



Over een serum ter voorkoming en genezing der gasphlegmone

<https://hdl.handle.net/1874/260215>

A^v 192

Med 22 Nov 1926

OVER EEN SERUM TER VOOR-
KOMING EN GENEZING DER
GASPHLEGMONE.



H. K. M. SCHOT.

A. qu.
192



OVER EEN SERUM TER VOOR-
KOMING EN GENEZING DER
GASPLHEGMONE.

OVER EEN SERUM TER VOOR- KOMING EN GENEZING DER GASPHLEGMONE.

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN
GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP
GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS DR. P.
H. DAMSTÉ, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT
DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS
BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNIVERSITEIT
TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT
DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN D. V. OP
WOENSDAG 22 NOVEMBER 1916 DES NAMIDDAGS
TEN 4 URE DOOR HENDRIK KAREL MAURITS
SCHOT, ARTS, GEBOREN TE SINGKARAH.

UTRECHT — A. OOSTHOEK — 1916.



AAN MIJNE MOEDER.
AAN DE NAGEDACHTENIS
VAN MIJN VADER.

Aan het einde mijner academische loopbaan gekomen, is mij de gelegenheid welkom U, Hoogleeraren en Lectoren der Medische en der Philosophische Faculteiten, mijne groote erkentelijkheid te betuigen voor het onderwijs, dat ik van U genieten mocht.

In de eerste plaats geldt dit U, Hooggeleerde SPRONCK, Hooggeachte Promotor, ook voor Uwe hulp mij, bij de vervaardiging van dit proefschrift, verleend. Den tijd, dien ik op Uw laboratorium, als assistent, mocht werkzaam zijn, zal ik niet licht vergeten.

Zij het mij vergund, ook U, freule DE NEGRI, die mij steeds met raad en daad hebt bijgestaan, te danken voor uw steun.

En waar hier in dit oogenblik het verleden zich weer helder aan mij vertoont, daar komt gij vooral mij voor den geest, vrienden van vroegeren en lateren tijd. Valete amici !

INLEIDING.

In weerwil van de vorderingen, waarop de bacteriologische wetenschap, in den laatsten tijd, ten opzichte van de aetiologie der wondinfectieziekten, kan bogen, in weerwil ook van de reeds verkregen heugelijke resultaten, ten opzichte van de therapie en de prophylaxe dier ziekten, treedt toch nog steeds, bij een deel der na verwonding optredende infectieuze complicaties, onze machteloosheid duidelijk aan het licht.

Wel is waar kan iedere invasie van pathogene bacterieën onder bepaalde omstandigheden voor een gewonde patient noodlottig worden, maar er bestaan bovendien enkele bacteriesoorten, wier aggressief optreden ons in het bijzonder met schrik vervult.

De klinische ziektebeelden, die door de bedoelde bacterieën veroorzaakt worden, vindt men in de leerboeken, meestal kort samengevat, in drie hoofdstukken, n.l.:

de tetanus,
het maligne oedeem,
de gasphlegmone.

Tegenover de eerste van dit gevreesde drietal echter staan wij gelukkig niet meer volslagen machteloos, sinds het aan v. BEHRING en KITASATO ¹⁾ in 1890 gelukte, om tegen de tetanusinfectie een anti-serum te bereiden, dat — zoo al niet 't eenmaal opgetreden ziekteproces vermag te stuiten — dan toch

¹⁾ Deutsche Med. Wochenschrift, 1890, blz. 1113.

meestal 't uitbreken daarvan kan verhoeden. De prophylaxe tegen de tetanus, die reeds jaren lang met succes is toegepast, bewijst vooral thans, in den tegenwoordigen massa-oorlog, onschatbare diensten.

Aan pogingen, om ook voor de beide andere, minder frequente, maar even boosaardige wondinfectieziekten een specifiek therapeuticum op te sporen, heeft 't in de laatste decennien niet ontbroken. Over de proefnemingen en de resultaten, die door verschillende onderzoekers bij het maligne oedeem zijn verkregen, zal ik eenigzins uitweiden, omdat mijn eigen experimenten met den bacillus phlegmonis emphysematosae van FRAENKEL grootendeels daarop zijn gebaseerd.

In 1898 gelukte het LECLAINCHE ¹⁾, door intraveneuse en subcutane injectie's met verzwakte kulturen van den bacil van het maligne oedeem bij ezels een serum te verkrijgen, 't welk zoodanige eigenschappen bezat, dat de praeventieve sero-therapie bij de proefdieren uitvoerbaar bleek. Mengsels van het immuunserum en het ziekteverwekkende virus deden bij caviae géén ziekteverschijnselen ontstaan, terwijl contrôledieren, die alleen met het virus werden ingespoten, zonder uitzondering succombeerden. LECLAINCHE kon bovendien, bij konijnen, 't effect van een zéker-dodelijke inbrenging van 'n bacteriekultuur verhinderen, door een injectie van zijn serum, verscheidene uren aan de insputing der virulente bacillen te laten voorafgaan. Eenige jaren later werd eveneens door LECLAINCHE ²⁾, in samenwerking met MOREL, door intraveneuse injectie

¹⁾ LECLAINCHE et VALLÉE: Etude comparée du vibron septique et de la bactérie du Charbon symptomatique. Ann. d. l'inst. Pasteur, T. 14, p. 590, 1900.

²⁾ LECLAINCHE et MOREL: La serotherapie de la septicémie gangréneuse, Ann. d. l'inst. Pasteur, I. p. 1, 1901.

van maligne oedeem bacillen, die in bouillon-MARTIN waren gekweekt, een antibacterieel en antitoxisch serum aangetoond.

Een der laatste publicatie's over dit onderwerp is die van A. RAPHAEL en V. FRASEY ¹⁾. Zij toonden de vorming van toxine aan door den bacil van het maligne oedeem en verkregen daarmee een antitoxisch en antibacterieel serum. Zij gebruikten daartoe 24 uur oude bouillon-MARTIN-kulturen. Om 't gif te verkrijgen werd met een goed doorlatende kaars gefiltreerd. Wat de titreering betreft, bleek een konijn van 2 K.G. goed te reageeren. Gemiddeld in 5 minuten werkte 1 c.c.m. filtraat doodelijk; 0,5 c.c.m. in een tijdsruimte van eenige minuten tot eenige uren. Ter verkrijging van een immuunserum werd een paard gebruikt, dat, gedurende ongeveer twee maanden, met 't verkregen filtraat was ingespoten. Over de antitoxische werkzaamheid van het aldus verkregen serum was het volgende vast te stellen: zooals boven reeds is vermeld, veroorzaakte 1 c.c.m. van het filtraat, gebracht in de bloedbaan van een konijn van 2 K.G., den dood van dit proefdier in 5 minuten. Mengde men deze kwantiteit met 0,1; 0,01; 0,001 c.c.m. van het immuunserum (30 minuten contact bij kamertemperatuur), dan was deze dosis absoluut onschadelijk. 0,0005 c.c.m. serum hief de werking slechts gedeeltelijk op. De dood volgde in 1 uur, in plaats van in 5 minuten. Met 0,5 c.c.m. paarden-immuun-serum verkreeg men daarentegen een volkomen werking. De werkzaamheid van het serum tegen injectie met den bacil bleek uit 't volgende: wanneer men onder de huid van een cavia van 500—600 gr. 1 c.c.m. cultuur inspoot, die met

¹⁾ Toxine du vibron septique et antitoxine correspondante. Présentée par M. Roux. Comptes rendus hebdomadaires de l'academie des sciences, Paris 1915, no. 12.

0,1 of 0,01 c.c.m. van het verkregen antitoxische serum gemengd was (contact 30 minuten bij kamertemperatuur), zoo vertoonde 't dier niet de geringste algemeene of plaatselijke stoornis. Verlaagde men de dosis van het serum op 0,005 c.c.m., dan trad de dood in 18 uur op. De proefnemers kwamen tot 't volgende besluit:

1. Met den verwekker van het maligne oedeem, kan men in 24 uur een zeer actief toxine verkrijgen. Dit laat zich in eenige minuten op 't konijn titreeren.
2. De immuniseering van het paard tegen het gif gaat snel en zonder stoornis.
3. Het aldus verkregen serum heeft, ten opzichte van de proefdieren, antitoxische en antiinfectieuze eigenschappen.

ASCHOFF ¹⁾ slaagde erin in den loop van dit jaar een naar zijn oordeel relatief goed werkzaam serum te bereiden tegen zijn „gasoeedeembacil”. Hierover later (blz. 17).

Ofschoon LECLAINCHE reeds in 1898 schreef, „qu'il devient facile d'immuniser à la fois les blessés contre le tétanos et contre la gangrène” kan men toch niet zeggen, dat, bij de behandeling der patienten met maligne oedeem, de tot nu toe gevolgde therapie: multipele incisie's, extirpatie van den ontstekingshaard, toevoer van zuurstof enz., heeft plaats gemaakt voor een prophylactische serumtherapie, zooals wij die bij de tetatusinfectie kennen.

De volgende bladzijden zullen mij, bij de behandeling van de aetiologie van de gasphlegmone, de gelegenheid

¹⁾ L. ASCHOFF: Zur Frage der Aetiologie und Prophylaxe der Gasoeedeme. D. M. W. no. 16 en 17, 1916.

bieden, nader de vraag te overwegen, of de resultaten van RAPHAEL en FRASEY, die op zich zelf beschouwd alleszins de beste verwachtingen ten gunste eener serumtherapie schijnen te rechtvaardigen, nu inderdaad de uitspraak van LECLAINCHE tot waarheid zullen maken.

FRAENKEL, NORRIS, HITSCHMANN en LINDENTHAL en KAMEN zijn de onderzoekers, die getracht hebben tegen de derde der drie door anaërobe bacterieën veroorzaakte wondinfectieziekten, de gasphlegmone, den strijd aan te binden. Uitvoerig zal ik hun resultaten aan mijn pogingen, om, ter bestrijding der gasphlegmone, een prophylactisch en therapeutisch serum te verkrijgen, laten voorafgaan.

Met nadruk wijs ik erop, dat ik mij, bij mijn serologische experimenten tegen de gasphlegmone, heb beperkt tot den bacillus phlegmonis emphysematosae van FRAENKEL, die, in verreweg het grootste deel der gevallen, als de oorzaak van de gasphlegmone wordt aangegeven.

I.

De aetiologie der gasphlegmone.

De gasphlegmone, ook beschreven onder de namen : gasbrand, gangrène foudroyante, gangrène gazeuse, gangraena septica acutissima, progressief gangraeneus emphyseem, sluit zich meestal aan bij gecompliceerde fracturen; vooral bij zulke, waarbij een verontreiniging der wond met stof en aarde heeft plaats gevonden. Vaak ook dient de puerperale uterus als punt van uitgang voor de infectie.

Wat de litteratuur uit den vóórbacteriologischen tijd ons hieromtrent meedeelt, moet met veel omzichtigheid beoordeeld worden, daar zeker niet alle onder den naam van gangrène foudroyante en synonieme namen beschreven klinische gevallen onder het ziekteproces, dat wij thans de gasphlegmone noemen, gerangschikt kunnen worden. Immers niet alle infectieuze processen, waarbij gasproductie plaats heeft, kunnen tot deze categorie gebracht worden en het is voldoende gebleken, dat de klinische waarneming alléén niet in staat is een scherpe grens te trekken. In overeenstemming hiermee is de naam : gasphlegmone, van den clinicus, dan ook voor den bacterioloog een soort verzamelnaam, waarbij het bacteriologisch onderzoek de differentieel-diagnose moet stellen.

Volgens GURLT ¹⁾ is Roux in 1829 de eerste geweest, die een geval van typische gasphlegmone beschreven

¹⁾ GURLT: Handbuch der Lehre von den Knochenbrüchen, Berlin, 1862.

heeft. Behalve dit verzamelt GURLT, uit de litteratuur tot 1869, nog 15 andere gevallen, waarin sprake is van beenverwondingen, die „brand” en emphyseem ten gevolge hadden.

Roux zag een patient met een fractuur van de rechter fibula, tengevolge van een val. 't Gewrichts-uiteinde van de tibia kwam door een wond, die bij den malleolus internus gelegen was, te voorschijn. De voet was geheel naar buiten geluxeerd. Emphyseem ontstond op onder- en bovenbeen. Na vijf dagen trad exitus in.

Als tweede noemt GURLT: VELPEAU, die in de gelegenheid was zeven gevallen waar te nemen, welke alle zeer op elkander gelijken. Daarop volgen twee gevallen van MARTIN DE BAZAS, en van CALSON, MALGAIGNE, CHASSAIGNAC, HUGUIER, DEMARQUAY en RABOUT, en NÉLATON ieder één geval.

MAISONNEUVE ¹⁾ nam de volgende gevallen waar:

1°. In aansluiting aan een gecompliceerde fractuur van den rechter arm, ontwikkelde zich in den loop van 36 uur gangraen van den arm en een emphyseem, dat tot den schouder reikte. Na amputatie volgde genezing.

2°. Een 28 jarige man viel, en brak zijn bovenbeen. Den volgenden morgen was emphyseem ontstaan tot aan de inguinaalstreek. Diepe insnijdingen werden gedaan, waarbij uit de doorgesneden venen talrijke gasblazen te voorschijn kwamen. In den volgenden nacht stierf de patient. Bij de na 28 uur verrichtte obductie bleken alle vaten met gas gevuld te zijn.

PIROGOFF ²⁾ gaf in 1864 een uitvoerige beschrijving van het klinische beeld der gasphlegmone, waardoor

¹⁾ Gaz. Méd. de Paris, 1853, no. 38, pag. 592.

²⁾ PIROGOFF: Grundzüge der allgemeinen Kriegschirurgie, pag. 1006, Leipzig 1864.

hij ons een fraaie kijk geeft op het inzicht, dat in die dagen in het wezen dezer ziekte bestond. Om niets te verminken van deze beschrijving, laat ik ze hier woordelijk volgen :

„Ich unterscheide zwei Formen des mephitischen
 „Brandes. In beiden kommt die Blutvergiftung wahr-
 „scheinlich durch die Aufnahme der deleteren
 „Gase in die Blutmasse zu stande. Der primaire
 „mephitisch-traumatische Brand erscheint schon
 „in den ersten zwei Tagen nach der verletzung.
 „Es geht ihm weder eine bedeutende primaire
 „traumatische spannung, noch eine acute brandige
 „Infiltration voraus. Der verletzte Theil erholt
 „sich gar nicht nach der Erschütterung, es tritt
 „auch keine Reaction ein, sondern der traumatische
 „Localstupor geht unmittelbar in den mephitischen
 „Brand über. Die praedominirende Erscheinung
 „ist eine rasche Gasentwicklung. Es wird nicht
 „allein die vom Brande ergriffene dunkel violett
 „gefärbte Partie emphysematös, sondern die Gas-
 „entwicklung verbreitet sich rasch auch auf den
 „benachbarten, mit der gesunden Haut bedeckten
 „Theil des Gliedes; sie hebt sich wie ein Kissen
 „auf, Emphyseem und Crepitation schreiten unter
 „den Augen und Fingern des Beobachters unauf-
 „haltsam fort. Der Kranke collabirt, klagt aber
 „über keinen Schmerz. Die in's Gelbliche spielende
 „Blässe des Gesichtes, der kalte Schweiss an der
 „Stirne, der ermattete Blick, ein kleiner zitternder,
 „jagender Puls und schluchzen zeigen das der
 „Tod nahe ist.

„Maisonnette beobachtete zwei Fällen von
 „mephitischen Brande (am unterschenkel und am
 „vorderarme) beim Einschnitte in den emphyse-
 „matösen Theil, noch am Leben des Kranken das

„Austreten der Gasblasen aus den venen. In einem
 „Falle fasste er die öffnung in der aufgeschnit-
 „tenen Vena Saphena mit 2 Pinzetten, um diese
 „Erscheinung besser zu beobachten. In einem an-
 „deren, bei Brand am Vorderarme, amputirte er
 „und sah deutlich die Gasblasen aus den grossen
 „venen aufsteigen. Der Kranke war gerettet. Roser,
 „der diese beiden Fälle citirt, meinte, dass die der
 „Physiologiekundigen Leser zu Maisonneuve's The-
 „orie, von der Mischung der Gasblasen mit dem
 „circulirenden Blute „den Kopf schütteln“ werden.
 „Er glaubt, dass das gas in diesen Fällen „theils aus
 „den sequestrirten venen räumen, theils aus dem
 „Zellgewebe neben den venen gekommen sei“....

„Ob die Quelle des mephitischen Brandes in
 „der Zersetzung des Fettes und des eiweisshaltigen
 „Knochenmarkes zu suchen sei, wie das Gosselin
 „meint, ist nicht ausgemacht, aber in vielen
 „Fällen von Schussfracturen wahrscheinlich. Nicht
 „allein in den Keilbrüchen, sondern auch in den
 „gewöhnlichen Comminutiven Schussbrüchen fin-
 „det man in dem Knochenkanal die zertrümmerten
 „Knochenstücke eingekeilt, das Knochenmark zer-
 „quetscht, verflüssigt; es fault sehr schnell von
 „der Berührung mit der Luft und gibt einen un-
 „erträglichen aashaften Gestank. Es ist also sehr
 „wohl an zu nehmen, dass das Knochenmark in
 „diesem Zustande die Entwicklung der mephitischen
 „Gase und Blutvergiftung befördert. Meistentheils
 „bildet sich der mephitische Brand wirklich nach
 „den comminutiven Fracturen. Indessen spricht
 „seine eben so rasche Bildung des Mephitismus
 „nach Amputationen, wie ich das in Kaukasus
 „gesehen habe, dafür, dass die Quelle desselben
 „auch anderswo gesucht werden muss.

„Die andere Form des mephitischen Brandes
 „und der Septikämie bildet sich erst nach einer
 „voraus-gegangenen Reaction. Es geht ihr, wie
 „ich schon oben erwähnte, der Localstupor mit
 „der entzündlichen Physiognomie voraus. Die er-
 „schütterten Theile werden zuerst von einer acut.
 „serösen Infiltration durchfeuchtet. Nach dem
 „Einschnitt in den brandigen Theil kommt ebensoviel
 „Gas als brandige stinkende Flüssigkeit. Die Gas-
 „bläschen sind mit dieser Flüssigkeit gemischt
 „und fein vertheilt. Die Fortschritte des Brandes
 „sind hier weniger rasch. Auch in diesen Fällen
 „findet man auch nach dem Tode das Blut in
 „den grossen Gefässen verflüssigt, die Blutgerinsel
 „weich und zerreibbar, die Lunge und die Leber
 „mit einer braunlichem, schaumigen übelriechen-
 „den Flüssigkeit imbibirt.”

Over de oorzaken der gasvorming in de weefsels waren de meeningen langen tijd verschillend. Sommigen hielden het gas voor atmosferische lucht, die door 't trauma in de weefsels geraakt was (VELPEAU¹⁾). GURLT²⁾ meende, dat tengevolge van de inwerking van het geweld de innervatie lokaal zou worden opgeheven en door een snelle ontleding een gas uit de weefsels zou worden gevormd. Anderen hielden 't gas voor een omzettings-product van het uit de vaten uitgetreden bloed (MAISONNEUVE).

GUSSENBAUER³⁾ opperde het eerst het denkbeeld, dat er bij het gangrène foudroyante (MAISONNEUVE) sprake

¹⁾ Zie GURLT l. c.

²⁾ GURLT: Handbuch der Lehre von den Knochenbrüchen, Berlin, 1862.

³⁾ GUSSENBAUER: Septämie, Pyohämie und Pyoseptämie. Deutsche Chirurgie, Lieferung 4, blz. 135, 1880.

kon zijn van een infectieziekte, van een indringen van rottingsorganismen, die in de gekwetste weefsels de gasvorming zouden veroorzaken.

