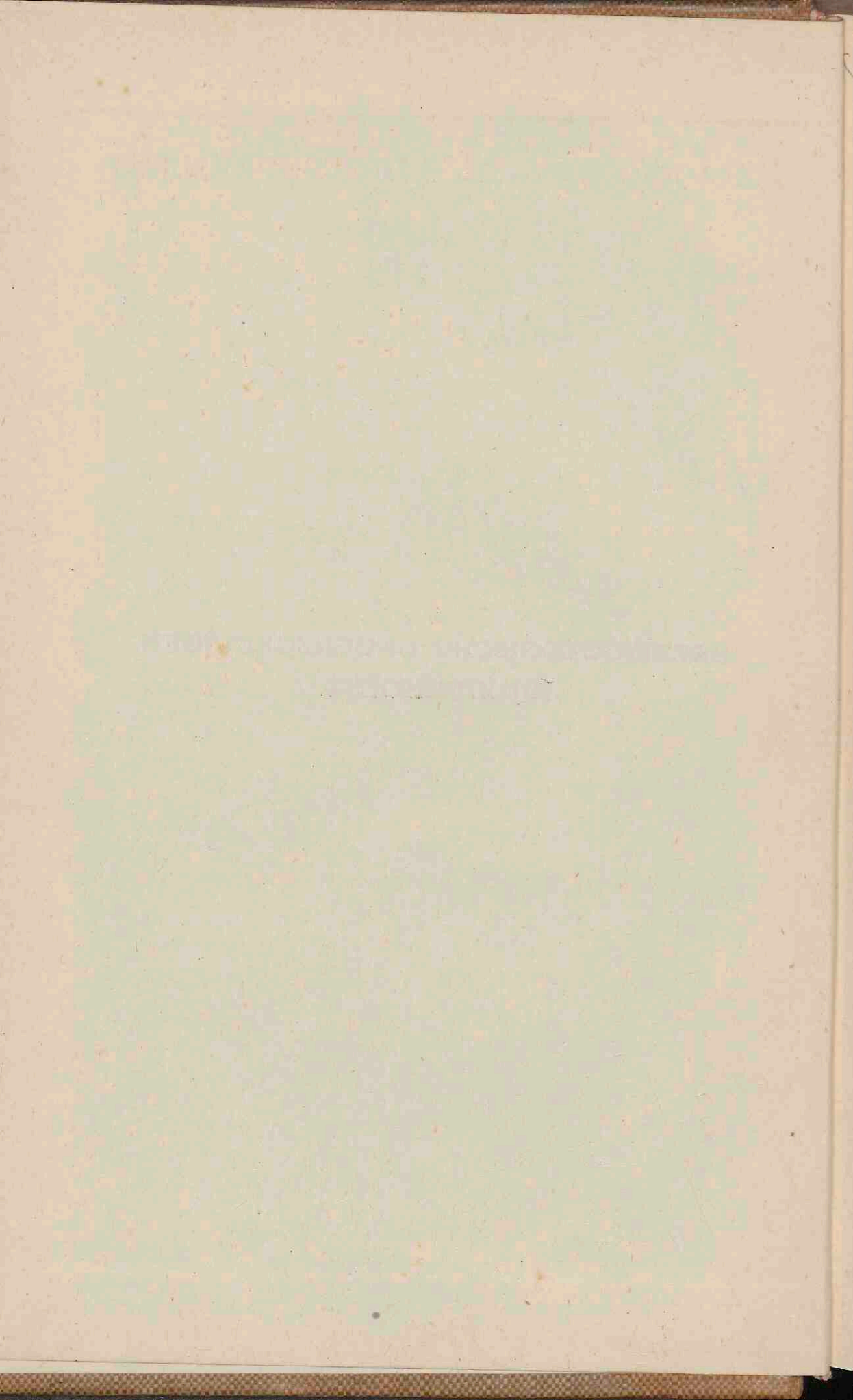






**BACTERIOLOGISCHE ONDERZOEKINGEN  
BIJ KINKHOEST.**





W

# Bacteriologische Onderzoekingen bij Kinkhoest.

---

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD

VAN

DOCTOR IN DE GENEESKUNDE

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,

NA MACHTIGING VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS

Dr. C. H. H. SPRONCK,

Hoogleraar in de Faculteit der Geneeskunde,

VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNIVERSITEIT

TEGEN DE BEDENKINGEN VAN

DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE

TE VERDEDIGEN

op Woensdag 6 Juli 1904, des namiddags te 3 uur,

DOOR

PIETER SMIT,

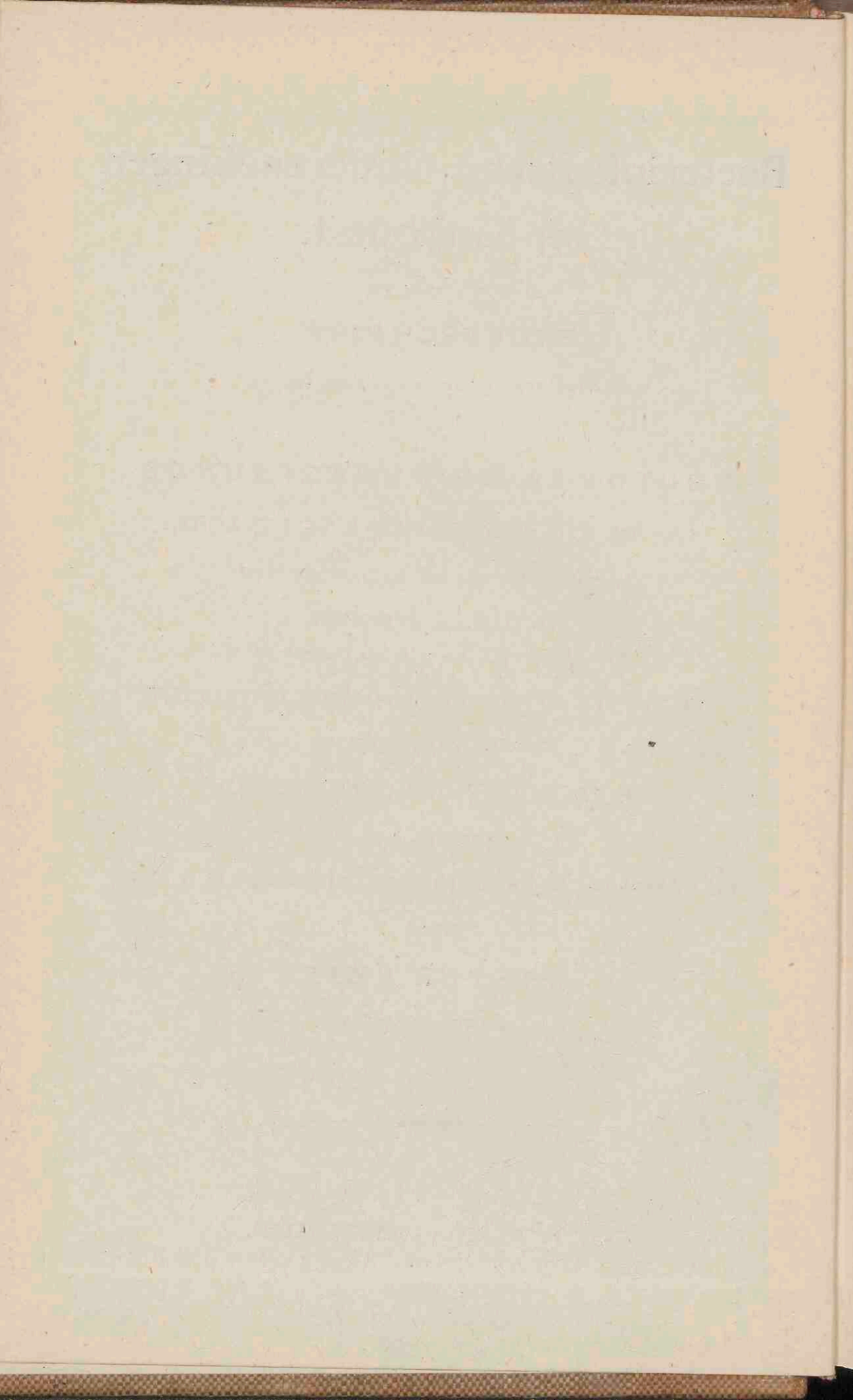
GEBOREN TE ZETTEN.

---

G. P. TIERIE — AMSTERDAM.

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT  
UTRECHT





AAN MIJN OUDERS.





*Het voleindigen van dit proefschrift biedt mij een welkome gelegenheid den Hooggeleerden van de Medische en van de Philosophische Faculteit der Universiteit van Amsterdam mijn oprechten dank te betuigen voor de opleiding, die ik van hen heb ontvangen.*

*Aan U, Hooggeleerde SPRONCK, mijn Promotor, breng ik mijn bizonderen dank voor de welwillendheid en den steun, die ik in zoo ruime mate van U mocht ondervinden bij de samenstelling van mijn proefschrift. Ik beschouw het als een groot voorrecht onder Uw gewaardeerde leiding werkzaam te zijn geweest.*

*Wees overtuigd, Hooggeachte WIJNHOFF, dat, al was ik slechts korten tijd Uw assistent, de zoo leerrijke omgang met U mij in velerlei opzicht tot groot nut is geweest.*

*Hooggeachte BOSSCHA, de vriendschappelijke leiding, die ik als Uw assistent van U mocht ontvangen, zal mij steeds met dankbaarheid op die jaren doen terugzien.*

*U, Hooggeachte HAVERSCHMIDT, zeg ik hartelijk dank voor de bereidwilligheid, waarmede Gij Uw ervaringen en Uw materiaal te mijner beschikking steltet, wanneer ik die voor mijn onderzoek behoefde.*

*Ten slotte past het mij een woord van dank uit te spreken aan allen, in het bijzonder aan den Directeur van het Wilhelmina-Gasthuis te Amsterdam en aan U, Hooggeachte WAGENAAR, die mij het materiaal voor mijn arbeid verschaften.*





## INHOUD.

---

	Bladz.
INLEIDING . . . . .	1
HOOFDSTUK I. Historisch Overzicht. . . . .	2
HOOFDSTUK II. Onderzoekingen over den Bacillus Pertussis Eppendorf. . . . .	45
HOOFDSTUK III. Onderzoekingen over den Bacillus „z" van Manicatide . . . . .	61
HOOFDSTUK IV. Onderzoek van eenige gevallen van Kink- hoest, voor het meerendeel nit een epidemie te Amsterdam.	69
RÉSUMÉ . . . . .	76
BIJLAGE I. Overzicht der onderzochte Kinkhoestgevallen .	78
BIJLAGE II. Protocollen van de Experimenten, met den Bac. Pertussis Eppendorf verricht bij Caviae en Konijnen. .	86
BIJLAGE III. Eenige klinische waarnemingen bij Kinkhoest.	91
LITERATUUROVERZICHT. . . . .	96

---



## INLEIDING.

Bijna algemeen wordt tegenwoordig de kinkhoest als een infectieziekte sui generis beschouwd. De contagiousiteit, het epidemische optreden, de nablijvende immuniteit voor de doorstane ziekte, de leucocytose, die van den aanvang der ziekte af bestaat en in het stadium convulsivum haar hoogtepunt bereikt, bieden voor deze opvatting voldoende gronden aan.

Toch ontbreekt nog het directe bewijs hiervoor: over het infecteerende agens heerscht onder de talrijke onderzoekers nog groot verschil van meening; geen van de door hen beschreven schizomycetes en protozoa voldoen aan alle eischen, die men tegenwoordig stelt, om een microorganisme specifieke beteekenis voor de aetiologie van een ziekte toe te kennen.

In de volgende bladzijden zal ik een overzicht geven over deze onderzoekingen, gevolgd door de resultaten van bacteriologische onderzoekingen, door professor Spronck begonnen en door mij voortgezet, bij een reeks kinkhoestlijders uit epidemieën te Utrecht en te Amsterdam.



## HOOFDSTUK I.

### HISTORISCH OVERZICHT.

#### 1. ONDERZOEKINGEN NAAR DEN VERWEKKER VAN DEN KINKHOEST TOT 1883.

»De waare oorzaak van deeze ziekte is dan eene vreemde zaadstoffe, die een vermogen bezit, zich, even als het vergift der pokken, te vermeerderen, en aan te grijpen kinderen, die te vooren van denzelfen niet aangetast geweest zijn. Ik kan met geene zekerheid zeggen, of het insecten zijn: Doch men bemerkt duidelijk, dat het vergift zich door de besmetting voortplant, en dat, een gedeelte daarvan door de ademhaling in de borst komt, doch het meeste met het speekzel in de maag nedergeslikt word.»

Zoo uitte zich in de 18e eeuw Rosén van Rosenstein (2) al over aard en werking van het kinkhoestvirus, dat vóór hem Linnaeus (1) zich reeds gedacht had als een contagium animatum, bestaande uit de eieren van kleinste dieren, die door inademing de ziekte zouden verwekken.

De verschillende vermoedens, die in den loop der eeuwen over den aard van dit contagium zijn geuit, wil ik echter laten rusten en mijn overzicht beginnen met den eersten, die lagere organismen bij kinkhoest aantoonde: Poulet (3).

Zooals begrijpelijk is, waar bij deze ziekte de aandoening van de luchtwegen zoozeer op den voorgrond treedt, hebben nagenoeg alle onderzoekers hun onderzoek in hoofdzaak bepaald tot dat van het sputum der zieken.

Poulet echter onderzocht in 1867 microscopisch de uitademingslucht der lijdens en vond daarin kleine infusoriën, van welke sommige behooren tot de groep, die als Monas of Bacterium Termo beschreven wordt, andere bewegelijke bacillen zijn.

Jansen (4) kon deze bacillen evenwel in het sputum niet vinden, doch beschrijft groenachtige, kernhoudende, peervormige lichaampjes, voorzien van lange uitloopers, die een levendige, rollende beweging vertoonen. Hij durft dezen echter geen specifieke beteekenis toe te kennen.

Den eersten uitvoerigen arbeid over dit onderwerp heeft Letzerich (5—7) geleverd. De kinkhoest wordt volgens hem veroorzaakt door een schimmel, waarvan de sporen de ziekte verbreiden. In het slijmigerige sputum van het stadium catarrhale vond hij de kleine, eivormige, roodbruine sporen, ten deele pas in den aanvang van hun ontwikkeling, ten deele reeds thallusdraadjes vormend; in het taai, slijmige sputum van het stadium convulsivum is het mycelium gevormd, een spinneweb van thallusdraadjes, aan welke levendige sporenontwikkeling plaats vindt. Met het bloote oog kan men deze ophooping van sporen zien als wittere haardjes. Al naarmate de sporen zich sneller ontwikkelen en verbreiden, gaat het catarrhale stadium sneller in het convulsieve over.

Deze schimmel, rein gekweekt op in melk gedrenkt wittebrood en bij jonge konijnen in de trachea gebracht, verwekt een tracheaalcatarrh, die na 8—10 dagen ge-



volgd wordt door heftige hoestbuien en algemeene ziekteverschijnselen. Het neusslijm komt microscopisch overeen met het kinkhoestsputum. Doodt men het dier in dit stadium, dan vindt men dezelfde afwijking als in de cadavers van aan kinkhoest gestorven menschen, n.l. het slijmvlies der luchtwegen van de epiglottis af overtrokken door een netwerk van sporendragende draden, dat zich ook over de bifurcatie heen tot in de alveolen voortzet, indien de ziekte door bronchitis of pneumonie gecompliceerd wordt. Dan zag hij den parasiet ook in de epithelia en in het bindweefsel om de alveolen. Zijn er veel dwarswanden, dan zien die draden er uit als fijne parelsnoeren.

Later (7) beschrijft hij de kinkhoestmicroben anders: de witte haardjes in het sputum zijn nu ophoopingingen van micrococcen, waarin zich kleine kogelbacteriën en plasmabolletjes van verschillende grootte ontwikkelen. Op een objectglas of in een buisje kon hij, na toevoeging van een voedingsvloei-stof, nagaan, hoe deze kogelbacteriën zich vermeerderden en vergrootten tot plasmabolletjes met wasachtigen glans, hoe deze groeiden, troebel werden, opgevuld werden met kogelbacteriën, en hoe ten slotte deze hoogstens 0,06 m.M. groote micrococcenblazen berstten en de vrijgekomen micrococcen denzelfden ontwikkelingsgang doormaakten.

Gekweekt op kalfsvleeschlijm met suikeroplossing of op wittebrood met melk, ontwikkelt zich uit de micrococcen een fijn mycelium, waaraan bruingele sporen rijpen. Volgens de sporen behoort de schimmel tot de *Ustilaginei*.

Terzelfder tijd vestigt Henke (8) de aandacht op ronde cellen in het kinkhoestsputum, gevuld met kleinste, levendig bewegende lichaampjes en een of meer excentrische kernen. Haar grootte bedraagt 0,01—0,02 m.M..



De intracellulaire beweging houdt op na toevoeging van chinineoplossing. Uit het ontbreken van deze cellen in andere sputa en het therapeutisch effect van inhalaties met een chinineoplossing besluit hij tot het bestaan van een pathogenetisch verband tusschen deze cellen en de ziekte.

In 1876 vond Letzerich's onderzoek een verdediger in Tschamer (9), die eveneens den kinkhoest houdt voor een mycose van het slijmvlies der luchtwegen, analoog aan de huidmycosen, favus enz. In andere sputa dan die van kinkhoest zag hij deze schimmels nooit. Hij vestigt vooral de aandacht op de speldeknoopgroote, witte of geelwitte lichaampjes in het sputum, waardoor het reeds macroscopisch als van kinkhoest afkomstig te herkennen is.

De kinkhoestschimmel op verschillende media kweekende, trof hem de overeenkomst met het *Capnodium Citri*, dat bijna op iederen sinaasappel en op vele appels als zwartbruine puntjes groeit. Door inademing van zulk een gepulveriseerde sinaasappelschimmel is het hem gelukt zich zelf en een anderen volwassene een krampachtigen hoest te bezorgen; in hun sputum bevonden zich toen de te voren er in ontbrekende lichaampjes en schimmels, hoewel niet in die hoeveelheid als bij kinkhoest.

Later (10) komt hij over den vorm van de schimmel tot een ander inzicht dan Letzerich. Op andere media de sporen vervolgend, merkte hij verschillende vormen op; sommige geliken op *Oidium* (d. i. het vroeger beschreven *Capnodium Citri*), andere op *Ustilago Maidis*. De ontwikkeling, zooals Letzerich die beschrijft, zag hij slechts zelden.

Birch-Hirschfeld (11) controleerde ook Letzerich's werk. Hij hield het spinneweb van draden voor zoogloeahoopen van bacteriën en kettingbacteriën; der-

gelijke elementen zag hij ook in etter, cystitisurine enz.. Hij maakte ook culturen en zag vaak een mycelium zich ontwikkelen, dat zich echter niet onderscheidde van dat van gewone schimmels. Bij het dierexperiment gingen de dieren wel hoesten, maar niet bepaald als bij kinkhoest; met etter, ander sputum en diphtheriemembranen kon hij denzelfden hoest opwekken.

Ook Rossbach (12) controleerde Letzerich. Wel vond hij altijd sporen, die zich in cultuur verder ontwikkelden, maar nooit draden. De vele splijtzwammen, die hij in het sputum zag, onderscheidden zich niet van die bij andere bronchiaalcatarrhen. Zes konijnen, dien hij door tracheotomie versch kinkhoestslim in de trachea bracht, vertoonden geen afwijking. Wittebrood met melk, bewaard, zooals Letzerich aangeeft, doch niet geënt met sporen, zag hij toch met schimmel overtrokken worden. Letzerich zal dus wel geen rein-culturen bij zijn dierexperimenten hebben gebruikt.

Met de door Burger in 1883 beschreven bacillen begint een nieuwe richting in het onderzoek naar den kinkhoestverwekker. Naast een reeks auteurs, die verschillende schizomycetes als zoodanig beschrijven, staat een drietal, dat de oorzaak der ziekte in protozoën zoekt. Hun onderzoekingen zullen hier vooraf weergegeven worden.

## 2. PROTOZOA ALS VERWEKKERS VAN DEN KINKHOEST.

In het op de verwarmde objecttafel (35°) onderzochte kinkhoestsputum vond Deichler (20) een lagere diersoort, waarschijnlijk tot de *Ciliata* behoorend, die zich daar onder verschillende vormen voordeed:

1°. *Embryonale vormen*. Hiervoor ziet hij groenachtig



blauwe ringen aan met dubbele contouren, die soms aan een kant een opening hebben en dan halve manen gelijken. Ze hebben de grootte van een leucocyt of een epitheliumcel. In de omsloten holte bevindt zich een helder blaasje of een lichaampje, met sterk lichtbrekende korrels gevuld, beide voorzien van een krans van trilharen, die het lichaampje zoowel als den geheelen ring in draaiende beweging brengen. Soms ziet men deze lichaampjes ook tot rust gekomen, zonder ring, en kan ze dan licht verwarren met trilhaarepithelia.

2<sup>o</sup>. *Op amoeben gelijkende vormen.* Uit de tot rust gekomen embryonen ontwikkelen zich ronde of ovale eencellige organismen, die amoeboïde bewegingen vertoonen. De kleinere zijn zoo groot als een plaveisel-epithelium, de grootere wel vier maal zoo groot. Ze bezitten een korrelig protoplasma, een of meer vacuolen en een groote ronde of halvemaanvormige, meestal roodachtige kern. Men vindt deze alleen in zeer versch sputum. De contouren zijn niet duidelijk, het grootste deel der cel is bezet met trilharen, die ook nabijliggende leucocyten in beweging brengen. Niet zelden is hun vorm gestrekt of gebogen, met elkaar bijna rakende uiteinden.

3<sup>o</sup>. *Geëncysteerde vormen.* Metaal- of parelmoerglanzende blazen van verschillende grootte. Beschouwt men deze langdurig, dan ziet men het omhulsel zich plooiën en meer en meer het aspect aannemen van een donkerder gekleurd, bruinrood of geelgroen net. Men zou ze nu voor een verontreiniging van het sputum kunnen houden, indien niet uit het lichter glanzende hyaloplasma pseudopodiën werden uitgestoken. De roodbruine kernen, die zich in het hyaloplasma bevinden, veranderen daarbij ook van plaats. Deze geëncysteerde vormen ziet men nu dikwijls uiteenvallen (door uit-



droging of koude) tot ronde of ovale bolletjes, die er als vetdrupjes uitzien, maar door aether niet worden veranderd. De netvormige cuticula, die de oorspronkelijke blaas omgaf, wordt doorzichtig en in haar mazen ziet men die bolletjes liggen. Hun grootte wisselt van een micrococcus tot een grooten leucocyt. Uit deze fragmenten groeien nu weer embryonale cellen, wat men vooral in het met permanganas kalicus gekleurde sputum gemakkelijk kan volgen. Deze kleuring differentieert ze ook van myelindruppels, die slechter gekleurd worden.

Deichler vond onder de parasieten van den mensch alleen in het *balantidium coli* eenige overeenkomst met zijn protozoön.

In zijn eerste publicaties (18, 19.) beschrijft hij den parasiet eenigszins anders, sommige bijzonderheden — o.a. het in de embryonale cellen ingesloten lichaampje was soms als een spiraal gewonden, knotsvormig, zonder trilharen — zag hij later nooit meer, evenmin het dringen van de ringen in grootere rondcellen, wat hij toen voor copulatie hield.

Al durft hij, omdat reïnculturen en daarom dierexperimenten wel niet mogelijk zullen zijn, den parasiet niet zeker tot den verwekker van de ziekte te verklaren, toch acht hij hem door zijn grootte beter in staat om door slijmvliesprikkeling de geweldige hoestbuien op te wekken, dan de zoo uiterst kleine bacteriën.

Tien jaren later kwam Kurloff (33.), die Deichler's onderzoek slechts uit een referaat kende, tot ongeveer gelijke resultaten.

Afgeschrokken door de banaliteit der microorganismen, die het bacteriologisch onderzoek der kinkhoestspuuta hem opleverde, is hij er toe overgegaan alleen het sputum in verschen staat te bestudeeren.