Zooals ik reeds aanduidde, kan men er thans niet meer aan twifelen, dat de aetiologie van de in den vóórbacteriologischen tijd vermelde gevallen van gasphlegmone niet één enkele is, doch dat deze niet bacteriologisch onderzochte gevallen zijn op te vatten als wondinfectie's, verwekt door verschillende soorten van micro-organismen. De pogingen om de aetiologie op te helderen zijn in den beginne waarschijnlijk gestuit op de moeilijkheden aan de techniek der anaërobe kweeking verbonden.

Groote verdiensten, door het ontsluieren van de aetiologie van vele gevallen van gasphlegmonen, hebben E. FRAENKEL, WELCH, HITSCHMANN en LINDENTHAL, STOLZ, VON HIBLER, ALBRECHT e. a. verworven.

Men was langen tijd geneigd, den bacil van het maligne oedeem te houden voor den hoofdverwekker der gasphlegmone. Met hem trad echter in concurrentie de bacillus phlegmonis emphysematosae, waarop de opmerksaamheid der onderzoekers vooral gevestigd werd door een monographie van E. FRAENKEL.

In 't jaar 1892 werd door de Amerikanen WILLIAM H. WELCH en GEORGE H. F. NUTTAL¹⁾ een bacillus beschreven, door hen bacillus aërogenes capsulatus genoemd.

Onafhankelijk van hen beschreef PAUL ERNST²⁾ in

¹⁾ W. H. WELCH en G. H. F. NUTTAL: A Gas-producing bacillus capable of rapid development in the blood-vessels after death. The Johns Hopkins Hospital Bulletin, no. 24, 1892.

²⁾ P. ERNST: Ueber einen gasbildenden Anaëroben im menschlichen Körper und seine Beziehung zur „Schaumleber“ Virchows Archiv, Bd. 133, blz. 308, 1893.

1893 een bacil, die hij verantwoordelijk stelde voor 't ontstaan der zoogenaamde „schuimorganen". In 't zelfde jaar 1893 leverde E. FRAENKEL ¹⁾ in zijn bovengenoemde monographie, aan de hand van een viertal gevallen van gasphlegmone, het bewijs, dat deze ziekte door een onbeweeglijke anaërobe bacil veroorzaakt wordt, waaraan hij den naam geeft van bacillus phlegmonis emphysematosae. C. GOEBEL ²⁾, die in de gelegenheid was onder contrôle van E. FRAENKEL uitvoerige onderzoekingen te doen met bacillenstammen, afkomstig van drie gevallen van schuimorganen, komt tot de conclusie, dat de bacillen door WELCH en ERNST beschreven, waarschijnlijk identiek zijn met den bacillus phlegmonis emphysematosae van FRAENKEL. WELCH ³⁾ zoowel als FRAENKEL ⁴⁾ komen, vooral na de publicatie's van GOEBEL, tot de slotsom, dat beide bacillen, n.l. de door WELCH—ERNST in schuimorganen gevondene en de door FRAENKEL als verwekker der gasphlegmone aangetoonde, in ieder opzicht zoowel morphologisch en kultureel als ook ten opzichte hunner dierpathogeniteit, als volkomen identiek zijn te beschouwen.

Na WELCH, ERNST en FRAENKEL is de bacillus phlegmonis emphysematosae niet alleen bij gevallen van gasphlegmone, maar ook bij talrijke andere afwijkingen zoowel in vivo als in cadavere gevonden en gekweekt. Zoo b.v. uit schuimorganen

¹⁾ E. FRAENKEL: Ueber Gasphlegmone. Hamburg u. Leipzig, L. Voss, 1893.

²⁾ C. GOEBEL: Ueber den bacillus der „Schaumorgane". Centralblad für Alg. Pathol. und Pathol. Anat., Bd. VI, no. 12/13, 1895.

³⁾ WELCH: Morbid conditions caused by bacillus aërogenes capsulatus. Johns Hopkins Hospitalbulletin, no. 114, blz. 182, Sept. 1900.

⁴⁾ E. FRAENKEL: Ueber Gasphlegmone, Schaumorgane und deren erreger. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, 1902.

(GOEBEL ¹⁾, WELCH en FLEXNER ²⁾, NORRIS ³⁾ e. a.); bij puerperaal-infectie's en ziekten van de vrouwelijke genitaalorganen (GRAHAM, STUART en BALDWIN ⁴⁾, MENGE en KRÖNIG ⁵⁾, DOBBIN ⁶⁾, LINDENTHAL ⁷⁾, WOOD ⁸⁾, NORRIS ⁹⁾ e. a.); bij processen uitgaande van den darmtractus en de urinewegen (WELCH en FLEXNER ¹⁰⁾, WILLIAMS ¹¹⁾, NICHOLLS ¹²⁾, PRATT en FULTON ¹³⁾, v. HIBLER e. a.); bij long- en pleura-afwijkingen (NICHOLLS ¹²⁾, RENDU en RIST ¹⁴⁾; bij aanwezigheid van gascysten in de hersenen (HOWARD ¹⁵⁾, REULING en HERRING ¹⁶⁾; in gevallen van infectie van het corpus

¹⁾ C. GOEBEL: Ueber den bacillus der „Schaumorgane“. Centralblad f. Alg. Pathol. und Pathol. Anat., Bd. VI, no. 12/13, 1895.

²⁾ WELCH en FLEXNER: Observations concerning the bac. aërog. caps. The journal of experimental medicine, 1896, I. p. 5.

³⁾ CH. NORRIS: A report of four cases, from wick the bac. aërogenes was isolated in culture. Medical record, 1898, March 5, pag. 351.

⁴⁾ GRAHAM, STUART en BALDWIN: Columb. Med. Journ. XII, p. 55, 1893. Gecit. volgens Welch 1900, l. c.

⁵⁾ MENGE en KRÖNIG: Gecit. volgens Welch 1900, l. c.

⁶⁾ DOBBIN: Puerperal sepsis due to infection with the bacillus aërog. capsulatus. Bullet. of the Johns Hopkins Hospital 1897, VIII. p. 24.

⁷⁾ LINDENTHAL: Bakteriologische Befunde bei Tympania uteri. Wien. Klin. Wochenschr. 1897, p. 1109.

⁸⁾ F. C. WOOD: Puerperal infection with the bacillus aërogenes capsulatus. Medical record, Bd. 55, pag. 535, 1899.

⁹⁾ NORRIS, l. c.

¹⁰⁾ WELCH en FLEXNER, l. c.

¹¹⁾ WILLIAMS: The bacillus aërogenes capsulatus in a case of suppurative pyelitis. Bullet. of the Johns Hopkins Hospital, 1896, Bd. 7, p. 66.

¹²⁾ NICHOLLS: Brit. m. Journ., 1897, Bd. II, pag. 1844. Gecit. volgens Welch, 1900, l. c.

¹³⁾ PRATT en FULTON: Report of cases in wick the bacillus aërogenes capsulatus was found. Boston. med. and surg. Journ. June 7, 1900. Gecit. volgens referaat. Medical Record 1900, vol. 57, blz. 1042.

¹⁴⁾ RENDU en RIST: Gecit. volgens Welch 1900, l. c.

¹⁵⁾ W. T. HOWARD: Johns Hopkins Hospital bulletin, April 1899, no. 97, blz. 66.

¹⁶⁾ R. REULING en A. P. HERRING: Cavities in the brain produced by the bacillus aërogenes capsulatus. Johns Hopkins Hospital bulletin, no. 97, April 1899.

vitreum (CHAILLONS ¹⁾, BENEDETTI ²⁾; ook in het bloed in een geval van endocarditis (GWIJN ³⁾).

VEILLON en ZUBER ⁴⁾ beschreven in eenige gevallen van appendicitis een bacil, door hen genoemd den bacillus perfringens, die identiek is met den bacillus phlegm. emph. De naam bacillus perfringens wordt sindsdien door de Fransche schrijvers gebruikt.

Hoewel FRAENKEL ⁵⁾ in zijn monographie betoogt, dat, de aetiologie der gevallen, die klinisch te rekenen zijn tot de als gasphlegmone, septisch emphyseem etc. betitelde ziektebeelden, een wisselende is, zoo meent hij in een latere publicatie ⁶⁾, dat als gewichtigste en meest voorkomende oorzaak der gasphlegmone de WELCH-FRAENKELSche bacil is te beschouwen en dat er tot nu toe geen bewijs aanwezig is, dat een andere bacil, zooals b.v. de bacil van het maligne oedeem, een anatomisch en klinisch ziektebeeld bij den mensch zou kunnen verwekken gelijk aan dat van de gasphlegmone. In 1915 bericht FRAENKEL ⁷⁾ echter, dat in twee gevallen waarbij 't uitgesproken beeld van gasphlegmone bestond, niet de WELCH-FRAENKELSche bacil, maar een beweeglijke anaërobe bacil werd gevonden, die hij voor identiek of bijna identiek houdt met die

¹⁾ CHAILLOUS: Annales d'oculistique, T. 134, Aug. 1905.

²⁾ BENEDETTI: Referaat klin. monatsbl. f. augenheilk., 1908, blz. 192—193.

³⁾ GWIJN: Johns Hopkins Hospit. bullet., 1899, bd. 10, p. 134.

⁴⁾ VEILLON et ZUBER: Recherches sur quelques microbes strictement anaërobies et leur rôle en Pathologie. Archives de médecine expérimentale, 1898, Bd. 10, p. 517.

⁵⁾ E. FRAENKEL: Ueber Gasphlegmone. Hamburg u. Leipzig. L. Voss, 1893, blz. 53.

⁶⁾ E. FRAENKEL: Ueber Gasphlegmone, Schaumorgane und deren Erreger. Zeitschr. f. Hyg., 1902, Bd. 40, pag. 73.

⁷⁾ E. FRAENKEL: Ueber Malignes Oedeem. Beiträge zur Klinik der infectionskrankheiten und zur Immunitätsforschung. Bd. IV, Heft 2, p. 129.

van het maligne oedeem van KOCH. Hij besluit daaruit, dat soms het klinisch beeld van de gasphlegmone door infectie met oedeem bacillen kan worden veroorzaakt en dat voor de diagnose van een geval van gasphlegmone of maligne oedeem slechts het bacteriologische onderzoek uitsluitsel geeft.

HITSCHMANN en LINDENTHAL ¹⁾ houden meerdere micro-organismen voor de oorzaak der gasphlegmone n.l.:

1. de door WELCH en FRAENKEL beschreven bacil.
2. de bacil van het maligne oedeem.
3. het bacterium vulgare (HAUSER).
4. het bacterium coli commune (dit alleen bij lijders aan diabetes).

STOLZ ²⁾ meent, dat de WELCH-FRAENKELSche gasbacil in de aetiologie der gasinfectie's de hoofdrol speelt. Volgens hem is hij zonder twijfel de verwekker κατ'ἐξοχήν van gasphlegmonen en gasabscessen. Als zeldzame vondst zou een naverwante soort voorkomen n.l. een anaërobe beweeglijke boterzuurbacil, die door WICKLEIN in drie, door hem zelf in één geval is waargenomen. Hij trekt in twijfel of als verwekker van gasphlegmone de vroeger algemeen als zoodanig erkende bacil van het maligne oedeem nog in aanmerking komt. Van de aërobe bacillen vermeldt hij nog het bacterium vulgare (HAUSER) en de coli- en paracolibacillen. Het vermogen der laatstgenoemden, om gasinfectie's te verwekken, zou volgens hem niet gebonden zijn aan het diabetische organisme.

Andere onderzoekers en daaronder schrijvers van

¹⁾ HITSCHMANN und LINDENTHAL: Ueber die Gangrène foudroyante. Sitzungsberichte der Kais. Akad. der Wissensch. in Wien Mathem.-Naturw. classe, Bd. 108, Abt. 3, März 1899, blz. 189.

²⁾ A. STOLZ: Die Gasphlegmone des Menschen. Bruns Beiträge zur Klin. Chirurg., Bd. 33, 1902, blz. 131.

zeer recenten datum, hellen belangrijk over naar de aannahme van den bacil van het maligne oedeem, of ten minste van nauw verwante vormen, voor mogelijke aetiologie der gasphlegmone.

Zoo beschrijven GÖHN en SACHS ¹⁾ een bacil, dien zij gekweekt hadden uit een geval van gasgangraen. Aanvankelijk waren zij in twijfel of zij met een geheel nieuwe soort te doen hadden, maar neigden toch er toe over om hem te identificeeren met den bacil van het maligne oedeem van KOCH. Na verder onderzoek ²⁾ komen zij tot de volle overtuiging een repraesentant van den bacil van het maligne oedeem van KOCH voor zich te hebben.

VON HIBLER ³⁾, die dezen bacil in zes gevallen, waaronder enkele van gasphlegmone, kon aantoonen, was echter in staat, om — door zorgvuldige vergelijking van den geïsoleerden bacil met de van Kral in Praag verkregen oorspronkelijke stam van GÖHN-SACHS aan de eene zijde en den bacil van het maligne oedeem van KOCH aan de andere zijde — de specificiteit van de GÖHN-SACHSSCHE bacillus aan te toonen.

CONRADI en BIELING ⁴⁾ hebben tijdens den huidige oorlog in 53 gevallen van gasphlegmone een bacil gekweekt, dien zij stellen tusschen den bacil van het maligne oedeem en den „rauschbrandbacil” en aan wien zij den naam geven van *bacillus sarcemphysematodes hominis*.

¹⁾ GÖHN und SACHS: Beiträge zur kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. II Zur Aetiologie des Gasbrandes. Centralbl. f. Bakt. etc. 1 Abt. Orig., Bd. 34, 1903, blz. 289—311, 393—406, 481—488 en 609—614, 1903.

²⁾ GÖHN und SACHS: Centralbl. f. Bact. etc. 1 Abt. Orig. Bd. 36, blz. 182, 183, vergl. blz. 196 en 197, 1904.

³⁾ E. VON HIBLER: Untersuchungen über die pathogenen Anaëroben etc. Gustav Fischer Jena, 1908.

⁴⁾ CONRADI en BIELING; Zur Aetiologie und Pathogenese des Gasbrands. Munch. Med. Wochenschr., no. 4 en 5, 1916.

FRAENKEL ¹⁾ stelt voor, de door CONRADI en BIELING bestudeerde ziektegevallen op te vatten als gevallen van „menschelijke rauschbrand.” ASCHOFF ²⁾ houdt de door hen gekweekte bacillen identiek met zijn gevonden verwekker van gasoedeem. Tegelijkertijd merkt ASCHOFF op, dat er niet voldoende zekere onderscheidingsteekenen bekend zijn tusschen de verschillende oedeembacillen en de rauschbrandbacillen. Zoo zou n.l. een hem toegezonden rauschbrandbacillenkultuur hersenbrei zwart kleuren en daarmee zou dus een werkelijk onderscheidingsteeken tusschen oedeem- en rauschbrandbacillen, zooals VON HIBLER het, noodig acht, weg vallen.

In een groot aantal gevallen van wondinfectieziekten, (in 't geheel 150 gevallen, waaronder 34 gevallen zeer nauwkeurig onderzocht), die nu eens meer onder 't beeld van maligne oedeem, dan weer meer onder 't beeld van gasgangraen verliepen, heeft ASCHOFF ²⁾ steeds denzelfden verwekker vastgesteld. De door hem gevonden bacil houdt hij 't dichtst verwant aan den bacil van GOHN-SACHS, die men volgens ASCHOFF als echte bacillen van het maligne oedeem van KOCH moet beschouwen.

Zijn bacil rangschikt hij als „gasoedeembacil” tusschen den rauschbrandbacil en den bacil van het maligne oedeem. Daar ASCHOFF aantoonde, dat de verwekkers van het gasoedeem zich in vivo bijna nergens anders bevonden dan in de wonden of hun naaste omgeving, trok hij daaruit de conclusie, dat de dood 't gevolg zou zijn van een toxinaemie. 't Gelukte hem dan ook,

¹⁾ E. FRAENKEL: Kritisches ueber Gasgangraen. Munch. med. Wochenschr., no. 13, 1916.

²⁾ L. ASCHOFF: Zur Frage der Aetiologie und Prophylaxe der Gas-oedeme. Deutsche Med. Wochenschr., no. 16 en 17, April 1916.

bij de door hem geïsoleerde bacillen, zoowel een endo- als een ektotoxine aan te toonen. Het toxine heeft een zwak-haemolytische eigenschap voor roode bloedlichaampjes van mensch en rat. Verder verkreeg ASCHOFF, door injectie bij een paard en een rund met bouillonkulturen van de genoemde bacillen, een bij dierexperiment relatief goed werkzaam antitoxisch serum.

In een uitgebreide studie heeft VON HIBLER ¹⁾, die een groot aantal soorten van anaërobe microorganismen verzamelde, waaronder verschillende stammen afkomstig van gasphlegmonen bij den mensch, deze zeer nauwkeurig beschreven, zoowel hun morphologische en biologische eigenschappen in het dierenlichaam, hun verschillende reactie's ten opzichte der voedingsbodems, hun pathogeniteit, alsook de veranderingen in de organen en weefsels, die onder inwerking dezer pathogene microben ontstonden. Op deze wijze zijn 15 soorten nader gedifferentieerd. Hij beschrijft o. a. als soort XI een bacil, door hem gevonden in de bloederige oedeemvloeistof van het celweefsel der linkerhand, in het spiersap van den linker benedenarm, alsook in de miltpulpa van het lijk van een 47 jarigen man, die, in aansluiting aan een gecompliceerde luxatie van de ulna en fractuur van den radius, een gasphlegmone kreeg en vijf dagen na het trauma overleed.

De niet pathogene *bacillus cadaveris sporogenes* werd door KLEIN ²⁾ in 1899 als rottingsverwekker in lijken

¹⁾ E. VON HIBLER: Untersuchungen ueber die pathogenen Anaëroben, ueber die anatomischen und histologischen veränderungen bei den durch Sie bedingten Infectionserkrankungen des Menschen, sowie der Tiere und ueber einige nicht pathogene Anaërobenarten. Jena, G. Fischer, 1908.

²⁾ KLEIN: Ein Beitrag zur Bakteriologie der Leichenverwesung. Centralbl. f. Bakt. etc. 1 Abt. Orig. Bd. 25, 1899, blz. 278.

aangetoond. Door VON HIBLER ¹⁾ werd deze bacil, naast staphylo- en streptococcen, als eenige anaërobe bacillensoort uit de sanguinolente onderhuidsche weefselvloeistof van het linker bovenbeen van een 19 jarigen man gekweekt. Er bestond in dit geval gasphlegmone van de weeke deelen van het linker been, die was opgetreden tegelijk met een etterige phlegmone, na een gecompliceerde fractuur van het onderbeen.

Met een enkel woord zij melding gemaakt van eenige bacillensoorten, die in de litteratuur als verwekkers der gasphlegmone worden vermeld, doch wier identiteit niet goed is vast te stellen, omdat daarvoor meer eigenschappen zouden moeten bekend zijn, dan door de schrijvers worden gegeven.

Zoo vermeldt STOLZ ²⁾ een geval, dat blijkens het typische klinische beeld — n.l. snel voortschrijdend en snel tot den dood voerend weefselgangraen, met bronsachtige verkleuring der huid en gasvorming in de weefsels, — zonder twijfel gebracht moet worden tot de als „gasphlegmone” betitelde wondinfectieziekten. In dit geval bestond er een menginfectie, vooral met sterk virulente staphylococcen. Met den in dit geval gevonden bacil gelukte het echter niet, bij proefdieren, experimenteel gasphlegmone op te wekken. STOLZ meent dan ook, dat deze gasbacil op zich zelf niet in staat zou zijn geweest een gasphlegmone in genoemd geval te veroorzaken, maar schrijft haar de gasontwikkeling in de weefsels toe, omdat het organisme reeds verzwakt was door de aanwezigheid der staphylococcen. STOLZ identificeert zijn gevonden bacil met den bacillus emphysematis maligni van WICKLEIN. De

¹⁾ VON HIBLER: l. c.

²⁾ STOLZ: l. c.

bacillus emphysematis maligni, door WICKLEIN ¹⁾ in gevallen van gasphlegmone gevonden, bezit echter 't vermogen gelatine te doen vervloeien, terwijl de bacil van STOLZ dit in 't geheel niet doet. Ook bestaat groot verschil in de dierpathogeniteit, ofschoon dit laatste verschil, met 't oog op het snelle afnemen in virulentie van den WICKLEINSCHEN bacil, eenigszins in het midden moet worden gelaten. WICKLEIN beschouwde zijn gevonden bacil in den beginne identiek met dien van het maligne oedeem van KOCH; vatte hem echter later op als een nieuwe species.

E. FRAENKEL ²⁾ identificeert den *bacillus emphysematis maligni* van WICKLEIN met dien van het maligne oedeem. VON HIBLER ³⁾ echter zegt, dat, wanneer men in de beschrijvingen van WICKLEIN, de opgaven over vervloeiing van serum achterwege laat, er aan den eenen kant veel is te zeggen voor een identificeering met den *bacillus phlegmonis emphysematosae*, aan den anderen kant ook met den GHON-SACHSSCHEN bacil. Zijn de opgaven over serumvervloeiing echter juist, dan zou de *bacillus emphysematis maligni* (WICKLEIN) in de eerste plaats met zijn soort XI, in de 2^{de} plaats met den *bacillus oedematis maligni* (KOCH) te identificeeren zijn.

Ten slotte noem ik nog de aërobe micro-organismen, die, volgens enkele auteurs, gasphlegmone zouden kunnen verwekken n.l. het *bacterium coli* en het *bacterium vulgare* (HAUSER) beschreven door CHIARI, v. DUNGERN, BUNGE, KLEMM, HITSCHMANN en LINDENTHAL, GRASSBERGER, MUSCATELLO en anderen.

¹⁾ E. WICKLEIN: Drei Fälle von Gas-gangraen. Virchow's Archiv, Bd. 125, 1891, blz. 75.

²⁾ E. FRAENKEL: Monographie, blz. 52, 1893.

³⁾ VON HIBLER: l.c., blz. 134.

De gevallen, beschreven door CHIARI ¹⁾, HITSCHMANN en LINDENTHAL ²⁾ en MUSCATELLO ³⁾, zijn 'gevallen van gasphlegmone, waarbij bacteriologisch gevonden werden: de bacillus coli en streptococceen.

VAN DUNGERN ⁴⁾ en BUNGE ⁵⁾ vonden bij de door hen beschreven gevallen van gasphlegmone: bacillus coli, bacterium vulgare (HAUSER) en coccen.

GRASSBERGER ⁶⁾ vermeldt een geval van gasphlegmone, waarbij hij bacterium vulgare (HAUSER) en streptococceen kweekte.

Resumeerende, leeren ons de resultaten der verschillende bacteriologische onderzoeken:

1°. dat wij ten onrechte een scherpe grens hebben getrokken tusschen het maligne oedeem en de gasphlegmone. Vooral de talrijke gevallen, door ASCHOFF onderzocht, — waarbij bacillenstammen, die kultureel, noch morphologisch, noch in eenig ander opzicht van elkander waren te onderscheiden, in het eene geval een klinisch beeld van maligne oedeem, in 't andere, dat van gasphlegmone hadden gegeven — pleiten zéér voor de opvatting, dat omstandigheden in den hospes

¹⁾ CHIARI: Zur Bakteriologie des septischen Emphyseem. Prager Med. Wochenschr., 1893, blz. 1. Gecit. volgens Stolz.

²⁾ HITSCHMANN und LINDENTHAL: Ueber die Gangrène foudroyante. Sitzungsbericht der Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien, Mathem.-Naturw. klasse, Bd. 108, Abt. 3. März 1899, blz. 67.

³⁾ MUSCATELLO en GANGITANO: Ueber die Gas-gangrean. Munch. Med. Wochenschr., 1900. no. 38.

⁴⁾ v. DUNGERN: Ein Fall von Gasphlegmone unter betheiligung des Bacterium coli. Munch. Med. Wochenschr., 1893, blz. 747.

⁵⁾ BUNGE: Zur Aetiologie der Gasphlegmone. Fortschritte d. Medicin, Bd. 12, blz. 533, 1894.

⁶⁾ GRASSBERGER: Ein Fall von Gasphlegmone. Jahrbuch der Wiener Krankenanstalten, Bd. 5, II Teil, blz. 370.

de oorzaak kunnen zijn van de verschillende levens-uitingen van het micro-organisme: in 't eene geval bestaande in gasproductie, in 't andere in de productie van stoffen, die op hunne beurt in den hospes het ontstaan van oedeem veroorzaken.

2°. dat het ons voorshands onmogelijk is een definitieve uitspraak te doen, ten opzichte der identiteit der verschillende gevonden micro-organismen in gevallen van gasphlegmone en maligne oedeem. Wel staat vast, dat sommige tot geheel afzonderlijk staande groepen behorende organismen, onder zekere omstandigheden, een dezer beelden kunnen verwekken: n.l. bacterium vulgare (HAUSER) en bacterium coli.

Ten opzichte der al- of niet-identiteit van den bacil van het maligne oedeem van KOCH, den bacil van GHON-SACHS, den bacil van WICKLEIN, den gas-oedeem-bacil van ASCHOFF, en den bacillus sarcemphysematodes hominis van CONRADI en BIELING, is een strijd gaande, wiens beslechting ons de serologische proefnemingen misschien brengen kunnen. In de mogelijke niet-identiteit dezer stammen zou immers den grond gevonden kunnen worden van het falen, tot op den huidige dag, der LECLAINCHE'sche uitspraak, die ik in mijn inleiding aanhaalde. Mochten al deze stammen identiek blijken, dan zal men zich, voor een deel, kunnen wapenen tegen het maligne oedeem en de gasphlegmone. Tegen het bacterium vulgare (HAUSER), het bacterium coli, — en anderen wellicht — blijven wij ook dan nog machteloos.

3°. dat nog steeds de bacillus phlegmonis emphysematosae van WELCH-ERNST-FRAENKEL een afzonderlijke plaats is blijven innemen en wel hoofdzakelijk door zijn totaal gemis aan eigenbeweging.

II.

Vroegere proefnemingen.

In 1893 bericht E. FRAENKEL ¹⁾ in zijn monographie over pogingen om in kulturen van den bacillus phlegmonis emphysematosae een toxine aan te toonen. Hij doodde de bacillen door kookken of ook door chloroform en bracht deze gedooide bacillen onder de huid van de voor gasphlegmone zoo gevoelige caviae. Echter zonder eenig gevolg. Evenmin waren aldus gedooide bacillen in staat, om dieren tegen een doodelijke infectie met virulente levende kulturen te behoeden. Ook maakte het eenmaal doorstaan van een kunstmatig opgewekte gasphlegmone caviae geenszins onvatbaar tegen verdere infectie.

In 1898 bereikt NORRIS ²⁾ in zijn pogingen tot toxinebereiding eenig resultaat met gefiltreerde suikerbouillon-kulturen, die twee weken oud waren. Terwijl deze bij konijnen, intraveneus ingebracht, slechts een lichte voorbijgaande stoornis verwekten, veroorzaakten ze bij caviae, de een subcutaan, een ander intraperitoneaal geïnjecteerd, sterke daling der temperatuur, met algemeene teekenen van ziek zijn: steil opstaan der nek- en schouderharen; pijnlijkheid van de plek van injectie en slaan met de pooten. In 20 uur waren de dieren hersteld.

¹⁾ E. FRAENKEL: Monographie, 1893, blz. 47.

²⁾ CHARLES NORRIS: A report of four cases from which the bacillus aërogenes was isolated in culture. Medical record, March 5, 1898, blz. 351.

HITSCHMANN en LINDENTHAL (1899)¹⁾ als ook KAMEN (1904)²⁾ kwamen tot 't resultaat, dat nooit ergens een reactie op te wekken was met gedooide kulturen van den bacillus phlegmonis emphysematosae, noch met kultuurfiltraten. De sanguinolente toestand van het exsudaat deed KAMEN een haemolytisch gift vermoeden. Uit kultuurfiltraten van een acht dagen oude suikerbouillon kultuur verkreeg hij inderdaad een haemolysine, dat bij verschillende proeven in wisselende mate aanwezig was en bij langer bewaren langzamerhand onwerkzaam werd.

Proefnemingen van FRAENKEL (1902)³⁾ wijzen er op, dat er, tegen den bacillus phlegmonis emphysematosae, tenminste een zekere graad van immuniteit te bereiken is. Bij een hond n.l. werden, in den loop van 10 weken, 60 c.c.m. kultuursuspensie intraperitoneaal ingespoten. Toen dit dier, 5 weken na de laatste injectie, een subcutane inspuiting van 5 c.c.m. kultuursuspensie van een sterk-virulente kultuur van den gasbacillus verkreeg, ontwikkelde zich slechts een klein, omschreven, snel-verdwijnend infiltraat, terwijl bij een contrôlehond, van denzelfden worp, het karakteristieke beeld van de gasphlegmone optrad. Een tweede inspuiting bij den eersten hond verliep met 't zelfde resultaat.

Met 't serum van dezen hond deed FRAENKEL proeven bij caviae. Als resultaat van een eerste proef verkreeg hij, dat bij caviae, die 1—2 uur tevoren 1 c.c.m. kultuursuspensie gekregen hadden, met dit

¹⁾ HITSCHMANN und LINDENTHAL: Sitzungsbericht, Wien, blz. 189.

²⁾ KAMEN: Zur Aetiologie der Gasphlegmone. Centralbl. für Bakt. 1 Abt. Orig., Bd. 35, 1904, blz. 554.

³⁾ E. FRAENKEL: Ueber Gasphlegmone, Schaumorgane und deren erreger. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, 1902, blz. 99.

hondenserum behandeld, een localiseering van het proces ontstond, terwijl de contrôledieren steeds zwaar algemeen ziek werden en stierven.

In een tweede proef was 't resultaat aldus: van de zes caviae, die subcutaan ingespoten werden met een kultuurmassa, van te voren in 1 c.c.m. serum gesuspendeerd, stierven er twee, terwijl bij de overige vier caviae zich een vrijwel op de entplaats beperkt blijvend, of deze slechts een weinig overschrijdend oedeem vormde, waaraan zich een oppervlakkige necrose van een omschreven gedeelte der huid aansloot.

De resultaten van E. FRAENKEL mogen bemoedigend zijn voor de verwachting op een serumtherapie, bevredigend kunnen ze nog niet genoemd worden.

III.

Het gebruikte materiaal.

De beide stammen van bacillus phlegmonis emphysematosae (FRAENKEL), die ik voor mijn eigen proeven gebruikt heb, zijn afkomstig van twee obductie's, verricht in 't Pathologisch Instituut der Rijks Universiteit te Utrecht.

Geval I.

Den 10^{den} December 1914 werd in het Pathologisch Instituut de sectie verricht van het lijk eener 43-jarige vrouw met de klinische diagnose: eclampsie.

De ziektegeschiedenis luidt:

Den 4^{den} December, ongeveer om 2 uur v.m., was voor de vrouw hulp verzocht bij de verloskundige polikliniek. Bij onderzoek bleek, dat er sterk oedeem der beenen, der genitalia externa en van den buikwand bestond. De psyche was normaal, geen hoofdpijn, geen neiging tot braken. Temperatuur 37,2°. De weeën, die in 't begin aanwezig waren, hielden spoedig op. Bij inwendig onderzoek bleek, 't ostium externum voor een vinger toegankelijk te zijn. De ontsluiting nam dienzelfden dag gaandeweg toe. Tevens steeg de temperatuur en traden koude rillingen op. De urine bevatte veel eiwit, veel cylinders, veel roode bloedlichaampjes, weinig leucocyten en enkele epitheelcellen. De oedemen schenen middelerwijl toe te nemen. De psyche der vrouw bleef den geheelen dag normaal. Omstreeks 11 uur 's avonds begon zij over hoofdpijn te klagen. 's Anderen daags trad in den middag een plotselinge aanval van eclampsie op, enkele minuten durend. Hierna was de vrouw een weinig cyanotisch en de pols frequent, niet gespannen. De bewusteloosheid duurde 15—20 minuten. Zij braakte veel, vooral tijdens de weeën. Van 't voorgenomen vervoer der vrouw naar de kliniek werd afgezien, omdat, na dezen aanval, bij het inwendig onderzoek, bleek, dat er volkomen

ontsluiting bestond, dat de spildraai volbracht en dat 't hoofd in achterhoofd's ligging bijna geheel ingedaald was. Men ging daarom tot expressie over, waarop 't kind levend geboren werd. In het nageboortetijdperk werd men door vloeiingen der vrouw genoodzaakt door krachtigen druk de placenta te verwijderen. Het achterblijven van een stuk chorion werd geconstateerd. De uterus contraheerde zich goed en reikte tot aan den navel.

Thans werd de vrouw naar de kliniek vervoerd. Bij aankomst om 5 uur 10 min. v.m. zag zij er vrij goed uit. De gelaatskleur was rood, 't bewustzijn normaal, alleen was de vrouw iets langzaam in 't antwoorden. Polsfrequentie 136 per minuut. Temperatuur 38,5°. De vrouw werd direct in een warm bed met heete kruiken gelegd. Men gaf haar veel te drinken; zij braakte niet en zweette spoedig sterk. Om 8 u. v.m. trad een tweede ecclampsische aanval op; deze aanval duurde 1 $\frac{3}{4}$ min. Na den aanval werd rectaal en per os amyleenhydraat gegeven. Ongeveer twintig minuten daarna slikte de vrouw weer goed. De temperatuur daalt tot 37,5° C. Om 10 uur v.m. antwoordde zij op haar gestelde vragen, bleek daarbij echter traag in 't denken. Om 12 uur 30 min. n.m. was de temperatuur 36,9°; pols 116. Geen half uur later trad een derde ecclampsische aanval op, die ongeveer 1 minuut duurde. Rectaal werd wederom amyleenhydraat toegediend. Om 2 uur 45 min. n.m. had een vierde ecclampsische aanval plaats, niet langer durende dan de vorige. Men ging voort met de rectale toediening van amyleenhydraat. Na dezen aanval bleef de vrouw geruimen tijd onrustig. De temperatuur was 37,8° C., de pols 132 vrij gespannen. Om 5,45 n.m. werd spontaan 25 c.c.m. urine geloosd en door catheteriseeren bleek, dat er geen urineretentie was. De temperatuur was om 8 uur 37,1°, de pols niet gespannen, het censorium bevredigend en er bestond rijkelijk zweeten. Anderhalf uur later trad de vijfde ecclampsische aanval op, die $\pm 1\frac{1}{2}$ min. duurde. Nadat de temperatuur weer tot de norm was gedaald, trad omstreeks 5 u. v.m. 6. XII., in een rustigen slaap, de zesde ecclampsische aanval op, die $\pm 1\frac{1}{2}$ minuut duurde. De pols was niet sterk gespannen. Om 10 uur 15 min. v.m. was de patiente geheel bij bewustzijn, gaf goed antwoord, doch was niet georiënteerd met betrekking tot den tijd. Zij zweette sterk, de pols was eenigszins gespannen, 't gelaat opgezet en de ademhaling rustig. De temperatuur was 37,2°. Hoewel de urine-loozing 7—XII sterker was geworden, waren de oedemen eerder vermeerderd dan verminderd. De orientatie ten opzichte van

den tijd ontbrak doorlopend. 's Avonds was de patiente helderder dan 's morgens. Zij urineerde veel. 't Gelaat was vrij sterk opgezet, vooral in de omgeving van neus en mond. Aan onder- en bovenlip ontstonden verschillende blaasjes (herpes) en roodheid om neus en mond. De vrouw hoestte sterk. Bij auscultatie, links in de axillairlijn, werd in 't onderste deel der longen reutelen geconstateerd. De temperatuur was den geheelen dag tusschen 38° en 39° C. Bij het urineonderzoek vond men Esbach = 0.25% . Het urinequantum van den geheelen dag bedroeg 1700 c.c.m. Op 8—XII. kwam een klein stukje van de vliezen met de lochia te voorschijn. De patiente hoestte veel, doch minder dan den vorigen dag. De temperatuur bleef tusschen 38° en 39° , de pols ± 120 . De oedemen der beenen waren verdwenen. Geen stinkende lochia; geen pijn boven symphysis of in de liezen. De mammae waren normaal. In de buurt van den mond bleven roodheid en blaasjes bestaan. De roodheid breidde zich uit langs den neus en vertoonde geen scherpe afgrenzing. De kwaliteit der urine bleef onveranderd; de quantiteit was 3250 c.c.m.

Op 9—XII bereikte de temperatuur om 9 uur v.m. $41,2^{\circ}$ met een pols van 148. De vrouw had geen rillingen gehad. Zij was een weinig apathisch, doch zag er overigens niet slecht uit. De roodheid en zwelling om neus en mond waren niet toegenomen, echter wel geconflueerd. Er bestonden geen oedemen der beenen, alleen was er nog een spoor op de voetruggen aanwezig. Druk-pijnlijkheid in liezen of boven de symphysis bleek niet aanwezig te zijn. Bij percussie en palpatie van het abdomen waren geen afwijkingen te vinden. De lochia waren niet stinkend. Aan de longen werden bij percussie en auscultatie evenmin afwijkingen geconstateerd. De vrouw hoestte minder sterk, doch was zeer onrustig. De ontlasting was witachtig, lichter dan melkontlasting. Om 2 uur n.m. was de patiente euphorisch en geheel compos. De pols was regelmatig en niet klein.

Om 5 uur n.m. was de temperatuur $41,4^{\circ}$; pols: 160, regelmatig en vrij goed gevuld. De vrouw lag nu zeer rustig en gaf absoluut geen antwoord meer op vragen. Om 8 uur n.m. werd de adembaling steeds meer oppervlakkig en de pols kleiner. Zij hoestte nog steeds, doch had den geheelen dag niets opgegeven. Om 9 uur 30 m. n.m. steeg de temperatuur tot $42,7^{\circ}$ C. De pols werd kleiner en onregelmatiger; om 10,12 n.m. bezweek de patiente.

De obductie (sectie 4764) had plaats 12 uur post mortem. Hierbij werd gevonden:

Subcutane bloedingen aan beide bovenarmen, schouders en rug. Rechts in de axillairlijn, ter hoogte van de horizontale getrokken door de papilla mammae, bevinden zich een aantal blaasjes, die helder vocht bevatten. De omgeving daar ter plaatse bombeert over 't gebied van een handpalm en crepiteert. Aan de lippen bestaat herpes. De buik is sterk opgezet door meteoristische bleeke darmen, die veel wit-grauw gekleurd vocht bevatten. In de buikholte een weinig vocht. 't Hart is paralytisch, doch vertoont overigens geen afwijkingen, behalve eenige verdikking van den linker kamerwand. Beiderzijds worden in de longen enkele kleine broncho-pneumonische haardjes gevonden. Verder bestaat beiderzijds partieele adhaesieve pleuritis. De milt is groot, niet crepiterend, de pulpa is breiig en gemakkelijk met 't mes af te schrapen. De galblaas bevat waterige lichtgeel gekleurde gal. De lever is normaal van grootte, slap en bij uitwendige beschouwing normaal van kleur. Op doorsnede is de kleur grauw. Van bloedingen of necrose niets te zien. De nieren zijn iets groter dan normaal. De kapsel is een weinig adhaerent. De schors is een weinig bleek; op doorsnede blijkt de schors der nieren breed, bleekwit. Van vlekigheid, necrose of vervetting niets te zien. Aan den uterus geen abnormale bevindingen. De hersenen zijn een weinig oedemateus.