In het slijmige sputum van het begin der ziekte troffen hem elementen van verschillenden vorm en grootte, sommige kleiner dan een rood-, andere grooter dan een wit bloedlichaampje. Aan een soms aan twee tegenovergestelde kanten bevinden zich trilharen van verschillende lengte, de langste in het midden; op de grootste helft van het lichaampje ontbreken ze echter. Door de trilharen beweegt het organisme zich voort, dringt tusschen de elementen van het sputum door onder voortdurende vormverandering en aanpassing aan de beschikbare ruimte, waarbij ook de kern van vorm en plaats wisselt. Het protoplasma is fijnkorrelig. Bij kamertemperatuur houdt de beweging spoedig op; toch kan men dan, ook in het gekleurde droge praeparaat, deze lichaampjes, die er nu kleiner uitzien, met hun lange trilharen duidelijk herkennen.

Van meer belang acht Kurloff echter de elementen, die hij steeds in het meer etterige sputum van de latere perioden der ziekte vond, en die voor het kinkhoest-sputum pathognomonisch zijn.

Het zijn op slijm- of vetdruppels gelijkende bolletjes met dubbele contouren en in het midden een kleine kern, die dikwijls ovaal is met oneffen, gefestonneerde randen en een glanzenden, centralen nucleolus. Doordat in de kleinere vormen (kleiner dan een rood bloedlichaampje) de protoplasmalaag tusschen kern en omhulsel zeer smal is, vertoonen deze concentrischen bouw; de kleinste zien er homogeen uit met een glinsterende punt in het midden. Soms zijn ze ovaal, doordat twee bolletjes zich in één omhulsel hebben vereenigd, of doordat het omhulsel aan den eenen kant dikker is dan aan den anderen. Men vindt ze in grooten getale door het sputum verspreid, soms in hoopen bij elkander; soms zijn groote, korrelige cellen er mee opgevuld.



Laat men het praeparaat een of meer dagen in de vochtige kamer bij kamertemperatuur, dan ziet men het aantal bolletjes toegenomen, maar bovendien lichaampjes, waarvan de herkomst aldus wordt verklaard: de bolletjes bersten ten slotte door groei van hun inhoud, het omhulsel trekt zich aan een pool van den protoplasmatischen inhoud samen tot een halve maan of laat dezen geheel los en het vrijgekomen protoplasmalichaampje met een of meer kernen beweegt zich als vrije amoebe, zonder trilharen, voort. De ledige omhulsels vindt men onder biscuit-, 8-, kringvormen enz., evenals de amoebe, ook wel in het versche sputum, doch in veel geringere quantiteit.

De vroeger genoemde, met bolletjes opgevulde cellen, die meestal rond en gladrandig zijn, twee kernen bezitten en ongeveer 5—6 maal grooter zijn dan een wit bloedlichaampje, bersten ten slotte ook en laten de bolletjes (sporen) vrij. Hierin ziet Kurloff vermeerdering door intracellulaire sporenvorming en rekent daarom den parasiet tot de *Sporozoa*. Deze groote sporencellen ontwikkelen zich weer uit de bovenbeschreven amoeben, wat hij door de verschillende overgangsvormen, die hij waarnam, bewezen acht.

Deze amoeben onderscheiden zich slechts van etterlichaampjes door hun groote veranderlijkheid van vorm. Men ziet tweeërlei soort pseudopodiën: de eerste bevatten ook den korreligen inhoud der cel, de tweede, die veel sneller uitgestoken worden, zijn homogeen. Toch is het niet onmogelijk, dat we hier te doen hebben met etterlichaampjes, wier beweeglijkheid verhoogd is door een of anderen chemischen prikkel in het kinkhoest Sputum. Men kan de amoeboïde bewegingen nog zien in sputum, dat 24 uur bij kamertemperatuur heeft gestaan.

In deze amoeben zoekt Kurloff de verwekkers van den kinkhoest. Het verband met de eerstbeschrevene, van trilharen voorziene, lichaampjes is hem niet duidelijk.

Dezelfde organismen als Deichler en Kurloff vond ook Behla (45) in het verwarmde kinkhoestsputum. Na nauwgezet onderzoek is hij over den ontwikkelingsgang van de amoebe tot het volgende inzicht gekomen.

De karakteristieke glanzende bolletjes houdt hij ook voor sporen. Deze vergrooten zich tot 10—12  $\mu$ , in het zich bewegende protoplasma vertoonen zich ronde of spiraalvormige lichaampjes, zooals ook Deichler beschreef. Het omhulsel berst en de embryonale amoebe treedt te voorschijn. Deze groeit, vaak tot een grootte van 30  $\mu$ , en vertoont levendige amoeboïde beweeglijkheid; meestal is ze langwerpzig met een stomp en een puntig eind; ze bezit geen trilharen. Soms zag hij vermenigvuldiging door deeling, soms zag hij twee amoeben samensmelten: een conjugatieproces of plasmodiënvorming.

Van leucocyten verschillen deze amoeben door het snelle, „zuckende” uitzenden der pseudopodiën, terwijl hun dierlijke natuur bewezen wordt<sup>1)</sup> door het kloppen der vacuolen, dat hij soms duidelijk kon waarnemen. Bovendien pleit hiervoor de vorming van sporocysten en sporen. Hebben n.l. de parasieten voldoende voedsel opgenomen, zijn ze rijp geworden, dan komen ze tot rust, ronden zich af en worden door een membraan omgeven. De inhoud wordt korrelig, het protoplasma omgevormd tot de glanzende sporen, die na bersten der cysten vrijkomen en zich verder ontwikkelen.

Behla wil den parasiet niet rangschikken onder de

1) Pfeiffer. Münch. Med. Woch. 1898 p. 894.



sporozoa of de ciliata, doch houdt hem voor een tusschenvorm tusschen de myomycetes en de amoebae, een sporenvormende species, die hij daarom noemt *Amoeba sporipara*, ter onderscheiding van de alleen cystenvormende soorten.

Het meest vindt men ze in het stadium convulsivum; na het genezen der ziekte zijn ze uit het sputum verdwenen. De verschijnselen acht hij, behalve door mechanische prikkeling, veroorzaakt door een vergif, dat de reflex prikkelbaarheid van de medulla oblongata verhoogt.

De door trilharen bewegende elementen, die Kurloff beschreef, zag Behla ook; hij houdt ze voor trilhaar-epithelia, die door de catarrh van vorm veranderd zijn, zooals men die ook bij coryza vindt.

Verder verhaalt hij nog, hoe hij bij een hond, door dien gedroogd sputum in de trachea te blazen, een op kinkhoest gelijkenden hoest kon opwekken. Hetzelfde, beproefd met mazelensputum, deed een hond ook hoesten, doch met geheel ander hoesttype.

### 3. SCHIZOMYCETES ALS VERWEKKERS VAN DEN KINKHOEST.

In het gekleurde kinkhoestspatum vielen Burger (13) bijna constant en in grooten getale staafjes van verschillende grootte op, de kleinere ongeveer twee maal zoo lang als breed, de grootere dikwijls met een insnoering in het midden (biscuitvorm). Hij zag ze het meest in de kleine, witachtige, later meer geelwitte vlokjes, die voor het kinkhoestspatum karakteristiek zijn; ze liggen meest onregelmatig verspreid, soms in kettingen, soms ook in de cellen. Bij 340 maal vergrooting zijn ze al vrij goed te zien. Hij vond hun quantiteit recht evenredig aan de intensiteit der ziekte en zag ze nooit in andere sputa. Daarom twijfelt hij er niet

aan met den verwekker van de ziekte te doen te hebben.

Culturen heeft hij niet aangelegd, evenmin dierproeven verricht. Koch (14) laat zich dan ook in zijn referaat zeer sceptisch over deze bewering uit, en Garré (22), die dezelfde staafjes ook in andere sputa aantrof, vond, dat ze zich in cultuur als saprophyten voordeden.

Eveneens van weinig belang, omdat ze hun bacteriën niet kweekten, zijn de onderzoekingen van Moncorvo en Silva Aronja (15, 16). Zij troffen dikwijls in de geelachtige lichaampjes van het sputum zoogloeahoopen van micrococcen aan, soms met eigenbeweging; nooit zagen zij echter Burger's bacillen, noch Tschamer's mycelium.

Behalve in het sputum zag Broadbent (17) deze micrococcen, in groepen of kettingen, ook in de epitheliumcellen van larynx en pharynx.

De eerste, die volgens onze moderne methoden het kinkhoest Sputum onderzocht, was Afanassjew (23).

Het meest in de latere stadia der ziekte, vooral waar pneumonie die compliceert, zag hij in het met gentianaviolet gekleurde sputum een massa korte staafjes, 0,6 — 2,2  $\mu$  lang, doorgaans afzonderlijk gelegen, soms twee aan twee, in korte kettingen of in groepen, zelden ook in de cellen.

Van een klein sputumvlokje legde hij met vleeschpepton-agar en vleesch-pepton-gelei plaatculturen aan. Op agar zag hij na 2-3 dagen bij kamertemperatuur de bovenbeschreven bacillen in lichtbruine, ronde of ovale kolonies met fijne, gladde, vrij platte randen. De jongste kolonies zijn bijna kleurloos, de ovale meestal in het midden sterker gekleurd. Van korreligheid is weinig te zien. Bij 37° is hun groei veel sneller; op gelatine en bloedserum groeien de bacillen langzamer, gelatine wordt niet vloeibaar gemaakt.



Op aardappel ontwikkelt zich een dikke, geelachtige, later bruinachtige laag; in bouillon den 2den dag een lichte troebeling, die allengs sterker wordt.

Na 1—2 weken houdt hun groei op, hoewel ze na 4 maanden nog niet afgestorven zijn. In zulke oude culturen treden degeneratieverschijnselen op, ook sporen, die meestal aan het einde van de staafjes zitten, soms ook een weinig er van verwijderd, hoogstens twee in getal; ze zijn wat dikker dan het staafje, waarvan de omtrek dan niet duidelijk meer zichtbaar is.

De bacil is beweeglijk.

Spoort hij jonge honden en konijnen in de blootgelegde trachea 1—2 c. c. emulsie van een minstens 8 dagen oude cultuur, dan stierf een deel binnen enkele dagen aan pneumonie, een ander deel kwam de pneumonie te boven, terwijl een coryza en bronchitis met op kinkhoest gelijkende hoestaanvallen nableef. In de pneumonische haarden vond hij den bacil in reincultuur, ook soms in het slijm van bronchi, trachea en neus.

Ssemtschenko (24.) kweekte dezen bacil ook uit de cadavers van vier aan kinkhoestpneumonie gestorven kinderen. Hij vond hem ook in de pneumonische haarden bijna in reincultuur, in mindere mate in het slijm van de hogere luchtwegen. Uit lever, milt en nieren gelukte het hem ook in eenige gevallen den bacil te kweeken.

Hij onderzocht ook de sputa bij velerlei andere ziekten op deze bacillen, steeds met negatief resultaat. Bij kinkhoest vond hij ze al van den vierden ziektedag af, terwijl ze reeds vóór de ziekte geheel genezen is, weer uit het sputum verdwenen zijn.

Op grond van zijn dierexperimenten en zijne en Ssemtschenko's bevindingen bij den mensch, en van het feit, dat deze bacil verschilt van alle tot dien tijd (1887) bekende bacteriën, houdt Afanassjew zijn *Bacillus*



*Tussis Convulsivae* voor de oorzaak van den kinkhoest. Deichler's en Henke's parasieten houdt hij voor lymphoïde cellen.

Wendt (25) controleerde dit onderzoek en kwam tot hetzelfde resultaat. Hij vond echter de bacillen niet in het eerste stadium van de ziekte, maar tijdens de reconvalescentie in even groote quantiteit als in het stadium convulsivum. Ook zag hij ze niet, als Afanassjew, in de kleine sputumvlokjes »bijna in reïncultuur», doch altijd vermengd met vele gewone sputumbewoners.

Haushalter (26) kweekte uit het bloed van den gesteriliseerden vingertop van drie kinderen uit één gezin, die in het verloop van kinkhoest een pneumonie hadden gekregen, den staphylococcus aureus. Hij houdt dezen voor de oorzaak der pneumonie, zonder zich uit te laten over eenig verband tusschen dezen coccus en den kinkhoest.

Mircoli (27) vond in twee gevallen van kinkhoest in het larynxslim bijna in reïncultuur streptococcen, met welke hij bij konijnen geen kinkhoest kon verwekken. Dezelfde streptococcen vond hij trouwens ook bij vijf gezonde kinderen.

Zeer uitvoerige onderzoekingen over dit onderwerp bevatten de van 1892 tot 1896 verschenen publicaties van Ritter (28—30). Niet minder dan 2000 sputa van 147 kinkhoestlijders heeft hij onderzocht en daarin, in het stadium spasmodicum, steeds zijn *diplococcus tussis convulsivae* aangetroffen, welken hij met hetzelfde recht als aan den typhus- of influenzabacil aetiologische waarde toekent.

Uit het steriel opgevangen en in steriel water flink gewasschen sputum nam hij een der kleine, melkwitte vlokjes, die hij voor het bronchiaalsecreet houdt; het aanhangende slijm gloeide hij er met een gloeiend mes

af, spoelde het daarna nog eens onder een waterstraal en streek het uit op een reeks buisjes of Petri'sche schaaltes met agar.

Reeds na 12 uur, ten volle ontwikkeld na 20 uur, ziet men nu hierop zeer fijne, geïsoleerde, matgrijze, ronde, sterk co- en adhaerente kolonies, die in aantal alle andere overtreffen, zelfs menigmaal in reincultuur opkomen.

Vooraf deze snelle groei in het begin is opvallend; hij laat reeds na 12 uur hun aanwezigheid macroscopisch herkennen. Dikwijls verdwijnen de kolonies echter al den tweeden dag onder de nu zich uitbreidende saprophyten; wil men ze dus voortkweeken, dan zette men ze op zijn laatst na 20 uur over. Hierbij is men door hun taaie, aan kraakbeen gelijke, consistentie gedwongen de kolonies in hun geheel over te enten en ze bij het uitstrijken op de agar met zekeren druk te broyeeren.

Gewone agar is het beste voedingsmedium, beter dan bloedserum en glycerineagar. Na eenige dagen groei confluereen de kolonies, worden wat minder »knorpelfest», ofschoon dan nog de laag in haar geheel van de agar kan afgerold worden.

Op aardappel, gelatine en in bouillon groeit de diplococcus niet.

De diplococcus is aëroob, het temp. optimum ligt tusschen 36—38°, de grenzen tusschen 30—42°.

Gekleurd met basische anilinekleurstoffen is hij een opvallend kleine diplococcus, altijd gepaard, ieder der deelen bijna rond, alleen waar ze tegen elkander liggen, wat afgeplat. In de cultuur liggen ze in allerlei groepen, rechte- of gewonden kettingen (hoe ze zich in het sputumpraeparaat voordoen, beschrijft hij niet). Hoe ouder de cultuur en de generatie, des te meer verandert het aspect van den diplococcus: de paren wijken verder



uiteen, zwellen en vormen ten slotte echte »Sammel-formen».

Volgens Gram worden ze niet ontkleurd, doch hierbij, evenals bij verhitting, schrompelen ze zoo, dat men den diplococcusvorm slechts met de sterkste vergrooting kan herkennen.

In cultuur groeit hij slecht, reeds de derde of vierde overenting mislukt; de eerste generatie heeft al na een week het vermogen zich voort te planten verloren. Hiermee stemt goed overeen, dat de ziekte slechts van persoon op persoon overdraagbaar is.

Voor en na het stadium spasmodicum vindt men hem veel minder dan op de hoogte van dit stadium, wat overeenkomt met de meerdere besmettelijkheid van dat tijdperk.

Ook in drie cadavers vond hij de diplococcen in grooten getale op het bronchiaalslijmvlies; ze veroorzaken daar waarschijnlijk door directe prikkeling van de eindtakken van den N. Vagus de krampachtige hoestbuien.

Inhalatie van fijngewreven culturen door Ritter en zijn assistent, veroorzaakte slechts voorbijgaande mechanische prikkeling, bij dieren soms pertussisachtige verschijnselen.

In de sputa van talloze diphterielijders enz. zag hij nooit iets, wat met zijn diplococcus te identificeren was. Deichler's protozoa houdt hij voor lymphoïde cellen, Afanassjew's bacil vond hij dikwijls, doch ook bij gewone catarrhen.

Cohn en Neumann (32.) konden echter in 25 sputa van 24 typische kinkhoestgevallen slechts éénmaal Ritter's diplococcus vinden.

Uitvoerig beschrijven deze auteurs het macroscopisch en microscopisch aspect van het sputum. De morpho-



tische elementen verschillen niet van die in gewone catarrhale sputa; amoeben zagen ze nooit (in het gedroogde praeparaat), evenmin eosinophile cellen.

Wat de microorganismen betreft, werden zij het meest getroffen door de regelmatige aanwezigheid van zeer kleine coccen, die bijna altijd als diplococcen twee aan twee liggen. Ze zijn rond, slechts zelden ovalair; nooit liggen ze in grootere groepen bij elkaar. Minder frequent dan deze zagen ze kleine coccen in korte kettingen en, in tegenstelling met Burger en Afanassjew, troffen zij zelden staafjes aan: meestal waren dit dan groepen van korte, dikke bacillen, op of in de nabijheid van mond-epithelia.

Zij streken het steriel opgevangen sputum uit op 2—3 agarbuisjes, na het eerst gespoeld te hebben volgens de methode, die Kitasato op Koch's aanwijziging voor tuberkelbacillen aanwendde: zij schudden het in steriel water tot het in kleine vlokjes uiteenviel en spoelden een van deze verder af in 2—4 schaaltes met water.

Slechts 5 maal ontbraken in deze buisjes streptococckenkolonies; soms kwamen deze nagenoeg in reïncultuur op. Niet altijd zagen zij in de dekglaspraeparaten van deze kolonies de coccen in kettingen liggen, vaak schenen het diplococcen, en waar zij een korte ketting vonden, onderscheidde de leden hiervan zich door hun grootte van de omliggende kleine coccen. In latere generaties werden echter de kettingen duidelijker en de coccen grooter. Ze groeiden al of niet op gelatine. De verschillende groei in bouillon deed zien, dat ze met verschillende variëteiten van streptococcen te doen hadden: dikwijls werd de bouillon diffuus troebel met meer of minder sediment, soms ontstond alleen een slijmig, brokkelig of uit vellen bestaand bezinksel.

Behalve deze vonden zij geen microorganismen con-

stant genoeg om voor de aetiologie van beteekenis te kunnen zijn; zoo zagen ze af en toe den bacil van Afanassjew, dien zij echter evenals Ritter's diplococcus voor een onschadelijken parasiet hielden.

Van eenig gewicht schenen hun nog diplococcen van zeer verschillende grootte: de afzonderlijke deelen zijn kogelrond en varieeren in latere generaties minder in grootte. Deze vonden zij aanvankelijk constant, daarna echter in 9 achtereenvolgende gevallen niet meer. De kolonies zijn rond, gladrandig, 1—2 m.M. in diameter, bijna kleurloos, soms waterhelder, soms wat groenachtig getint, minder vlak dan de streptococckenkolonies. In 8 dagen zijn ze reeds afgestorven.

De kleine diplococcen uit het sputumpraeparaat houden zij voor de bovenbeschreven streptococcen, hoewel het mogelijk is, dat ze volgens de gevolgde methode niet te cultiveeren zijn. Ze durven aan deze streptococcen evenwel geen pathogenetische waarde toekennen, gedachtig aan het frequente voorkomen van dergelijke coccen bij diphtherie, tuberculose e. a. aandoeningen van de luchtwegen.

In 1897 beschreven Czaplewski en Hensel (34) een kleine *poolbacterie*, die ze in 50 gevallen uit een kinkhoestepidemie te Koningsbergen steeds, vooral in zware gevallen, vonden. Den diplococcus van Ritter misten ze echter altijd.

Zij schudden een sputumvlok achtereenvolgens in 3—4 buisjes met peptonwater, de zoo verkregen kern der vlok brachten ze in een steriel schaaltje en streken de vastere deelen er van op schaaltjes met Löffler's serum uit.

De dekglaspraeparaten behandelden ze na fixatie korten tijd met 1%, azijnzuur om een helderder beeld te verkrijgen, daarna kleurden ze onder verwarming 1



minuut met verdunde carbolfuchsine (1: 10). Beter is, om alle details te zien (poolkleuring),  $\frac{1}{2}$ —1 uur in zeer verdunde carbolfuchsine te kleuren.

Op de platen vonden zij na 24 uur bij 37°, soms in reïncultuur, een op den influenzabacil gelijkende (hoewel iets grootere), onbeweeglijke poolbacterie, die zij aldus beschrijven:

»Es stellt ein sehr kleines kurzes Stäbchen dar, mit eiförmig abgerundeten Enden. Die kleinsten Formen erscheinen wie Kokken, die sich zur Teilung anschickenden wie Diplokokken. Bei vorsichtiger Färbung ist an den letzteren und auch an ausgewachsenen Stäbchen eine deutliche stärkere Färbung der Pole zu erkennen, während die Mitte ganz oder fast ganz farblos bleibt, wodurch die Aehnlichkeit mit Diplokokken noch verschärft wird. Bei stärkerer Färbung färbt sich aber das ganze Stäbchen. Das ausgewachsene Stäbchen ist nur c.a. 2-3 mal so lang als breit. In Kulturen, seltener auch im Sputum, kommen noch längere Formen vor. Mitunter liegen mehrere Individuen kettenartig angeordnet hinter einander. An morphologischer Vielgestaltigkeit (auch abnorme Involutionsformen kommen zur Beobachtung) ähnelt das Bakterium dem Pestbacillus, der aber viel grösser ist.»

Door de gewone basische anilinekleurstoffen worden zij goed gekleurd, methyleenblauw is minder geschikt: door te sterke poolkleuring zijn ze dan moeilijk van coccen te onderscheiden.

Volgens de methode van Gram of Gram-Weigert blijven *jonge* culturen gekleurd; in de sputumpraeparaten worden de bacteriën volgens Gram meestal ontkleurd.

In het sputum vindt men ze:

»teils regellos zerstreut, einzeln oder in kleinen Häufchen, seltener nesterweise oder in grösseren An-



häufungen, welche an die bekannte Fischschwarmanordnung der Choleravibrionen erinnern, und wohl durch das Ausstreichen in die Länge gezogenen kolonieartigen Ansiedelungen der Bakterien ihre Entstehung verdanken. Die Bakterien liegen meist frei, viel seltener in Zellen eingeschlossen, doch giebt es Sputa, in denen dies Vorkommen gar nicht selten ist und in welchen manche Zellen sogar mit Bakterien vollgestopft erscheinen."

In goed gewasschen sputum ziet men soms geen andere dan deze bacteriën, in slecht gewasschen sputum of waar een complicatie is, zijn ze vermengd met andere, vooral streptococcen. In het begin der ziekte vindt men ze soms nauwelijks.

Op de serumplaten groeien ze soms in reïncultuur, niet zelden echter zijn ze zóó doorwoekerd door andere kolonies, dat isoleeren onmogelijk is en we alleen door het »klatschpraeparaat" hun aanwezigheid kunnen vaststellen. De kolonies zijn niet karakteristiek, zeer klein, op dauwdruppels gelijkend, eenigszins bol, grauwegeel doorschijnend. Bij voortkweeken confluëeren de aanvankelijk nog geïsoleerd groeiende kolonies tot een vrij dichte, hoewel nooit dikke laag. Geregeld overgezet op goede, vochtige, licht alkalische voedingsbodems kan men deze nogal lastig te kweeken bacterie tot vrij aanzienlijken groei brengen.

Zij groeit facultatief aëroob, bij 37° sneller dan bij 23°; glycerinetoevoeging schijnt haar groei te begunstigen.

Op gelatine wordt zwakke, op aardappel geen groei waargenomen.

De strijkcultuur op Löffler's serum, waarop zij het beste groeit, vertoont een niet karakteristieke, witachtige of geelgrijze laag, die dikker en vochtiger is, naarmate het serum vochtiger is. De geïsoleerde kolonies worden nauwelijks grooter dan 1 m.M. In deze serumculturen

lijken de individuen het meest op die uit het sputumpraeparaat; jonge, 24 uur oude culturen vertoonen fraaie poolkleuring; in oudere culturen vindt men abnorme involutievormen naast langere staafjes; de meeste individuen zijn dan afgestorven en kleuren zich niet meer.