Daar er anatomisch macroscopisch geen afwijkingen aan de nieren te vinden zijn, ook geen afwijkingen, die men bij eclampsie pleegt waar te nemen en met 't oog op de crepiterende zône rechts aan den thorax en de herpes wordt de mogelijkheid van sepsis aangenomen. Daarom wordt uit de milt en uit het vocht van de crepiterende zône in de rechter axillairstreek uitgezaaid. In reincultuur werd nu uit deze plaatsen gekweekt de bacillus phlegmonis emphysematosae.

Professor SPRONCK bewaarde de bacillen in een fleschje met vleesch-glycose-bouillon onder parafineolie gedurende een vol jaar. Na een jaar werden eenige versche vleesch-glycose-bouillon bodems met den inhoud van 't eerste fleschje geïnfecteerd. Het bleek, dat er krachtige gasontwikkeling plaats had, toen de

fleschjes met vleesch-glycose-bouillon gedurende eenige uren in de broedstoof hadden gestaan. Een dezer fleschjes werd mij door professor SPRONCK tot het doen mijner onderzoekingen afgestaan.

Geval II.

In 1916 had de gerechtelijke sectie plaats van het lijk van eene 31jarige vrouw, met 't oog op verdenking van abortus criminalis.

Uit de ziektegeschiedenis is mij alleen bekend, dat, ongeveer ruim twee weken ante mortem, de vrouw voor zwangeronderzoek een arts raadpleegde, die haar de verzekering gaf, dat zij zwanger was. Een dag ante mortem werd wederom denzelfden medicus geraadpleegd, die de vrouw vrijwel niet meer herkende, daar haar gelaat en handen een roodbruine bronskleur hadden aangenomen. Een doode vrucht werd, onder borrelen van gas, geboren en onder 't beeld van zware sepsis had, vermoedelijk 24 uren na het opwekken van den abortus, exitus plaats. De obductie geschiedde 40 uren post mortem.

Het sectieverslag luidt :

Graciël gebouwd, vrouwel. cadaver, met geringe rigor mortis. Op de beenen zijn enkele livores mortis. Sterke hypostase. Bruinkleuring vooral van 't gelaat en hals, maar ook, hoewel in geringere mate, van de rest van het lichaam. Sterke groene verkleuring van 't abdomen en van de flanken tot aan de oksel toe. Evenzoo van den hals en de borstvoorvlakte, behalve van de mammae. Onder de huid van den rug is duidelijk crepitatie waar te nemen. Aan de linker dij is er een infiltraat, een handbreed onder de trochanter major; dat er uitziet als een afgeloopen furunkel. Uit de tepels is een weinig bloederig vocht te drukken. Oogleden niets bijzonders. Pupillen gelijk en in middenstand. Neus- en mondslijmvlies zijn eenigszins bruinachtig van tint en droog. Bij opening van 't abdomen blijkt 't onderhuidsche vetweefsel goed ontwikkeld te zijn. 't Omentum is vrij vetrijk en over de darmen uitgespreid. 't Peritoneum is

glad en glanzend, vochtig. De maag is sterk opgezet. De lever is niet zichtbaar. De maag reikt tot aan den navel. Galblaas-streek en coecaalstreek geen afwijkingen. 't Kleine bekken wordt gevuld door een zeer weeke uterus. De adnexa hangen in 't kleine bekken. 't Rectum is leeg.

Stand diaphragma rechts bovenrand, links onderrand van de 4de rib.

De longen vallen goed samen. Linker long heeft links midden-voor enkele adhaesie's. De rechter long ligt vrij. 't Hartzakje ligt normaal bloot. Links in de pleuraholte 120 c.c.m., rechts 100 c.c.m. helder bloederig vocht. 't Hart is zeer klein en zeer slap. De punt is spits conisch, en wordt gevormd door de l. ventrikel. Alle hartholten en groote hartvaten zijn leeg. Hartkleppen normaal. Enkele arteriosclerotische vlekken boven de aortakleppen.

Gew. van het hart 160 gr. Hartspier broos, niet vlekkig en bleek van kleur.

De bronchi bevatten wat bloederig slijm. De longen crepiteren. Gas zit onder de pleura. De longen zijn bloedrijk. Bij druk der sneevlakten komt schuimend vocht tevoorschijn. Geen vaste haarden aanwezig. 't Foramen Winslowi is open. Aan hylus der lever geen afwijkingen. De ductus choledochus bevat gal; vena porta en vena cava inf. zijn leeg. Onder de kapsel der lever is gas aanwezig. Op de doorsnede is de lever wankleurig en bevat tal van gaten (schuimlever). Gewicht der lever 930 gr. De lever drijft op 't water. De milt is vrij groot en slap. Onder de kapsel der milt is gas aanwezig. Na uitzaaing uit de milt, wordt deze doorgesneden. Geen teekening meer op doorsnede te zien. De milt zit, evenals de lever, vol met gaten. Gewicht der milt 130 gram. Ook de milt drijft op 't water.

In 't mesenterum van een dunne darm, vlak bij 't coecum, zijn verkalkte t.b.c. klieren. Uit- en inwendig wordt aan den darm niets bijzonders gezien. De maag bevat een donkerbruine massa. 't Slijmvlies bevat niets bijzonders. Op de plooien van het slijmvlies van 't duodenum zijn enkele stipvormige bloedingen. Ureteren normaal, nieren sterk bloederig. De teekening der nieren niet meer te beoordeelen. Bijnieren rottend. Aan vulva, labia minora, clitoris geen afwijkingen, evenmin aan de vagina. Van 't hymen zijn slechts enkele caruncula over. De blaas en de urethra normaal. 't Ostium externum uteri is weliswaar iets gehavend, maar vertoont toch geen abnormale

laesie's, met name is nergens eenige verwonding of verscheuring te zien. Na openknippen van den uterus zijn plaatselijk hier en daar nog enkele kleine stukjes vlies te zien, maar niet meer dan binnen physiologische grenzen. Geen defect of verwonding aan den wand te zien. De placenta schijnt links achter, beneden gezeten te hebben. De uterus wordt 5 uur in form. 10% gehard, om de vliesjes te fixeeren op den wand, en daarna op tal van doorsneden bekeken. Ook hier nergens iets van een laesie aan te toonen. Nergens gethromboseerde vaten in den wand. In de uterusholte bevond zich wat roodachtig geïmbibeerd slijmerig vocht. In het rechter adnexum wordt een corpus luteum verum gevonden, ter grootte van een boon. De parametria, de ligamenta rotunda en de tubae uterinae Fallopii zijn allen een weinig gashoudend, maar overigens normaal. In 't cavum utero-rectale Douglasi is op eene plaats, ter grootte van een rijksdaalder, duidelijk deciduawoekering op 't peritoneum zichtbaar, doch in geringe mate. De vaten van het kleine bekken zijn niet veranderd en thrombi zijn daarin niet aanwezig. Evenmin is dit 't geval met de venae iliacae comm., de vena cava inf. en de venae crurales.

De schedelkap is normaal. De dura vertoont beenwoekering in de buurt van de granulationes Pachioni. De spanning der dura is normaal. De pia is bleek, verder geen afwijkingen. Hersenen normaal.

De rechter tonsilla pharyngea is vrij groot, doch nergens is een spoor van ettering aanwezig. De linker tonsil is heel klein. Uvula, tong, pharynx, oesophagus en larynx geen afwijkingen. De glandula thyreoidea is klein.

Bij microscopisch onderzoek van den uterus blijkt, dat de wand, onder de bijna verdwenen mucosa, geïnfilteerd is met polynucleaire leucocyten in zeer grooten getale, zoodat hier van een endometritis purulenta kan gesproken worden. De spiercellen en kernen zijn over 't algemeen slecht gekleurd, de bindweefselkernen daarentegen goed. In en om vele vaten zijn een aantal micro-organismen aanwezig, zoowel in staaf- als in coccus-vorm.

De huid op de plaats, waar aan de linker dij een filtraat aanwezig was en die den indruk maakte van een afgeloopen furunkel te zijn, wordt ook microscopisch onderzocht, welk onderzoek de macroscopische diagnose bevestigt. Uit de milt werd de bacillus phlegmonis emphysematosae gekweekt, vermengd met staphylococcus aureus. De dood werd toegeschreven

aan sepsis, tengevolge van infectie met FRAENKELSche gas-phlegmonebacillen.

In 't uitstrijkpraeparaat van de pulpa der milt blijken alleen talrijke, korte, plumpe, gekorrelde staafjes, die zich volgens GRAM positief kleuren, aanwezig te zijn.

Verder wordt uit de milt op verschillende voedingsbodems uitgezaaid en aërobe zoowel als anaërobe bij broedstooftemperatuur gekweekt.

Den volgenden dag blijkt, bij aërobe kweeking, op de voedingsbodems te zijn opgekomen: kolonie's van staphylococcus aureus. Anaëroob blijkt op LOEFFLER's serum te zijn opgekomen: vlakke, ronde, doorzichtige kolonie's, met een umbo in het midden. Een dezer kolonie's wordt nu den 10^{den} Januari 1916 overgezet op agar en zoowel aërobe als anaërobe gekweekt. Aërobe komt niets op, terwijl anaërobe gekweekt, ronde witachtige kolonie's groeien, die bestaan uit groote, plumpe Gr. + staafjes; voor zoover zichtbaar: reincultuur. Nadat nu vijf keer achtereenvolgens, telkens uit een vorige agarkultuur, een van deze kolonie's wordt afgestoken en overgezaaid op nieuwe agar en vervolgens zoowel aërobe als anaërobe wordt gekweekt, blijkt, dat steeds aërobe niets opkomt, terwijl anaërobe steeds dezelfde ronde vlakke witachtige kolonie's opkomen, die blijken te bestaan uit groote, plumpe Gr. + staven. Van 't laatste agarbuisje wordt nu een kolonie afgestoken en in gewone bouillon verdund; daarna gebracht in een fleschje vleesch-glycose-bouillon en dit geplaatst in de broedstoof bij 37° C. Na ongeveer 5 uur is er sterke gasontwikkeling. Nadat nu 't fleschje met geïnfecteerde vleesch-glycose-bouillon 24 uur in de stoof gestaan heeft, wordt het verder bij kamertemperatuur bewaard, ter nader onderzoek.

Alvorens tot verdere differentieering dezer bacillen wordt overgegaan is het wenschelijk eerst enkele opmerkingen te maken over de voedingsbodems, voor dit doel gebruikt.

De samenstelling van de voedingsgelatine is een mager rundvleesch-water-gelatine (100:10) van licht alkalische reactie, waarbij toegevoegd is 1 % pepton en 0,5 % keukenzout.

De samenstelling der voedingsagar is, afgezien van de 2 % agar in plaats van de gelatine, gelijk aan den vorigen voedingsbodem.

Vleesch-glycose-bouillon wordt op de volgende wijze bereid: een versche, liefst nog warme runderhartspier wordt eerst zeer fijn verdeeld, door middel van een vleeschmolen. Daarna wordt hiervan bouillon getrokken. Vervolgens worden in een kolf of fleschje deze getrokken bouillon en uitgekookte stukjes van de hartspier gebracht, benevens 1 % pepton, $\frac{1}{2}$ % keukenzout en $\frac{1}{4}$ % glycose. Deze vloeistof is meestal licht alkalisch. Anders wordt ze, door toevoeging van normaal-soda, licht alkalisch gemaakt. Boven op de vloeistof wordt nu een laagje parafine-olie gebracht en vervolgens wordt kolf of fleschje met inhoud gesteriliseerd bij 120° C, onder één atmosfeer overdruk. Liefst wordt nu direct na de sterilisatie, zoodra de vloeistof voldoende afgekoeld is, deze voedingsbodem gebruikt.

De door mij gebruikte hersenbrei-voedingsbodem wordt aldus gemaakt: hersensubstantie wordt, direct na het uitnemen uit het lijk, in een vleeschmachine fijngemalen; de zoo verkregen breiige massa met $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ volumendeelen van gedestilleerd resp. leidingwater of 0,6 % keukenzoutoplossing vermengd en vervolgens 0,5—1 uur lang gekookt; daarna gebracht in reageerbuisjes tot een laag van ± 5 cm. De hersenbrei is van zwak-zure, amphotere of zwak-alkalische reactie.

Als melkvoedingsbodem wordt gebruikt volle melk, die gedurende $\frac{1}{2}$ uur in 't Kochsche toestel bij 100° C. is gesteriliseerd. De bereiding van den aardappelvoedingsbodem geschiedt op zoodanige wijze, dat een langwerpige schijf aardappel in een reageerbuis gebracht wordt. Vervolgens wordt het stuk aardappel overgoten met phys.water of leidingwater, zóó, dat nog een groot gedeelte der schijf boven de vloeistof staat en vervolgens gesteriliseerd. De reactie moet neutraal zijn.

De anaërobe kweeking geschiedt in een exsiccator, waaruit de O_2 verdreven wordt door samenvoeging van 11 % kaliloog en acidum pyrogallicum.

De bacillen in de beide gevallen gelijken volkomen op elkander, zoowel wat betreft hun microscopisch beeld als hun kleurbaarheid en hun chemische eigenschappen. De bacillen groeien op de verschillende voedingsbodems gemakkelijk, maar alleen onder anaërobe conditie's.

De kolonie's aan de oppervlakte van den agar hebben een witachtige, grijze kleur en zijn van een cirkelronde of meer uitgerekte gedaante. Laat men de kulturen lang, b.v. vier dagen, in de broedstoof staan, dan wordt de ronde vorm veranderd, doordat de kolonie's knopvormige uitloopers vormen, die zich op hun beurt weer hier of daar vertakken, zoodat ten slotte de kolonie's samenvloeien. Bij aanraking met een platina-naald vertoonen de kolonie's een kleverige consistentie.

In agar-steekcultuur toont de bacil een groei, karakteristiek voor anaërobe microben n.l. zóó, dat de groei plaats vindt ongeveer 1 cm. beneden de oppervlakte. In de diepte van de agar ontstaan scheuren, tengevolge van het uiteendringen door gevormd gas. Kolonie's van jonge kulturen hebben in de diepte van den agar een rolronde of lens-vorm en zijn, wat kleur

betreft, gelijk aan die aan de agaroppervlakte gekweekt.

Ter beoordeeling van de kolonie's der bacillen, groeiende aan de oppervlakte van gelatine, worden kulturen bij kamertemperatuur gekweekt (16–18° C.). De groei is dan zeer langzaam. Na twee, drie dagen is er van groei nog vrijwel geen sprake. Na vijf of zes dagen is er echter duidelijk groei waar te nemen. Afzonderlijk liggende kolonie's liggen dan in een inzinking, die volkomen rond is, met scherpen rand, ter grootte van een speldenknop. Op den bodem der inzinking is de kolonie gelegen, die den indruk maakt van een dun, bleekwit laagje.

In gelatine-steek-kulturen, bij kamertemperatuur gekweekt, vertoonen de bacillen, na vijf tot zes dagen, kleine, ronde, grijswitte kolonie's, die den indruk maken naar beneden te zakken, klaarblijkelijk tengevolge van vervloeijing der gelatine; soms echter heeft er géén vervloeijing plaats en vertoonen de kolonie's kleine uitloopers in de gelatine. Bovendien vindt men hier en daar gasblazen.

Dat de gelatine inderdaad wordt veranderd, blijkt eveneens uit het feit, dat gelatine-bodems, bezaaid met deze bacillen, na 24 uur in de broedstoof te hebben gestaan, niet meer stollen, wanneer ze in de koude worden overgebracht. In de broedstoof heeft in deze gelatine-kulturen rijkelijk gasvorming plaats.

Gewone bouillon wordt, na infecteering met den bacil, troebel en gasvorming heeft plaats.

Vleesch-glycose-bouillon, met den bacil geïnfecteerd en vervolgens in de broedstoof geplaatst, geeft reeds na zes uur rijkelijke gasvorming. De eerst-heldere bouillon wordt troebel. Uit de broedstoof genomen en daarna bij kamertemperatuur bewaard, wordt de bouillon na eenige dagen weer volkomen doorschijnend en bij schudden ontwijken er onder uit de vleeschlaag, nog

na weken, kleine gasbellen. De viscositeit van de vleesch-glycose-bouillon, geïnfecteerd met de bacillen, neemt na kweeking een weinig toe.

Infecteert men hersenbrei met de bacillen, dan wordt de normale kleur der hersenbrei niet veranderd, ook niet na langen tijd. De zwak-zure, amphoteere of alkalische reactie wordt sterk zuur. De hersenbrei verspreidt een zuurachtigen geur.

In melkkulturen doen de bacillen de caseïne stremmen binnen 12–24 uur. Tegelijkertijd heeft sterke gasvorming plaats. De caseïne, die door 't gas een sponsachtige structuur krijgt, drijft nu eens op de in den beginne troebele, later helder wordende wei, blijft dan weer aan den bodem van het reageerbuisje vast zitten, zoodat dan de wei zich erboven verzamelt. De gestremde caseïne lost niet meer op. De oorspronkelijk alkalische reactie der melk wordt sterk zuur, welke reactie dan verder steeds behouden blijft.

Op aardappel-voedingsbodem groeien de bacillen gaarne. Gedurende kweeking van 24 uur is een grauwwit, vochtig beslag zichtbaar. In de vloeistof naast de aardappelschijf heeft sterke gasvorming plaats. De reactie wordt daarbij sterk zuur.

De bacillen, gebracht in door hitte gestold kippen-eiwit, doen dit eiwit niet vervloeien.

Op eigenbeweging wordt onderzocht onder toetreding van zuurstof, alsook onder afsluiting daarvan. Tot dit laatste onderzoek wordt het dekglasje, waarop de druppel met de te onderzoeken bacillen zich bevindt gelegd op een metalen raampje, dat met lak luchtdicht bevestigd is aan het onderliggende voorwerpglas. Het dekglasje, met den druppel naar onderen gekeerd, wordt door middel van vet eveneens luchtdicht bevestigd op het metalen raampje. Zodoende ontstaat een lucht-

dicht gesloten ruimte, waarin men door de aanwezigheid van pyrogallol aan één kant en eenige druppels van een geconcentreerde KOH. oplossing aan den anderen kant, ten allen tijde, door het schuin houden van het voorwerpglas, de kaliloog in verband kan brengen met de pyrogallol en aldus anaërobe conditie's kan doen ontstaan.

Bij onderzoek blijkt, dat de bacillen volkomen onbeweeglijk zijn, en dat ze omgeven zijn door een lichter hof. Deze eigenschap van onbeweeglijkheid wordt waargenomen, zoowel van bacillen uit de kulturen afkomstig, alsook van bacillen uit het oedeemvocht van pas gesuccombeerde caviae.

Ciliën kunnen niet aangetoond worden. Ter contrôle worden naast de te onderzoeken bacillen op 't zelfde dekglasje typhusbacillen gebracht en nu de ciliën-kleuring toegepast volgens het door BUNGE gemodificeerde LOEFFLERSche voorschrift. Terwijl nu steeds op deze wijze ciliën bij de typhusbacillen kunnen worden aangetoond, valt 't onderzoek bij de te onderzoeken bacillen steeds negatief uit.

De bacillen laten zich goed kleuren volgens de methode van GRAM. Echter komen er, in de praeparaten volgens GRAM gekleurd, sommige exemplaren voor, die de kleurstof gedeeltelijk weer afgeven.

De bacillen, zoowel uit kulturen, als uit 't dierlichaam afkomstig, hebben een korte, plumpe staafvorm, met afgeronde einden. Meestal komen zij apart of in twee, drie of vier geledingen voor. Langere banden werden zelden door mij waargenomen. De bacillen-lichamen zijn granuleerd.

Wat de grootte der staafjes betreft, deze varieert in dikte tusschen 0,5 en 1 μ en in lengte tusschen 1,5 en 3 μ .

Kapsels zijn bij de bacillen, uit beide gevallen, dui-

delijk aan te toonen; hoewel alleen van bacillen, afkomstig uit 't dierlichaam. Ter kapselkleuring wordt de Amerikaansche methode toegepast n.l. kleuring 5-15 min. met een mengsel van: verzadigde aluinoplossing (1 c.c.m.), alcoh. verzadigde fuchsineoplossing (10 c.c.m.), en 10 % tannineoplossing (11 c.c.m.). Ook met de LOEFFLERSche ciliënkleuring-methode komt men tot het gewenschte doel.

Van spoorvorming heb ik niets kunnen waarnemen, noch in de door mij gebruikte voedingsbodems, noch in 't dierlichaam, noch in de door VON HIBLER gevolgde methode n.l. in verwarmde cadavers van aan infectie met de bacillen gesuccombeerde caviae. Echter een verhitting van de kulturen op 60° C., gedurende een uur, doodt de beide stammen niet.

De dierproeven worden met vleesch-glycose-bouillon-kulturen gedaan. Als proefdieren worden gebruikt: caviae, konijnen, musschen en muizen.

De caviae varieerden in gewicht van 500 tot 600 gr.

Cavia I, subcutaan in de okselholte geïnfecteerd met 1,5 c.c.m. van een 2 dagen oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen van geval I, verkreeg, in den loop der eerste 24 uur, een pijnlijke infiltratie uitgaande van de entplaats. De cavia zat ineengedoken, met opstaande haren. In den loop van den tweeden dag ontstond in de buurt der entplaats een geelgroene verkleuring der huid, terwijl tevens de haren daar uitvielen. In den loop van den vierden dag perforeerde de huid, waarop snel genezing met litteekenvorming volgde.

Cavia II, subcutaan in de okselholte geïnfecteerd met 2 c.c.m. van een 3 dagen oude vleesch-

glycose-bouilloncultuur van bacillen van geval I, verkreeg een pijnlijke infiltratie, van de entplaats uitgaande. De huid werd van z'n onderlaag opgeheven over een groote uitgebreidheid. De haren aan de buikzijde lieten los en de huid daar ter plaatse werd geheel vochtig. Onder de losgelaten huid had zich vloeistof en gas verzameld. Onder 't beeld van zwaar-ziek zijn succombeerde de cavia in ongeveer 84 uur.

Cavia III, subcutaan in de okselholte geïnfecteerd met 2 c.c.m. van een 6 dagen oude vleesch-glycose-bouilloncultuur van bacillen van geval I, vertoonde 't zelfde beeld als cavia I.

Cavia IV, subcutaan in de okselholte geïnfecteerd met 2 c.c.m. van een 2 dagen oude vleesch-glycose-bouilloncultuur van bacillen van geval I, vertoonde 't zelfde ziektebeeld als cavia II, maar succombeerde in 48 uur.

Cavia V, subcutaan in de okselholte geïnfecteerd met 2 c.c.m. van een 2 dagen oude vleesch-glycose-bouilloncultuur van bacillen van geval II, vertoonde 't zelfde ziektebeeld als cavia II en succombeerde in ± 30 uur.

Cavia VI, VII, VIII, subcutaan in de okselholte geïnfecteerd met 2 c.c.m. van een 2 dagen oude vleesch-glycose-bouilloncultuur van bacillen van geval II, vertoonden eveneens 't zelfde ziektebeeld en succombeerden resp. in ± 48 , 48 en 72 uur.

Bij de sectie's der gesuccombeerde caviae, zoo snel mogelijk post mortem verricht, blijkt: sterke haar-uitval aan de buikzijde en vochtig-zijn der huid. Bij 't insnijden der huid in de mediaanlijn van abdomen

en thorax, blijkt de huid over zeer uitgebreide uitgestrektheid te zijn losgegaan van de daaronder liggende weefsels. Tusschen de huid en de daaronder liggende spieren is een ophooping van haemorrhagisch vocht; ook van gasblazen. De spieren daar ter plaatse zien er als gekookt uit en zijn brokkelig. 't Onderhuidsche weefsel, grenzende aan het losgelaten deel der huid, is oedemateus. Aan inwendige organen geen afwijkingen.

Bij microscopisch onderzoek van hart, lever, nieren, bijnieren en milt zijn er geen bijzondere afwijkingen waar te nemen. 't Microscopisch onderzoek van 't spierweefsel, afkomstig uit de buurt der injectieplaats, laat zien: een uitgebreide necrose der spiercellen, met uit elkaar vallen daarvan. Soms bestaat de sarcolemma-buis nog in z'n geheel. De necrotische spiercellen zijn vaak gezwollen. Tusschen de spierbundels in zijn vele polynucleaire leukocyten en bacillen aanwezig.

Bacteriologisch, werden steeds in deze gevallen rein-kulturen der bacillen gekweekt, uit 't subcutane haemorrhagische vocht.

Konijn I, gew. 1400 gr., verkreeg intraveneus 2 c.c.m. van een 2 dagen oude vleesch-glycosebouillonkultuur, van bacillen van geval I. 't Konijn vertoonde geen afwijkingen.

Konijn II, gew. 1500 gr., verkreeg subcutaan 2 c.c.m. van een 2 dagen oude vleesch-glycosebouillonkultuur, van bacillen van geval I. Na twee dagen was een gering infiltraat aanwezig op de plaats van injectie, dat spoedig zonder eenig merkbare afwijking verdween.

Konijn III, gew. 1500 gr., verkreeg intraveneus 2 c.c.m. van een 2 dagen oude vleesch-glycosebouillonkultuur van bacillen van geval II. 't Konijn vertoonde geen afwijkingen.

Konijn IV, gew. 1300 gr., verkreeg subcutaan 2 c.c.m. van een 2 dagen oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen, afkomstig van geval II. Ook bij dit konijn ontstond een infiltratie, grooter dan bij konijn II, die niet tot abcesvorming of doorbraak voerde. Het konijn bleef in leven.

Musch I, intramusculair in de groote borstspier geïnfecteerd met 0,5 c.c.m. van een 24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen, afkomstig van geval I, succumbeerde in $\pm$ 20 uur.

Musch II, intramusculair in de groote borstspier geïnfecteerd met 0,5 c.c.m. van een 2×24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen van geval I, succumbeerde in $\pm$ 15 uur.

Musch III, intramusculair in de groote borstspier geïnfecteerd met 0,5 c.c.m. van een 24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen afkomstig van geval II, succumbeerde in 8 uur.

Musch IV, intramusculair in de groote borstspier geïnfecteerd met 0,5 c.c.m. van een 2×24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen, afkomstig van geval II, succumbeerde in 2,5 uur.

Bij de sectie der gesuccumbeerde musschen I en II, zoo snel mogelijk post mortem verricht, blijkt, dat de groote borstspier plaatselijk gasblaasjes bevat. Verder is de borstspier, waarin de injectie plaats vond, vochtiger en meer roodbruin van kleur, dan de borstspier der andere zijde.

Bij sectie van musch III blijkt, dat de geïnjecteerde borstspier vochtiger is en meer roodbruin van kleur dan de niet geïnjecteerde borstspier.

Bij sectie van musch IV blijkt, dat de geïnjecteerde borstspier alleen vochtiger is dan de niet geïnjecteerde borstspier.

Muis I en II, subcutaan in de rugstreek geïnfecteerd met 0,5 c.c.m. van een 24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen, afkomstig van geval I, kregen een plaatselijke zwelling op de plaats der injectie, welke zwelling na eenige dagen weer volkomen verdween.

Muis III, subcutaan in de rugstreek geïnfecteerd met 0,5 c.c.m. van een 24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen, afkomstig van geval II, verkreeg evenzoo een plaatselijke zwelling, die weder na eenige dagen verdween.

Muis IV, subcutaan in de rugstreek geïnfecteerd met 1 c.c.m. van een 2×24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur, afkomstig van bacillen van geval II, succombeerde in 2,5 uur.

Bij de sectie van muis IV werd gevonden: sanguis in de blaas; verder op de plaats van de injectie de huid los van het onderliggende weefsel.

Op grond van bovengenoemde bevindingen en proeven, op grond van vergelijking met de eigenschappen der bij de aetiologische diagnostiek der gasphlegmone in aanmerking komende

bacillen, meen ik, dat de identiteit van de bij beide gevallen gevonden bacillen bewezen is en dat deze tegenover de andere gasphlegmone-verwekkers gedifferentieerd zijn als de WELCH-FRAENKELSche bacillen.

IV.

Het aantonen van toxine.

Het gelukte mij door een reeks proeven aan te toonen, dat er door den bacillus phlegmonis emphysematosae in vleesch-glycose-bouillon een gif wordt gevormd, dat, ingespoten bij witte muizen en caviae, een dodelijke werking heeft. De proeven worden aldus genomen: langs experimenteelen weg wordt de meest-gunstige tijd gezocht, gedurende welken de kulturen in de broedstoof moeten blijven staan, om het grootste gehalte aan toxine te bevatten. Tevens wordt de temperatuur der broedstoof gevarieerd.

Bij een *eerste proefreeks* werden caviae en muizen subcutaan ingespoten met filtraten van vleesch-glycose-bouillonkulturen, die resp. 3, 6, 9, 24, 33 en 48 uur in de broedstoof gestaan hadden, echter zonder enig resultaat. Deze eerste proef werd genomen met bacillen afkomstig van geval I en aldus uitgevoerd:

Om 12,05 uur n.m. 6-1-16 werd een kolf met verse vleesch-glycose-bouillon geïnfecteerd met 50 c.c.m. vleesch-glycose-bouillonkultuur, afkomstig van geval I; vervolgens in de broedstoof geplaatst bij 37° C.

Om 3 uur n.m. 6-1-16 werd 50 c.c.m. vloeistof uit de kolf, waarin reeds een weinig gasontwikkeling plaats had, afgeheveld. Deze 50 c.c.m. werden nu door een Chamberland-filter geperst en 't filtraat steriel opgevangen.

Om 4 uur n.m. 6-1-16 werd nu van dit filtraat subcutaan ingespoten:

bij Cavia I, gew. 300 gr., 2 c.c.m.

bij witte muis I, 1 c.c.m.

Zoowel muis als cavia vertoonden aanvankelijk geen enkele afwijking. Vier dagen later evenwel werd de cavia dood in 't hok gevonden.

Om 6 uur n.m. 6-1-16 had sterke gasontwikkeling plaats in de kolf. Wederom werden 50 c.c.m. afgehevelde en op dezelfde manier verder behandeld als om 3 uur n.m. Van 't verkregen filtraat werd om 6.15 uur n.m. 6-1-16 subcutaan ingespoten:

bij Cavia II, gew. 300 gr. 2 c.c.m.

bij witte muis II, 1 c.c.m.

Beide dieren vertoonden dien dag, evenals volgende dagen, geen afwijkingen.

Om 9 uur n.m. 6-1-16 werd 't zelfde gedaan als de vorige keeren en van 't verkregen filtraat om 9,30 uur n.m. 6-1-16 ingespoten:

bij Cavia III, gew. 350 gr. 2 c.c.m.

bij witte muis III, 1 c.c.m.

Echter zonder eenig resultaat.

Den volgenden dag, om 11,30 v.m., nadat dus de kolf met geïnfecteerde glycese-bouillon ongeveer 24 uur in de broedstoof gestaan had, werd met 50 c.c.m. afgehevelde vloeistof, dezelfde bewerking verricht als den vorigen dag. Van 't steriel opgevangen filtraat werd subcutaan ingespoten:

bij Cavia IV, gew. 400 gr. 2 c.c.m.

bij witte muis IV, 1 c.c.m.

Beide dieren bleven echter even levendig als voor de inspuiting.

Des namiddags om 8,30 uur werd wederom van het steriel opgevangen filtraat van de vleesch-glycose-bouillon kultuur, die nu ongeveer 33 uur in de broed-

stoof bij 37° C. gestaan had, subcutaan geïnjecteerd:

bij Cavia V, gew. 350 gr. 2 c.c.m.

bij witte muis V, 1 c.c.m.

Beide dieren bleven in leven.

Nadat tenslotte de vleesch-glycose-bouillon 2 × 24 uur in de broedstoof gestaan had, werd de overgebleven vleesch-glycose-bouillon afgeheveld en door een Chamberland-filter geperst. Van 't filtraat werd nu subcutaan ingespoten:

bij Cavia VI, gew. 350 gr. 2 c.c.m.

bij witte muis VI, 1 c.c.m.

Ook deze beide dieren bleven in leven.

Het negatief uitvallen dezer proefreeks zou kunnen berusten op 't feit, dat er op de bepaalde tijdstippen geen toxine, of slechts toxine in zeer geringe mate gevormd was. Ook echter zou bij subcutane injectie een te langzame resorptie der giftige stoffen plaats kunnen gehad hebben.

Om een snel-opnemen der toxische stofwisselingsproducten der bacillen te verkrijgen werd nu bij verdere proeven gekozen: intraperitoneale injectie.

Daartoe werd in een *tweede proefreeks* om 9 uur v.m. 18-1-16 een kolf steriele vleesch-glycose-bouillon geïnfecteerd met bacillen, afkomstig van geval I en geplaatst in de broedstoof bij 35° C. Nadat de kolf 24 uur in de broedstoof gestaan had, werd een gedeelte der vleesch-glycose-bouillon met een pipet (steriel) uitgezogen en door de Chamberland-filter geperst. Van het filtraat werd nu intraperitoneaal ingespoten:

bij Cavia I, gew. 300 gr. 2 c.c.m.

bij Cavia II, gew. 310 gr. 2 c.c.m.

Direct na inspuiting vertoonden de beide caviae peritoneale prikkelingsverschijnselen, die weldra op-hielden. Beide caviae vertoonden verder geen enkele afwijking.

Den volgenden dag, nadat de kolf 2×24 uur in de broedstoof gestaan had, werd wederom vloeistof met een steriele pipet uitgezogen en door een Chamberland-kaars geperst en van 't filtraat intraperitoneaal inge-spotten om 11 uur v.m.

bij Cavia III, gew. 320 gr. 2 c.c.m.

Deze cavia begon weldra de haren op te zetten en maakte den indruk van doodziek te zijn. Een uur na de inspuiting scheen de cavia kortademig te worden, tenminste bij iedere ademhaling zette zij den bek wijd open en richtte zich eenigszins op de voorpooten op. De oogen begonnen te tranen en speeksel vloeide uit den bek. Om 1.15 uur n.m., dus 2,15 uur na de in-spuiting, succombeerde de cavia.

Bij sectie, 2 uur post mortem verricht, bleken het peritoneum en het mesenterium een weinig geïnjecteerd te zijn. Verder was in het abdomen sereus, licht-roze gekleurd vocht aanwezig. Andere afwijkingen werden macroscopisch niet gevonden.

Den 21^{sten} Januari 1916, nadat de kolf 3×24 uur in de stoof gestaan had, werd hetzelfde gedaan als de vorige dagen en van 't verkregen filtraat om 10.30 v.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia IV, gew. 310 gr. 2 c.c.m.

De cavia maakte dien dag een zieken indruk, doch was den volgenden dag weder normaal en bleef ook verder in leven.

Nadat de kolf met de geïnfecteerde vleesch-glycose-

bouillon 4×24 uur in de broedstoof gestaan had, werd het restant der vleesch-glycose-bouillon door den Chamberland-filter geperst en van 't filtraat intraperitoneaal, om 11 uur v.m., ingespoten:

bij cavia V, gew. 330 gr., 2 c.c.m.

De cavia vertoonde evenals alle andere caviae peritoneale prikkelings-verschijnselen, maar verder geen enkele afwijking en bleef in leven.

Uit deze proefreeks meende ik de conclusie te kunnen trekken, dat er een toxine gevormd zou worden door de bacillen, afkomstig van geval I, welk toxine dan 't meest voorhanden zou zijn, na 2×24 uur kweeken bij 35° C. Echter werd verzuimd, uitstrijkpraeparaten te maken en aërobe en anaërobe kulturen aan te leggen van de intraperitoneale vloeistof. In 't vervolg werd dit gedaan bij alle gesuccombeerde caviae. 't Aanwezig zijn van toxine in de kulturen moest dus nog door verdere proeven bevestigd worden.

Een *derde proefreeks* werd gedaan met bacillen afkomstig van geval II. Den 19^{den} Januari 1916 werd een kolf met steriele vleesch-glycose-bouillon geïnfecteerd met de genoemde bacillen en in de broedstoof geplaatst bij 35° C. Den volgenden dag, nadat de kolf 1×24 uur in de stoof gestaan had, werd van de vleesch-glycose-bouillon een gedeelte door een Chamberland-filter geperst en van het filtraat om 12,30 n.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij Cavia I, gew. 320 gr. 2 c.c.m.

Na verschijnselen van zwaar-ziek zijn n.l. opgezette haren, stilzitten, diepe inspiratie's met zich oprichten op de voorpooten, tranen der oogen en speekselvloed, succombeerde de cavia ongeveer om 6 uur n.m. De dood was dus ingetreden ongeveer $5\frac{1}{2}$ uur na de inspuiting.

Bij de sectie, ongeveer vier uur na den dood verricht, bleek het abdomen roze gekleurd vocht te bevatten. Het peritoneum was glad en glanzend, was echter evenals 't mesenterium een weinig geinjiceerd. De lever was duidelijk bleeker dan normaal en broos. Ook bestond h rtparalyse.

Een uitstrijkpaeparaat van de darm-serosa gaf niets te zien. Evenmin kwam er, bij uitzaaiing op agar van het vocht aanwezig in 't abdomen, zoowel bij aërobe als anaërobe kweeking, iets op.

Nadat de kolf 2×24 uur in de broedstoof bij 35° C. gestaan had, werd wederom 't zelfde gedaan als den vorigen dag. Van 't filtraat werd ingespoten intraperitoneaal:

bij Cavia II, gew. 300 gr. 2 c.c.m.

Vier uur na de inspuiting maakte de cavia den indruk te zullen succombeeren. Zij vertoonde alle zware ziekteverschijnselen, reeds bij vorige caviae beschreven. Acht uur na de inspuiting echter, leefde de cavia nog, zat wel erg stil, met opstaande haren, maar maakte een minder zieken indruk. Den 2^{den} dag na de inspuiting was de cavia weer levendig en bleef verder in leven.

Vervolgens werd, nadat de kolf 3×24 uur in de stoof gestaan had, wederom dezelfde bewerking gedaan met de uitgezogen bouillon en van 't filtraat intraperitoneaal ingespoten:

bij Cavia III, gew. 350 gr. 2 c.c.m.

De cavia zat eenigen tijd stil, maar vertoonde daarna geen enkele afwijking.

Na 4×24 uren kweeking der vleesch-glycose-bouillonkultuur, werd wederom van 't verkregen filtraat intraperitoneaal ingespoten:

bij Cavia IV, gew. 340 gr. 2 c.c.m.

De cavia vertoonde echter geen ziekteverschijnselen.

Uit deze proeven lijkt het dus waarschijnlijk, dat inderdaad de bacillus phlegmonis emphysematosae van FRAENKEL een toxine produceert en dat dit toxine, onder de beschreven kweekingsomstandigheden, 1 à 2×24 uur na het infecteeren, in gróóter kwantiteit in den voedingsbodem aanwezig is, dan geruimen tijd na het infecteeren.

Een *vierde proefreeks* aangaande toxinevorming in kulturen werd gedaan met FRAENKELSche bacillen, afkomstig van geval I.