Op agar, glycerineagar en suikeragar is de strijkcultuur een fijne, grijze laag, bestaande uit zeer kleine, ronde, conflueerende, meestal transparante kolonies, wier diameter, als ze geïsoleerd liggen, 1—2 m.M. groot kan worden; ze zijn dan soms gefacetteerd, als made-lieven. Op goede agar kan men door geregeld overzetten vrij goeden groei verkrijgen; de ontwikkeling van jongere en involutievormen schijnt er op begunstigd te zijn.

Gelatine wordt niet vloeibaar gemaakt. Bij strijkcultuur vormt zich een grijsachtig band, bij steekcultuur een klein, droog, grijsachtig, getand laagje aan de oppervlakte, in het steekkanaal fijne, witgele korrels, als bij streptococcen.

Bouillon wordt na 24 uur nauwelijks troebel, het lensachtig bezinksel warrelt bij schudden slijmig, draderig op en laat zich fijn verdeelen.

Bij dieren konden zij met deze bacterie geen aan kinkhoest analoog proces opwekken; door intrapulmonale injectie kregen konijnen bronchopneumonieën zonder doodelijken afloop; een kat begon na dezelfde injectie te hoesten. Het meest verwachten ze van proeven op apen. Zij vermelden verder nog een kortdurende coryza met kramphoest, die Czaplewski tijdens hun onderzoek kreeg en waarbij zich in het sputum en in het neussecreet de poolbacterie soms in reïncultuur bevond.

Enige malen konden zij ook uit de aanwezigheid van de bacterie in het sputum de diagnose stellen, vóórdát deze klinisch zeker was. Ook uit een cadaver liet zich de poolbacterie kweken.



Hensel onderzocht verscheidene sputa bij andere ziekten zonder ooit deze bacterie te vinden. Beide onderzoekers zijn dan ook geneigd in haar den verwekker van den kinkhoest te zien.

Wat vroegere onderzoekers betreft, gelooven zij, dat Burger, Afanassjew en Ritter de poolbacterie in het sputumpraeparaat wel gezien en beschreven hebben; de als coli groeiende bacil, dien zij uit de derde hand van Afanassjew ontvingen, lijkt echter evenmin op de poolbacterie, als de door Ritter gekweekte diplococcus. Agar is minder geschikt voor het isoleeren van de poolbacterie: zij groeit er slechter op en vertoont meer aan streptococcen herinnerende vormen, terwijl zij aan den anderen kant licht door streptococcen overwoekerd wordt; het is daarom niet onmogelijk, dat Ritter een of anderen slijmvliesstreptococcus heeft gekweekt, waar de groote adhaesie aan den voedingsbodem ook aan doet denken. Misschien zijn de zeer kleine diplococcen, die Cohn en Neumann zagen, ook niets anders dan de poolbacterie, die zij door de gevolgde methode minder kans hadden te kweken.

Bijna alle bacteriën, die na dit onderzoek als verwekkers van den kinkhoest zijn beschreven, komen in één punt overeen, n.l. ze gelijken min of meer op den influenzabacil. Een omvangrijk twistgeschrijf ontstond over de onderlinge identiteit van deze bacteriën en over de quaestie, welke van deze wel het door allen in het sputumpraeparaat geziene, op den influenzabacil gelijkende staafje zou zijn.

Koplik (New-York) en Zusch (Aken) vonden ongeveer gelijktijdig met Czaplewski en Hensel bacillen, die Czaplewski voor identisch met zijn poolbacterie houdt.

De bacil van Zusch (44) is blijkbaar dezelfde als die

van Czaplewski. Door persoonlijke vergelijking hebben beiden zich hiervan kunnen overtuigen. Z u s c h vond hem in 25 gevallen constant en gebruikte als voedingsbodem anasarkavloei-stof-glycerineagar, die op Löffler's serum haar doorschijnendheid voor heeft. Versche agar bleek hem echter ook voldoende; toevoeging van bloed verbeterde den groei niet.

De kolonies doen zich op zijn voedingsbodem voor als kleine, ronde drupjes, bij opvallend licht grijs of grijs met geelachtige bijtint, bij doorvallend licht blauwachtig doorschijnend, licht opalesceerend. Hun microscopisch aspect is licht geelachtig blauw, fijn, gelijkmatig gegranuleerd (als bestoven), niet karakteristiek; dit bemoeilijkt hun isolatie wel. Overzetten gelukt slechts 1 à 2 dagen; in enkele gevallen, waar ze bijna in reïncultuur voorkwamen, zag hij ze in grootere kolonies groeien, die tot matgrijze, opalesceerende lagen conflueerden en dan den 6den dag nog voort te kweken waren.

Ze coaguleeren melk niet, verwekken geen gisting in druivensuikeragar.

In de culturen ziet men wel enkele langere staafjes, doch geen bepaalde schijndraden. Involutievormen treden ongeveer den 7den dag op: zeer kleine, op coccen gelijkende vormen, die slecht te kleuren zijn, naast lange, dikke, knotsvormige staven.

Bij de kleuring volgens Gram blijven 1—2 dagen oude culturen zwak gekleurd, indien men de sol. Lugol 1:2:200 neemt, of de kleuring zeer voorzichtig toepast (door b.v. het praeparaat 20 min., onder verwarming, met anilinewaterviolet en 1<sup>1</sup>/<sub>4</sub> min. met sol. Lugol te behandelen en het daarna zoo kort mogelijk in alcohol abs. af te spoelen).

Een serumreactie, analoog aan die van Widal bij



typhus, viel negatief uit, evenzoo de dierexperimenten. Ook hij vond dezen bacil nooit in andere sputa.

Zusch houdt Koplik's bacil niet voor identisch met den beschrevenen, die onbeweeglijk is. Eenmaal echter vond hij op de platen in overmaat een beweeglijken, coli-achtigen bacil, die veel geleet op dien van Koplik.

Aanvankelijk hield Koplik (40) zijn beweeglijken *bacillus X*, dien hij in 13 van 16 kinkhoestgevallen, soms in reïncultuur, aantrof, voor den bacil van Afanassjew, later (41) werd hij de meening van Czaplewski toegedaan, toen hem gebleken was, dat de bacil geen werkelijke eigenbeweging bezat. Hij vond de staafjes het meest in ongecompliceerde gevallen.

In het met Löffler's alkalisch blauw gekleurde sputum zag hij de zeer fijne, korte, gelijkmatig gekleurde bacillen meestal in zoogloëae, soms in de epithelia.

Hij streek een ongewasschen sputumvlokje uit op schuin gestolde hydrocelevloëistof; deze was hem de beste voedingsbodem gebleken. Van de opgekomen laag verdunde hij een weinig in bouillon en streek hiervan weer uit, enz. tot reïnkweeking mogelijk was.

De reïncultuur op hydrocelevloëistof vertoont een parelwitte, fijngepuncteerd laag; bij toevoeging van suikerbouillon aan den bodem is deze meer roomachtig.

Op agar zijn de kolonies korrelig en onregelmatig rond, witachtig bij gereflecteerd, stroogeel of meer olijfkleurig bij doórvallend licht, terwijl de strijkcultuur een opake, parelwitte laag vormt.

Gelatine wordt niet vloeibaar gemaakt; de kolonies zijn hierop als op agar, doch kleiner, gelijkend op die van streptococcen.

In bouillon ontstaat na 24 uur een fijne korreling op den bodem, na eenigen tijd een sediment, dat uit

kleine, samenhangende deelen bestaat; na een week een vlies aan de oppervlakte.

De groei op Löffler's serum lijkt op dien van den diphtheriebacil.

De bacil groeit goed anaëroob, is 0,8—1,7  $\mu$  lang en 0,3—0,4  $\mu$  breed, ziet er fijngepuncteerd uit, wat hem op den diphtheriebacil doet lijken. In oude culturen involutievormen: knotsvormen en zich sterk kleurende draden. Geen sporenvorming.

De dierexperimenten vielen negatief uit. Wel is de bacil voor witte muizen pathogeen en kon Koplik bij een konijn door intraveneuze inspuiting van een oude bouilloncultuur pyaemie met gewrichtsetting verwekken.

Dotti (42) ziet in dezen bacil zooveel overeenkomst met den diphtheriebacil, dat hij uit Koplik's onderzoek de therapeutische werking, die hij van het serum anti-diphthericum bij kinkhoest zag, wil verklaren.

Een ook biologisch op den influenzabacil gelijkend staafje vond Spengler (47) tijdens een kinkhoestepidemie te Davos geregeld in het sputum uit het eerste en tweede stadium van de ziekte, en noemde dit den *pertussisbacil*.

Hij wiesch het steriel opgevangen sputum niet, maar zocht eerst microscopisch een plekje op, waar veel van deze bacillen zaten, om daarvan uit te zaaien.

In het sputum liggen de bacillen meestal twee aan twee, zijn wat grooter dan de influenzabacil en vormen lange schijndraden; soms zijn cellen er mee volgepropt.

Op bloedagar kan men ze kweken; ze komen dan morphologisch en biologisch volkomen met den influenzabacil overeen, kunnen echter niet identisch met dezen zijn, omdat ze van typische kinkhoestgevallen uit een epidemie afkomstig zijn.

De kolonies zijn dauwdrupjes, nog helderder, en



daardoor nog moeilijker te zien, dan die van den influenzabacil.

Ook in de cultuur liggen de staafjes meestal twee aan twee, de verbinding schijnt echter een lossere te zijn, de naar elkaar toegekeerde uiteinden zijn spits en gerekter dan de ovoid afgeronde andere einden. De ontwikkeling van massiever gekleurde schijndraden is hier regel; ook komt vaak kettingvorming voor. Aan de schijndraden vooral ziet men, dat de pertussisbacil duidelijk grooter is dan de influenzabacil.

Voor uitdroging behoed, kan men ze na 12 dagen nog voortkweeken.

Voor lang wasschen is de bacil gevoelig, daarom laat Spengler dit na. Dit is een van de reeks aanmerkingen, die hij op het onderzoek van Czaplewski en Hensel maakt, naar aanleiding van hun voorloopige mededeeling. Hij gelooft wel, dat zij denzelfden bacil in het sputum gezien, ook wel in de eerste generatie op hun platen gezien en beschreven hebben, doch niet, dat zij dezen bacil hebben voortgekweekt. Zijn en Vincenzi's (51) twijfel, of Czaplewski en Hensel wel reïnculturen hebben gekweekt, is echter later, behalve door de photogrammen van Czaplewski, door verschillende onderzoekers te niet gedaan, die reïnculturen van hen verkregen.

Czaplewski (35, 36) wijst in zijn antwoord hierop o.a. op de verschillen tusschen den door Spengler beschreven bacil en den influenzabacil: de eerste toch is grooter, vormt in culturen vaak kettingen en schijndraden, leeft langer en zijn kolonies zijn helderder.

In hetzelfde jaar (1898) publiceert Vincenzi (50, 51) zijn kinkhoestonderzoek. Iets wat op amoeben leek, vond hij in het versche sputum nooit. In 18 gevallen van ongecompliceerden kinkhoest kon hij steeds in

aanmerkelijken getale een kleinen *coccobacillus* kweeken, die vaak in kettingen ligt en ongeveer zoo groot is als de influenzabacil. Hij komt overeen met de zeer kleine, ovale, onregelmatig verspreide, vrij liggende bacteriën, die hij geregeld in de sputumpraeparaten zag.

Op agar doen de kolonies zich na 24 uur (37°) voor, als »mikroskopische Luftbläschen, deren manche mit einigen unregelmässigen Detriten wie mit Krystallen begrenzt waren. Mit dem etwas höher gestellten Objectiv wurden solche Luftbläschen in kleine glänzende Massen mit einem lichtbrechenden Punkt in der Mitte verwandelt. Bei lateralem Lichte erscheinen sie wie kleine Schneehäufchen, mit einer ausgehöhlten Spitze.»

Ze zijn zeer karakteristiek, doch door hun kleinheid licht over het hoofd te zien.

In de cultuur is de onbeweeglijke bacil ongeveer van de grootte van den influenzabacil, heeft een licht ovalen vorm en vormt vaak korte, rechte kettingen.

Bouillon wordt na 24 uur licht troebel en sterk zuur, op den bodem komt na 48 uur een klein sediment; na 3 dagen houdt de groei op en wordt de bouillon langzamerhand weer helder. Geen groei op gelatine en bij 24°.

Agarstrijkcultuur: zeer kleine, transparante, niet conflueerende, ronde kolonies, elk met een lichtbrekend punt in het midden.

Agarsteekcultuur: fijne, uniforme streep zonder oppervlakkigen groei.

Op bloedserum en Löffler's serum zeer geringe groei; melk is een goede voedingsbodem, stremt in 24 uur volkomen.

Zijn levensduur is kort: van de agarplaat mislukken overentingen reeds na 48 uur, in bouillon sterft hij in 4 dagen, in de agarsteekcultuur in 6 dagen. Voor



uitdroging is hij zeer gevoelig; verwarmen tot 60° doodt hem reeds in 3 minuten.

Volgens de gewone methoden laat hij zich goed kleuren; Gram is negatief.

Voor dieren is hij niet pathogeen (muizen, caviae, konijnen, honden), ook niet bij intratracheale inoculatie.

Door herhaald onderzoek heeft Vincenzi zich overtuigd, dat zijn bacil geen gewone mondbewoner is; het meest vond hij hem in het zuiver slijmige sputum en uitsluitend bij kinkhoest. Daarom gelooft hij wel met de oorzaak van de ziekte te doen te hebben.

Van Czaplewski ontving hij twee culturen van de poolbacterie, waardoor hij zich overtuigen kon, dat diens korte, diphtericachtige bacil zoowel van zijn cocco-bacillus verschilt, als van de door Czaplewski in het sputumpraeparaat geziene en gefotografeerde bacterie.

Naar aanleiding van deze en andere opmerkingen deelt Czaplewski (37) nog een reeks bijzonderheden aangaande zijn poolbacterie mede, en publiceert tevens photogrammen van reinculturen, die doen zien, hoezeer eenzelfde stam op verschillende voedingsmedia kan varieeren, vooral in oudere generaties. De bacterie reageert n.l. zeer fijn op kleine verschillen in vochtigheid en reactie van den voedingsbodem; ook heeft de eene stam meer neiging langere vormen te vertoonen dan de andere.

Op agar gekweekt, is ze kleiner dan op Löffler's serum. Door consequent overzetten op deze bodems kan men zoo een kleiner (hongervormen) of een grooter ras (mestvormen) verkrijgen. Op agar sterven de bacteriën in weinige dagen af.

Vincenzi's cocco-bacillus houdt Czaplewski nu voor een hongervorm van de poolbacterie; zijn slechte groei op Löffler's serum kan aan het serum liggen.

Op de agarplaten zijn de kolonies al naar de vochtigheid van den bodem klein, droog, opaak, grijsgeel, als een zandkorrel, of meer transparant als een dauwdruppel, met fijne, min of meer duidelijke granuleering en soms een centrale, knopvormige verheffing. Al prefereert Czaplewski de serumplaten, toch acht hij agarplaten, op welke echter de bacterie licht overwoekerd wordt, voor de reinkweeking soms beter te gebruiken.

Voegt men aan de agar suiker of glycerine toe, dan wordt de groei beter, de staafjes worden langer, met gezwollen uiteinden, waardoor ze op pseudodiphtheriebacillen lijken. Zulke vormen komen ook op serum voor en heeft Vincenzi waarschijnlijk van hem ontvangen. Het verschil met de pseudodiphtheriebacillen is echter, dat ze kleiner en korter zijn dan deze; hun grondtype is een ovalaire bacterie, dat van de pseudodiphtheriebacillen een staafje; bovendien groeien de laatsten beter op agar.

De tot nu toe door niemand bevestigde Ritter vindt in den coccobacillus van Vincenzi zijn diplococcus terug en laat dit door zijn assistent Buttermilch (53) toelichten. Deze publiceert oude photogrammen van Ritter en een beschrijving van den diplococcus, zooals hij dien zag. Deze verschilt bijna niet van den coccobacil van Vincenzi, doch wel van den diplococcus, zooals Ritter dien oorspronkelijk beschreef. Hierop wijst Czaplewski in uitvoerige artikelen (38, 39). Buttermilch's diplococcus n.l. groeit in bouillon, kleurt zich niet volgens Gram, zijn kolonies confluereen niet; ook spreken Buttermilch noch Vincenzi van de kraakbeenige consistentie van de kolonies, noch van hun groote adhaesie aan den voedingsbodem, terwijl bovendien de beschrijving van de diplococcen niet geheel overeenstemt met die van Ritter.



Buttermilch houdt echter vast aan de identiteit der diplococcen, die hij te zamen met Ritter onderzocht.

Behalve door Zusch wordt in 1899 het onderzoek van Czaplewski bevestigd in het laboratorium van Netter te Parijs door Cavasse. Te voren was ook in Amerika Wagner (43) tot hetzelfde resultaat als Czaplewski en Hensel gekomen.

Cavasse (54) onderzocht niet alleen de sputa der kinkhoestlijders bacteriologisch, maar ook de urine, het bloed, het door punctie verkregen longsap, de cerebrospinale vloeistof en uit de cadavers: het slijm der luchtwegen, de pneumonische haarden, bloed, lever, milt, tracheobronchiale lymphklieren, den bulbus en den N. Vagus. Op den bulbus werd speciaal gelet met het oog op de bulbaire verschijnselen bij kinkhoest.

Hij gebruikte als voedingsbodems ook bloedagar en collodiumzakjes, in de buikholte van konijnen gebracht, zooals Nocard en Roux die gebruikten om de microbe van de peripneumonie te kweken.

Uit urine, liquor cerebrospinalis, tracheobronchiale klieren en N. Vagus heeft hij nooit culturen kunnen verkrijgen; uit het bloed (60 onderzoekingen) 10 maal strepto- of staphylococcen, wat wel aan technische fouten zal gelegen hebben; uit lever en milt streptococcen of (minder) staphylococcen; uit den bulbus in 15 gevallen 12 maal streptococcen, nooit andere bacteriën (dezelfde streptococcen vond hij echter ook 3 maal bij het onderzoek van 6 gevallen, waarbij geen kinkhoest was geweest); uit het longsap pneumo- en streptococcen en pneumobacillen.

In het sputum (30 gevallen) trof hij altijd voornamelijk de poolbacterie van Czaplewski aan. Hij zag echter op bloedagar beter groei dan op gewone agar, hoewel slechter dan op Löffler's serum; bovendien vond hij

Gram positief en haar levensduur hoogstens 12 dagen.

Bij het kweken in de zakjes bleven de konijnen gezond en werd de bacterie noch in vorm, noch in biologische eigenschappen veranderd.

De poolbacterie werd niet specifiek geagglutineerd door het bloedserum van kinkhoestlijders; eenige malen evenwel zag hij door kinkhoestserum praecipitatie optreden bij een verdunning van 1:50, waar ander serum dit nooit boven een verdunning van 1:25 deed.

Door te kweken in bouillon, waarbij gewoon- of kinkhoestserum gevoegd was, vond hij geen verschil in groei; evenmin nam hij iets waar van een specifieke reactie, zooals J. Kraus die beschreef voor cholera-, typhus- en pestbacillen. Ook dierproeven (konijnen) gaven negatief resultaat, zoodat hij de poolbacterie nog geen specifieke waarde durft toekennen.

Terzelfder tijd werd ook in het laboratorium van Roux door Elmassian (55) naar den verwekker van den kinkhoest gezocht. Zijn aandacht viel daarbij op een bacil, dien hij echter, behalve in 13 gevallen van kinkhoest, ook bij andere bronchitiden van kinderen aantrof. Deze bacil groeit ook op serumbodems, lijkt overigens volmaakt op den influenzabacil; hij vond echter, dat drie influenzastammen, die hij kweekte uit gevallen van een typische epidemie, alsmede een der door Meunier beschreven stammen, ook, op serumbodems groeiden.

Op gewone agar, in bouillon enz. groeit hij niet.

Met geen der bij kinkhoest beschreven bacillen heeft deze iets te maken, ook niet met dien van Czaplowski en Vincenzi, die op gewone agar ook groeien. Voor duiven, muizen noch konijnen is hij pathogeen; jonge caviae kan men echter door intraperitoneale injectie van 2—4 c. c. bouilloncultuur een doodelijke peritonitis bezorgen.



Luzzato (56) was in de gelegenheid exemplaren van de bacteriën van Czaplewski en Koplik te vergelijken en werd getroffen door het verschil; terwijl de laatste zich voordeed als een klein, moeilijk kleurbaar, influenza-achtig staafje, waren de eerste plompe, korte staafjes: vrij groote bacillen naast kleine, ovale coccen.

Hij heeft verder het gewasschen sputum van 41 kinkhoestlijders op bloedagar uitgestreken; twee soorten microben troffen hem hierbij door hun frequente aanwezigheid.

1<sup>o</sup>. Bijna constant waren zeer kleine, korte staafjes aanwezig, vaak met poolkleuring, volgens Gram te kleuren. Volgens Weigert of met Löffler's blauw gekleurd, zijn ze niet van pneumococcen te onderscheiden, vooral ook, omdat ze in het sputum niet zelden door een lichten hof omgeven zijn. Hij houdt het er dan ook voor, dat ze behooren tot de groep *diplococcus lanceolatus*. Ze groeien beter op bloedagar en Löffler's serum dan op andere bodems en leven kort.

Een aap kon hij door intratracheale inoculatie met deze bacterie niet doen hoesten. Voor muizen is zij nogal pathogeen. Als dit niet de poolbacterie van Czaplewski is (deze zag een exemplaar en hield het voor een pneumococcus), dan heeft hij haar in deze epidemie nooit aangetroffen.

2<sup>o</sup>. Dikwijls zag hij een slanken, dunnen bacil, waarschijnlijk identisch met den door Elmassian beschrevenen. Hij is 1,5—1,7  $\mu$  lang en 0,3  $\mu$  breed, lijkt op den influenzabacil, maar groeit ook op serum. De kolonies zijn na 24 uur hoogstens  $\frac{3}{4}$  c.M. in diameter, plat, grijs, scherprandig, met grove granuleering in het centrum, die zich na 48 uur bijna over de geheele kolonie uitstrekt. Alleen voor caviae is hij pathogeen.

Dezen bacil wil hij *bacillus minutissimus sputi* noemen,

zonder hem echter, evenmin als den vorigen, specifieke waarde te durven toekennen. In ongecompliceerde gevallen komt hij soms bijna in reincultuur voor.

Bacteriën, gelijkend op die van Czaplewski, vond hij constant bij allerlei aandoeningen van de luchtwegen van kinderen.

Arnhem (57) vond bij kinkhoest (44 gevallen, 3 cadavers) op de serumplaten steeds de poolbacterie van Czaplewski, soms bijna of geheel in reincultuur. De meeste moeite leverden hem de streptococcen op, wier kolonies precies op die van de poolbacterie kunnen gelijken.

Alleen de eerste generatie komt overeen met het in het sputum voorkomende staafje, later kan men door de involutievormen de poolbacterie nauwelijks meer herkennen. De kleuring volgens Gram vond hij, zooals Czaplewski die aangeeft, alleen bleven van oude culturen altijd ook nog enkele staafjes gekleurd. De cultuur op agar beschrijft hij als een »mehlartige Hauch», die op gelatine als een nauwelijks zichtbare »Transparenz», al wordt de groei bij verder voortkweken beter.

Zijn dierexperimenten vielen ook negatief uit. Bij de cadavers kon hij niet alleen 2 maal de bacterie uit het longsap kweken, maar ook in de doorsneden aantoonen.

Voornamelijk critisch werk levert Rahnner (61) in zijn dissertatie, aan de hand van 30 onderzochte gevallen.

Slechts driemaal kon hij bacteriën kweken, gelijkend op de poolbacterie, en van hen kwam slechts één volkomen met deze overeen, de andere groeiden meer als pseudodiphtheriebacillen. Hij houdt dan ook de poolbacterie voor een bijzonder fijn groeiende pseudodiphtheriebacil, zooals die door Proschaska e. a. beschreven zijn. De differentieele diagnostiek is niet mogelijk,



vooral sinds Klein pseudodiphtheriebacillen beschreef, die niet op aardappel groeiden.