Den 25^{sten} Januari 1916 werden vier fleschjes met vleesch-glycose-bouillon geïnfecteerd en daarna in de broedstoof geplaatst bij 33° C. Den volgenden dag werd de vloeistof van een der fleschjes, die 1×24 uur in de stoof gestaan hadden, uitgeheveld; vervolgens werd 0,5 % phenolum liquidum toegevoegd en gedurende ongeveer een uur krachtig geroerd. Vervolgens werd de vloeistof door filtreerpapier gefiltreerd, om de grovere deelen uit de vloeistof te verwijderen en ten slotte door een Chamberland-filter geperst. Van 't filtraat werd om 12,35 uur n.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia I, gew. 350 gr. 2 c.c.m.

bij cavia II, gew. 340 gr. 2 c.c.m.

Dienzelfden dag, noch den daaropvolgenden, was er iets aan de caviae te bespeuren.

Den 27^{sten} Januari 1916 werd, met den inhoud van een tweede fleschje, dat 2×24 uur in de broedstoof gestaan had, op dezelfde wijze als met het vorige gehandeld en wederom door een Chamberland-filter geperst. Van het filtraat werd nu om 11,20 uur v.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia III, gew. 340 gr. 2 c.c.m.

bij cavia IV, gew. 350 gr. 2 c.c.m.

Beide caviae werden na eenigen tijd zwaar ziek en zaten stil met opgezette haren. Zoo nu en dan kregen ze rillingen. Na heftige dyspnoë succombeerde cavia IV om 2,15 uur n.m. 27-1-16. Deze cavia was dus gesuccombeerd: 2,55 uur na de inspuiting.

De sectie werd 5 minuten post mortem verricht. Gevonden werd: sereus vocht in de buikholte; 't peritoneum geïnjecteerd; aan den hals enkele gezwollen kliertjes; de linker hartkamer bevatte bloed; de milt, lever en longen vertoonden geen afwijkingen.

Ook cavia III succombeerde, na de zelfde verschijnselen vertoond te hebben als cavia IV, om 4,30 uur n.m. 27-1-16. Deze was dus gesuccombeerd: 5 uur en 10 minuten na de injectie.

Bij de sectie, 1 uur post mortem verricht, werd gevonden: sereus, licht-roze gekleurd vocht in de buikholte; 't peritoneum van de darmen en 't mesenterium geïnjecteerd; de linker hartkamer bevatte bloed en stolsels; aan de milt, lever en longen geen afwijkingen. Er ontwikkelden zich geen kulturen, noch onder aërobe, noch anaërobe conditie's, bij kweeking op agar, bestreken met het sereuse vocht uit de buikholte der beide caviae III en IV.

Een deel van hetzelfde filtraat, afkomstig van de bouillon, die 2×24 uur in de broedstoof gestaan had, werd bovendien ook nog om 2.45 uur n.m. 27-1-16 intraperitoneaal ingespoten n.l.

bij cavia V, gew. 340 gr. 1 c.c.m.

bij cavia VI, gew. 350 gr. $\frac{1}{2}$ c.c.m.

Cavia V maakte dien dag een zieken indruk, echter niet zwaar. Ook den volgenden dag was de cavia nog iets slap. Den 2^{den} Februari 1916, dus ongeveer 6 $\times$ 24 uur na de inspuiting, lag de cavia echter dood in 't hok. Bij de sectie werd als eenige afwijking gevonden: hartparalyse.

Eveneens werd van hetzelfde filtraat, dat in een bruine flesch, onder toluol, in de ijskast bewaard werd, den 1^{sten} Februari 1916 om 5 uur n.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij een cavia, gew. 340 gr. 2 c.c.m.

Bij deze cavia werd echter geen enkele afwijking waargenomen.

Den 28^{sten} Januari, nadat een derde fleschje vleesch-glycose-bouillon 3 $\times$ 24 uur in de broedstoof gestaan had, werd met den inhoud op gelijke wijze gehandeld, als met de beide vorige geïnfecteerde vleesch-glycose-bouillonkulturen. Van 't daarvan verkregen filtraat werd om 11,30 uur v.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia VII, gew. 350 gr. 2 c.c.m.

bij cavia VIII, gew. 350 gr. 1 c.c.m.

Beide caviae zaten dien verderen dag ineengedoken, maar waren den volgenden dag weer levendig.

Den 29^{sten} Januari 1916 werd de inhoud van de laatste flesch, die dus 4 $\times$ 24 uur in de broedstoof gestaan had, op gelijke wijze behandeld als de vorige dagen. Van het filtraat werd om 11,30 uur v.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia IX, gew. 360 gr. 2 c.c.m.

bij cavia X, gew. 360 gr. 1 c.c.m.

Na de inspuiting vertoonden de beide caviae, behalve

peritoneale prikkelings-verschijnselen, geen enkele afwijking.

In deze vierde proefreeks blijkt duidelijk, dater door den bacil van FRAENKEL een toxine gevormd wordt in vleesch-glycose-bouillonkulturen, die 2×24 uur in de broedstoof gestaan hebben. De minimaal-dodelijke dosis is 2 c.c.m. filtraat. Verder toont deze proef aan, dat de toxiciteit van het filtraat snel afneemt.)

Een *vijfde proefreeks* werd gedaan met konijnen, die intraveneus werden ingespoten met hoeveelheden filtraat, afkomstig van vleesch-glycose-bouillonkulturen van FRAENKELSche bacillen van geval I.

Den 1^{sten} Februari 1916 werden kolven met vleesch-glycose-bouillon geïnfecteerd met genoemde bacillen en in de broedstoof geplaatst bij 33° C. Van 't filtraat, vervaardigd na 2×24 uur kweeking, werd om 11 uur v.m. 3-2-16 intraveneus ingespoten:

bij konijn I, gew. 1100 gr. 2 c.c.m.

bij konijn II, gew. 1100 gr. 1 c.c.m.

bij konijn III, gew. 1200 gr. $\frac{1}{2}$ c.c.m.

en intraperitoneaal ingespoten:

bij Cavia I, gew. 350 gr. 2 c.c.m.

Van 't filtraat, vervaardigd na 2×24 uur + 6 uur kweeking, werd om 3 uur 15 min. 3-2-16 intraveneus ingespoten:

bij konijn IV, gew. 1250 gr. 2 c.c.m.

en intraperitoneaal ingespoten:

bij Cavia II gew. 350 gr. 2 c.c.m.

Konijn IV succombeerde om 5,15 uur n.m. 3-2-16; dus 2 uur na de inspuiting.

Bij sectie, 3 uur post mortem verricht, werden geen afwijkingen gevonden. De linker hartkamer bevatte bloed. Aërobe en anaërobe kweeking, van bloed uit het hart afkomstig, leverde geen groei van micro-organismen.

De caviae I en II zaten ineengedoken en waren zwaar ziek. Den volgenden dag echter was hun uiterlijk aspect weder normaal.

Van 't filtraat, vervaardigd na 3×24 uur + 3 uur kweeking, werden om 12,10 uur n.m. 24-2-16 intraveneus ingespoten:

bij konijn V, gew. 1200 gr. 2 c.c.m.

bij konijn VI, gew. 1250 gr. 2 c.c.m.

en intraperitoneaal ingespoten:

bij Cavia III, gew. 310 gr. 2 c.c.m.

Bij deze konijnen, evenmin als bij de cavia, was eenige afwijking te bespeuren.

Een zesde *proefreeks* werd eveneens gedaan met konijnen. Den 8^{sten} Februari 1916 werden kolven met vleesch-glycose-bouillon geïnfecteerd met bacillen, afkomstig van geval I. Van het filtraat, vervaardigd na 1×24 uur kweeken, werden intraveneus ingespoten om 11.30 v.m. 9-2-16:

bij konijn I, gew. 1000 gr. 1 c.c.m.

bij konijn II, gew. 1000 gr. 2 c.c.m.

bij konijn III, gew. 1150 gr. 4 c.c.m.

Geen der konijnen vertoonde eenige afwijking.

Van 't filtraat, vervaardigd na 2×24 uur kweeken, werden om 11,10 v.m. 10-2-16 intraveneus ingespoten:

bij konijn IV, gew. 950 gr. 1 c.c.m.

bij konijn V, gew. 1000 gr. 2 c.c.m.

bij konijn VI, gew. 1050 gr. 4 c.c.m.

Geen der konijnen vertoonde eenige afwijking.

Van 't filtraat, verkregen na 3×24 uur kweken, werden intraveneus ingespoten om 2 uur n.m. 11-2-16.

bij konijn VII, gew. 850 gr. 2 c.c.m.

bij konijn VIII, gew. 800 gr. 4 c.c.m.

Geen der konijnen vertoonde eenige afwijking.

Het resultaat van de vijfde en zesde proefreeks is dus, dat filtraat-hoeveelheden tot 4 c.c.m., intraveneus bij konijnen, van een gewicht van ± 1000 gr., ingespoten, geen effect hebben. Caviae echter, ingespoten met filtraat-hoeveelheden van 2 c.c.m. van bouillonkulturen, 2×24 uur oud, worden zwaar ziek. Er wordt dus een voor caviae werkzaam toxine geconstateerd.

In een zevende proefreeks wordt wederom bevestigd, dat in vleesch-glycose-bouillonkulturen van FRAENKELSche bacillen een toxine kan gevormd worden, — in een hoeveelheid van 2 c.c.m. intraperitoneaal ingespoten — doodelijk voor caviae, van een gewicht van ± 300 gram.

Den 16^{den} Maart 1916 werd n.l. van het filtraat van een 2×24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen, afkomstig van geval I, bij 33° C. gekweekt, om 2,30 n.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij een Cavia, gew. 290 gr. 2 c.c.m.

De cavia maakte, des avonds 11 uur, een zeer zieken indruk. De haren stonden recht overeind, de oogen traanden; speeksel kwam uit den bek; rillingen; dyspnoë. Den volgenden morgen om acht uur werd

de cavia dood in het hok gevonden. De cavia was dus gesuccombeerd in $> 9\frac{1}{2} < 18\frac{1}{2}$ uur na de inspuiting.

De sectie had plaats direct na de vondst van het doode dier. Gevonden werd: het peritoneum geïnjecteerd; in het abdomen een weinig sereus, licht-haemorrhagisch vocht; in de beide pleuraholten veel sereus vocht (geen fibrine); enkele subpleurale bloedingen; de linker hartkamer bevatte stolsels en een weinig vloeibaar bloed.

Aërobe en anaërobe kweeking op agar van het vocht uit de buikholte leverde niets op.

Dat de giftigheid van het toxine door bewaren afneemt, blijkt niet alleen uit de vierde proefreeks, maar wordt bevestigd door de volgende proef.

Achtste proefreeks. Nadat fleschjes vleesch-glycosebouillon, geïnfecteerd met bacillen afkomstig van geval I, gedurende 2×24 uur in de broedstoof gestaan hadden bij 33°C , wordt de inhoud uitgezogen; vermengd met 5 % phenolum liquidum; door filtreerpapier gefiltreerd en vervolgens door een Chamberland-filter geperst. Van het aldus verkregen filtraat wordt intraperitoneaal om 11,45 v.m. 23-3-16 ingespoten:

bij cavia I, gew. 300 gr. 2 c.c.m.

bij cavia II, gew. 290 gr. 2 c.c.m.

bij cavia III, gew. 300 gr. 3 c.c.m.

Cavia I zat weldra ineengedoken en was zwaar ziek, was echter den volgenden dag uiterlijk weer geheel normaal.

Cavia II was, na eenigen tijd, zwaar ziek en succombeerde om 9,15 uur n.m. onder heftige dyspnoe: dus $9\frac{1}{2}$ uur na de inspuiting.

Cavia III succombeerde, onder dezelfde verschijnselen als cavia II, om 8,15 n.m.: dus $8\frac{1}{2}$ uur na de inspuiting.

De sectie der caviae II en III werd $\frac{1}{2}$ uur post mortem verricht. Gevonden werd bij beide caviae: een weinig licht-rood gekleurd vocht in de buikholte; evenzoo in de beide pleuraholten; de peritoneale bekleeding was geïnjiceerd; de linker hartkamer bevatte bloed. Bij aërobe en anaërobe kweeking van 't vocht der buikholte kwam niets op.

Van het filtraat werd een gedeelte, onder toluol, in een bruine flesch, bij kamertemperatuur bewaard. Na ± 24 uur, werd om 10.30 v.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia IV, gew. 320 gr. 3 c.c.m.

bij cavia V, gew. 310 gr. 4 c.c.m.

Cavia IV zat, gedurende de eerste 6 uur, ineengedoken en maakte een zieken indruk. Langzamerhand echter werd de cavia levendiger en was den volgenden dag uiterlijk normaal.

Cavia V succombeerde ongeveer om 11,45 uur n.m., dus in $\pm 13,45$ uur.

De sectie werd, 10 uur post mortem, verricht. Hierbij werd gevonden: 't peritoneum geïnjiceerd; links vele bloedingen in de spieren van den buikwand; ook vele bloedingen in de beide m.m. iliopsoas; in de buikholte een weinig licht-rood gekleurd vocht; evenzoo in de beide pleuraholten; de linker hartkamer bevatte stolsels.

Nadat het filtraat 14×24 uur, onder toluol, bij kamertemperatuur bewaard was, werd intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia VI, gew. 290 gr. 4 c.c.m.

bij cavia VII, gew. 310 gr. 4 c.c.m.

Beide caviae vertoonden echter geen enkele afwijking. Ook werd van 't filtraat in toegesmolten buisjes in de ijskast bewaard en na 3 maanden daarvan ingespoten:

bij cavia VIII, gew. 300 gr. 3 c.c.m.

bij cavia IX, gew. 300 gr. 6 c.c.m.

bij cavia X, gew. 310 gr. 9 c.c.m.

Geen der drie caviae vertoonde echter een enkele afwijking.

Een *negende proefreeks* werd gedaan met witte muizen en caviae.

Van het filtraat van een 2×24 uur-oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van FRAENKELSche bacillen, afkomstig van geval II, den 8^{sten} April 1916 bereid, werd dienzelfden dag, om 1,15 uur n.m., intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia I, gew. 310 gr. 3 c.c.m.

bij cavia II, gew. 270 gr. 2 c.c.m.

bij cavia III, gew. 300 gr. 2 c.c.m.

en om 4,30 n.m., intraperitoneaal ingespoten:

bij muis I, 2 c.c.m.

bij muis II, 1 c.c.m.

bij muis III, $\frac{1}{2}$ c.c.m.

bij muis IV, 2 c.c.m.

bij muis V, 1 c.c.m.

bij muis VI, $\frac{1}{2}$ c.c.m.

Ter contrôle werd 3 c.c.m. filtraat van steriele vleesch-glycose-bouillon, die vooraf door denzelfden Chamberland-filter was geperst, intraperitoneaal ingespoten bij muis VII.

't Resultaat was 't volgende:

Cavia I succombeerde, onder de reeds vroeger beschreven ziekteverschijnselen, om 7,25 m.m. 8-4-16; dus 6 uur en 10 minuten na de inspuiting.

Cavia II succombeerde, onder dezelfde verschijnselen als cavia I, om 6 uur n.m.; dus 4 uur en 45 minuten na de inspuiting.

Cavia III succombeerde eveneens, onder dezelfde verschijnselen, om 6,25 uur n.m.; dus 5 uur en 10 minuten na de inspuiting.

De sectie's werden verricht, zoo snel mogelijk post mortem. De sectie van cavia I liet zien: 't peritoneum geïnjecteerd, glad en glanzend; in 't abdomen alsook in de beide pleuraholten licht-roze gekleurde vloeistof. Verder geen afwijkingen. 't Zelfde werd gevonden bij sectie van cavia II. Ook dezelfde bevindingen bij sectie van cavia III, echter werden bovendien bij deze cavia kleine bloedingen in de rechter m. iliopsoas gevonden.

Bij aërobe en anaërobe kweeking van de vloeistof, aanwezig in de buikholten der caviae, was het resultaat negatief.

Ook de muizen zaten weldra stil, met opstaande haren.

Muis I succombeerde 45 minuten na de injectie.

Muis II succombeerde 3 uur na de injectie.

Muis III succombeerde 4 u. en 20 m. na de injectie.

Muis IV succombeerde 45 minuten na de injectie.

Muis V succombeerde 2 uur na de injectie.

Muis VI succombeerde 3 u. en 45 m. na de injectie.

Muis VI zat, gedurende den eersten tijd, een weinig stil, maar werd weldra weer normaal en bleef in leven.

Muis III loosde, eenigen tijd voor den dood, sterk rood gekleurde urine. Bij de overige muizen heb ik dit verschijnsel niet waargenomen, waarschijnlijk omdat ik er niet op lette.

De sectie's der zes muizen werd, binnen 30 minuten post mortem, verricht en in al de gevallen werd gevonden: een meer of minder sterk geïnjecteerd peritoneum; helder sereus of een weinig rose-gekleurd vocht in de buikholte en ook in de pleuraholte; 't peritoneum steeds glad en glanzend.

Bij aërobe en anaërobe kweeking van de vloeistof, aanwezig in de buikholten der muizen, was het resultaat negatief.

Van het den 8^{sten} April bereide filtraat werd een gedeelte, onder toluol, bij kamertemperatuur, gedurende 2×24 uur bewaard en vervolgens intraperitoneaal ingespoten:

bij muis VIII, 2 c.c.m.

bij muis IX, 1 c.c.m.

bij muis X, $\frac{1}{2}$ c.c.m.

't Resultaat was, dat muis VIII succombeerde na $2\frac{1}{2}$ uur, muis IX na 2 uur en muis X na 1 uur en 45 minuten.

De sectie's dezer drie muizen leverden hetzelfde resultaat op, als de sectie's der vorige muizen.

Door de FRAENKELSche bacil wordt dus, in vleesch-glycose-bouillonkulturen een giftige stof gevormd, die intraperitoneaal ingespoten, doodelijk is voor witte muizen.

In een *tiende proefreeks* werd genomen: versch bereid filtraat van vleesch-glycose-bouillonkulturen van FRAENKELSche bacillen, afkomstig van geval I, gedurende 2×24 uur bij 33° C. gekweekt. Hiervan werd, om 4,30 n.m. 8-4-6, intraperitoneaal ingespoten:

bij muis I, 2 c.c.m.

bij muis II, 1 c.c.m.

bij muis III, $\frac{1}{2}$ c.c.m.

Muis I succombeerde om 9,45 n.m.: dus 5 uur en 15 min. na de inspuiting. Eenigen tijd voor den dood werd bloederige urine geloosd. De sectie leverde dezelfde vondsten, als bij de vorige muizen.

De muizen II en III, die om 1 uur v.m. 9-4-16 zwaar ziek waren en eveneens bloederige urine loosden, werden den volgenden morgen, om 9 uur v.m. 9-4-16, dood in het hok gevonden. Zij waren dus gesuccombeerd in $> 8\frac{1}{2}$ uur $< 16\frac{1}{2}$ uur na de inspuiting. Bij deze beide muizen werd geen sectie verricht.

Den 20^{sten} April 1916 werd van hetzelfde filtraat, dat in toegesmolten reageerbuisjes, bij kamertemperatuur, bewaard (12 dagen) was, wederom intraperitoneaal ingespoten:

bij muis IV, 2 c.c.m.

bij muis V, 1 c.c.m.

bij muis VI, $\frac{1}{2}$ c.c.m.

Muis IV succombeerde in < 6 uur.

Muis V succombeerde in 6 uur en 20 minuten.

Muis VI zat eerst stil, maar werd langzamerhand weer levendiger, was den volgenden dag weer geheel normaal en bleef in leven.

De muizen IV en V loosden vóór den dood bloederige urine en bij de obductie werden dezelfde afwijkingen gevonden, die bij vorige muizen waren geconstateerd.

Aangelegde kulturen van het peritoneaalvocht bleven steriel.

De toxiciteit van het filtraat, dat in toegesmolten reageerbuisjes bij kamertemperatuur bewaard wordt, blijft dus gedurende eenigen tijd bestaan, hoewel eenige vermindering bij de beschreven proeven geconstateerd is.

Om nogmaals aan te toonen, dat er door de bacillen van FRAENKEL een toxine wordt afgescheiden, werd een *elfde proefreeks* aldus ingericht: fleschjes vleesch-glycose-bouillon werden geïnfecteerd met bacillen, af-

komstig van geval II en deze in de broedstoof geplaatst, bij 33° C. Tevens werden niet-geïnfecteerde fleschjes met vleesch-glycose-bouillon eveneens tegelijkertijd in de broedstoof geplaatst. Nadat nu alles 1 × 24 uur in de broedstoof gestaan had, werd op de beschreven wijze het filtraat, zoowel van de niet-geïnfecteerde als van de geïnfecteerde vleesch-glycose-bouillon verkregen, door eerst de niet-geïnfecteerde bouillon en vervolgens de wel-geïnfecteerde door een zelfde Chamberland-filter te persen en nu zoo snel mogelijk bij de proefdieren in te spuiten. 't Resultaat blijkt uit 't volgende:

Den 14^{den} April 1916 werd om 1 uur n.m. van het filtraat, afkomstig van de niet-geïnfecteerde bouillon, intraperitoneaal ingespoten:

- bij muis I, 2 c.c.m.
- bij muis II, 1 c.c.m.
- bij muis III, $\frac{1}{2}$ c.c.m.
- bij cavia I, gew. 250 gr. 3 c.c.m.

Om 1,15 uur n.m werd van het filtraat, afkomstig van de wel-geïnfecteerde bouillon, intraperitoneaal ingespoten:

- bij muis IV, 2 c.c.m.
- bij muis V, 1 c.c.m.
- bij muis VI, $\frac{1}{2}$ c.c.m.
- bij cavia II, gew. 280 gr. $2\frac{1}{2}$ c.c.m.

Cavia I en de muizen I, II en III vertoonden geen afwijkingen.

Cavia II succombeerde ± 7 uur n.m.; dus ± 5 uur 45 min. na de inspuiting.

De sectie werd 14 uur post mortem verricht en wederom bleek een licht-roze gekleurd vocht in het abdomen en in de beide pleuraholten aanwezig te zijn. Bovendien was ook de darmserosa wel glad en glanzend,

doch geïnjecteerd. Kulturen werden niet aangelegd, daar de sectie eerst 14 uur post mortem verricht was.

Muis IV succombeerde 4 u. en 5 min. na de injectie.

Muis V succombeerde 4 u. en 15 min. na de injectie.

Muis VI succombeerde 4 u. en 45 min. na de injectie.

Deze drie muizen loosden wederom, eenigen tijd voor den dood, donker-roode urine.

De sectie's der muizen, zoo snel mogelijk post mortem verricht, brachten 't zelfde aan 't licht, als die van de vroeger gestorven muizen.

Aërobe noch anaërobe kulturen kwamen tot groei.

Nadat de overige fleschjes 2×24 uur in de broedstoof gestaan hadden, werd op dezelfde wijze daarmee gehandeld en de verkregen filtraten bij muizen en caviae ingespoten. Daartoe werd op 15 April 1916 intraperitoneaal ingespoten van het filtraat der niet geïnfecteerde glyucose-bouillon:

bij cavia I, gew. 310 gr. 3 c.c.m.

bij muis I, 2 c.c.m.

Beide dieren vortoonden geen afwijkingen.

Van het filtraat van de wel-geïnfecteerde vleesch-glyucose-bouillon werd, om 1.10 n.m. 15-4-16, intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia II, gew. 330 gr. 3 c.c.m.

en subcutaan in de okselholte:

bij cavia III, gew. 270 gr. 2 c.c.m.

verder intraperitoneaal:

bij muis II, 2 c.c.m.

bij muis III, 0,5 c.c.m.

bij muis IV, 0,3 c.c.m.

bij muis V, 0,2 c.c.m.

en subcutaan, onder de rughuid:

bij muis VI, 2 c.c.m.

bij muis VII, 1 c.c.m.

Bij de intraperitoneale injectie vloeide echter bij muis II een gedeelte van het vocht weg.

Als gevolg der inspuiting werd geconstateerd, dat:

Cavia II zwaar ziek werd en geheel ineengedoken zat met opgezette haren; de oogen traanden en vocht liep uit den bek. 's Avonds, omstreeks tien uur, had het allen schijn, dat de cavia, binnen niet al te langen tijd zou succombeeren. Den volgenden morgen echter was de cavia nog in leven en weer tamelijk vlug. In den loop van dien dag werd de cavia weer geheel normaal en is verder in leven gebleven.

Cavia III na de inspuiting levendig bleef, echter korte schreeuwen uitstiet en daarbij iets in de hoogte sprong; wellicht uitingen van pijn. Drie uur na de injectie werd oedeem waargenomen op de borst en over het geheele abdomen. Dit bleef zoo den geheelen dag. Den volgenden morgen maakte de cavia een zieken indruk. 't Oedeem had zich niet uitgebreid. Na eenige dagen vielen de haren aan de buikzijde uit en er scheen een proces in gang te zijn, zeer veel gelijkend op het ziektebeeld, dat als gevolg van injectie met virulente bacillen van FRAENKEL optreedt, waarbij het tot abscesvorming komt. Ten slotte werd de huid over een bepaalde uitgebreidheid afgestooten en genezing volgde.

Muis II succombeerde in ± 9 uur.

Muis III succombeerde in $> 8 < 20$ uur.

Muis IV succombeerde $> 8 < 12$ uur.

Muis V zat eerst een weinig stil, maar werd wel-
dra weer levendig en bleef in leven.

Muis VI succombeerde in 5 uur 50 minuten.

Muis VII bleef in leven.

De gesuccombeerde muizen hadden wederom bloed-
roode urine geloosd.

Bij de sectie der intraperitoneaal-ingespoten muizen

werden dezelfde afwijkingen gevonden als de vroeger beschrevene. Bij de sectie van de subcutaan-ingespoten muis VI werden geen afwijkingen gevonden; alleen oedemateus weefsel in de buurt van de injectie.

Nog een *twaaalfde proef* werd genomen, om de organen der muizen microscopisch te onderzoeken, daar de muizen, ingevolge de inspuiting met filtraatvloeistof, voor den dood bloedroode urine pleegden te loozen, welk feit bij nauwkeurige waarneming onmiskenbaar was, daar de roode kleur sterk afstak tegen 't wit der muizen.

Genomen werd: filtraat afkomstig van vleesch-glycose-bouillonkulturen van FRAENKELSche bacillen, afkomstig van geval II. De kulturen werden 1×24 uur + 16 uur gekweekt. Den 20^{sten} April werd van het versch-verkregen filtraat om 9,15 uur v.m. intraperitoneaal ingespoten:

bij muis I,	2 c.c.m.
bij muis II,	1 c.c.m.
bij muis III,	0,5 c.c.m.
bij muis IV,	0,3 c.c.m.
bij muis V,	0,1 c.c.m.

en subcutaan, onder de rug huid, ingespoten:

bij muis VI,	1 c.c.m.
--------------	----------

't Gevolg was dat:

Muis I succombeerde in > 2 uur 45 minuten,
 < 5 uur en 45 minuten.

Muis II succombeerde in ± 9 uur.

Muis III succombeerde in 11 uur en 45 min.

Muis IV succombeerde in 6 uur en 35 min.

Muis V succombeerde in 15 uur en 45 min.

Muis VI succomboerde in 8 uur en 45 min.

Bij de sectie's der muizen I tot V werd gevonden,

dat 't peritoneum geïnjecteerd was, en dat er licht-roze gekleurde vloeistof in het peritoneum en in de beide pleuraeholten aanwezig was. Bij de sectie van muis VI werd alleen vocht in de pleuraeholten gevonden.

Microscopische doorsneden van hart, lever en milt gaven geen afwijkingen te zien. 't Microscopisch onderzoek der nieren van al de muizen gaf echter 't beeld van een zware acute haemorrhagische nephritis, n.l. hier en daar geringe cellige infiltratie, roode bloedlichaampjes tusschen het wondernet en de Bowmansche kapsel der glomeruli en massa's bloedcilinders.

Uit deze proef blijkt, dat de toxische werking van het filtraat bij witte muizen een acute haemorrhagische nephritis teweeg brengt.

Dit blijkt ook uit *een dertiende proef*, waarbij tevens werd geconstateerd, dat het toxine, door de bacillen afgescheiden, niet steeds even sterk is. Den 28^{sten} April n.l. werd van versche filtraten, afkomstig van vleesch-glycose-bouillonkulturen, die gedurende 2 × 24 uur in de broedstoof gekweekt waren bij 37° C, om 11,55 uur v.m. intraperitoneaal ingespoten :

bij muis	I,	2 c.c.m.
bij muis	II,	0,5 c.c.m.
bij muis	III,	0,1 c.c.m.

en subcutaan ingespoten :

bij muis	IV,	2 c.c.m.
bij muis	V,	0,5 c.c.m.
bij muis	VI,	0,1 c.c.m.

Tevens werd bij muis VII 2 c.c.m. subcutaan en 2 c.c.m. intraperitoneaal ingespoten : filtraat van steriele

niet geïnfecteerde vleesch-glycose-bouillon, vooraf door denzelfden Chamberland-filter geperst.

Muis I succombeerde 5 uur en 5 min. na de inspuiting.

De muizen II, IV en V zaten dien dag stil, maar werden weer levendig.

De muizen III en VI bleven normaal, terwijl muis VII, na eenigen tijd stil te hebben gezeten, zich weer normaal ging gedragen.

Muis I loosde weer bloederige urine en bij microscopisch onderzoek der nieren, werd wederom 't beeld van een zware acute haemorrhagische nephritis gevonden.

V.

Over haemolytische werking der filtraten.

Behalve de toxische eigenschappen van den bouillon, die tot voedingsbodem had gediend voor den FRAENKELschen bacil, in het vorige hoofdstuk beschreven, werd nog een tweede eigenschap geconstateerd n.l.: haemolytische werking op roode bloedlichaampjes van konijn en mensch.

Om een mate van haemolytische werking dezer bouillonfiltraten te bepalen, werden afdalende hoeveelheden filtraat in spits toeloopende reageerbuisjes met physiologisch water tot 2 c.c.m. aangevuld en in elk buisje toegevoegd: een druppel gedefibrineerd konijnenbloed. Daarnaast, ter contrôle: buisjes met afdalende hoeveelheden filtraat van steriele vleesch-glycosebouillon, eveneens tot 2 c.c.m. aangevuld met physiologisch water. En wederom in elk contrôle-buisje: een druppel gedefibrineerd konijnenbloed. Vervolgens werd alles in de broedstoof geplaatst.

Als toxine werd gebruikt: het versche filtraat van een 2×24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur. Aldus:

hoeveelheid toxine.	effect na 3 uur.	effect na 15 uur.
1,0 c.c.m.	haemolyse	haemolyse (totaal)
0,8 c.c.m.	"	" "
0,5 c.c.m.	"	" "
0,4 c.c.m.	"	" "
0,3 c.c.m.	"	haemolyse (niet totaal)

hoeveelheid toxine.	effect na 3 uur.	effect na 15 uur.
0,2 c.c.m.	een spoor	haemolyse (niet totaal)
0,1 c.c.m.	—	" "
0,09 c.c.m.	—	" "
0,08 c.c.m.	—	" "
0,07 c.c.m.	—	" "
0,06 c.c.m.	—	" "
0,05 c.c.m.	—	sporen
0,04 c.c.m.	—	"
0,03 c.c.m.	—	"
0,02 c.c.m.	—	—
0,01 c.c.m.	—	—

In de contrôlebuisjes lagen de roode bloedlichaampjes als een ronde schijf op den bodem, zonder eenig spoor van haemolyse.

Dezelfde proef werd gedaan met toxine, die gedurende $3\frac{1}{2}$ maand, in toegesmolten reageerbuisjes, in de ijskast waren bewaard; op de volgende wijze:

hoeveelheid toxine.	effect na 3 uur.	effect na 15 uur.
1,0 c.c.m.	haemolyse	haemolyse (totaal)
0,8 c.c.m.	"	" "
0,5 c.c.m.	"	" (bijna totaal)
0,4 c.c.m.	sporen	haemolyse (minder totaal)
0,3 c.c.m.	—	" "
0,2 c.c.m.	—	" "
0,1 c.c.m.	—	" "
0,09 c.c.m.	—	" "
0,08 c.c.m.	—	" "
0,07 c.c.m.	—	" "
0,06 c.c.m.	—	sporen haemolyse

hoeveelheid toxine.	effect na 3 uur.	effect na 15 uur.
0,05 c.c.m.	—	sporen haemolyse
0,04 c.c.m.	—	” ”
0,03 c.c.m.	—	” ”
0,02 c.c.m.	—	—
0,01 c.c.m.	—	—

In de contrôle-buisjes lagen de roode bloedlichaampjes als een ronde schijf op den bodem, zonder eenig spoor van haemolyse.

Uit de voorgaande proeven, die herhaalde malen werden verricht en die steeds een duidelijke haemolytische werking aan 't licht brachten van de bouillonfiltraten, die van kulturenbouillons afkomstig waren, blijkt dus, dat de FRAENKELSche bacil een stof afscheidt, die in staat is, de roode bloedkleurstof uit de bloedlichaampjes vrij te maken.

Wanneer wij de tabellen nader beschouwen, zien we, dat, na 3½ maand bewaren, de haemolytische werking van het filtraat slechts heel weinig verzwakt is.

VI.

Serologische proeven.

Nadat ik nu de toxische en haemolytische eigenschappen van het filtraat van vleesch-glycose-bouillonkulturen van den FRAENKELschen bacil had vastgesteld en zodoende een zeer gewichtigen stap had gedaan in de richting van mijn nog ver-liggend doel, stelde ik mij dadelijk een nieuwe, naar analogie van de proeven van A. RAPHAEL en V. FRASEY voor de hand liggende vraag n.l.: is het mogelijk met het verkregen toxine, bij een of ander dier ingespoten, een serum te verkrijgen, dat te samen met de filtraten bij proefdieren ingespoten, de toxische werking neutraliseert?

Tot dit doel werden, van 3 Februari 1916 tot 4 Mei '16, drie konijnen A, B en C, eerst intraveneus, vervolgens subcutaan in stijgende dosis ingespoten met filtraten van vleesch-glycose-bouillonkulturen van den FRAENKELschen bacil, die gedurende 2×24 uur in de broedstoof gestaan hadden. Totaal ontving ieder der konijnen ± 200 c.c.m. filtraat. 't Gewicht der konijnen, bij het begin der inspuiting, was resp. 1100 gr., 1200 gr. en 1250 gr. De gewichten der konijnen, bij de laatste inspuiting, bedroegen resp. 1500 gr., 1100 gr. en 2050 gr. De konijnen A en B waren toen zeer mager en erg slap. Ook konijn C was in een slechten voedingstoestand, ofschoon eenigszins beter, dan de beide eerstgenoemde konijnen. Acht dagen na de laatste injectie, werd het bloed der drie konijnen afgetapt en nadat het bloed gedurende 24 uur in de ijskast gestaan had, kon van 't bloed van konijn A ongeveer 10 c.c.m. serum afge-

heveld worden, van 't bloed van konijn B ongeveer 30 c.c.m. en van 't bloed van konijn C ongeveer 15 c.c.m.

Met het aldus verkregen konijnens serum werden nu, in een *eerste proefreeks*, muizen en caviae gelijktijdig, met filtraten van vleesch-glycose-bouillonkulturen van FRAENKELSche bacillen, afkomstig van geval II, behandeld.

Den 5^{den} Mei 1916 werden om 11,30 v.m. van het filtraat van een 2 × 24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van bacillen, afkomstig van geval II, intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia I, gew. 250 gr.	3 c.c.m.
bij muis I,	2 c.c.m.,
bij muis II,	1 c.c.m.
bij muis III,	0,5 c.c.m.
bij cavia II, gew. 250 gr.	3 c.c.m.
bij muis IV,	2 c.c.m.
bij muis V,	1 c.c.m.
bij muis VI,	0,5 c.c.m.

Tevens werd van het serum afkomstig van konijn B intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia II,	3 c.c.m.
bij muis IV, V en VI,	1 c.c.m.

Bij ongeluk stroomde, bij de intraperitoneale injectie van muis I, een gedeelte van het vocht weg.

Als gevolg der inspuiting werd geconstateerd, dat cavia I zwaar ziek werd. Na eenige uren scheen het of de cavia weldra zou sterven. Wanneer men de cavia op haar zijde legde, bleef zij liggen zonder zich op te richten. De oogen traanden en er was sterke speekselvloed. Zoo nu en dan rilde de cavia. Ook maakte de cavia diepe ademhalingsbewegingen, bestaande in het zich op de voorpooten oprichten en, met

open bek, naar adem snakken. Dit bleef zoo dienzelfden dag. Den volgenden morgen was de cavia echter weer levendiger en werd in den loop van den dag uiterlijk weer geheel normaal en bleef verder in leven.

Cavia II vertoonde na de injectie geen enkele afwijking en bleef uiterlijk steeds normaal.

Muis I succombeerde in 7 uur en 30 minuten.

Muis II succombeerde in 6 uur.

Beide muizen loosden bloederige urine. Bij de sectie's der muizen, zoo snel mogelijk post mortem verricht, werden dezelfde afwijkingen gevonden, als bij vorige muizen beschreven. Aangelegde kulturen van het peritoneaal vocht bleven steriel.

De muizen III, IV, V en VI zaten eerst eenigen tijd stil, maar werden weldra weer levendig.

Uit deze proefreeks blijkt, dat het serum van konijn B een antitoxische werking bezit ten opzichte van filtraten, verkregen van vleesch-glycose-bouillonkulturen van den FRAENKELschen bacil. Echter werd verzuimd een controleproef te nemen, zoodanig ingericht, dat, met het filtraat tevens normaalserum van een konijn werd ingespoten; want het normaalserum van konijnen zou, op zich zelf reeds, een antitoxische werking kunnen bezitten. Dit werd in de beide volgende proeven wel gedaan.

In een *tweede proefreeks* werden van het versche filtraat van een 2 × 24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkulturen van FRAENKELsche bacillen, afkomstig van geval II, om 10,45 uur v.m. 14-5-16 intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia	I, gew. 350 gr.	3 c.c.m.
bij cavia	II, gew. 360 gr.	3 c.c.m.
bij cavia	III, gew. 340 gr.	3 c.c.m.
bij cavia	IV, gew. 370 gr.	3 c.c.m.
bij cavia	V, gew. 380 gr.	3 c.c.m.
bij cavia	VI, gew. 390 gr.	5 c.c.m.
bij cavia	VII, gew. 320 gr.	3 c.c.m.
bij cavia	VIII, gew. 280 gr.	3 c.c.m.
bij muis	I,	2 c.c.m.
bij muis	II,	1 c.c.m.
bij muis	III,	0,3 c.c.m.
bij muis	IV,	2 c.c.m.
bij muis	V,	1 c.c.m.
bij muis	VI,	0,3 c.c.m.

Tevens werd van het serum, afkomstig van konijn A, intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia	I,	3 c.c.m.
bij cavia	II,	2 c.c.m.
bij cavia	III,	1 c.c.m.
bij cavia	VI,	3 c.c.m.
bij cavia	VIII,	3 c.c.m.
bij muis	I,	1 c.c.m.
bij muis	II,	1 c.c.m.

en van normaal serum, van een konijn afkomstig, intraperitoneaal tevens ingespoten:

bij cavia	VII,	3 c.c.m.
bij muis	IV,	1 c.c.m.