Hij gelooft daarom niet, dat de bacterie van Czaplowski de oorzaak van de ziekte is.

Ook Koplik's bacil schijnt hem een pseudodiphtheriebacil: Migula beschrijft dergelijke. Ritter's diplococcus vond hij slechts éénmaal, den bacil van Afanassjew nooit. Den coccobacillus van Vincenzi houdt hij niet voor identisch met de poolbacterie, wel met den diplococcus van Buttermilch.

Een zeer nauwgezet onderzoek van 31 kinkhoestlijders publiceerden Jochmann en Krause (62) in 1901.

Naast lanceolatusvormen, strepto- en staphylococcen zagen zij in het sputumpraeparat steeds in overmaat ovoïde staafjes van de grootte van den influenzabacil in grootere of kleinere groepen bijeen, soms ook in de cellen.

Ze vertoonen bij zwakke kleuring duidelijke poolkleuring en lijken dan op diplococcen.

Deze staafjes vonden zij op bloedagarplaten terug in kolonies, die op sterk lichtbrekende dauwdruppels gelijken.

Deze morphologisch op elkander gelijkende bacillen bleken echter niet alle biologisch overeen te stemmen: men vindt 3 soorten, A, B en C, van welke men de onderlinge verschillen in de volgende tabel kan nagaan.

	A	B	C
WIE OFT GEFUNDEN	18 MAL	4 MAL	3 MAL
Form und Grösse. . . . .	Grösse d. Influenza- bacillus, eiförmig	wie A	wie A
Beweglichkeit . . . . .	unbeweglich	wie A	wie A
Gramfärbung . . . . .	negativ	wie A	positiv
Wachsthum auf Blutagar .	Thautröpfchen	wie A, öf-	wie A
Wachsthum auf hämoglo- binfreien Nährböden . .	kein Wachsthum	ter Confluenz Wachsthum	Wachsthum

A noemden zij den *bacillus pertussis Eppendorf*.

B groeit op glycerineagar precies als op bloedagar, als glasheldere dauwdruppel, bij opvallend licht wat blauwachtig grijs; waar ze niet te dicht op een staan, kunnen de kolonies grooter dan een speldeknop worden. Bij voortkweeken confluereen ze tot een grijsblauwe laag en groeien steeds weliger; oude culturen vertoonen fijne korrels in het centrum.

Gelatine vervloeit niet; in de steekcultuur is de groei gering. Geen gasvorming in druivensuikeragar. Lakmoesmelkwei noch melk worden veranderd. Op aardappel geen groei. Op gestolde ascitesvloeistof kleine, grijze kolonies.

Dezen bacil, dien zij voor de poolbacterie van Czaplowski houden, kweekten zij driemaal uit het sputum en eenmaal bij een der cadavers uit het longsap, den etter van de weeke bekleedselen van hersenen en ruggemerg, en het serosanguinolente pleuraexsudaat.

C vonden zij ook eenmaal in de faeces van een typhuslijder.

A doet zich in de cultuur voor als een ovoïd, plomp staafje van de grootte van den influenzabacil, dikwijls twee aan twee liggend, vaak ook groepsgewijs; hier en daar ziet men een korten schijndraad. De kolonies zien er uit als bij B beschreven. De bacil is zeer weinig resistent en vaak na 4 dagen al afgestorven.

Dezen bac. *pertussis Eppendorf* konden zij driemaal ook uit het longsap van cadavers kweeken, en twee maal in de microscopische doorsneden aantoonen. Soms viel hun een zekere antipathie op tusschen de lanceolatuskolonies en die van dezen bacil: in de naaste omgeving van de eerste zagen zij dan een vrijen hof, waaromheen de *pertussis*-kolonies dicht gedrongen stonden, dan zelfs confluierend.



In de doorsneden kleurden zij den bacil met polychroom methyleenblauw en bezigden tannin-orange als bijt-middel. De staafjes liggen tusschen en in de alveo-lairepithelia.

Eenmaal konden zij den bacil uit den etter van otitis media bij kinkhoest kweeken. Zij vonden hem in het sputum 18 maal in 31 gevallen; in 6 gevallen was echter niet met bloed uitgezaaid. Behalve bij kinkhoest troffen zij hem niet aan.

Bij dieren konden zij met den b. pert. E. de ziekte niet verwekken; voor witte muizen is hij niet pathogeen.

Hoe verlokkelijk zij het ook vinden in dezen bacil den verwekker van de ziekte te zien, willen ze toch eerst onderzoekingen van anderen in deze richting afwachten.

Later (63) vult Jöchmann met Moltrecht dit onderzoek aan met het verslag van 22 secties van kinkhoestpneumonieën, bij welke ze 20 maal den b. pert. E. vonden en slechts 2 maal den lanceolatus als oorzaak van de pneumonie moesten beschouwen. De aard dezer pneumonieën is geheel zooals Pfeiffer die beschrijft voor de influenzapneumonie, hoewel zij de bacillen niet in die quantiteit in de doorsneden zagen, als Pfeiffer aangeeft. De luchtwegen in hun geheel op den bacil onderzoekend, vonden zij dien naar de longen toe al talrijker en reiner; in het longweefsel kwam hij nagenoeg in reïncultuur voor.

Zij gelooven nu dan ook wel aan eenig verband tusschen den b. pert. E. en de aetiologie van den kinkhoest, doch wijzen tevens op de bevindingen van verschillende onderzoekers, die influenzabacillen vonden bij pneumonieën, die kinderziekten compliceerden. 1)

1) Meunier vond ze bij 15 bronchopneumonieën in aansluiting aan mazelen, angina, influenza enz., zoowel in het venenbloed als

Het is daarom aangewezen om te onderzoeken, of tijdens een kinkhoestepidemie de volwassenen veel aan influenza lijden.

In zijn jongste publicatie deelt Jochmann (66) mede, dat hij in nog 42 gevallen van kinkhoest den b. pert. E. constant in de sputa vond. Meer dan vroeger trof hem nu het frequente voorkomen van „reuzenkolonies” op de platen. Vier maal kweekte hij stammen van den bacil, bij welke dunnere en plompere, kortere en langere staafjes in de reincultuur met elkaar afwisselden. Dergelijke verschillen in de afmetingen der bacillen zijn ook bij den influenzabacil wel waargenomen.

Op het eind van de ziekte vindt men den b. pert. E. niet meer in de sputa.

Zooals begrijpelijk is, ontstond een prioriteitsgeschil tusschen Spengler (48, 49) en Jochmann (64). De laatste gelooft echter niet, dat de b. pert. E. en de bacil van Spengler dezelfde zijn, op grond van de verschillen, op welke Czaplewski reeds wees. Ook Vincenzi (52) houdt zijn coccobacillus en den b. pert. E. voor identisch, niettegenstaande de eerste ook zonder bloed groeit. Zijn onderzoek verschilt n.l. van dat van Jochmann en Krause, doordat hij het sputum, dat altijd sporen bloed bevatte, niet wiesch; dit is voor hem voldoende, om het verschil in groei van de bacillen te verklaren, »oder wissen die Autoren vielleicht nicht, was für einen bedeutenden Einflusz auf das Leben der Bacillen die verschiedene Nährböden haben, und gerade die erste angewandte Nährsubstanz?»

---

in het longsap; Leiner beschrijft ze bij 11 diphteriepneumoniëen; Süßwein bij 10 van 21 mazelengevallen; Jehle houdt ze voor een frequente complicatie van kinderziekten; ze zetelen meestal in de diepere luchtwegen en dringen bij acute infectieziekten, o. a. roodvonk, meestal in het bloed.



Hij gelooft verder niet, dat de coccobacillus iets te maken heeft met de bacteriën van Czaplewski, Ritter, Buttermilch en Spengler.

Op het Congres te Nantes (Sept. 1901) deelen Bureau en Fontineau (67) mede, dat zij in 16 gevallen van kinkhoest den *streptococcus pyogenes* als pathogeen agens vonden. Zij bedienden zich van de bouilloncultuur volgens Sabouraud.

Zonder een woord te reppen over de tot nu toe genoemde microorganismen, wordt in 1902 door Leuriaux (68) een geheel andere bacil als verwekker van den kinkhoest beschreven. Met het serum van een paard, volgens de methode van Roux tegen dezen bacil geïmmuniseerd, heeft hij met succes zijn kinkhoestpatiënten behandeld.

Het is een kort, dik, even ovoid staafje, bijna even lang als breed (als de colibacil), met afgeronde uiteinden. Het is beweeglijk, groeit goed op de gewone bodems, aëroob, kleurt zich volgens Gram.

Gelatine wordt niet vloeibaar gemaakt; de kolonies hierop zijn rond, klein, geelwit; in de steekcultuur ziet men aan de oppervlakte een vrij dik vlies en om het steekkanaal veel kleine, ronde, transparante, geelwitte punten; de strijkcultuur vertoont een onregelmatig begrensde laag.

Op agar (37°) ontwikkelen zich reeds na eenige uren ronde, parelmoerachtige, min of meer transparante kolonies; de steekcultuur vertoont een spijker met grooten kop; de strijkcultuur vormt een laag over de geheele oppervlakte, geelwit als ze dik is, meer als parelmoer getint, als ze dun is.

Op aardappel ontstaat een kleverige, dikke, goudgele laag.

In bouillon ziet men een sterke troebeling, na 48 uur

een dik vlies aan de oppervlakte. Op serum een citroengele laag.

De vorm van den bacil verschilt eenigszins naar den voedingsbodem: op serum is hij wat langer en slanker dan op agar.

Bij konijnen verwekt 0,5 c.c. bouilloncultuur subcutaan een absces, 1 c.c. intraveneus den dood na 24—48 uur. Ook de gefiltreerde bouilloncultuur is zeer giftig. Bij het immuniseeren van het paard trad ook altijd sterke algemeene en plaatselijke reactie op.

Wendt men het serum van dit paard aan in het begin der ziekte, dan zou in 5—8 dagen genezing volgen. In oudere, zware en gecompliceerde gevallen werkt het verzachtend, doch langzamer. In 66 gevallen had hij 5 maal geen succes.

Tollemer (69) evenwel heeft dit serum aangewend zonder er bijzondere werking van te zien. De verzachtende werking is gelijk aan die van gewoon paardenserum.

Jochmann (65), het werk van Leuriaux refereerend, houdt diens bacil, als men de pyogene werking buiten bedenking laat, voor een der gewoonste sputumbewoners.

In hetzelfde jaar beschrijft Manicatide (71, 72) nog een anderen bacil als verwekker van den kinkhoest; als argumenten hiervoor voert hij o.a. het effect eener serotherapie en de agglutinatie van den bacil door het bloedserum van kinkhoestlijders aan.

In 82 gevallen van kinkhoest kon hij slechts 5 maal zijn *bacillus* z in 't geheel niet aantoonen. Op agarplaten, op welke hij in 80 van deze gevallen het gewasschen sputum uitstreek, trof hij hem in 67 gevallen aan, gewoonlijk in kleinen getale. In de overige gevallen zag hij hem echter wel in het sputumpraeparaat: van de 5 bovengenoemde gevallen werden geen sputumpraeparaten gemaakt.



Geen der andere microorganismen vond hij op de platen zóó constant, behalve streptococcen, die 54 maal in korte en 20 maal in lange kettingen aanwezig waren.

Zijn dierexperimenten gaven negatieve uitkomsten. Caviae, honden en katten, intratracheaal ingespoten, hoestten soms een weinig, doch niet typisch. Evenmin gelukte het hem, zelfs niet bij apen, met het sputum kinkhoest te verwekken.

De drie schapen en twee paarden, die hij met den bacil behandelde, reageerden op progressieve doses van bouillonculturen met vrij sterke algemeene reactie, soms met abscessen op de plaats van inspuiting. Twee schapen gingen bovendien hoesten met eenigszins op kinkhoest gelijkende aanvallen. Een schaap stierf aan algemeene infectie door den bac. z.

In de 89 met het serum van deze dieren behandelde patiënten, zag hij slechts eenmaal geen effect. In gevallen, die niet ouder dan 10—15 dagen waren, volgde genezing in 2—12 dagen; in oudere gevallen onstond verbetering, doch de genezing liet langer op zich wachten.

Van gewoon schapenserum, noch van serum anti-diphthericum, zag hij eenige werking; ook deelt hij mede, dat Dr. Staiculescu zonder succes het serum van Leuriaux aanwendde.

In het sputumpraeparaat herinnert de bac. z zeer aan den influenzabacil, is echter wat grooter en ligt meer geïsoleerd. Hij is een kleine, meest extracellulair gelegen bacil, met afgeronde, wat puntige uiteinden, goed kleurbaar door de basische anilinekleurstoffen, zonder duidelijke poolkleuring. Gram geeft positief resultaat. Meestal liggen zij afzonderlijk, onregelmatig verspreid, zeldzamer in groepen.

Op Löffler's serum groeit hij niet zoo goed als op

agar. De kolonies op de agarplaat zijn na 24—48 uur zeer fijn, tot een diameter van 0,5 m.M., rond, transparant, weinig verheven, glanzend, eenigszins blauwachtig, niet karakteristiek. Na 2—3 dagen zijn geïsoleerde kolonies 2—3 m.M. groot geworden, dik, wit, opaak, meer verheven, terwijl de overige geconflueerd zijn tot een witte, glanzende laag, die bij aanraken met de platinanaald wat slijmig van consistentie blijkt te zijn.

Op alle media verspreidt hij een karakteristieken, zoeten geur. Het best groeit hij bij 37—39°, facultatief anaëroob of aëroob.

In agarcultuur doet de bac. z zich voor als een zeer klein staafje, korter dan 0,5  $\mu$  en zoowat half zoo dik, dikwijls veel gelijkend op een coccus. De uiteinden zijn afgerond, het eene eind wat dikker dan het andere. In oude culturen vindt men vaak involutievormen: zeer kleine, puntvormige, naast wel 20 maal grootere, knotsvormige bacillen.

Gaarne liggen ze parallel, als palissaden, of in onregelmatige, dichte groepen; zelden bevinden zich twee bacillen in elkaars verlengde, en vormen dan meestal stompe hoeken. Liggen veel korte staafjes parallel, dan kunnen ze op een rij coccen gelijken. De bacil is onbeweeglijk.

Op glycerineagar groeit hij minder goed dan op gewone agar en vertoont daarop veel involutievormen.

Op gelatine langzame groei; in de steekcultuur aan de oppervlakte een dunne, transparante laag, in het steekkanaal een reeks puntjes, herinnerend aan de cultuur van streptococcen.

In bouillon goede groei, diffuse troebeling met eenigszins cohaerent sediment. Na 5—6 dagen klaart hij op, wordt wat bruinachtig, het sediment neemt toe, wordt geelachtig, slijmig, terwijl zich dikwijls aan de oppervlakte een vlies vormt.



Op aardappel eene dunne, geelachtige, glanzende laag. In melk goede groei, zonder coagulatie. Nog na 2 maanden kan de bacil voortgekweekt worden.

In 5 gevallen heeft Manicatide door het bloedserum van kinkhoestpatiënten, in buisjes, een duidelijke agglutinatie van den bac. z waargenomen, in een verdunning van 1 : 32. Microscopisch is deze niet zoo goed te zien, omdat de bacillen in bouillon altijd in groepjes bijeen liggen.

De bac. z lijkt wel wat op de bacterie van Czaplewski, doch deze groeit minder goed op agar en niet op aardappel, heeft korter levensduur, groeit beter op media met glycerine en ligt vaak in kettingen of als diplobacillen. Hij lijkt niet op den bacil van Afanasjew, wel op den b. pert. E. Vincenzi's coccobacillus houdt hij voor een streptococcus, den bacil van Leuriaux voor een coli-variëteit.

In 1903 vulde Arnheim (58,59.) zijn onderzoekingen aan met die van 8 kinkhoestcadavers. Hij blijft op het standpunt van Czaplewski staan, niettegenstaande hij ook bij zijn 150 sputumonderzoekingen dikwijls van met bloed bestreken agar heeft gebruik gemaakt. Over de poolbacterie deelt hij nu echter mede, dat zij wel op scrumbodems en bloedagar, doch niet op de gewone voedingsmedia groeit.

Uitvoerig beschrijft hij de pathologische anatomie van de kinkhoestpneumonie, van welke het karakteristieke ligt in de enorme desquamatie van het epithelium der luchtwegen; dus evenals bij de influenzapneumonie. De poolbacterie zag hij ook in het slijmvlies van de trachea, tusschen of in de epithelia, soms ook in de subepitheliale lymphvaten; hij zag haar nooit in het bronchiaalslijmvlies.

Naar de longen toe komt de poolbacterie in den

etter der luchtwegen al minder en minder voor, hoewel zij in zware gevallen en bij langdurig verloop zich ook in de fijnste bronchi bevindt. In de pneumonische haarden zijn ze slechts in kleinen getale aanwezig.

Ook het jongste onderzoek over kinkhoest is een bevestiging van Czaplewski's bevindingen.

Reyher (73) vond de poolbacterie in 34 gevallen constant in de sputa, soms ook in het neussecreet en eenmaal in den ooretter. Niet in al deze gevallen heeft hij echter reïnculturen gemaakt, doch hij kon ze, waar dit niet geschiedde, in het „klatschpraeparaat” steeds aantoonen. Volgens Gram werden echter ook jonge culturen meestal ontkleurd.

Hoe moeilijk dit staafje te cultiveeren is, bewijst het feit, dat hij soms, terwijl het sputumpraeparaat vol was van poolbacteriën, ze op de serumbuizen nauwelijks vond. De bijzonder vroege ontwikkeling van involutievormen wijst er ook op, dat waarschijnlijk de geschikte voedingsbodem voor deze bacterie nog niet is gevonden.

Uitgaande van het idee, dat de kinkhoest verspreid wordt door de uitgehoeste slijmpartikeltjes, liet hij kinderen tegen serumplaten aanhoesten en kon op deze wijze ook de poolbacterie steeds aantoonen.

Bij dit onderzoek, dat speciaal ondernomen was om dat van Jochmann en Krause te controleeren, gelukte het hem niet den b. pert. E. aan te toonen. Hij houdt dezen voor identisch met den influenzabacil.

---



## HOOFDSTUK II.

### ONDERZOEKINGEN OVER DEN BACILLUS PERTUSSIS EPPENDORF.

Het feit, dat verschillende bacteriën en andere micro-organismen, die we in de vorige bladzijden hebben beschreven, met meer of minder beslistheid als de verwekkers van den kinkhoest worden beschouwd, bewijst wel, hoe dit vraagstuk nog verre van opgelost is.

Allerminst kunnen dan ook de gronden, op welke dit pathogenetisch verband wordt aangenomen, ons bevredigen, daar toch weinigen meer argumenten dan nagenoeg constante en uitsluitende aanwezigheid in de kinkhoestspuuta kunnen bijbrengen.

Wel gelukte het sommigen (Letzerich, Tschamer, Afanassjew e. a.) door intratracheale inoculatie met hun microorganismen honden en andere dieren hoestbuien te bezorgen, die aan kinkhoest deden denken; maar een aan kinkhoest analoog ziekteproces schijnt bij dieren niet voor te komen, of althans zeer zeldzaam te zijn <sup>1)</sup> en kon ten minste niet, zelfs niet door het sputum als zoodanig, opgewekt worden. Ook bij apen vielen deze experimenten negatief uit. De tussis convul-

---

<sup>1)</sup> o. a. deelt Hadden (Med. Record. 1899.) mee van een hond, die tegelijk met de kinderen van zijn baas typischen kinkhoest kreeg, die precies verliep als bij deze kinderen.

siva der honden, een chronische laryngitis van den ouden dag, is niet besmettelijk.

Proeven op den mensch zijn alleen bij volwassenen, gewoonlijk als autoexperiment verricht. Het is echter de vraag, of de coryza, die Czaplewski kreeg, en de hoest, dien Tschamer en zijn assistent bij zich verwekten, wel kinkhoest waren. Bij Ritter viel het autoexperiment negatief uit.

Wat de beschreven bacteriën betreft, bijna alle zijn door controleerende onderzoekers wel eens bij kinkhoest gemist, of bij andere aandoeningen ook aangetroffen. De onderzoekingen van Manicatide en Leuriaux zijn nog niet gecontroleerd, hoewel Jochmann reeds uit de beschrijving in den bacil van Leuriaux een gewonen sputumbewoner meent te herkennen.

Het argument, dat sommigen putten uit de parallel, die tusschen de intensiteit van de ziekte en de quantiteit hunner microben in het sputum te trekken is, vermindert wel in waarde, waar het voor verschillende bacteriën aangewend is.

Ook het aantonen van staafjes in het slijmvlies der luchtwegen en wel speciaal op de zgn. »hoestplekken» laat ons nog in het onzekere over de cultuur dezer staafjes, waar toch de strijd voornamelijk over loopt.

Over eenige specifieke reactie van het bloedserum van kinkhoestlijders ten opzichte van de gevonden bacteriën zwijgen de meeste auteurs geheel. Alleen Manicatide zag zijn bacillus geagglutineerd worden door het kinkhoestserum, doch slechts in een verdunning van 1:32. Cavasse en Zusch onderzochten ditzelfde voor de poolbacterie van Czaplewski met negatief resultaat. Evenmin nam Cavasse voor deze bacterie een specifieke praecipitatie waar, zooals J. Kraus<sup>1)</sup> die

<sup>1)</sup> Wien. Med. Woch. 1897, p. 736.



zag in gefiltreerde culturen van typhus-, cholera- en pestbacillen, bij welke de homologe sera gevoegd waren.

Ten slotte hebben twee onderzoekers de specificiteit van hun bacillen, die zij niet voor identisch houden, meenen te bewijzen door het effect eener serotherapie (Leuriaux en Manicatide). Beiden zagen ongeveer dezelfde gunstige werking van het serum van schapen en paarden, geïmmuniseerd tegen deze bacillen. Hoe voorzichtig men echter moet zijn in de beoordeeling van dit effect, en hoe men alleen uit zeer sprekend resultaat gevolgtrekkingen mag maken, blijkt, als men bedenkt, dat aan de meest verschillende sera bij kinkhoest verzachtende en zelfs genezende werking is toegeschreven.

Zoo is vooral van Italiaansche zijde het diphterieheilserum aanbevolen <sup>1)</sup>, voorts het bloedserum van kinkhoestreconvalescenten <sup>2)</sup> of van volwassenen, die in hun jeugd kinkhoest hebben gehad <sup>3)</sup>, voorts het serum van een geit, behandeld met vaccine <sup>4)</sup> (vaccinatie schijnt op kinkhoest ook gunstigen invloed te hebben) enz..

Indien men het historisch overzicht doorloopt, ziet men, hoe bijna alle schrijvers overeenstemmen over het aspect van hun bacterie in het sputumpraeparaat: morphologisch komt zij daarin ongeveer met den

1) o. a. Dotti (42).

Cerioli, Gazz. degli ospedali. 1898. No. 88.

Gio, la Pediatria. 1898. No. 3.

Pariset, la Sieroterapia. 1898. fasc. 2.

v. Gilbert, Revue de la Suisse rom. 1899. No. 6.

Indica, Gazz. degli ospedali. 1900. No. 3.

2) Silvestri, Gazz. degli osped. 1901, No. 114.

3) Walsh, Archives of Pediatrics. 1900. p. 280.

4) Violi, Wien. Med. Presse. 1897. No. 42.

influenzabacil overeen. Over de cultuur van dit staafje gaat echter het meeningsverschil; de verschillen, die opgegeven worden in zijn kleurbaarheid volgens de methode van Gram, zijn niet van zoo groot belang, daar toch de aanwending bij allen blijkbaar niet op dezelfde wijze geschiedde.

Wat nu de cultuur betreft, beweren sommigen, dat het een streptococcus blijkt te zijn (Cohn en Neumann), anderen een diplococcus (Ritter, Buttermilch), weer anderen een op den influenzabacil gelijkend staafje. Dit laatste komt volgens sommigen geheel (Jochmann en Krause) of bijna geheel (Spengler) ook biologisch met den influenzabacil overeen, anderen schrijven hem ook groei op scrumbodems toe (Elmassian, Luzzato), terwijl de meesten een staafje kweekten, dat in meerdere of mindere mate ook op de gewone voedingsbodems groeit (Koplik, Czaplewski en Hensel, Zusch, Cavasse, Wagner, Reyher, Vincenzi, Arnheim, Manicatide).

Ook Afanassjew beschrijft in het sputumpraeparaat influenza-achtige staafjes, doch kweekte een coli-achtigen bacil. De bacil van Leuriaux heeft geenerlei verwantschap met de bovengenoemde.

Het onderzoek van Jochmann en Krause was, toen onze aandacht op dit onderwerp werd gevestigd, nog door niemand gecontroleerd. Wel vertoont de door Spengler gevonden pertussisbacil in vele opzichten overeenkomst met den b. pert. E., doch Jochmann zelf ontkent beslist de identiteit van deze bacillen.

Voornamelijk met het oog op dit blijkbaar zoo nauwgezette onderzoek, is door ons van het materiaal, dat een kleine kinkhoestepidemie te Utrecht in het voorjaar en den zomer van 1903 ons verschafte, gebruik gemaakt.



Van 24 kinkhoestpatiënten (casus I-XXIII en XXXVI)<sup>1)</sup> hebben wij de sputa onderzocht. De diagnose en de verdere gegevens danken wij in de meeste van deze en van de in de volgende hoofdstukken genoemde gevallen aan den Directeur van het Kinderziekenhuis Dr. Haverschmidt en aan Dr. Wagenaar.

Zooveel mogelijk werd het in steriele buisjes opgevangen sputum binnen enkele uren onderzocht. Daarvoor spoelden wij het eerst in physiol. keukenzoutoplossing af en verdeelden een vlokje in  $\pm 6$  c. c. bouillon; hiermee werd een steriel penseeltje bevochtigd, waarmede 3, soms ook meer, groote Petri'sche schalen met agar achtereenvolgens bestreken werden. Bij onze latere onderzoekingen werd het sputum eerst in een schaalje met physiol. keukenzoutoplossing geschud tot het in speldeknopgrootte vlokjes uiteenviel; een dier vlokjes werd verder in  $\pm 5$  schaaljes met deze oplossing gespoeld, waarna we het met een platinanaald op een penseeltje fijn verdeelden en uitzaaiden.

Alle agarplaten, of een deel er van, werden met steriel bloed bestreken, doorgaans met paardenbloed, soms ook met dat van duiven of menschen.

In al deze gevallen nu zagen wij na 24 uur (37°) op de bloed-agarplaten de op dauwdrupjes gelijkende kolonies, bestaande uit bacillen, die geheel met den b. pert. E. overeenkwamen. Deze ontbraken op de platen, die niet met bloed bestreken waren doorgaans; steeds konden we ons overtuigen, dat groei zonder bloed niet voorkwam. Meestal vonden we deze dauwdrupjes in grooten getale, soms bijna in reïncultuur, in weinige gevallen slechts in kleine hoeveelheid. Ook het sputumpraeparaat vertoonde steeds in grooter of kleiner getale deze staaftjes.

1) Zie Bijlage I.

Herhaaldelijk zagen we de door Jochmann beschreven, ook aan den influenzabacil eigene, confluentie en vorming van zgn. „reuzenkolonies” in de buurt van sommige andere kolonies, vooral die van staphylococcen.

In tegenstelling met Spengler's aangifte namen wij een levensduur van slechts enkele dagen, zelden schijndraden en nooit ligging in kettingen waar, terwijl de bacillen ons niet grooter schenen te zijn dan de bacil van Pfeiffer.

De bacillen, die Jochmann en Krause als A en C beschreven, kwamen ons niet in handen. Evenals zij, vonden wij in het eenige geval, dat tot sectie kwam (cas. XXXVI), in het slijm der luchtwegen de bacillen naar de longen toe steeds in grooter getale en minder vermengd met andere bacteriën, zoodat ze uit het longsap bijna in reïncultuur konden worden gekweekt. Hier zij nog vermeld, dat tijdens dit onderzoek te Utrecht geen influenza-epidemie heerschte.

Het onderzoek van Jochmann en Krause was dus door het onze volkomen bevestigd, en zelfs nog meer, dan we uit hun resultaat hadden kunnen besluiten, hielden wij er toe over den b. pert. E. in aetiologisch verband met den kinkhoest te brengen. Een argument hiertegen was gelegen in het feit, dat bij kinderziekten herhaaldelijk influenzabacillen in de sputa zijn aangetoond, vooral waar een complicatie bestaat met pneumonie. Een percentage, als Jochmann en Krause en wij bij kinkhoest vonden, zagen wij echter voor geen dier ziekten vermeld.

Het was nu zaak na te gaan, of er niet meer gronden voor de pathogeniteit van den b. pert. E. te vinden zouden zijn, en hem zoo mogelijk te differentieeren van den influenzabacil. Hiertoe hebben wij in verschillende richting onderzoekingen verricht.



Allereerst is door ons onderzocht, of het bloedserum van kinkhoestlijders deze bacillen agglutineerde. Hoewel het niet gemakkelijk was een homogene cultuur in bloedbouillon te verkrijgen, doordat de bacillen slechts zwakken groei hierin vertoonen en gewoonlijk reeds in groepjes bij elkander liggen, is ons dit toch eenige malen gelukt, en konden we ons overtuigen, dat het bloedserum van de gevallen XVII en XXIII niet den minsten invloed op de rangschikking der bacillen uitoefende. Wij volgden hierbij de microscopische methode en gebruikten een reeks van verdunningen tusschen 1 : 5 en 1 : 1000.

Voorts namen wij proeven bij dieren. Deze werden evenwel, na het negatieve resultaat, dat Jochmann en Krause bij caviae, konijnen en jonge honden hadden verkregen, niet verricht om de ziekte bij dieren op te wekken, doch om te beproeven van den b. pert. E. een stam van hooge en althans eenigszins constante virulentie te verkrijgen. Mogelijk toch zou het bloedserum van kinkhoestlijders bij dieren, die met dezen bacil geïnfecteerd waren, den dood kunnen voorkomen, terwijl het bloedserum van individuen, die niet aan deze ziekte geleden hadden, die werking misschien niet zou blijken te bezitten. Zeker zou dit een belangrijke bewijsgrond voor de pathogeniteit van den b. pert. E. zijn.

Deze proeven strandden evenwel op de groote moeilijkheid zulk een virulenten stam te verkrijgen. Al werd ons doel dus niet bereikt, toch zullen we een en ander van deze experimenten mededeelen, daar we soms interessante verschijnselen na de inspuiting met dezen bacil waarnamen. (Zie de protocollen dezer proeven in Bijlage II).

Wij kozen voor ons onderzoek caviae en konijnen, omdat Jochmann en Krause bij witte muizen geen pathogene werking hadden waargenomen.

Onze eerste stam van den b. pert. E. had echter, bij caviae van 350 gram intraperitoneaal geïnjecteerd, niet het minste effect.

Meer werking zagen we bij jonge caviae van  $\pm$  150 gram door een tweeden stam teweeggebracht.

Van dezen stam II (afkomstig van casus V) werd een 24 uur oude plaatcultuur gesuspendeerd in 10 c. c. physiol. keukenzoutoplossing, en deze troebele vloeistof werd de caviae intraperitoneaal ingespoten.

Van 3 van deze jonge caviae nu, die hiervan elk 2 c.c. ontvangen hadden, stierven 2 binnen 24 uur, de derde bleef gezond. Bij sectie werd  $\pm$  6 c. c. serofibrineus exsudaat in de buikholtte gevonden, waaruit in groote hoeveelheid de b. pert. E. in reincultuur kon gekweekt worden; ook uit het hartebloed gelukte het ze, hoewel in kleinen getale, te kweken.

Twee volgende caviae (Nos. 7 en 8), ingespoten met resp. 1,5 en 1 c. c. emulsie, stierven binnen 24 uur, terwijl van 3 caviae, die elk 0,5 c.c. ontvingen, één binnen 24 uur stierf, de 2 andere gezond bleven en in gewicht toenamen.

Subcutaan veroorzaakte 2 c. c. emulsie een lokaal infiltraat met fibrineus-etterig exsudaat, waaruit de bacil nog na 4 dagen kon gekweekt worden.

Door passageproeven hebben we getracht de virulentie van dezen stam II te verhoogen.

Een cavia, bij welke 0,5 c.c. exsudaat uit de buikholtten van caviae 7 en 8 in de peritoneaalholte was gespoten, stierf binnen 24 uur. Een volgende cavia, behandeld met 1 c.c. exsudaat uit dit dier, stierf eveneens binnen 24 uur. De cavia, die 1 c. c. exsudaat uit dit laatste dier ontving, stierf reeds in 6 uur. Van 2 caviae, elk ingespoten met 0,5 c.c. exsudaat uit deze cavia, bleef de eene gezond (in den darm gespoten?),



terwijl de andere binnen 24 uur stierf. 1 c.c. exsudaat van deze laatste cavia, subcutaan ingespoten bij een cavia van 295 gram, had geen werking, terwijl dezelfde hoeveelheid, intraperitoneaal geïnjectieerd, een cavia van hetzelfde gewicht binnen 24 uur doodde. Een cavia van 295 gram evenwel, ingespoten met 0,5 c.c. exsudaat uit de buikholte van dit dier, bleef geheel gezond (6de passage).

Hier werd deze serie proeven, die aanvankelijk, vooral na de 3de passage, uitzicht op succes gaf, afgebroken, doordat we, enkele dagen de proef moettende staken, dezen bacil niet meer konden kweken. Met den oorspronkelijken stam II, die intusschen  $\pm$  6 weken op paardenbloedagar was voortgekweekt, is toen een nieuwe serie begonnen.

Vier c.c. van een 10 dagen oude bouilloncultuur, intraperitoneaal ingespoten, kon een cavia van 150 gram binnen 24 uur doden; in de buikholte bevond zich echter slechts 0,5 c.c. exsudaat, dat, hoewel de b. pert. E. er nog uit kon gekweekt worden, toch bij intraperitoneale injectie een cavia van 170 gram niet meer ziek kon maken. Ook 0,5 c.c. harteblod van dat dier maakte een cavia van 290 gram niet ziek, evenmin 2 c.c. emulsie van den uit het peritoneale exsudaat gekweekten b. pert. E., ingespoten in de buikholten van 2 caviae van 165 gram.

De stam II scheen dus zijn virulentie verloren te hebben.

Toen nu bij een nieuwe proevenreeks met een stam III reeds bij de eerste passage de eene cavia door 1 c.c. exsudaat gedood werd, terwijl de andere volkomen gezond bleef, hebben wij dit weinig belovende onderzoek gestaakt.

De sectie leverde bij de caviae, die bij de boven-

besproken experimenten succombeerden, altijd ongeveer hetzelfde op: meer of minder (1—6 c.c.) serofibrineus exsudaat in de buikholte, waaruit de b. pert. E. steeds in groote hoeveelheid kon gecultiveerd worden, terwijl hij zich ook regelmatig, al waren het gewoonlijk slechts weinige kolonies, uit het hartebloed van de dieren kweeken liet (slechts bij een der met stam III behandelde caviae (N<sup>o</sup>. 21) mislukte dit). Vóór hun dood vertoonden zich bij deze caviae herhaaldelijk clonische krampen aan de extremiteiten.

Al was ons doel met deze proeven niet bereikt, toch hadden ze ons een punt van overeenkomst te meer geleerd tusschen den b. pert. E. en den influenzabacil, zooals blijkt uit de volgende mededeeling van Delius en Kolle <sup>1)</sup> betrekking hebbende op influenzabacillen. Zij gebruikten caviae van  $\pm$  200 gram. Spoten ze voldoende hoeveelheid bacillen in de buikholte, dan stierven de dieren binnen 12—48 uur onder opvallende spierzwakte, vooral van de achterste extremiteiten, fibrillaire contracties en toenemende prostratie. Pathologisch-anatomisch werd alleen in de peritoneaalholte afwijking aangetroffen: het peritoneum was geïnjecteerd, de buikholte gevuld met eenige c.c. licht sanguinolent exsudaat, waarin fibrinevlokken rondzwommen; op de oppervlakte van lever en milt lag dikke, gele etter, met fibrine doortrokken. In tegenstelling met Pfeiffer's onderzoek, <sup>2)</sup> namen zij een vermeerdering van de influenzabacillen in de buikholte waar. Uit het bloed konden zij ze alleen kweeken, als groote doses bacillen waren ingespoten; het gelukte hun nooit ze microscopisch in bloed of organen aan te toonen; de bacil scheen zich dus in

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIV p. 327.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII.



het bloed niet te vermenigvuldigen. Bij subcutane of intraveneuze inspuiting hadden zij veel grootere doses bacillen noodig om de dieren ziek te maken; in het onderhuidsche bindweefsel had zoo goed als geen vermeerdering der bacillen plaats.

Treffend is de overeenkomst tusschen deze uitkomsten en de onze; alleen gelukte het ons geregeld, althans bij onze experimenten met den stam II, wiens virulentie echter misschien door de passages verhoogd was, de bacillen uit het bloed der cadavers te kweken, al was het ook gewoonlijk in kleinen getale.

Al meenen Delius en Kolle een zeker doodelijke minimale dosis van den bac. influenzae voor caviae te hebben gevonden, toch waren ook hun de wisselingen opgevallen, waaraan deze dosis, meer dan bij andere bacteriën, onderworpen was.

De virulentie voor *jonge* caviae had ook Elmassian voor zijn waarschijnlijk aan den influenzabacil verwanten bacil opgemerkt; het gelukte hem evenwel niet met het exsudaat uit de buikholten van deze dieren andere jonge caviae ziek te maken.

Ook konijnen waren gevoelig voor den b. pert. E. (stam II).

Drie c. c. emulsie van dezen stam, in het bloed van een wit konijn van 2200 gram gespoten, deed het gewicht tot 2000 g. dalen, terwijl zich na 2 dagen een dubbelzijdige conjunctivitis ontwikkelde, die in eenige dagen weer genas. Uit het exsudaat lieten zich, behalve staphylo- en streptococci vele kolonies van den b. pert. E. kweken; in het microscopische praeparaat lagen influenza-achtige staafjes zoowel in als buiten de leucocyten.

Een lis agarcultuur van denzelfden stam, in den conjunctivaalzak van een tweede wit konijn gebracht, zonder

dien te laedeeren, verwekte daar echter geen ontsteking.

Een derde wit konijn van 2380 g. werd 2 c. c. exsudaat uit de buikholte van een der caviae (N<sup>o</sup>. 14) in het bloed gespoten. Den volgenden dag waren de conjunctivae vochtig, de oogen traanden, het lichaamsgewicht daalde tot 2000 g., de beide achterpooten waren paretisch; den morgen daarop lag het dier verlamd in het hok en stierf 's middags; de rechter conjunctiva scheidde toen mucopurulent exsudaat af.

Bij obductie werd geen miltzwellling, noch ontstekingsprocessen van organen of sereuze vliezen gevonden, echter algemeene infectie met den b. pert. E., zooals bleek bij uitzaaien van bloed en leversap.

Intusschen waren gedurende deze onderzoekingen pogingen gedaan om een paard tegen den b. pert. E. te immuniseeren.

Om twee redenen was dit geschied: in de eerste plaats om na te gaan, of het serum van dit paard na deze behandeling eenige specifieke eigenschap verkregen had; in de tweede plaats om te onderzoeken of het serum een gunstigen invloed op het beloop van den kinkhoest had.

Het paard werd subcutaan ingespoten met tweeërlei cultuurmassa. N<sup>o</sup>. 1 werd verkregen door bij plaatculturen van den bacil elk 15 c. c. physiol. keukenzoutoplossing, die 0,5 % tricresol bevatte, te voegen en aldus een emulsie van den bacil te maken.

N<sup>o</sup>. 2 was een mengsel van bouillonculturen van den bacil (stam II), waaraan 0,5% tricresol was toegevoegd. Het bestond uit: a.) 300 c. c. bouilloncultuur van stam II, gekweekt uit het bloed van het 3<sup>de</sup> konijn; ze had 12 dagen bij 37<sup>o</sup> gestaan; b.) 300 c. c. bouilloncultuur van stam II, gekweekt uit het bloed van cavia No. 16;



ze had 10 dagen bij 37° gestaan; c.) 600 c. c. bouillon-cultuur, bezaaid met de vorige cultuur; deze had 8 dagen bij 37° gestaan.

Al deze paardenbloed-bouillonculturen reageerden steeds alkalisch.

In stijgende doses werd nu eerst de cultuurmassa N<sup>o</sup>. 1 subcutaan ingespoten, tot na een maand 60 c. c. bereikt was, welke dosis niet werd overschreden. De temperatuur steeg na de eerste injectie van 60 c. c. den volgenden avond tot 39,1°, terwijl na de vorige injecties hoogstens een enkele maal 38,4° was waargenomen.

Aanvankelijk werd om de 3—5 dagen, later met iets grooter intervallen, ingespoten.

Na 2 maanden werden de injecties voortgezet met 60 c. c. van cultuurmassa N<sup>o</sup>. 2. De laatste maand waren de injecties gewoonlijk gevolgd door temperatuurstijgingen tot 38,5—38,8°, eenmaal tot 39,3°, terwijl de temperatuur overigens beneden 38° bleef. Na den overgang tot cultuurmassa No. 2 werden deze temperatuurstijgingen niet grooter, doch het paard werd ziek en maakte na de 6<sup>de</sup> injectie hiermee zelfs den indruk zwaar ziek te zijn, terwijl de temperatuur tot 40,2° steeg.

Een maand lang zijn toen de injecties gestaakt, in welken tijd het paard 2 maal is adergelaten (den 98<sup>en</sup> en 105<sup>en</sup> dag na de eerste inspuiting). Met kleinere doses werden hierna de injecties weer begonnen. Na de derde (30 c. c.) werd het paard echter weer zieker, bleef eenige weken koortsen, met temperaturen tot 39,3°. Langzamerhand werd de temperatuur weer normaal; pas na ruim 3 weken kon weer met de inspuitingen begonnen worden (10 c. c.). Zeer langzaam stijgend, terwijl verhoogingen boven 38,3° niet meer voorkwamen en het paard niet meer ziek werd, bereikte men in 6 weken weer de dosis van 60 c. c. Hierna steeg de temperatuur nog eens

tot 38,7°. Toen deze injectie 2 maal herhaald was, is 10 dagen later de 3de en laatste aderlating geschied.

In de eerste plaats was het nu van belang na te gaan, of door het serum van dit paard de b. pert. E. geagglutineerd werd. Dit bleek niet te geschieden: hoogstens werd bij den voor de immunisatie aangewenden stam II in een verdunning van 1 : 10 een spoor van agglutinatatie waargenomen.

Dit negatieve resultaat werpt een eigenaardig licht op de negatieve uitkomst van onze pogingen om den b. pert. E. te agglutineeren met het serum van kinkhoestlijders. Daar deze bacil blijkbaar in het dierlijk lichaam, om zoo te zeggen, geen agglutininen produceert, kunnen we dus niet verwachten, dat het bloedserum van kinkhoestpatiënten hem zal agglutineeren, ook al is hij de oorzaak van de ziekte.

In de tweede plaats kon onderzocht worden, of aan dit paardenserum bactericide werking toekwam. Wie met den b. pert. E. gewerkt heeft, zal begrijpen, dat men om dit na te gaan, nog al op bezwaren moet stuiten: de b. pert. E. toch is zeer vergankelijk, voor zijn groei spelen kleine invloeden een grooten rol en juist bij de bloed-bouillonculturen, die voor deze proeven in vitro noodig zijn, hebben we het meest met deze eigenschappen te kampen; zaait men uit zulk een bouilloncultuur op bloed-agarplaten uit, dan ziet men de bacillen op deze niet zoo regelmatig opkomen, als voor deze onderzoekingen wel wenschelijk is. En wat het onderzoek in het dierlijk lichaam naar een mogelijke bacteriolytische en anti-infectieuse werking van dit serum betreft, hadden onze experimenten bij caviae ons reeds geleerd, dat de virulentie van den b. pert. E. een te labiele factor is, om bij dergelijke proefnemingen betrouwbare uitkomsten te kunnen verwachten.



Er bleef ons dus nog over na te gaan, of aan dit serum curatieve werking bij kinkhoest toekwam. Hiertoe zijn in het Kinderziekenhuis eenige kinkhoestpatiënten met dit serum behandeld; de aantekeningen hierover, die men in bijlage III vindt, danken wij aan Dr. Haverschmidt.

De 9 patiënten, die ingespoten werden met het zoowel van de 1ste, 2de als 3de aderlating afkomstige serum, verkeerden bijna alle reeds 3—4 weken in het stadium convulsivum. Genezing werd binnen korten tijd na de injecties niet waargenomen; zelfs was gewoonlijk niets te bemerken van een vermindering in het aantal hoestbuien, die volgens sommigen na de injectie van normaal paardenserum volgt. Een goed voorbeeld biedt geval No. 230 aan, waarbij men zeker niet kan zeggen, dat te weinig serum is aangewend. Eénmaal werd een aanmerkelijke vermindering in het aantal hoestbuien waargenomen; deze viel evenwel samen met een verandering ten goede van het weder, waardoor ook de niet met serum behandelde kinkhoestpatiënten verbeterden. We kunnen uit deze weinige gevallen echter wel besluiten, dat dit serum geen invloed op het beloop van den kinkhoest uitoefent.

Ook de immunisatie van dit paard had ons dus niet verder gebracht naar de beantwoording van de vraag, welke rol de b. pert. E. bij kinkhoest speelt.

Wij waren echter niet de eenigen, die moeilijkheden ondervonden bij hun onderzoekingen met den b. pert. E..

Juist toen wij onze proeven met het paardenserum hadden geëindigd, ontmoette prof. Spronck prof. Neisser uit Frankfurt. Het bleek nu, dat de laatste zich ook met onderzoekingen over dezen bacil bezighield, zoodat zij elkander mondeling hunne ervaringen konden mededeelen. Deze stemden geheel met elkander

overeen. Prof. Neisser had geiten tegen den b. pert. E. geïmmuniseerd en, niettegenstaande hij groote doses cultuur intraabdominaal had ingespoten, agglutineerde hun serum den bacil niet. Evenmin had het serum eenig effect op het beloop van den kinkhoest. Daarentegen had hij opgemerkt, dat de bronchopneumonieën bij kinkhoest gunstig door dit serum geïncubeerd werden. Dit feit is te interessanter, omdat door verschillende onderzoekers de influenzabacil voor een gewone verwekker van pneumonie bij kinderen wordt gehouden; ook Jochmann en Moltrecht wijzen er op, hoe zij in bijna alle door hen onderzochte gevallen van kinkhoestpneumonie moesten aannemen, dat deze door den b. pert. E. veroorzaakt was.

Prof. Neisser was zoo vriendelijk aan prof. Spronck eenige fleschjes van zijn serum af te staan. Wij konden er ons wel van overtuigen, dat dit den b. pert. E. niet agglutineerde, doch de 2 gevallen van kinkhoestpneumonie, die met dit serum behandeld werden, stelden ons niet in staat eenigen indruk van de werking er van te verkrijgen.

Vatten wij de resultaten van deze onderzoekingen te zamen, dan blijkt, dat, in tegenstelling met Arnheim en Reyher, die eveneens het onderzoek van Jochmann en Krause controleerden, wij de bevindingen dezer laatsten volkomen konden bevestigen: zelfs vonden wij den b. pert. E. in 24 kinkhoestgevallen constant.

In verschillende richtingen onderzoekende, is het ons echter niet gelukt eenig verder argument te vinden voor de specificiteit van dezen bacil bij kinkhoest; integendeel gaf de uitkomst van de experimenten bij caviae ons veeleer reden om den b. pert. E. te identificeeren met den influenzabacil.



### HOOFDSTUK III.

#### ONDERZOEKINGEN OVER DEN BACILLUS „Z” VAN MANICATIDE.

In het vorige hoofdstuk zagen wij, hoe wij met ons onderzoek over den b. pert. E. op een punt waren gekomen, waarop we onze pogingen om meer licht te brengen in het verband tusschen dezen bacil en den kinkhoest, moesten staken. Op dat oogenblik werden we in kennis gebracht met de mededeeling, die Manicatide op het Internationale Congres voor Hygiene en Demographie te Brussel in Sept. 1903 deed; meer nog dan het beweerde gunstig effect van zijn serotherapie, wekte de vermelding van de agglutinatie van zijn *bacillus „z”* door het bloedserum van kinkhoestlijders bij ons eenig vertrouwen.