Het resultaat was het volgende:

De caviae I, II en III zaten, de eerste uren, stil met opgezette haren; waren echter tegen den middag weer uiterlijk normaal en vertoonden verder geen afwijkingen.

Cavia IV succombeerde 11 uur en 30 minuten na de injectie.

Cavia V succombeerde in $\pm$ 9 uur en 15 minuten.

Cavia VII succombeerde in > 12 uur < 20 uur.

De caviae VI en VIII bleven uiterlijk steeds normaal.

De muizen I, II, III en VI zaten eenigen tijd stil, maar werden daarna weer levendig.

Muis IV succombeerde 4 uur en 30 min. na de inspuiting.

Muis V succombeerde 5 uur na de injectie.

Voor den dood werd door deze beide muizen bloed-roode urine geloosd.

Bij de sectie's der gestorven caviae, zoo snel mogelijk post mortem verricht, bleek: dat de buikholten en de pleuraeholten een licht-rose gekleurd vocht bevatten; dat 't peritoneum glad en glanzend was; dat de peritoneale vaten sterk geïnjecteerd waren.

Bij microscopisch onderzoek van doorsneden van nieren, milt, lever en hart werden geen afwijkingen gevonden.

Aangelegde kulturen van het peritoneaal vocht van caviae IV en V bleven steriel.

Bij de sectie's der muizen IV en V, direct post mortem verricht, bleek het peritoneum een weinig rood geïnjecteerd. In de buikholten en pleuraeholten was een licht-rose gekleurd vocht aanwezig.

Microscopisch vertoonden de nieren der beide muizen 't beeld van een zware haemorrhagische nephritis. De overige organen waren normaal.

Bacteriologisch werd uit het vocht der buikholten niets gekweekt.

In een *derde proefreeks* bleek ook de antitoxische eigenschap van 't serum, afkomstig van konijn C.

Van het versche filtraat van een 2×24 uur oude rundervleesch-glycose-bouillonkultuur van FRAENKELsche bacillen werd om 11 uur v.m. 25-6-16 intra-peritoneaal ingespoten:

bij cavia I, gew. 310 gr. 3 c.c.m.

bij cavia II, gew. 290 gr. 2 c.c.m.

bij cavia III, gew. 260 gr. 5 c.c.m.

Tevens werd van normaal serum, van een konijn afkomstig, intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia III, 1,5 c.c.m.

Om 12,30 uur n.m., van dienzelfden dag, werd 5 c.c.m. filtraat en 1,5 c.c.m. serum, van konijn C afkomstig, die gedurende één uur met elkander in contact hadden gestaan, intraperitoneaal ingespoten: bij cavia IV.

Om 3 uur n.m. was de toestand der caviae als volgt:

Cavia I zat ineengedoken, met opstaande haren, tranende oogen; voelde zeer slap aan en liet speeksel uit den bek vloeien. De cavia maakte den indruk niet zoo ziek te zijn als cavia III.

Cavia II zat stiller dan normaal.

Cavia III zat ineengedoken, met opstaande haren. De oogen traanden en speeksel vloeide uit den bek. Bij het ademen maakte de cavia een rochelend geluid en hief zich zoo nu en dan op de voorpooten op, alsof zij sterke dyspnoe had.

Cavia IV was normaal levendig.

Om 8.30 n.m. 25-6-16 maakte cavia I nog steeds een zeer zieken indruk. Wanneer men de cavia op zij legde, bleef zij zóó liggen.

De caviae II en IV waren normaal.

Cavia III succombeerde omstreeks dien tijd; was dus in $\pm$ 9 uur en 30 minuten na de inspuiting gesuccombeerd. De sectie, alsook het bacteriologisch onderzoek van de gesuccombeerde cavia was identiek met de uitkomsten bij vorige gestorven caviae verkregen.

Uit deze drie serumproeffreeksen blijkt dus, dat het op de beschreven wijze verkregen serum der konijnen een antitoxische eigenschap bezit, ten opzichte van het toxine, aanwezig in de filtraten van bouillonkulturen van FRAENKELSche bacillen. Ook bezit dit konijnenserum een antihaemolysine, waarop, in een volgend hoofdstuk, nader zal worden teruggekomen ¹⁾.

Daar de voorloopige proeven, gedaan met het serum der konijnen, een gunstig resultaat hadden, werd overgegaan tot het immuniseeren van een paard. Daartoe verkreeg het paard, subcutaan, van 21 Juni tot 31 Juli 1916, in opklimmende dosis, te samen een hoeveelheid van 800 c.c.m. filtraat van 2×24 uur oude vleeschglycose-bouillonkulturen van FRAENKELSche bacillen, afkomstig van geval I en vervolgens, tot 20 Augustus daaropvolgende, in opklimmende dosis, te samen een hoeveelheid van 700 c.c.m. reïnkultuur van FRAENKELSche bacillen, afkomstig van geval I. De hoogste temperatuur van het paard, gedurende dien tijd bereikt, was $38,6^{\circ}$ C. Meestal echter was de temperatuur beneden de 38° C. De eetlust van het paard bleef steeds goed. Na iedere inspuiting vertoonde zich op de plaats der injectie een oedemateuse zwelling, die na eenige dagen weder verdween. Enkele malen bereikte de zwelling een zeer groote uitgebreidheid, waarop dan

¹⁾ In Juni 1916 bevatte de Munch. Med. Wochenschrift, no. 20, een voorloopig artikel van F. KLOSE, die, op grond van experimenten, grootendeels met de mijne overeenkomend, eveneens aantoonde, dat er door den bacillus phlegmonis emphysematosae een toxine wordt gevormd. Ook slaagde hij er in, daarmede een antitoxisch serum te bereiden.

met de volgende injectie langer werd gewacht. Op de laatste injectie reageerde het paard met een oedemateuse zwelling, die zich uitbreidde over de linkerzijde van den rug tot aan de linker scapula. Ook de linker voorpoot was, tot op de helft, zeer sterk gezwollen. Acht dagen na deze laatste injectie werd 1 L. bloed afgetapt en twee weken na de laatste injectie werd nog eens 1 L. bloed afgetapt. Met het serum van het aldus behandelde paard werden nu verdere proeven op caviae gedaan.

In een *vierde proefreeks* werden den 1^{sten} September '16, om 3 uur n.m., van het paardenserum, dat acht dagen na de laatste injectie van het paard was verkregen, intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia I, gew. 380 gr. 3 c.c.m.

bij cavia II, gew. 360 gr. 1 c.c.m.

bij cavia III, gew. 270 gr. 6 c.c.m.

Verder werden van normaal paardenserum intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia IV, gew. 390 gr. 6 c.c.m.

Den volgenden dag werd om 11 uur v.m. van een 2 × 24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van FRAENKELSche bacillen subcutaan in de okselholte ingespoten bij de caviae I, II, III en IV, 3 c.c.m. en

bij cavia V, gew. 310 gr. 3 c.c.m.

Den 4^{den} September, om 9 uur v.m., was de toestand der caviae als volgt:

Cavia I vertoonde, op de plaats der injectie, een klein crepiterend oedeem.

Cavia II vertoonde, aan de buikzijde, een groote met vloeistof gevulde holte onder de huid, waarin gemakkelijk ook gassen konden worden aangetoond. Verder was de buikzijde zeer vochtig.

Cavia III vertoonde, op de plaats der injectie, een klein oedeem.

Cavia IV vertoonde een zeer uitgebreid crepiterend oedeem, uitgaande van de plaats van injectie.

Cavia V lag dood in het hok, was dus $< 2 \times 24$ uur na de kultuur-injectie gesuccombeerd.

Den 8^{sten} September werd waargenomen:

bij cavia I bestond nog een klein oedeem op de plaats van injectie;

bij cavia II was het gekomen tot necrose der huid van een gedeelte van het abdomen.

Cavia IV lag 's morgens dood in het hok, was dus gestorven in $\pm 6 \times 24$ uur na de kultuur-injectie.

De drie eerste caviae bleven in leven; 't oedeem van caviae I en III verdween spoedig, zonder eenig spoor na te laten. Ook de necrose der huid van cavia II genas weldra onder lidteekenvorming.

Bij de sectie's der gesuccombeerde caviae werd 't zelfde beeld waargenomen, vroeger, op pag. 40 en 41, vermeld.

In een *vijfde proefreeks* werden, den 2^{den} September om 11 uur v.m., subcutaan ingespoten, in de okselholte, van een $2 \times$ uur oude vleesch-glycose-bouillon-kultuur van FRAENKELSche gasbacillen.

bij cavia I, gew. 280 gr. 3 c.c.m.

bij cavia II, gew. 250 gr. 3 c.c.m.

bij cavia III, gew. 250 gr. 3 c.c.m.

bij cavia IV, gew. 250 gr. 3 c.c.m.

Tegelijkertijd werden van het immuunserum van het paard, acht dagen na de laatste inspuiting van het paard verkregen, intraperitoneaal ingespoten:

bij Cavia I, 6 c.c.m.

bij cavia II, 3 c.c.m.

bij cavia III, 1 c.c.m.

Eveneens werden van normaal paardenserum intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia IV, 6 c.c.m.

't Resultaat der inspuitingen was, dat:

Cavia III succombeerde in 3×24 uur;

Cavia II succombeerde in $\pm 6 \times 24$ uur;

Cavia I, na een crepiterend oedeem in de okselholte gekregen te hebben, den 8^{sten} dag na de injectie een kleine necrotische plek der huid op de plaats der inspuiting vertoonde, welke necrose snel in genezing overging;

Cavia IV, nog den 8^{sten} dag zwaar ziek scheen en een necrose vertoonde van 't grootste gedeelte der borst en buikhuid. Deze cavia bleef echter in leven.

Bij sectie vertoonden de cavia II en III 't zelfde beeld als reeds vroeger beschreven.

Uit beide voorgaande proeven blijkt, dat het serum van het paard, op de beschreven wijze bereid, antibacterieele eigenschappen bezit. Tevens blijkt, dat het serum, prophylactisch bij caviae aangewend, een gunstiger resultaat biedt, dan gelijktijdig met kulturen ingespoten. Verder schijnt echter ook normaal paardenserum ten opzichte van FRAENKELSche gasbacillen in geringer mate antibacterieele eigenschappen te bezitten¹⁾.

¹⁾ Uit verdere proefnemingen blijkt, dat het door mij bereide immuun-paardenserum geen antibacterieele eigenschappen bezit ten opzichte van de gasoedeembacillen van ASCHOFF. De proeven werden op dezelfde wijze gedaan, als in de 4^{de} en 5^{de} proefreeks, in dit hoofdstuk beschreven. Alle caviae succombeerden in 24—48 uur na de kultuur-injectie. Van uit de entplaats was een zeer groot oedeem ontstaan, dat zich over den geheelen buik en borst der caviae had uitgebreid. Ten opzichte van kultuurfiltraten van deze gasoedeembacillen bleek het immuun-paardenserum geen antihæmolytische eigenschappen te bezitten.

In een zesde serumproefreeks werden van het immuunserum van het paard, twee weken na de laatste injectie van het paard verkregen, om 3 uur n.m. 14—9—16, intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia I, gew. 300 gr.. 3 c.c.m.

bij cavia II, gew. 300 gr.. 1 c.c.m.

en van normaal paardens serum:

bij cavia III, gew. 310 gr. 3 c.c.m.

Den volgenden dag werden, om 12,30 n.m., van het verse filtraat van een 2 X 24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkultuur van FRAENKELSche bacillen intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia I, 5 c.c.m.

bij cavia II, 5 c.c.m.

bij cavia III, 5 c.c.m.

bij cavia IV, gew. 320 gr. 3 c.c.m.

Het resultaat der inspuitingen was het volgende:

De caviae I en II zaten de eerste uren stil, met opgezette haren; werden echter daarna weer uiterlijk normaal en bleven in leven.

Cavia III werd zwaar ziek; zat namelijk zeer stil met opgezette haren en bleef, acht uur na de injectie, op de zijde liggen, wanneer men haar zóó plaatste. Den volgenden morgen was de cavia echter bijna weer normaal en herstelde zich in den loop van den dag.

Cavia IV zat, eenigen tijd na de inspuiting, ineengedoken met opstaande haren. Na ongeveer acht uur was de cavia zeer slap; traande uit de oogen; was erg benauwd en liet speeksel uit den bek vloeien. Den volgenden morgen stierf de cavia, omstreeks acht uur v.m.; deze succombeerde dus ongeveer 21 uur na de injectie.

Aërobe en anaërobe kweeking van vloeistof, uit het abdomen afkomstig, leverde geen groei op van micro-organismen.

In de *zevende proefreeks* werden gelijktijdig immuunserum en filtraat intraperitoneaal bij caviae ingespoten.

Den 15^{den} September om 12,30 n.m. werden van het filtraat van een 2 × 24 uur oude vleesch-glycosebouillonkultuur van gasbacillen intraperitoneaal ingespoten :

bij cavia I, gew. 320 gr. 5 c.c.m.

bij cavia II, gew. 300 gr. 5 c.c.m.

bij cavia III, gew. 310 gr. 3 c.c.m.

Tevens werden van het immuunserum van het paard, twee weken na de laatste inspuiting van het paard verkregen, tegelijkertijd intraperitoneaal ingespoten:

bij cavia I, 3 c.c.m.

bij cavia II, 1 c.c.m.

Het resultaat was het volgende:

De caviae I en II zaten de eerste drie uren stil, met opstaande haren, maar werden in den loop van denzelfden dag weer normaal.

Cavia III succombeerde onder 't beeld van zwaar ziek zijn in $> 11 < 21$ uur na de injectie.

Uit de beide laatste proeven blijkt, dat 't immuunserum, van het paard verkregen, ook een antitoxische eigenschap bezit ten opzichte van het toxine, aanwezig in filtraten van bouillonkulturen van FRAENKELSche bacillen.

Dat dit paardenserum bovendien nog een antihaemolysine bezit, blijkt uit de proeven in het volgend hoofdstuk beschreven.

VII.

Over anti-haemolytische werking der verkregen sera.

Dat de sera van de drie konijnen en van het paard, op de beschreven wijze behandeld, ook eene anti-haemolytische eigenschap bezitten ten opzichte van de haemolysine, aanwezig in filtraten van vleesch-glycose-bouillonkulturen van den bacillus phlegmonis emphysematosae, blijkt uit de in dit hoofdstuk beschreven proeven.

Deze werden zoodanig ingericht, dat afdalende hoeveelheden immuunserum, in spits-toeloope reageerbuisjes gebracht, met versche filtraten van 2×24 uur oude vleesch-glycose-bouillonkulturen van FRAENKELsche gasbacillen, tot 2 c.c.m. werden aangevuld.

Ter contrôle werd ditzelfde ook gedaan met normaal serum. Vervolgens werd in ieder reageerbuisje één druppel gedefibrineerd konijnen- of menschenbloed gedaan en daarna alles in de broedstoof geplaatst; aldus:

Hoeveelheid immuunserum van konijn C.	Effect na 15 uur.
1 c.c.m.	geen haemolyse
0,9 c.c.m.	" "
0,8 c.c.m.	" "
0,7 c.c.m.	" "
0,6 c.c.m.	" "
0,5 c.c.m.	" "
0,4 c.c.m.	" "

Hoeveelheid immuunserum
van konijn C.

Effect
na 15 uur.

0,3 c.c.m.	geen haemolyse
0,2 c.c.m.	" "
0,1 c.c.m.	" "

In de contrôlebuisjes, met normaal konijnensерum, was in dienzelfden tijd in de eerste drie buisjes niet-totale, in de overige buisjes wel-totale haemolyse opgetreden.

Proeven, op dezelfde wijze gedaan met immuunserum van het paard, gaven 't zelfde resultaat; alleen bleek de anti-haemolytische werking van het gebruikte normaal paardensерum, in de contrôlebuisjes, sterker dan 't normaal konijnensерum; en wel in die mate dat in het 1^{ste} buisje daarbij géén, in de volgende reageerbuisjes in opklimmende mate wél haemolyse optrad.

CONCLUSIE'S.

Aan het einde van mijn onderzoekingen gekomen, meen ik de volgende conclusie's te kunnen trekken:

- 1°. Door den bacillus phlegmonis emphysematosae kan in kulturen een toxine worden afgescheiden, dat caviae en muizen doodt. Bij muizen wordt, voor den dood, een haemorrhagische nephritis te voorschijn geroepen. De giftigheid der toxine neemt snel in sterkte af. Het filtraat van de vleesch-glycose-bouillonkulturen bevat bovendien een haemolysine.
 - 2°. Bij konijnen kan door inspuiting van het toxine een antitoxisch serum verwekt worden, hetwelk proefdieren, met dit toxine behandeld, tegen den dood of zwaar ziek-worden beschut.
 - 3°. Tegen de infectie met FRAENKELSche gasphlegmone-bacillen is, door inspuiting van een paard, eerst met kultuurfiltraten en vervolgens met levende kulturen der genoemde bacillen, een bij proefdieren werkzaam antiserum verkregen, dat antitoxische en antibacterieele eigenschappen bezit. Prophylactisch ingespoten, werkt dit serum gunstiger dan therapeutisch.
 - 4°. De verkregen immuunsera bevatten bovendien, behalve een antitoxine, ook een antihaemolysine.
-

INHOUD.

	Blz.
NLEIDING	1
HOOFDSTUK I. De aetiologie der gasphlegmone.	6
HOOFDSTUK II. Vroegere proefnemingen.	23
HOOFDSTUK III. Het gebruikte materiaal.	26
HOOFDSTUK IV. Het aantoonen van toxine.	45
HOOFDSTUK V. Over haemolytische werking der filtraten.	69
HOOFDSTUK VI. Serologische proeven.	72
HOOFDSTUK VII. Over anti-haemolytische wer- king der verkregen sera.	84
CONCLUSIE'S	86

69979

STELLINGEN.

I.

Het bewijs, dat de bacillus phlegmonis emphysematosae een gedenatureerde vorm van den boutvuurbacil zou zijn, (GRASSBERGER en SCHATTENFROH) is niet geleverd.

II.

De conservatieve behandeling bij achtergebleven rottende placentaresten, zooals WINTER die voorstelt, is af te keuren.

III.

Bij de vorming van galsteen is het kalkgehalte der gal niet verhoogd.

IV.

Het myeloma is geen tumor, doch een systeemziekte.

V.

Het bepalen van haemoconieën in het bloed, is een belangrijk hulpmiddel om het dieet vast te stellen bij leverlijders.

VI.

In sommige gevallen is de diagnose niersteen niet anders te stellen, dan door middel van een Röntgenfoto.

VII.

De ductus endolymphaticus in het menschelijk oor is te beschouwen, als het homologon van den ductus endolymphaticus der selachii.

IIIX.

Bij hernia inguinalis directa non complicata, opereere men niet.

IX.

Voor de prognose van het wondverloop is de pyo-serum reactie van WRIGHT van groote beteekenis.

X.

Bij gevallen, die in aanmerking komen voor behandeling met tetanus-serum, wende men liever een polyvalent anaërobenserum aan.

XI.

De bewering van E. HEKMA, dat nucleoproteïden de stolling van het bloed tot stand brengen, door hun zure eigenschappen, is onjuist.

XII.

Het optreden van iridocyclitis bij de ziekte van MIKULICZ is als een symptoom van deze te beschouwen. (Contra Dr. H. G. A. GJESSING. Klin. Monatsb. für Augenheilk., Bd. LVI, 1916.)

XIII.

De gymnastiek is een van de gezondste takken van sport.