Den bacil van Jochmann en Krause hebben wij daarom verder laten rusten en zijn aan het werk gegaan om Manicatide's onderzoek te controleeren.

Met dit doel werden 8 kinkhoestpatiënten (cas. XVIII en XX—XXVI), bij sommige van welke het onderzoek naar den b. pert. E. positief was uitgevallen, op agarplaten zonder bloed onderzocht. Onze verwachting werd echter teleurgesteld: het gelukte ons niet één coccobacillus te vinden, die volkomen met de beschrijving van Manicatide overeenstemde.

Herhaaldelijk ontmoetten wij echter, terwijl zooveel

mogelijk van alle verdachte kolonies dekglaspraeparaten en reïnculturen werden gemaakt, bacillen, die in eenig opzicht aan den bac. z deden denken, ons zelfs telkens in twijfel brachten, of we hem niet in handen hadden. Regelmatig merkten wij hierbij dezelfde bacteriën op, die tot moeilijkheid aanleiding gaven: het meest waren dit kleine, soms wat ovale coccen, die opaker kolonies vormden en bij voortkweeken geen coccobacillen bleken te zijn; voorts kleine bacillen met poolkleuring en langer dan  $0,5 \mu$ , bovendien van veel korter levensduur dan de bac. z; ditzelfde gold van uiterst kleine, moeilijk kleurbare coccobacillen, die dikwijls in korte kettingen lagen; voorts langere, vaak parallel gelegen staafjes met eigenbeweging enz..

Toch durfden we uit dit negatieve resultaat geen gevolgtrekkingen maken, daar we den bacil slechts uit een korte congresmededeeling kenden.

Intusschen was Dr. Manicati de zoo vriendelijk aan ons verzoek om nadere gegevens omtrent zijn bacil te voldoen, door ons een agarcultuur van den bac. z te zenden, benevens eenige fleschjes van het door hem bereide serum en eene uitvoerige monographie over dit onderwerp, die reeds in het vorige jaar te Jassy het licht had gezien.

De ons toegezonden cultuur verschilde niet weinig van de beschrijving. Mogelijk had zij haar eenigszins saprophytischen groei te danken aan langdurig voortkweeken; we vernamen echter niet, hoe lang dit geschied was.

Op agar groeide de bacil in een vrij dikke, roomachtig witte laag, terwijl de kolonies op de agarplaat na 24 uur ( $37^{\circ}$ ) wel  $1\frac{1}{2}$ —2 m.M. in diameter konden worden; ze waren opaak, geelwit, rond, vrij bol, conflueerend; alleen de kleinere kolonies waren



bij doorvallend licht meer blauwachtig wit, doch niet transparant. Microscopisch bleken ze rond, scherp-randig, fijnkorrelig, licht bruingeel te zijn. Ook bij kamertemperatuur en op gelatine was zijn groei rijkelijk en vrij snel.

In suikeragar werd geen gas geproduceerd.

De cultuur liet zich op het dekglas gemakkelijk fijn verdeelen; de bacil was goed kleurbaar en bleek gemiddeld langer dan  $0,5 \mu$  te zijn. De staafjes waren verschillend van lengte, de kortere ovalair, de langere  $\pm 3$  maal zoo lang als breed; de lengte scheen ons te wisselen tusschen ongeveer  $0,5-1,5 \mu$ ; in de eene agarcultuur waren de staafjes gemiddeld grooter of kleiner dan in de andere van denzelfden leeftijd.

Door het van Manicatide ontvangen serum werd deze bacil, die bouillon sterk troebel maakte, duidelijk geagglutineerd: reeds na 15 min. zag men het proces beginnen, dat na 1—2 uur duidelijk uitgesproken was. De microscopische methode bleek ons hierbij de agglutinatie fraaier te vertoonen dan de macroscopische, hoewel Manicatide het tegendeel beweert; de groepjes toch, in welke de bacillen in de bouilloncultuur reeds gelegen zijn, zijn zoo klein, dat ze de beoordeeling der agglutinatie niet bemoeilijken. In sterkere verdunningen trad deze duidelijker op dan in de zwakke, hoewel ze bij deze ook ontwijfelbaar aanwezig was; men zie hierover de tabel op de volgende bladzijde.

Hoe gedroeg zich nu deze bacil tegenover het bloedserum van kinkhoestpatiënten?

Met het serum van 2 lijders, die zich reeds verscheidene weken in het stadium convulsivum bevonden, viel de agglutinatie in een verdunning tot 1:30 positief uit, al was het niet in die intensiteit als door het serum van Manicatide. Bij een derde geval, op dezelfde hoogte

VERDUNNING MET BOUILLON.	AGGLUTINATIE NA 2 UUR.
1 : 10	sterk pos.
1 : 30	zwak pos.
1 : 50	zwak pos.
1 : 100	sterker pos.
1 : 200	pos.
1 : 300	pos.
1 : 400	sterk pos.
1 : 1000	sterk pos.
1 : 3000	sterk pos.
1 : 10000	zeer zwak pos.
controle met bouillon.	neg.

van de ziekte, zagen we zwakke agglutinatie tot 1 : 20, terwijl ze bij een vierde kind, dat reeds bijna genezen was, (cas. XLIV) volkomen negatief uitviel.

Met het bloedserum van een volwassene, van een driejarig typhuslijdertje en een vijfjarig kind, dat aan diphterie leed, trad geen agglutinatie op; geen van deze had vroeger kinkhoest gehad, evenmin als een diphteriepatiënt, wiens serum echter tot een verdunning van 1 : 30 den bacil zwak agglutineerde. Het serum van een gezond 8-jarig kind, dat voor 6 jaar kinkhoest had gehad, bracht in een verdunning van 1 : 10 duidelijke agglutinatie te weeg, die bij 1 : 30 nog zwak positief uitviel.

Aldus toegerust met betere herkenningmiddelen, hebben wij 10 nieuwe kinkhoestgevallen onderzocht. Van elke bacterie, die ons in twijfel bracht, werden nu ook bouillonculturen vervaardigd en deze met het serum van Manicatide op haar agglutinatie onderzocht. Ook bij eenige bacillen, die we uit de vorige 8 gevallen



bewaard hadden, verrichtten we dit onderzoek. Het resultaat bleef evenwel negatief, hoewel sommige gevallen herhaaldelijk, o. a. cas. XXVII 6 maal, onderzocht werden.

In cas. XXX troffen wij een kleinen bacil aan, die zeer veel op het ontvangen exemplaar van den bac. z geleek. Door het serum van *Manicatide* werd hij sterk geagglutineerd tot in een verdunning van 1 : 300; ander paardenserum had echter hetzelfde effect, hoewel niet in die intensiteit.

In 4 gevallen (cas. XXXII— XXXV) hebben wij het sputum behalve op agar ook telkens op 3 gelatineplaten uitgezaaid: we konden toch verwachten, dat deze bacil, die zoo goed op gelatine bleek te groeien, ook wel uit het sputum gemakkelijk daarop zou te kweken zijn en mogelijk meer op den voorgrond zou treden. Op deze platen groeiden echter slechts coccen en beweeglijke staafjes.

De sputumpraeparaten, die wij nooit nalieten, gekleurd met verdund Ziehl's fuchsine, te onderzoeken, leerden ons niet veel: in ieder praeparaat van kinkhoestspatum ziet men kleine, korte staafjes met min of meer poolkleuring; het scheen ons echter niet mogelijk uit dit aspect alleen uit te maken, hoe die staafjes zich in cultuur zouden voordoen.

Hier zij nog genoemd, dat met het serum van *Manicatide* een drietal kinkhoestpatiënten behandeld is (zie bijlage III). Het waren echter geen van alle beginnende gevallen; wij namen geen genezing waar, doch in 2 gevallen wel eenige verbetering.

Overigens konden wij ons bij deze 18 gevallen overtuigen, hoe weinig karakteristiek het beeld is, dat het kinkhoestspatum, uitgezaaid op agarplaten zonder bloed, vertoont. Behalve de constant aanwezige strep-

tococcen, kwamen ons de meest verschillende micro-organismen onder de oogen, zonder dat onze aandacht op een van deze door eenigszins constante of overvloedige aanwezigheid getrokken werd. Het meest zagen wij nog coli-achtige bacillen, die ook in suikeragar gas vormden en in één geval (cas. XXX), ook bij herhaald onderzoek, in meerderheid aanwezig waren.

Het resultaat van deze onderzoekingen heeft ons wel bevreed: den bacil, dien Manicatide in 82 gevallen van kinkhoest slechts 5 maal miste, vonden wij in 18 gevallen nooit.

Beschouwen wij Manicatide's onderzoek echter nader, dan vinden we onder die 82 gevallen er 12, in welke hij den bac. z alleen in het sputumpraeparaat zag en niet op de agarplaten vond. In deze gevallen zouden wij het resultaat op zijn minst twijfelachtig willen noemen; Manicatide toch weet zelf geen nadere kenmerken van den bac. z in het sputumpraeparaat te geven, dan dat hij precies op den influenza-bacil gelijkt, doch iets grooter is en meer geïsoleerd ligt, geen duidelijke poolkleuring vertoont en de Gramkleuring negatief uitvalt.

Verder vinden we in geen van de artikelen van Manicatide gerept over het hoog agglutineerend vermogen van zijn serum; waarschijnlijk heeft hij daar dus geen gebruik van gemaakt ter herkenning van den bacil. Toch zou eenige aangifte hierover de waarde van zijn onderzoek voor ons zeer verhoogd hebben, en ons niet hebben doen twijfelen, of hij, waar we nu alleen vermeld vinden, dat de bac. z op de agarplaten aanwezig was, hiervoor wel altijd hetzelfde staafje heeft aangezien. Daar toch deze bacil in zóó velerlei opzicht met andere bacteriën uit het kinkhoestspatum overeenkomt, dat wij, na ze reïngekweekt en verge-



leken te hebben met den ons toegezonden bac. z, nog telkens in dubio waren en de beslissing aan de reactie met het serum van Manicatide moesten overlaten, hebben wij nu geen zekerheid, dat al de »bac. z'', die Manicatide vond, wel een en dezelfde bacil zijn. Zelfs kunnen wij uit Manicatide's geschriften niet opmaken, of hij den bacil in al deze gevallen wel reinge- kweekt heeft.

Wat de agglutinatie door het serum van kinkhoestlijders betreft, spreekt Manicatide slechts van 5 gevallen, waarin hij deze waarnam, terwijl wij niets hooren van contrôleproeven met andere sera. Hij laat ons dus in het onzekere, of de bac. z door dit serum specifiek geagglutineerd wordt; een bewijsgrond voor het aetio- logisch verband tusschen kinkhoest en bac. z kunnen wij hieruit dus nog niet putten.

Al gaven de enkele gevallen, die wij hierop onder- zochten, niet altijd positief resultaat, toch merkten wij in enkele gevallen door kinkhoestserum eenige agglu- tinatie op, die gewoonlijk ontbrak, als ander serum werd aangewend. Het geeft echter te denken, dat het serum van één typisch kinkhoestgeval geheel inactief was voor den bacil. Toch spijt het ons, dat wij door de moeilijkheid om bloed van kinkhoestlijders te ver- krijgen, dit gedeelte van het onderzoek van Manicatide niet uitvoeriger hebben kunnen controleeren.

Ook over de therapeutische werking van het serum van Manicatide ontbreekt ons de ervaring. Vóór we echter hierin een argument voor de pathogeniteit van den bac. z mogen zien, moeten we eerst uitgebreide contrôleonderzoekingen, die o. a. op het oogenblik te Parijs gedaan worden, afwachten; zag niet Tollemer van het serum van Leuriaux, die nog beter resultaten had dan Manicatide, geen andere werking, dan de ook

aan ander paardenserum toegeschrevene? Zeer opvallend zijn trouwens de resultaten, die Manicati de verkreeg, niet; de gevallen, die niet ouder waren dan 10—15 dagen (waarschijnlijk gerekend van den 1<sup>en</sup> dag van het stadium convulsivum), genazen in 2—12 dagen (36 van de 89 gevallen), de overige verbeterden alleen. Houden we nu rekening met het zeer verschillende verloop van den kinkhoest en met de mogelijke werking van paardenserum qua tale, dan is het begrijpelijk, dat we door dit therapeutisch effect de specificiteit van den bac. z nog niet bewezen mogen achten.

De uitkomsten van dit onderzoek samenvattende, blijkt, dat in 10 gevallen van kinkhoest (waaronder ook beginnende) bijna zeker en in nog 8 gevallen waarschijnlijk de bac. z in de sputa niet voorkwam. Omdat wij niet weten, of de agglutinatie van dezen bacil door het bloedserum van kinkhoestlijders specifiek is, en deze reactie ons bleek niet constant aanwezig te zijn en omdat verder het therapeutisch effect van het serum van een tegen dezen bacil geïmmuniseerd dier twijfelachtig is, kunnen wij er geen gronden voor vinden, in den bac. z den verwekker van den kinkhoest te zien.

---



## HOOFDSTUK IV.

### ONDERZOEK VAN EENIGE GEVALLEN VAN KINKHOEST, VOOR HET MEERENDEEL UIT EEN EPIDEMIE TE AMSTERDAM.

Niet zelden hadden wij bij onze vorige onderzoeken op de agarplaten een kort staafje met poolkleuring ontmoet, dat ons toescheen de door Czaplewski en Hensel beschreven poolbacterie te zijn en ons soms eenige moeilijkheid had opgeleverd bij ons zoeken naar den bac. z. Nooit echter was dit ons door zijn bijzonder overvloedige aanwezigheid opgevallen, doch wij hadden ook nooit platen met Löffler's serum aangewend. In de gevallen XXXV (sectie) en XXXVI, bij welke de agarplaten, en in het laatste geval ook een reeks serum-buisjes, met zorg op de aanwezigheid van de poolbacterie onderzocht waren, gelukte het ons niet haar aan te toonen.

Toch wilden wij ons onderzoek naar den verwekker van den kinkhoest niet eindigen zonder over deze bacterie, die door de meeste onderzoekers voor de meest waarschijnlijke oorzaak van de ziekte wordt gehouden, een naderen indruk te verkrijgen.

Ook op een zeer fijnen coccus of coccobacillus, die ons nog kleiner dan de influenzabacil scheen en die door zijn rangschikking den indruk maakte een kleine, moeilijk kleurbare streptococcus te zijn, was ons plan in het bijzonder te letten. Dezen hielden wij voor den

coccobacillus, dien Vincenzi identisch acht met den b. pert. Eppendorf en Czaplewski met zijn poolbacterie.

Daartoe zijn de sputa der volgende 15 kinkhoestgevallen (cas. XXXVII—LI), behalve op agarplaten, voor het meerendeel ook op platen met Löffler's serum uitgestreken.

Bij dit onderzoek stuitte wij op dezelfde moeilijkheid, die ook Rahn er vond, n.l. te beslissen, of we in een bepaald geval te doen hadden met een pseudodiphtheriebacil dan wel met de poolbacterie. Rahn er hield deze voor een pseudodiphtheriebacil en inderdaad vindt men in de literatuur, door hem aangehaald, tot deze veelomvattende groep bacillen gerekend, die niet van de door Czaplewski gegeven beschrijving verschillen.

Niettegenstaande de grens moeilijk scherp te trekken was, hebben wij toch in de eerste 4 gevallen (cas. XXXVII—XLI), zij het soms na lang zoeken en herhaald uitzaaien, bacteriën gekweekt, die wij meenden met de poolbacterie te moeten identificeeren, al waren zij onderling niet volkomen gelijk. In geen dier gevallen waren ze echter in groote hoeveelheid voorhanden, ook niet waar serumplaten gebruikt werden.

Dat de individuen, zooals wij soms zagen, bij voortkweken op Löffler's serum, veel grootere afmetingen aannemen en zelfs eenigszins op den diphtheriebacil kunnen gaan gelijken, beschrijft Czaplewski ook. Een kleine bacil, die op de agarplaat als fijn dauwdrupje groeide met een puntje in het midden en die ons deed vermoeden den bacil van Vincenzi of Buttermilch in handen te hebben, waarmede hij tot in details overeenkwam, groeide, voortgekweekt op Löffler's serum, als een goed kleurbaar staafje met poolkleuring, precies gelijkend op de poolbacterie.



Dikwijls troffen wij de ook door Czaplewski beschreven grootere poolbacteriën aan, vooral op de serumplaten. Ze gelijken veel op de kleine poolbacteriën, die echter in de jongere generaties, en vooral op agar gekweekt, weinig grooter zijn dan de influenza-bacil.

Behalve de pseudodiphtheriebacillen en deze, leverden ook streptococcen met eenigszins staafjesvormige leden, wier kolonies zoowel op agar als op serum volkomen op die van de poolbacterie kunnen gelijken, ons soms moeilijkheid op.

In het gebruik der platen met Löfflers serum werden wij teleurgesteld; dikwijls werden alle kleinere kolonies overwoerd door groote kolonies van coccen, terwijl we, ook waar dit niet geschiedde, toch voor het maken van reïnculturen doorgaans van agarplaten moesten gebruik maken. De meeste poolbacteriën, die wij vonden, zijn dan ook van de agarplaten afkomstig: hun kolonies gelijken eenigszins op die van den b. pert. E., doch ze zijn bij opvallend licht meer blauwachtig grijs, ze confluëeren meer en zien er microscopisch duidelijk fijnkorrelig uit. De kleurbaarheid volgens Gram vonden wij meestal negatief; ook wel zagen we een deel der staafjes gekleurd blijven, een deel ontkleurd worden, zooals ook Reyher dit waarnam.

Deze 4 gevallen waren de laatste, die wij in Utrecht konden vinden, en we vreesden reeds, dat de komende lente aan ons onderzoek een einde zou maken, toen we vernamen, dat in Amsterdam een hevige kinkhoest-epidemie heerschte, die daar vele offers eischte.

Door de bereidwilligheid van den Heer Directeur van het Wilhelmina-Gasthuis, Dr. Kuiper, werden wij in de gelegenheid gesteld een elftal patiënten uit deze epidemie (cas. XLI—LI) herhaaldelijk te onderzoeken.

Door zelf het sputum te gaan opvangen gelukte het ons dit gewoonlijk binnen 2 en in elk geval binnen 3 uur uitgezaaid te krijgen.

De eerste 3 gevallen, onderzocht op agar- en serumplaten, boden zoo mogelijk nog minder karakteristieks aan dan de laatste gevallen uit Utrecht. Slechts in één geval kon met eenige waarschijnlijkheid de poolbacterie gekweekt worden, in het tweede vonden we alleen grootere poolbacteriën, terwijl deze in het derde geheel ontbraken.

Intusschen was ons hier weer opgevallen het verschil tusschen de bacteriën in de sputumpraeparaten en die op de platen; terwijl de eerste soms vol waren van influenza-achtige staafjes, waren deze noch op de agar-, noch op de serumplaten te vinden. Wij besloten daarom voortaan ook bloed-agarplaten te gebruiken: het was ook niet van belang ontbloot na te gaan, of bij een epidemie op een anderen tijd en in een andere stad de b. pert. E. weer constant in de sputa voorkwam.

In de volgende 8 gevallen werd dus een deel der agarplaten met paardenbloed bestreken.

In onze verwachting werden wij niet bedrogen. Op één geval na (cas. XLVIII), een éénjarig kind, dat zich met moeite een klein slijmvlokje uit den pharynx liet nemen, kwamen bacillen, gelijkend op die uit de sputumpraeparaten, in groote hoeveelheid op de bloed-agarplaten voor, soms bijna in reïncultuur (o. a. cas. XLVI, waarin bij 5 uitzaaiingen telkens weer deze bacil bijna in reïncultuur groeide).

Hoewel deze staafjes bijna volkomen met den b. pert. E. bleken overeen te komen, nopen toch enkele verschillen ons ze nader te beschrijven.

Al ziet men op de agarplaten ook wel de fijne, typische dauwdrupjes, toch zijn hier de zgn. „reuzenkolonies”



(1—1½, zelfs 2 m.M. in diameter) regel. Deze zijn blauwachtig grijs, opalesceerend; bij doorvallend licht zijn de kleinere kolonies waterhelder, de grootere wat geelachtig. Microscopisch ziet men in het centrum van de kleinere, overigens homogene kolonies, meestal enkele korreltjes; de grootere zijn in het midden grofkorrelig, brokkelig. De rand is fijn, scherp, glad, soms wat gelobd, soms als aangevreten. Ze conflueeren nu en dan ook in de buurt van sommige andere kolonies.

De bacillen zijn in alle afmetingen wat grooter dan de b. pert. E., doch gelijken er overigens precies op; hun lengte bedraagt ongeveer 0,8—1,5  $\mu$ ; hier en daar ziet men ook langere exemplaren en een enkelen schijndraad. Dikwijls liggen ze parallel, als palissaden, nooit in kettingen. Ze laten zich kleuren als de b. pert. E.; Gram geeft negatief resultaat; poolkleurig ziet men vooral in oudere culturen.

Omdat deze bacil veel overeenkomst heeft met de door Elmassian en Luzzato beschreven staafjes en ook met de poolbacterie van Czaplewski, zooals Zusch die beschrijft, hebben we steeds zorgvuldig nagegaan, of ook groei op serumbodems of op andere bodems zonder bloed voorkwam. Deze ontbrak steeds; alleen moet hier cas. XLIX vermeld worden, waarbij op de eerste serumplaat bijna een reincultuur van nauwelijks zichtbare kolonies was opgekomen, die als fijn stof over de plaat lagen uitgespreid. Deze bleken te bestaan uit de bovenbesproken staafjes; het gelukte echter na 24 uur niet ze op Löffler's serum voort te kweken. Evenals men op de met het sputum bestreken agarplaat, ook zonder toevoeging van bloed, wel eens de b. pert. E. ziet groeien, zoo zal hier een bestanddeel uit het sputum wel den groei van dezen bacil op de serumplaat mogelijk hebben gemaakt.

Bij voortkweken op schuine bloedagar zagen wij de grootere kolonies van den bacil niet meer; het werden nauwelijks zichtbare dauwdrupjes en niet zelden mislukte spoedig de verdere overenting. Dit laatste kwam niet meer voor, toen we in plaats van paardenbloed, menschenbloed gingen gebruiken, mits binnen 3, uiterlijk 4 dagen werd overgezet.

In geen van deze gevallen zagen wij bacillen, die volkomen met den b. pert. E. overeenkwamen; wij gelooven dan ook wel, dat de onderlinge verschillen tusschen beide gering genoeg zijn, om dezen bacil voor een wat grootere variëteit van den b. pert. E. te houden. Hij heeft wel eenige overeenkomst met de beschrijving, die Pfeiffer van den pseudoinfluenzabacil geeft, maar vormt minder schijndraden; een beeld zooals Pfeiffer's photogram weergeeft, zagen wij nooit.

Wat de andere bacteriën, in deze gevallen gevonden, betreft, zal men in bijlage I zien, dat wij nu en dan de poolbacterie vonden, doch haar soms ook misten; het meest zagen wij behalve streptococcon kolonies, die precies op de groote kolonies van den b. pert. E. geleken: rond, parelmoerachtig getint, opalesceerend, transparant. Ook de staafjes leken in het groot wel wat op den b. pert. E.; ze waren vaak wat gebogen en levendig beweeglijk. Op agar groeiden ze in een vrij dikke transparante laag, die als een vernis over de agar lag gestreken. Ook in de vroeger onderzochte gevallen zagen wij deze bacillen frequent. Vermoedelijk is het de bacil van Afanassjew; hoewel de cultuur zeer veel op die van den bacil van Leuriaux gelijkt, zijn de staafjes voor dezen wat te slank.

Den bacil van Manicatide, dien wij ook niet geheel uit het oog verloren, vonden wij nooit; evenmin den diplococcus van Ritter. De als karakteristiek kenmerk



van de kolonies van dezen genoemde cohaerentie merken wij in mindere mate (ze waren althans nooit kraakbeenhard) soms op aan de grootere kolonies van den b. pert. E.. Hoewel deze zich op het dekglas gemakkelijk fijn lieten verdeelen, kon men ze toch nu en dan met de naald in hun geheel over het agarvlak voortschuiven.

Het resultaat van dit laatste onderzoek was dus juist tegenovergesteld aan dat van Reyher. Terwijl deze het onderzoek van Jochmann en Krause wilde controleren en daarbij hun bacil niet, doch de poolbacterie van Czaplewski geregeld in groote hoeveelheid vond, werd ons onderzoek, begonnen om dat van Czaplewski en Hensel te controleren, weder een nadere bevestiging van dat van Jochmann en Krause.

Al vonden wij niet zelden bacteriën, die ons de poolbacterie schenen te zijn, toch heeft ons onderzoek er niet toe geleid de opinie van Czaplewski en vele anderen te deelen, die aetiologisch verband tusschen deze bacterie en den kinkhoest waarschijnlijk achten. Nooit toch zagen wij haar, ook niet op de serumplaten, in grooten getale; gewoonlijk pas na lang zoeken vonden wij enkele kolonies. Daar nu ook eenige andere onderzoekers de poolbacterie niet of zelden bij kinkhoest vonden (Rahner, Luzzato, Jochmann en Krause), en Czaplewski, en zij die met hem meegaan, geen ander argument van belang voor de specificiteit van deze bacterie aanvoeren, dan de constante aanwezigheid in de sputa, achten wij het niet waarschijnlijk, dat de poolbacterie de verwekker van den kinkhoest is.

## RÉSUMÉ.

I. In 24 gevallen van kinkhoest, die zich te Utrecht in het voorjaar en den zomer van 1903 hadden voorgedaan, vonden wij in de sputa constant en in aanmerkelijken getale den zgn. bac. pertussis Eppendorf. Op één uitzondering na was deze bacil ook in de sputa van 8 kinkhoestlijders uit een epidemie te Amsterdam in het voorjaar van 1904 aanwezig. In de laatste gevallen waren de staafjes gemiddeld een weinig grooter dan in die uit de Utrechtsche epidemie.

Het bloedserum van kinkhoestlijders agglutineerde den b. pert. E. niet, evenmin geschiedde dit echter door de sera van een paard en van geiten, geïmmuniseerd tegen dezen bacil.

Voor jonge caviae bleek de b. pert. E. pathogeen te zijn, vooral bij intraperitoneale injectie; de virulentie van eenzelfden stam was echter niet constant. De verschijnselen, die deze dieren vertoonden, en de bevindingen bij de sectie kwamen overeen met wat Delius en Kolle voor den influenzabacil vonden.

Ook een konijn stierf na intraveneuse injectie met den b. pert. E. onder verlammingen aan algemeene infectie met dezen bacil; een ander konijn kreeg een dubbelzijdige conjunctivitis met den b. pert. E. in het exsudaat.

Bij de immunisatie van een paard tegen den b. pert. E. reageerde dit soms op de subcutane injecties met ernstige ziekteverschijnselen. Het gelukte ons niet eenige speci-



fieke eigenschap in het serum van dit paard te ontdekken.

Wij zijn er dus niet in geslaagd eenigen naderen bewijsgrond voor de specificiteit van den b. pert. E. te vinden, behalve zijn constante aanwezigheid in de sputa der kinkhoestlijders.

II. In 18 gevallen van kinkhoest gelukte het ons niet in de sputa den zgn. bacillus z aan te toonen. In de meeste van deze gevallen maakten wij ter herkenning van dezen bacil gebruik van een cultuur van den bac. z, ons ter vergelijking door Dr. Manicatide gezonden, en van een serum, dat in sterke verdunning dezen bacil agglutineerde.

Eenige malen zagen wij den bac. z zwak geagglutineerd worden door het bloedserum van kinkhoestlijders, eenmaal ook ontbrak deze reactie geheel.

Wij gelooven dan ook niet, dat er verband bestaat tusschen den bac. z en de aetiologie van den kinkhoest.

III. In verscheidene gevallen, die speciaal op de poolbacterie van Czaplewski onderzocht werden, konden wij die dikwijls aantoonen, doch steeds in een kleine quantiteit; niet zelden ontbrak zij echter, ook waar platen met Löffler's serum waren aangewend.

Omdat ook eenige andere onderzoekers deze bacterie niet of zelden in de sputa der kinkhoestlijders vonden, en juist haar constante en overvloedige aanwezigheid het eenige argument van belang is, dat voor haar specificiteit wordt aangevoerd, komt het ons niet waarschijnlijk voor, dat de poolbacterie de verwekker van den kinkhoest is.

## BIJLAGE I.

### OVERZICHT DER ONDERZOCHE TE KINKHOESTGEVALLEN.

De beschrijving van de sputumpraeparaten is niet telkens weer-gegeven, hoewel ze in bijna alle gevallen onderzocht zijn. Het beeld bood weinig afwisseling: in meerdere of mindere mate vertoonden alle op den influenzabacil gelijkende staafjes met min of meer duidelijke poolkleuring. Zelden zagen wij schijnraden.

- I. Typisch kinkhoestgeval uit het Kinderziekenhuis; 3maal onderzocht, telkens op 5 agarplaten, van welke 3 met paardenbloed bestreken. Op de agarplaten zonder bloed weinig kolonies van strepto-, staphylo-, en pneumoniecoccen, op die met bloed steeds zeer talrijke kolonies van den b. pert. E..
- II. M. E. Typisch geval. Beide malen, dat het onderzocht is, talrijke kol. van den b. pert. E. op de bloedagarplaten.
- III. Typisch geval, ongecompliceerd, hoest 6 weken. Naast strepto-, staphylo- en pneumoniecoccen talrijke kol. van b. pert. E..
- IV. Typisch geval, gecompliceerd met bronchopneumonie, duurt 3 weken. De b. pert. E. in veel geringer hoeveelheid aanwezig dan in de vorige gevallen; veel strepto-, staphylo- en pneumoniecoccen.
- V. V., 5 jaar oud. Volgens de beschrijving typische kinkhoest. De b. pert. E. hier bijna in reïncultuur aanwezig, naast weinig strepto- en staphylococcen. Aan dit geval is de stam II ontleend.
- VI en VII. G. V. De kinkhoest duurt al  $\pm$  8 weken; tegelijk met haar broertje S. V. onderzocht. Bij beiden naast vele andere kol. ook talrijke van b. pert. E..
- VIII. E., 9 maanden oud. Eerste week van het stad. con-



vulsivum; enteritis. Sputum pas den dag na ontvangst uitgezaaid. Talrijke kol. van b. pert. E..

- IX—XI. E. F., 5 jaar oud; 2 maanden kinkhoest. Zeer groot aantal kol. van b. pert. E.. Bij het even lang zieke zusje D. F., 3 jaar oud, slechts weinig kol. van dezen bacil gevonden, terwijl bij een tweejarig zusje ze weer in grooten getale aanwezig waren. Menschenbloed gebruikt.
- XII. N<sup>o</sup>. 230., 8 maanden oud; hoest 3 weken. Duivenbloed gebruikt. Vele kol. van b. pert. E..
- XIII. N<sup>o</sup>. 231. Typisch geval. Vele kol. van b. pert. E..
- XIV—XVII. Allen typische gevallen uit het Kinderziekenhuis, bij welke constant de b. pert. E. in groote hoeveelheid aanwezig is.
- XVIII. J. P., 5 jaar oud, onderzocht in de eerste week van het stad. convulsivum. Bijna reincultuur van b. pert. E., die in casu veel groote kolonies heeft gevormd. Vier weken later is zijn sputum met negatief resultaat op den bacillus z onderzocht; toen bronchopneumonie.
- XIX. P. C., 7 jaar oud; 3 weken typische buien. B. pert. E. aanwezig.
- XX. A. P., 2 jaar oud; 10 dagen typische buien. De b. pert. E. aanwezig. Onderzocht op den bac. z met neg. resultaat.
- XXI. J. K., 3 jaar oud; begin van het stad. convulsivum. De b. pert. E. in groote hoeveelheid aanwezig. Twee maanden later nog frequente typische kinkhoestbuien; heeft een pneumonie gehad; nu op de agarplaten, zonder bloed veel streptocöccen en coli-achtige bacillen, geen bac. z.
- XXII. W. R., 3 jaar oud; beginnende, typische kinkhoest; geen complicaties. Tweemaal onderzocht met en zonder bloed. Overmaat van b. pert. E., geen bac. z.
- XXIII. A. V., 3 jaar oud; 4 weken kinkhoest, bronchopneumonie, stomatitis. Sputum slijmatterig, uitgezaaid met en zonder bloed. Weinig kol. van b. pert. E.. Geen bac. z. Overmaat van groote diplococccen en staafjes met eigenbeweging en coli-achtigen groei.

- XXIV. J. D., 5 jaar oud; 5 weken kinkhoest; geen complicaties; buien frequent, met braken; sputum slijmig, dradentrekkend, de karakteristieke kleine vlokjes ontbreken geheel. Niet met bloed uitgestreken. Bij het eerste onderzoek de platen bijna steriel, bij het tweede weinig kol. van staphylo- en groote diplococcen; geen bac. z.
- XXV. Va., 3 jaar oud; 3 weken kinkhoest, bronchopneumonie; sterft kort na onderzoek. Sputum slijmatterig. Op de agarplaten massa's verschillende kol., vooral pneumoniecoccen en streptococcen; geen bac. z.
- XXVI. Vb., 7 jaar oud; zusje van vorige; 3 weken kinkhoest; geen complicaties. Sputum taai, slijmig. Op de agarplaten veel groote diplococcen, pneumoniecoccen, voorts kleine cocco-bacillen, coli-achtige staafjes, streptococcen enz.; geen bac. z.
- XXVII. B. V., 3 jaar oud; 6 weken kinkhoest; bronchopneumonie, die genezende is. Zeer frequente hoestbuien. Sputum cohaerent, slijmatterig. Vier maal onderzocht, telkens op 3 agarplaten; hierbij, evenals in de volgende gevallen, gebruik gemaakt van het serum van Manicatide.
- Het meest vonden wij streptococcen, dikwijls met staafjes-vormige leden van verschillende grootte, voorts staafjes, die als bact. coli groeiden, pneumoniecoccen en staafjes, zooals Czaplowski en Vincenzi beschrijven. Geen bac. z.
- Eenmaal, alleen op de eerste plaat van een serie, bijna reïncultuur van allerfijnste, vlakke, ronde, transparante, fijnkorrelige kolonies, met iets gekartelde randen, hier en daar confueerend; ze bestonden uit kleine diplococcen van verschillende grootte en lieten zich niet op gewone agar voortkweeken. Den volgenden dag waren ze op de plaat bijna onzichtbaar, als vervloeid. (zie ook cas. XXX).
- XXVIII. K. Z., 1 jaar oud; typische kinkhoest. Wat slijm uit de pharynx gehaald na een bui en na 1 maal wasschen uitgezaaid. Voornamelijk staphylo- en diplococcen, geen bac. z. Later beter sputum van dit kind, dat zich in het begin van het stad. convulsivum bevond, onderzocht, zonder den bac. z te vinden.
- XXIX. H. P., 5 jaar oud; 7 weken kinkhoest. Nog frequente buien, geen complicaties. Glazig, cohaerent sputum. Op de 4 agarplaten zeer weinig kol. Geen bac. z.



- XXX. J. H., 6 jaar oud, hoest reeds eenige maanden, doch pas sinds een week typische kinkhoestbuien, met braken; geen complicaties; veel cohaerent, slijmterig sputum. Op de eerste agarplaat dezelfde kleine kol. als in casus XXVII, doch in kleiner getale. Twee maal onderzocht; op alle platen beide keeren veel geelwitte kol. van beweeglijke staafjes, die in suikeragar gas vormen en ook overigens als *bact. coli* groeien.
- Geen bac. z, doch wel een veel op den bac. z gelijkend staafje gevonden, dat door het serum van Manicatide in een verdunning van 1:300 geagglutineerd wordt, in mindere intensiteit echter ook door ander paardenscrum.
- XXXI. B. K., 6 jaar oud. Kleine slijmvlok uit de pharynx gehaald tijdens typisch acces. Geen bac. z.
- XXXII. W. v. O., 6 jaar oud; 7 weken kinkhoest; frequente buien, geen complicaties; veel slijmterig sputum. Behalve agarplaten ook gelatineplaten (23<sup>o</sup>) aangewend. Op de eerste voornamelijk streptococcen, op de laatste coccen en langere, vaak gebogen en parallel liggende, staafjes, die door het serum van Manicatide 1:50 geagglutineerd werden. Geen bac. z.
- XXXIII. M. R., 2 jaar oud; pas 1 week typische buien, met neusbloeden enz.. Sputum otterig, geen complicaties aantoonbaar. Drie agar- en 3 gelatineplaten bestreken. Op de laatste alleen coccen, op de eerste o.a. coccobacillen, die veel op den bac. z geleken, doch niet door het serum van Manicatide beïnvloed werden. Geen bac. z.
- XXXIV. v. L., 2 jaar oud; sinds enkele weken typische kinkhoestbuien; bronchopneumonie. Het slijmterige sputum uitgezaaid op agar- en gelatineplaten. De laatste ± steriel; op de eerste evenmin bac. z, doch veel kleine kol. van enorm in grootte verschillende coccobacillen.
- XXXV. W. v. L., 2 maanden oud; broertje van vorigen, even lang ziek. Overleden aan kinkhoestpneumonie. Uit het longsap bijna in reincultuur de b. pert. E. opgekomen. In het slijm, aan de perifere luchtwegen op verschillende hoogte ontnomen, kwamen naar de periferie toe al minder en minder van deze bacillen voor; ze werden overwoekerd door kol. van strepto-, staphylo-, pneumoniecoccen en vooral van oïdium. Niets ge-

vonden, wat op den bac. z, noch wat op de poolbacterie van Czaplewski geleek; ook niet bij uitzaaien uit lever, milt en beenmerg.

XXXVI. Hn. v. D., 5 jaar oud; 3 weken kinkhoest; geen complicaties. Uitgezaaid op agar- en gelatineplaten en op een reeks buisjes met Löffler's serum. Geen poolbacterie van Czaplewski, noch bac. z gevonden; weinig kol. opgekomen van strepto-, staphylo- en pneumoniecoccen en streptobacillen.

XXXVII. Fr., 4 jaar oud; 8 weken kinkhoest, pas genezen van pneumonie. Sputum slijmatterig. Alleen op agarplaten uitgezaaid; niet veel opgekomen, voornamelijk kleine, blauwgrijze kol., voor het meerendeel van streptococcen; echter ook staaftjes gekweekt, wier agarculturen precies op de poolbacterie geleken, ook in hun kleurbaarheid volgens Gram; op Löffler's serum gekweekt, werden de individuen grooter, zelfs soms diphterieachtig.

XXXVIII. Dav., nog geen jaar oud; typische kinkhoest. Kleine hoeveelheid slijmerig sputum, alleen op agar uitgezaaid. Veel strepto-, ook staphylo- en diplococcen, oïdium enz., voorts nauwelijks zichtbare, iets korrelige, transparante kolonies met lichtbrekend puntje in het midden. Deze bestaan uit uiterst fijne, moeilijk kleurbare coccobacillen, die soms in korte kettingen liggen; bij voortkweken op agar worden ze wat grooter en beter te kleuren, bij voortkweken op serum gelijken ze precies op de poolbacterie van Czaplewski; Gram geeft negatief resultaat; evenwel positief, als men de door Zusch aangegeven langdurige kleuring toepast. Bovendien waren bacteriën aanwezig, die van den aanvang af zich meer als pseudodiphteriebacillen voordeden.

XXXIX. H. v. D., 3 jaar oud; zusje van XXXVI; 6 weken kinkhoest; frequente buien, met braken; bronchitis; slijmatterig sputum. Tweemaal onderzocht op agarplaten en buisjes met Löffler's serum. De laatste overwoekerd door coccen, op de eerste veel coli-achtige bacillen. Diverse coccobacillen met poolkleuring onderzocht: de meeste vrij groot, sommige echter gelijkend op de beide vormen van poolbacteriën, zooals die in beide vorige gevallen beschreven zijn.

XL. M. v. d. W., ± 20 typische kinkhoestbuien per dag; geen



complicaties; sputum slijmatterig; 4 maal onderzocht, waarvan 3 maal ook op Löffler's-serumplaten. Na herhaald onderzoek gelukte het onder de massa's verschillende kol. enkele te vinden, die waarschijnlijk met de poolbacterie identisch waren; ze werden voornamelijk van de agarplaten gekweekt, op de serumplaten groeiden alleen groote poolbacteriën.

XXI. H. M., 2 jaar oud; patiënt uit het Wilhelmina-Gasthuis te Amsterdam, evenals de volgende gevallen. 6 Weken geleden slijmhoest, de laatste 3 weken kinkhoest; bronchitis; bronchopneumonie;  $\pm$  11 buien per dag; sputum taai, slijmig; pat. succombeert kort na onderzoek.

Uitgezaaid op agar- en (Löffler's-)serumplaten. Behalve pneumoniecoccen, staphylococcon op beiderlei platen vele streptococcon. Van een serumplaat een staafje met poolkleuring gekweekt, dat waarschijnlijk met dat van Czaplowski overeenkwam; hierop ook verscheidene streptococcon, die met de beschrijving van Buttermilch overeenkwamen.

XXII. B. S., 5 jaar oud; voor 4 weken gaan hoesten,  $\pm$  10 buien daags, bronchitis, tuberculose. Sputum glazig, cohaerent. Uitgezaaid op agar- en serumplaten. De eerste vol strepto-, staphylococcon en verschillende diplococcon; geen coccobacillen; op de laatste alleen grootere bacteriën met poolkleuring.

XXIII. B. v. d. H., 4 jaar oud; hoest 5—6 weken; hoestbuien nemen al af; geen complicaties; weinig slijmig sputum; uitgezaaid op agar- en serumplaten. De eerste bijna steriel, enkele zwermen van kleine kol. van streptococcon, pneumoniecoccon en zeer polymorphe staafjes; op de serumplaten, die echter voor het grootste deel overwoekerd waren door groote coccon, geen poolbacteriën.

XXIV. G. S., 4 jaar oud; 7 weken geleden diphtherie, tracheotomie, daarna kinkhoest. Nu geen complicaties; aantal accessen 8—12; sputum etterig. Uitgezaaid op serumplaten en agarplaten met paardenbloed. Vier maal onderzocht. Van de serumplaten enkele kleine poolbacteriën gekweekt; op de bloed-agarplaten meer of minder, eenmaal bijna in reïncultuur, een ietwat grootere variëteit van den b. pert. E.; voorts transparante kol. van beweeglijke staafjes, diplococcon, veel streptococcon enz..

XXV. J. B., 2½ jaar oud; 3 maanden geleden mazelen, daarna

angina, nu sinds bijna 5 weken kinkhoest. Geen complicaties; aantal buien  $\pm 10$ ; sputum slijmig, cohaerent. Vier maal onderzocht op serum- en bloed-agarplaten. De eerste meestal overwoekerd door coccen; de kleinere kol., die konden onderzocht worden, bleken meestal streptococcen en grootere poolbacteriën te zijn, doch enkele malen kleinere poolbacteriën, waarschijnlijk die van Czaplewski. Op de bloedagarplaten steeds overmaat van allerlei streptococcen; in mindere mate dan in het vorige geval, soms zelfs ontbrekend, de grootere variëteit van den b. pert. E..

XLVI. M. v. d. H., 2 jaar oud. Beloop als bij haar zusje, XLIII;  $\pm 9$  buien per dag. Vijf maal onderzocht op serum- en bloed-agarplaten. Op de laatste altijd in overmaat, soms bijna rein-cultuur van de grootere variëteit van den b. pert. E.; daarnaast kolonies, die veel op de grootere kol. van dezen geleken, doch uit levendig bewegende bacillen bestonden. Op de serumplaten gewoonlijk weinig kol., en dan doorgaans groote coccenkolonies naast enkele kleine van streptococcen.

XLVII. J. D., 10 maanden oud; hoest al lang, doch pas een week kinkhoestbuien. Twee maal onderzocht, alleen op bloed-agarplaten. Steeds bijna rein-cultuur van de grootere variëteit van den b. pert. E.; over het algemeen waren hier minder groote kolonies, alleen allerfijnste dauwdrupjes: de afmeting der staafjes echter als in de vorige gevallen.

XLVIII. C. L., 1 jaar oud; lijdt aan varicellen; sinds 10 dagen kinkhoest; bronchopneumonie; sputum slijmig, beide malen, dat het onderzocht werd, was het slechts een enkel slijmvlokje, dat uit de pharynx met moeite werd opgehaald. Onderzocht op serum- en bloed-agarplaten. Onder de enorme massa opgekomen kol. geen b. pert. E. gevonden, doch veel streptococcen en ook de poolbacterie van Czaplewski; de serumplaten overwoekerd.

XLIX. A. v. A., 2 jaar oud; 14 dagen kinkhoest; in de laatste 2 maanden behandeld voor mazelen, pneumonie en varicellen. Sputum slijmatterig. Twee maal onderzocht op serum- en bloed-agarplaten: de eerste maal veel kol. van de grootere variëteit van den b. pert. E. op de bloedagar, terwijl de serumplaat, met ditzelfde sputum bestreken, bijna een rein-cultuur



van allerfijnste kolonies vertoonde, die als stof over de agar-plaat uitgespreid lagen. Deze bestonden uit dezelfde staafjes als bovengenoemde b. pert. E., doch slechter te kleuren en met duidelijker poolkleurig. Op serum konden ze niet voortgekeekt; op de andere serumplaten ontbraken ze.

De poolbacterie van Czaplowski niet gevonden, doch veel coli-achtige bacillen en streptococcen.

- L. H. V., 1 jaar oud; 14 dagen kinkhoest; bronchopneumonie; sterft den dag na onderzoek. Hoestbuien 15—20 per dag. Sputum bloederig, uitgezaaid op serum- en bloed-agarplaten. Op de laatste vele kol. van den grooteren b. pert. E., de eerste overwoekerd; in de »klatschpraeparaten» echter geen poolbacteriën. De kleine kolonies, die van deze platen konden afgestoken worden, bleken streptococcen te zijn.
- LI. L. V., 6 weken kinkhoest, bronchopneumonie, frequente, zeer hevige buien. Alleen op bloedagar uitgezaaid: veel pneumococcen en weinig kol. van den grooteren b. pert. E.
-

## BIJLAGE II.

### PROTOCOLLEN VAN DE EXPERIMENTEN, MET DEN BAC. PERTUSSIS EPPENDORF VERRICHT BIJ CAVIAE EN KONIJNEN.

Waar de plaats van injectie niet nader aangegeven is, is deze intraperitoneaal geschied.

Van stam I is ingespoten een emulsie van een 3 × 24 uur oude paardenbloed-agarplaatcultuur met 5 c.c. bouillon.

De stam II is ingespoten in een emulsie van een 24 uur oude paardenbloed-agarplaatcultuur met 10 c.c. physiol. keukenzoutoplossing; de stam III als stam II, doch in een emulsie met 5 c.c. physiol. keukenzoutoplossing.

#### INJECTIE VAN STAM I BIJ CAVIAE.

CAVIA	INJECTIE	GEWICHT	RESULTAAT
1	1 c. c.	340	Beiden blijven gezond en nemen in gewicht toe.
2	1 c. c.	360	

#### INJECTIE VAN STAM II BIJ CAVIAE.

CAVIA	DATUM VAN INJECTIE	INJECTIE	GEWICHT	RESULTAAT
3	31 Maart	2 c. c.	165	1 April dood in het hok.
4	»	2 c. c.	165	Als vorige.
5	»	2 c. c. (sub- cutaan).	165 2 Apr. 155 4 Apr. 150	1 April gezond. 2 Apr. infiltratie, zwelling. 4 April dito, gedood.
6	4 April	2 c. c.	150	Blijft gezond.
7	»	1,5 c. c.	150	5 April dood in het hok.
8	»	1 c. c.	150	Als vorige.
9	»	0,5 c. c.	155	Als vorige.
10	»	0,5 c. c.	150	Blijft gezond.
11	»	0,5 c. c.	150	Als vorige.



Vóór den dood vertoonden de dieren klonische krampen van de extremiteten, terwijl de sectie bij allen een peritonitis met meer of minder (1—6 c. c.) serofibrineus exsudaat opleverde. Uit dit exsudaat kon de b. pert. E. steeds in reincultuur, in groot aantal gekweekt worden; ook uit het hartebloed gelukte het steeds den bacil te cultiveeren, al was het ook meestal in weinig exemplaren. Uit het fibrineus-etterige exsudaat, dat zich bij cavia N<sup>o</sup>. 5 onder de huid bevond, kon nog een vrij groot aantal kolonies van den b. pert. E. worden gekweekt.

PASSAGEPROEVEN MET STAM II (CAVIAE).

CAVIA	DATUM VAN INJECTIE	INJECTIE MET:	GEWICHT	RESULTAAT
12	6 April	0,5 c. c. exsudaat uit de buikholt van caviae Nos. 7 en 8.	150	7 April dood in het hok.
13	7 April	1 c. c. exs. uit buikh. v. cav. No. 12.	150	8 April dood in het hok.
14	8 April	1 c. c. exs. uit buikh. v. cav. No. 13.	150	Dood na zes uur.
15	9 April	0,5 c. c. exs. uit buikh. v. cav. No. 14.	150	Blijft gezond (in den darm gespoten?).
16	»	Als vorige.	300	10 April dood in het hok.
17	10 April	1 c. c. exs. uit buikh. v. cav. No. 16.	295	11 April dood, 's namiddags.
18	»	Als vorige (subcutaan).	295	Blijft gezond.
19	12 April	0,5 c. c. exs. uit buikh. v. cav. No. 17.	295	Blijft gezond.

De bevinding bij de secties der gestorven caviae was geheel dezelfde als bij die uit de vorige reeks.

Doordat wij na de laatste (6<sup>de</sup>) passage enkele dagen deze proeven moesten onderbreken, en het daarna bleek, dat wij den daarvoor gebruikten bacil verloren hadden, is met den oorspronkelijken stam II, die  $\pm$  6 weken op paardenbloed-agarplaten was voortgekweekt, een nieuwe serie passageproeven begonnen.

## NIEUWE SERIE PASSAGEPROEVEN (CAVIAE).

CAVIA	DATUM VAN INJECTIE	INJECTIE MET:	GEWICHT	RESULTAAT
20	30 April	4 c. c. 10 dagen oude bloed-bouillon-cultuur, rein, levensvatbaar.	150	1 Mei dood in het hok.
21	»	2 c. c. dito.	150	3 Mei exitus.
22	1 Mei	0,5 c. c. exsudaat uit buikholte van cav. No. 20.	170	Blijft gezond, gewicht 6 Mei 190 gr.
23	»	0,5 c. c. hartebleed van cav. No. 20.	290	Blijft gezond.
24	3 Mei	2 c. c. emulsie 24 uur oude plaatcultuur, afkomstig uit cav. No. 20.	165	Blijft gezond, gewicht 6 Mei 200 gr.
25	3 Mei	Als vorige.	165	Blijft gezond, gewicht 6 Mei 170 gr.

De stam II scheen zijn virulentie verloren te hebben. De sectie van cavia No. 21 leverde slechts een enkelen druppel exsudaat op in de buikholte; in het bloed kon noch door cultuur, noch door microscopische praeparaten de b. pert. E. aangetoond worden. Dit gelukte wel bij cavia No. 26, bij welke zich  $\pm$  0,5 c. c. exsudaat in de buikholte bevond.

## INJECTIE VAN STAM III BIJ CAVIAE.

CAVIA	DATUM VAN INJECTIE	INJECTIE	GEWICHT	RESULTAAT
26	11 Mei	2 c. c.	150	12 Mei dood in het hok.
27	»	2 c. c.	150	Als vorige.
30	12 Mei	1 c. c. exs. uit buikh. v. cav. Nos. 26 en 27.	195	13 Mei dood in het hok.
31	»	Als vorige.	320	Blijft gezond.

De obductie hood hetzelfde beeld, als we in de eerste serieën van proeven waarnamen.



## PROEVEN MET KONIJNEN.

KONIJN	GEINJICIEERD MET :	DATUM	GEWICHT	RESULTAAT
1. wit.	3 c. c. emulsie van stam II. intraveneus.	4 April	2200	Nihil. Dubbelzijdige conjunctivitis. Minder exsudatie. Links genezen.
		5 »		
		6 »	2200	
		7 »	2000	
		8 »	»	
9 »	»			
2. wit.	Een platinalis agar- cultuur v. stam II, in linker conjuncti- vaalzak, zonder laesie, gebracht.	6 April	2300	Nihil. Linker conjunct. zak wat vochtig, geen ontsteking.
		7 »	»	
		8 »	»	
		9 »	»	
3. wit.	2. c. c. exs. uit buik- holte v. cavia No. 14, intraveneus.	9 April	2380	Beide conjunctivae vochtig, oogen tranen, het dier ziet er ziek uit, achterpooten paretisch. Het dier ligt ver- lamd in het hok, sterft 's middags. De rechter con- junctiva scheidt mucopurulent exsudaat af.
		10 »	2000	
		11 »		

Uit het conjunctivaal exsudaat van konijn No. 1 lieten zich veel kolonies van den b. pert. E. kweeken, voorts staphylo- en streptococcen; den volgenden dag minder kol. van den b. pert. E.. In de

deglaspraeparaten lagen kleine influenza-achtige bacillen in en buiten de leucocyten.

Bij sectie van konijn No. 3 bleek geen miltzwelling te bestaan, noch ontstekingsprocessen van sereuze vliezen of organen, doch septicaemie, zooals bleek bij uitzaaien uit bloed en leversap.



## BIJLAGE III.

### EENIGE KLINISCHE WAARNEMINGEN BIJ KINKHOEST.

In het Kinderziekenhuis te Utrecht zijn eenige kinkhoestpatiënten behandeld met het serum van het paard, dat door ons tegen den bac. pertussis Eppendorf geïmmuniseerd is (al naarmate het afkomstig is van de 1e, 2e of 3e aderlating, genoemd *serum I, II of III*), voorts met de van Dr. Manicatide en van prof. Neisser ontvangen sera (genoemd *serum-Manicatide* en *serum-Neisser*). Het laatste is alleen aangewend in 2 gevallen, om zijn werking bij de kinkhoest-pneumonie na te gaan.

I. No. 232, 3 $\frac{1}{2}$  jaar oud, 4 weken kinkhoest; onderzoek op den b. pert. E. positief.

Datum	aantal hoestbuien	subcutane injecties
3 Juli	7	
4 »	5	
5 »	6	
6 »	8	10 c.c. serum I.
7 »	6	
8 »	8	10 c.c. serum I.
9 »	9	
10 »	6	
11 »	5	
12 »	4	
13 »	6	
14 »	5	
15 »	2	
16 »	3	

14 Dagen hierna nog onbetwistbare kinkhoestbuien.

II. No. 233, 3 jaar oud, hoest ruim 3 weken; onderzoek op den b. pert. E. positief.

Datum	aantal hoestbuien	subcutane injectie
7 Juli	7	
8 »	8	
9 »	9	
10 »	8	10 c.c. serum I.
11 » (gedeeltelijk)	2	

Vertoont 17 Juli nog typische kinkhoestaccessen.

III. No. 230, 8 maanden oud, hoest 3 weken; onderzoek op den b. pert. E. positief. Heeft temp. verhooging, waarschijnlijk door een otitis media.

Datum	aantal hoestbuien	subcutane injecties
3 Juli	23	7½ c.c. serum I.
4 »	16	
5 »	26	10 c.c. serum I.
6 »	37	
7 »	36	10 c.c. serum I.
8 »	40	
9 »	36	10 c.c. serum II.
10 »	25	
11 »	23	10 c.c. serum II.
12 »	22	
13 »	25	
14 »	20	10 c.c. serum II.
15 »	20	
16 »	16	
17 »	18	

Langer dan 2 maanden hierna nog onmiskenbare kinkhoestbuien.

IV. No. 228, 16 maanden oud, hoest minstens 4 weken.

Datum	aantal hoestbuien	subcutane injecties
3 Juli	26	5 c.c. serum I.
4 »	14	
5 »	16	10 c.c. serum I.
6 »	20	
7 »	18	10 c.c. serum I.
8 »	19	
9 »	14	
10 »	13	10 c.c. serum II.



Datum	aantal hoestbuien	subcutane injecties
11 Juli	9	
12 »	7	10 c.c. serum II.
13 »	7	
14 »	3	
15 »	6	
16 »	5	
17 »	6	

De aanmerkelijke vermindering in de frequentie der hoestbuien kan in verband staan met verandering van het weder: de niet met serum behandelde kinkhoestpatiënten in het Kinderziekenhuis verbeterden ook gedurende dezen zelfden tijd.

V. No. 236, 8 maanden oud; onderzoek op den b. pert. E. positief. Vertrekt den dag na de 2de injectie.

Datum	aantal hoestbuien	subcutane injecties
9 Juli	18	5 c.c. serum II.
10 »	23	10 c.c. serum II.
11 »		

Op 17 Juli hoest het kind nog onveranderd.

VI. No. 304, 18 maanden oud; hoest minstens 3 weken. Onderzoek op den b. pert. E. positief. Is 1 Oct. met het serum Manicatide behandeld.

Datum	aantal hoestbuien	subcutane injectie
21 Oct.	4	
22 »	6	1½ c.c. serum III.
23 »	5	
24 »	2	
25 »	4	
26 »	5	
27 »	4	
28 »	7	
29 »	6	
30 »	4	
31 »	5	
1 Nov.	4	

VII. No. 274, 1¾ jaar oud; hoest geruimen tijd; is tijdens een

pneumonie met het serum-Neisser en daarna met het serum-Manicatide behandeld.

Datum	aantal hoestbuien	subcutane injectie
16 Oct.	4	
17 »	4	1½ c.c. serum III.
18 »	4	
19 »	4	
20 »	4	
21 »	2	
22 »	5	
23 »	3	
24 »	3	
25 »	2	
26 »	2	

VIII. No. 324, 2 jaar oud.

Datum	aantal hoestbuien	subcutane injectie
28 Oct.	16	
29 »	7	1½ c.c. serum III.
30 »	7	
31 »	7	
1 Nov.	14	
2 »	meer dan 15	

IX. No. 327, 4 maanden oud, hoest ± 14 dagen.

Datum	aantal hoestbuien	subcutane injectie
29 Oct.	12	1 c.c. serum III.
30 »	13	
31 »	9	
1 Nov.	7	

Een week hierna is de ziekte nog onveranderd.

X. No. 304, 17 maanden oud. Gemiddeld aantal hoestbuien 17. Op 1 Oct. 10 c.c. serum-Manicatide ingespoten; in de week daarna gradueele vermindering der buien tot 5; hoest daarna echter nog langen tijd. Zie verder VI.

XI. No. 274, 1¾ jaar oud, is 28 Aug. met het serum-Neisser behandeld. Hoestbuien 26 Sept. 7—9 per etmaal. Injectie



van 10 c.c. serum-Manicatide. De eerstvolgende week onveranderd aantal hoestbuien, daarna langzame afname. Zie verder VII.

XII. No. 280, 14 maanden oud, hoest verscheidene weken; 26 Sept. gemiddeld 17 buien. Injectie van 10 c.c. serum-Manicatide; hoestbuien verminderen in de eerstvolgende 5 dagen tot 11, daarna langzame afname.

XIII. No. 276, 1 jaar oud. Lijdt aan kinkhoest en bronchopneumonie. Den avond na de injectie van 1 c.c. serum-Neisser wees de temperatuur, die te voren 's avonds  $\pm 39^0$  bereikte, slechts  $36,9^0$ . Den volgenden dag werd het kind naar huis gehaald en stierf daags daarna.

XIV. No. 274,  $1\frac{3}{4}$  jaar oud. Kinkhoest en bronchopneumonie.

Datum	morgentemp.	avondtemp.	aanmerkingen
27 Aug.		40,8	
28 >	39,8	40,1	1 c.c. serum-Neisser.
29 >	38,7	38,8	
30 >	39,4	39,8	Phys. verschijnselen van de
31 >	39,2	38,7	pneumonie onveranderd.
1 Sept.	38,2	39,8	
2 >	38,5	38,6	
3 >	37,3	38	
4 >	36,8	36,7	Demping en bronchiaal- ademen nemen af.

## LITERATUUR-OVERZICHT.

De met \* gemerkte nummers zijn in het historisch overzicht niet behandeld.

1. Linnaeus, geciteerd door Vogel op het »Congress für Inn. Medicin." 1887.
2. N. Rosén von Rosenstein. Handleiding tot de Kennis en Geneezing van de Ziekten der Kinderen. Vertaald door E. Sandifort. 's Gravenhage. 1768.
3. Poulet. Compt. rend. de l'Acad. des Sciences. 5 Aug. 1867.
4. W. Jansen. Klinische Beiträge zur Kenntniss und Heilung des Keuchhustens. Diss. Bonn. 1868.
5. L. Letzerich. Zur Kenntniss des Keuchhustens, Tussis Convulsiva, Pertussis. Virchow's Archiv. Bd. 49. p. 530. 1870.
6. Dezelfde. Virchow's Archiv. Bd. 57. p. 518. 1873.
7. Dezelfde. Virchow's Archiv. Bd. 60. p. 409. 1874.
8. Henke. Ueber mikroskopische Organismen in den Sputis keuchhustenkranker Kinder etc. Deutsch. Arch. f. Klin. Med. Bd. 12. p. 630. 1874.
9. Ant. Tschamer. Zur Pathogenese des Keuchhustens. Jahrb. f. Kinderheilk. Neue Folge. Bd. 10. p. 174. 1876.
10. Dezelfde. Centralzeit. f. Kinderheilk. Bd. 1. p. 131. 1878.
11. Birch-Hirschfeld. Centralzeit. f. Kinderheilk. Bd. 1. p. 115. 1878.
12. M. J. Rossbach. Zur Lehre vom Keuchhusten. Berl. Klin. Woch. 1880. p. 253 en Allg. Med. Centralzeit. 1880.
13. C. Burger. Der Keuchhustenpilz. Berl. Klin. Woch. 1883. p. 7.
14. Koch. Fortschritte d. Medicin. Bd. 1. p. 108. 1883.
15. Moncorvo et Aronja. De la nature de la coqueluche etc. Rio de Janeiro 1883.
16. Moncorvo. Arch. di Patol. infant. 1885 (geciteerd o.a. door v. Genser. Wien. Med. Woch. 1888. No. 18).
17. Broadbent. The Lancet. May 1886.



18. Deichler. Ueber parasitäre Protozoën im Keuchhustenauswurf. Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie. Bd. 43. p. 144. 1886.
19. Dezelfde. Deutsche Medicinal Zeitung. 1886. No. 74.
20. Dezelfde. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. 48. p. 303. 1889.
- 21.\* Dezelfde. Verhandl. d. 63 Versamml. Deutscher Naturforscher u. Aerzte in Bremen. 1890/91. p. 77.
22. Garré. gecit. door Hagenbach. Verhandl. d. Congress. f. Inn. Medicin. 1887. p. 270.
23. M. J. Afanassjew. Actiologie und Klinische Bakteriologie des Keuchhustens. St. Petersb. Med. Woch. 1887. Nos. 39-42.
24. D. G. Ssemtschenko. Zur Frage der Keuchhusten-Bacterie. St. Petersb. Med. Woch. 1888. Nos. 22 en 23; (ook Wratsch 1887. No. 45).
25. Edm. C. Wendt. Recent views regarding the pathology and treatment of pertussis. Boston Med. News. 1888. No. 22.
26. P. Haushalter. Trois cas d'infection par le staphylococque doré dans le cours de la coqueluche. Arch. de Méd. Expérim. 1890. p. 628.
27. S. Mircoli. Alterazioni renali nella pertosse. Arch. per le Scienze Mediche. Vol. 14. p. 63. 1890.
28. J. Ritter. Die Actiologie des Keuchhustens. Berl. Klin. Woch. 1892. p. 1276.
29. Dezelfde. Berl. Klin. Woch. 1893. p. 1154.
30. Dezelfde. Berl. Klin. Woch. 1896. p. 1040 en 1069.
- 31.\* Etiologie de la coqueluche. Archives gén. de Médecine. 1893. p. 91. Ref. Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 39. p. 294.
32. M. Cohn und H. Neumann. Zur Bacteriologie des Keuchhustensputums. Archiv. f. Kinderheilk. Bd. 17. p. 24. 1894.
33. M. Kurloff. Keuchhusten-Parasiten. Centralbl. f. Bakt. Bd. 19. p. 513. 1896 (ook Wratsch 1896. No. 3).
34. E. Czaplewski und R. Hensel. Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten. Centralbl. f. Bakt. Bd. 22. p. 641 en 721. 1897. (Voorloopige mededeeling in Deutsch. Med. Woch. 1897. No. 37).
35. E. Czaplewski. Deutsch. Med. Woch. 1898. p. 226. (Antwoord aan Spengler).
36. Dezelfde. Deutsch. Med. Woch. 1898. p. 307 (Antwoord aan Vincenzi).
37. Dezelfde. Zur Frage der bei Keuchhusten beschriebenen

- Polbakterien. Centralbl. f. Bakt. Bd. 24. p. 865. 1898.
38. Dezelfde. Berl. Klin. Woch. 1899. p. 598. (Antwoord aan Buttermilch).
  39. Dezelfde. Zur Bakteriologie des Keuchhustens I. Centralbl. f. Bakt. Bd. 216. p. 22. 1899.
  40. H. Koplik. Die Bakteriologie des Keuchhustens. Centralbl. f. Bakt. Bd. 22. p. 222. 1897 (ook Brit. Med. Journal 1897).
  41. Dezelfde. St. John Hopkins Hospital Bull. 1898.
  42. G. Dotti. La Pediatria. 1898. p. 94. Ref. Archiv. f. Kinderheilk. Bd. 26. p. 121.
  43. Wagner. New-York Med. Journal. 1898. 8 Oct.
  - 44.\* Annales de Médecine et Chirurgie infantile. 1898. p. 314. Sur la coqueluche et la bactériologie de coqueluche.
  45. O. Zusc. Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten. Centralbl. f. Bakt. Bd. 24. p. 721 en 769. 1898. (Voorloopige mededeeling in Münch. Med. Woch. 1898. No. 23).
  46. R. Behla. Zur Aetiologie der Tussis Convulsiva. Deutsch. Med. Woch. 1898. p. 299.
  47. C. Spengler. Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten. Deutsch. Med. Woch. 1897. No. 52.
  48. Dezelfde. Zur Aetiologie des Keuchhustens. Centralbl. f. Bakt. Bd. 29. p. 713. 1901.
  49. Dezelfde. Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. p. 276. 1901. (Antwoord aan Jochmann).
  50. L. Vincenzi. Sull' eziologia della pertosse. Commun. fatta alla R. Accad. di med. di Torino. 3 giugno 1898. Vol. 4. Anno 61. Fasc. 5—7 (geresereerd door Czaplewski: Centralbl. f. Bakt. Bd. 24. p. 850.).
  51. Dezelfde. Zur Aetiologie der Tussis Convulsiva. Deutsche Med. Woch. 1898. p. 631. (Zie ook p. 276.)
  52. Dezelfde. Centralbl. f. Bakt. Bd. 31. p. 273. 1902.
  53. W. Buttermilch. Ueber den Erroger des Keuchhustens. Berl. Klin. Woch. 1899. p. 367 en p. 599.
  54. A. Cavasse. Sur la Coqueluche. Thèse. Paris. 1899.
  55. Elmassian. Note sur un bacille des voies respiratoires et ses rapports avec le bacille de Pfeiffer. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. Bd. 13. p. 621.
  56. A. Luzzato. Zur Aetiologie des Keuchhustens. Centralbl. f. Bakt. Bd. 27. p. 817. 1900.



57. G. Arnheim. Beitrag zur Bacteriologie des Keuchhustens. Berl. Klin. Woch. 1900. p. 702.
  58. Dezelfde. Ueber die pathol. Anatomie des Keuchhustens etc. Virchow's Arch. Bd. 174. Heft 3. 1903.
  59. Dezelfde. Zur Pathogenese des Keuchhustens. Berl. Klin. Woch. 1903. p. 665.
  - 60.\* A. Ucke. Zur Frage nach den Erregern des Keuchhustens. St. Petersb. Med. Woch. 1900. No. 12.
  61. R. Rahner. Zur Epidemiologie und Aetiologie des Keuchhustens. Diss. Freiburg. 1901. Overgenomen in het Archiv. f. Hygiene. Bd. 40. p. 63.
  62. G. Jochmann und P. Krause. Zur Aetiologie des Keuchhustens. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krh. Bd. 36. p. 193. 1901.
  63. G. Jochmann und Moltrecht. Beiträge zur Aetiologie des Keuchhustens. Centralbl. f. Bakt. Bd. 34. p. 15. 1903.
  64. G. Jochmann. Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. p. 3. 1901. (Antwort aan Spengler).
  65. Dezelfde. Ref. over Leuriaux. Centralbl. f. Bakt. Bd. 32. p. 342.
  66. Dezelfde. Ueber das fast constante Vorkommen influenza-ähnlicher Bacillen im Keuchhusten-Sputum. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krh. Bd. 44. p. 498. 1903.
  67. Bureau et Fontineau. Ref. Münch. Med. Woch. 1901. p. 1813.
  68. C. Leuriaux. L'agent pathogène de la coqueluche et la sérothérapie de cette affection. Sem. médicale. 1902. p. 233.
  69. Tollemer. Soc. de Pédiatrie 18 Nov. 1902. Ref. Jahrb. f. Kinderheilk. 1903. p. 491. Heft 4.
  - 70.\* Martinez Vargas. Tratamiento de la tos ferina por el suero anticoqueluchoso. La Medicina de los Niños. 1902. Nos. 35 en 36.
  71. M. Manicatide. Microbul si seroterapia tusei convulsive. Jassy. 1902.
  72. Dezelfde. Ueber Aetiologie und Serotherapie des Keuchhustens. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krh. Bd. 45. p. 469. 1903.
  73. Paul Reyher. Zur Aetiologie und Pathogenese des Keuchhustens. Jahrb. f. Kinderheilk. 58. d. dritten Folge 8. Band. p. 605. 1903.
-





STELLINGEN.





## STELLINGEN.

---

### I.

Van geen der microörganismen, die als verwekkers van den kinkhoest beschreven zijn, kan men zelfs met eenige waarschijnlijkheid aannemen, dat het de oorzaak van deze ziekte is.

### II.

Noch de fermenttheorie, noch de theorie, die de vorming van glucose in de lever toeschrijft aan functie van de levende levercel, voldoet.

### III.

Het mechanisme der accommodatie wordt het best verklaard door de theorie van Helmholtz.

### IV.

Het epithelium van de vagina is afkomstig van de Wolff'sche gangen.

## V.

Dat verandering van de hypophysis cerebri de anatomische basis zou zijn van acromegalie, is zeer twijfelachtig.

## VI.

In ziekenhuizen verrichte men, wanneer bij kinderen boven het jaar larynxstenose door diphterie operatief ingrijpen noodzakelijk maakt, steeds intubatie, tenzij de patiënt sub finem vitae is.

## VII.

Voor de differentieele diagnostiek van organische en functioneele ziekten van het zenuwstelsel is de cytodiagnostiek van de liquor cerebrospinalis van groot gewicht.

## VIII.

De nastaaroperatie worde eerst verscheidene maanden na de cataractoperatie verricht, en alleen dan, wanneer onvoldoende functioneel resultaat van deze operatie haar indiceert.

## IX.

De graviditas extraüterina behandelde men in beginsel expectatief.

## X.

De oorzaak van de uraemie is gelegen in kwalitatieve excretiestoornissen van de nier, niet in kwantitatieve veranderingen van haar excretievermogen.



## XI.

Om tot een deugdelijke bestrijding der tuberculose te komen is allereerst noodig, dat de aangifte van gevallen van keel- en longtering, waarbij sputa worden opgegeven, die tuberkelbacillen bevatten, bij de wet verplichtend worde gesteld.

## XII.

Toevoeging van formol aan de melk voor jeugdige kinderen, verdient afkeuring.

---















